



INFORME FINAL TOMO I

Texto

Convenio Desempeño 2020:

Programa de manejo y monitoreo de las mareas rojas en el
sistema de fiordos y canales de Chile,
(XIV etapa) 2020-2021

SUBSECRETARÍA DE ECONOMÍA Y EMT / AGOSTO 2021



INFORME FINAL

Convenio Desempeño 2020:
Programa de manejo y monitoreo de las mareas rojas
en el sistema de fiordos y canales de Chile,
(XIV etapa) año 2020-2021

SUBSECRETARÍA DE ECONOMÍA Y EMT / AGOSTO 2021

REQUIRENTE

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

Subsecretario de Economía Y EMT
Julio Alberto Pertuzé Salas

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



INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO / DIVISIÓN DE INVESTIGACIÓN EN ACUICULTURA

I N S T I T U T O D E F O M E N T O P E S Q U E R O



AUTORES

Leonardo Guzmán Méndez
Gemita Pizarro Nova
Pamela Carbonell Arias
Rodrigo Martínez González
Oscar Espinoza González
Pablo Salgado Garrido
Gonzalo Fuenzalida Del Río
Luis Norambuena Subiabre
Jorge Mardones Sánchez
Valentina Besoain Meneses
Emma Cascales Hellman
Mauricio Palma Alarcón
César Alarcón Zapata
Hernán Pacheco Valle
Carolina Toro Ruiz
Luis Iriarte Bustamante
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
Darwin Retamal Caimpao
José Ojeda Millaldeo
Roberto Raimapo Raimapu
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 (XIV Etapa) 2020-2021. 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 2020 y se extendió hasta febrero de 2021, con la excepción del sector de Chiloé sur, que por efectos de la pandemia COVID 19 en cuanto a acceso a lugares de zarpe y en menor grado condiciones meteorológicas, determinaron que se realizaran hasta el crucero 28, lo cual fue terminado en abril de 2021, en tanto que los tres cruceros restantes, los numerados 29, 30 y 31, terminaron en el mes de junio de 2021, y los resultados de los mismo serán informados en la XV etapa de este programa. 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 contar con un sistema de información, periódico y oportuno, sobre microalgas nocivas, biotoxinas marinas, fitoplancton, y variables meteorológicas e hidrográficas, basado en un muestreo estandarizado de amplia cobertura espacial, adecuado a la realidad geográfica del sistema de fiordos y canales del sur de Chile.

El programa consta de cinco objetivos específicos. (i) El primer objetivo está orientado al monitoreo propiamente tal, 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); en síntesis las actividades están orientadas a monitorear y analizar las variaciones espacio-temporales de microalgas nocivas, biotoxinas marinas, fitoplancton, quistes de dinoflagelados y de variables hidrográficas y meteorológicas en la zona de estudio; (ii) el segundo objetivo continúa con el desarrollo del modelo físico-biológico para estimar la distribución y abundancia de *Alexandrium catenella*, en sitios selectos del sistema de fiordos y canales; (iii) el tercer objetivo continúa con el análisis interpretativo de la serie de datos histórica, para lograr una mejor comprensión de la variabilidad espacio-temporal del fitoplancton y de los taxones nocivos, incluyendo niveles de toxicidad y su relación con variables ambientales; (iv) el cuarto objetivo, incorpora el desarrollo, implementación y utilización de nuevas técnicas de detección de microalgas y de biotoxinas, así como mantener en cultivo especies nocivas chilenas que permitan avanzar el conocimiento y comprensión de los eventos nocivos; y finalmente (v) el quinto objetivo, está orientado a difundir los resultados del programa, realizar acciones de capacitación y fortalecer la vinculación con el medio.



El trabajo de esta etapa fue iniciado en marzo de 2020 y en su fase de terreno culminó en febrero de 2021, en ocho de los nueve sectores de muestreo, la excepción fue el sector de Chiloé sur, dado que es abordado con un muestreo de alta frecuencia (i.e. cada 10 días), y debido a las dificultades de acceso al puerto de zarpe (Quellón) derivado de las distintas medidas que debió adoptar la autoridad por la pandemia COVID 19, el trabajo comprometido para este sector finalizó en abril de 2021, y hubo tres cruceros, de los 31 comprometidos, que finalizaron en junio de 2021, cuyos resultados serán informados como parte de la etapa XV del programa.

Durante esta etapa ocurrieron diversas floraciones de *Pseudonitzschia* cf. *australis*, *P. cf. pseudodelicatissima*, *Leptocylindrus danicus*, *L. minumus*, estas cuatro asociadas a efectos nocivos, las dos primeras ligadas a toxina amnésica de los mariscos que obligó a la autoridad a aplicar vedas precautorias, afectando sólo el extremo norte de los fiordos desde el estuario de Reloncaví hasta el sector de Dalcahue en la costa este de la isla de Chiloé, pero no hubo intoxicaciones en humanos y tampoco muertes de fauna marina o silvestre. Las otras dos floraciones estuvieron asociadas mortandades en masa de salmónidos en engorda en balsas jaula en los fiordos Puyuhuapi, canal Jacaf y sectores adyacentes, pero por efectos originados por la morfología de estas diatomeas. *Dinophysis acuminata*, es el taxon más frecuente y abundante en todas las regiones de los cinco dinoflagelados que son seguidos por este programa. *Heterosigma akashiwo*, provocó también una floración en un sector no abordado por el programa (fiordo Comau) y también ligada a una mortalidad importante de salmónidos. También una importante floración de *Lepidodinium* sp. (*no nociva*), entre otras. Todas estas floraciones son analizadas dentro del contexto de otros resultados logrados como parte del análisis de la base de datos histórica y los resultados logrados durante esta etapa, además de los aspectos que habitualmente se abordan como parte de la difusión de los datos logrados y de interacción con las comunidades locales. En síntesis, se lograron sesenta conclusiones, las cuales se presentan ordenadas por objetivo y actividad.

Objetivo Específico 1: Monitorear y analizar las variaciones espacio-temporales de microalgas nocivas, biotoxinas marinas, fitoplancton, quistes de dinoflagelados y de variables hidrográficas y meteorológicas en la zona de estudio.

Actividad 1: Realizar los muestreos y analizar el fitoplancton cualitativo, cuantitativo y estimar abundancia relativa de siete taxones nocivos, en todas las estaciones de la red de monitoreo.

1. Las abundancias relativas de los siete taxones nocivos, presentaron variaciones distintas según la especie, lugar geográfico, y periodo del año. Todas presentaron sus menores abundancias durante los meses de invierno. *Alexandrium catenella*, no presentó floraciones y en general bajas estimaciones de abundancia relativa. *Dinophysis acuminata*, estuvo presente durante todo el periodo de estudio, con altas estimaciones en Los Lagos, Aysén y Magallanes norte, siendo el dinoflagelado nocivo más importante desde el punto de vista cuantitativo y frecuencia. *Pseudonitzschia* cf. *australis*, y *P. cf. pseudodelicatissima*, presentaron altas estimaciones en toda el área y periodo de estudio.
2. Durante el período de estudio, las condiciones ambientales favorecieron la existencia de distintas floraciones en distintos sectores geográficos de los fiordos, e.g, *Pseudonitzschia* spp.,



Leptocylindrus spp., *Heterosigma* sp. *Lepidodinium* sp. (no nociva), entre otras, constituyendo un año atípico en este sentido.

3. La extensión espacial y temporal anómala de las floraciones de *P.cf. australis* y *P. cf. pseudodelicatissima* y brote de ácido domoico, estarían relacionadas con procesos advectivos del norte de la isla de Chiloé, siguiendo los principales patrones de circulación, y condiciones climáticas favorables asociadas a la fase positiva de Modo Anular Sur (SAM), asociados a anomalías de temperatura y radiación fotosintética active positivas, y menor precipitación durante fines de la primavera de 2020 y el verano de 2021 en el extremo norte de la región de Los Lagos..

Actividad 2: Muestreo de transvectores y detección toxinas.

4. Para la gran mayoría de las estaciones en las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes, las toxinas paralizantes no fueron detectadas o niveles bajos en Aysén localmente, a lo largo del periodo (marzo 2020 – febrero (2021).
5. Se presentó una baja toxicidad en la región de Aysén, alcanzado un máximo de 400 µg SXT 100g-1 de mariscos en sólo una de sus estaciones en la zona de Aysén sur.
6. La distribución espacial y temporal de toxinas lipofílicas, se presentaron en Los Lagos (centro y sur), y Aysén.
7. El programa mostró fue ineficaz para detectar toxina amnésica, no obstante que hubo un brote de esta toxina en la región de Los Lagos; ello es consecuencia de la frecuencia de muestreo mensual.

Actividad 3. Recolectar información hidrográfica y meteorológica, incluyendo nutrientes, en la red de estaciones definidas.

8. Las temperaturas promedio, varían según la estación del año y con la latitud, siendo las mayores en Los Lagos, y las menores en Magallanes. No se observaron diferencias significativas entre los estratos 0-10 y 10-20.

Actividad 4. Realizar los muestreos y análisis para la detección y cuantificación de quistes de dinoflagelados.

9. Un total de 52 tipos de quistes distintos son identificados en muestreos de otoño-invierno y primavera en áreas de Los Lagos, Aysén y Magallanes.
10. En Los Lagos se identificaron quistes de *A. catenella* y *P. reticulatum*, en Aysén de *A. catenella*, *A. ostenfeldii* y *P. reticulatum*, y en Magallanes de *A. ostenfeldii* y *P. reticulatum*.
11. Se identificaron por primera vez los quistes de *Protoperidinium cf. abei*, *Trinovantedinium variabile* y *Gymnodinium aureolum* en el sur de Chile.
12. La distribución de abundancias de quistes de especies productoras de toxinas se presentó de forma heterogénea y en baja abundancia en las áreas de estudios durante los periodos muestreados.



Objetivo Específico 2: Continuar el desarrollo del modelo físico-biológico para estimar la distribución y abundancia de *Alexandrium catenella*, en sitios selectos del sistema de fiordos y canales.

13. El modelo de *A. catenella*, no fue capaz de simular la distribución y abundancia en las floraciones de 2017 y 2018, debido principalmente a la tasa de respiración basal, y a que no se han incorporado los quistes al modelo (tasas de germinación y formación de quistes), y es parcial la respuesta de la fase vegetativa de *A. catenella* a las condiciones de temperatura, salinidad y radiación.
14. Pero, es importante notar que las funciones de tasa máxima de crecimiento bajo condiciones óptimas de temperatura y salinidad, presentaron un comportamiento esperado con máximas tasas en periodos de primavera y verano y bajas en invierno, es por ello que se les otorgará más importancia a estas variables en el modelo.

Objetivo Específico 3: Continuar con el análisis interpretativo de la serie de datos histórica, para lograr una mejor comprensión de la variabilidad espacio-temporal del fitoplancton y de los taxones nocivos, incluyendo niveles de toxicidad y su relación con variables ambientales.

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

15. Los conglomerados espaciales de estaciones en términos de similitud de Bray-Curtis de la densidad celular de los grupos fitoplancton y diatomeas, reduce la información de las 146 estaciones de muestreo consideradas, a cerca del 50% (71 y 69 conglomerados, respectivamente), mientras que el grupo de los dinoflagelados reduce la información a un 30% (45 conglomerados).
16. Existe una alta y significativa correlación entre las abundancias, en términos de similitud de Bray-Curtis, del fitoplancton total y diatomeas ($Rho=0.988$, $p<0.0001$), consistente con la distribución espacio-temporal de las densidades promediadas por estación del año por sitio de muestreo.
17. Los resultados obtenidos hasta ahora, siguen siendo consistentes con la hipótesis de formación de micro-hábitats y micro-nichos geográficos que afectan, positiva o negativamente, la proliferación de distintos grupos de microalgas.
18. La distribución geográfica de los conglomerados de estaciones resultantes, son reflejo del gradiente latitudinal, estacional y de condiciones ambientales locales que ameritan seguir explorando en el análisis de la base de datos.
19. 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, dependiendo de la estación del año y sitio de muestreo.
20. Estaciones de muestreo sin agrupar en los conglomerados, (40 % app del total de estaciones consideradas en el estudio), ameritan análisis más exhaustivo de las características físicas, biológicas, oceanográficas, topográficas, ambientales y otras particulares de éstas, dentro del ejercicio de análisis exploratorio de la base de datos.



Actividad 3. En búsqueda de índices como alerta temprana.

Determinación de la abundancia celular (células / Litro) correspondiente a los niveles de AR para los géneros *Alexandrium*, *Protoceratium* y *Dinophysis*.

21. Los altos coeficientes de correlación entre AR y abundancia celular (células/L) observados en *A. catenella* y *D. acuminata* pueden deberse al mayor número de veces en que estas especies fueron detectadas en el monitoreo, además de su mayor abundancia. Así, un mayor número de muestras disminuye la incerteza al momento de estimar parámetros de correlación. Por el contrario, especies como *D. acuta*, *P. reticulatum* y *A. ostenfeldii* fueron detectadas menos veces y mostraron bajas abundancias lo que incrementa la incerteza al momento de estimar parámetros.

Comparación de bases de datos cualitativa y cuantitativa (2013-2019) de los monitoreos de vigilancia y Raúl Marín Balmaceda: Efectos de la zona, año y meses.

22. La comparación entre bases de datos reveló que pueden entregar información relevante y distinta para comprender la dinámica de las especies tóxicas. Por una parte, la base de datos transformada es útil para conocer la dinámica de especies que consistentemente muestran una mayor abundancia y presencia. Por el contrario, la base de datos cualitativa puede ser útil para conocer la dinámica de especies que muestran baja abundancia, pero tienen una alta presencia en la columna de agua.

Efecto de la salinidad y temperatura en la probabilidad de presencia de los géneros *Alexandrium*, *Protoceratium* y *Dinophysis*.

23. La salinidad y temperatura afectan de manera diferente la probabilidad de presencia de las especies tóxicas, tal como lo revelaron las regresiones logísticas y los distintivos rangos salinidad-temperatura en que estas estuvieron presentes. A pesar de esto, es importante considerar que otras características físico-químicas de la columna de agua también pueden influenciar la distribución.

Usando estimaciones de abundancia relativa de *Alexandrium catenella*.

24. El trabajo desarrollado aún no muestra evidencias que las estimaciones de abundancia relativa de *Alexandrium catenella*, puedan ser usadas como herramienta de alerta temprana, sin embargo, los antecedentes presentados, entregan orientaciones que deben ser exploradas para evaluar la potencialidad de estas estimaciones, junto con otras variables, como puede ser el viento (para el sector norte de Aysén).
25. El uso de la información de abundancia relativa de una o dos localidades como centinelas de una floración de *A. catenella*, para la interconectividad entre el extremo norte de Aysén y el sur de Chiloé, aún es insuficiente, dado que las series aún son muy cortas y estas presentan aún un nivel de incertidumbre muy alto, pero al usar estimadores de varias localidades, se estabilizan las tendencias de declinación de los estimadores según la escala de la abundancia relativa; este es un asunto que debe ser trabajado con mayor profundidad.



Actividad 4. Explorando las relaciones entre *Alexandrium*, *Dinophysis* y *Protoceratium*.

26. El análisis de una serie de tiempo de 11 años con datos mensuales entre octubre de 2007 y febrero de 2019, recogidos desde 146 sitios de muestreo distribuidos en toda la extensión de los fiordos, muestra que, de los cinco taxones estudiados, *Dinophysis acuminata*, *Alexandrium catenella* y *Protoceratium reticulatum*, son los más relevantes, en ese orden, según estimaciones de su abundancia, estimada a partir de la abundancia relativa.
27. De las dos microalgas menos importantes, *Alexandrium ostenfeldii* y *Dinophysis acuta*, por su abundancia y su contribución a los grupos segregados según un análisis de conglomerados, la primera de ellas, mostró una mayor relevancia, en el sector sur del archipiélago de Los Chonos y el extremo norte de la región de Magallanes, dado que D. acuta sólo tuvo relevancia en el canal Jacaf y fiordo Puyuhuapi.
28. De los taxones nocivos estudiados, la más abundante y la única que integró todos los grupos definidos mediante un análisis de conglomerados, entre localidades y entre períodos del año, fue *Dinophysis acuminata*.
29. *Alexandrium catenella* fue el taxón más relevante en el sector sur del archipiélago de Los Chonos, el extremo norte de la región de Magallanes (provincia de Última Esperanza) y en el sector de canal Beagle.
30. La correlación positiva entre abundancia relativa y temperatura del agua de mar observada en *Dinophysis acuminata*, muestran que es una variable importante para la distribución y abundancia de esta microalga en los fiordos, como también sugieren que la distribución y abundancia de esta microalga debería tender a incrementar hacia el sur (i.e. hacia Magallanes).

Actividad 5. Análisis exploratorio del fitoplancton cuantitativo en la capa superficial (0-10m), y subsuperficial (10-20m).

31. Con respecto a las abundancias totales de diatomeas, no se encontraron diferencias significativas entre la capa superficial y subsuperficial en la mayoría de los sectores, salvo en Los Lagos Norte y Aysén Norte, donde las correlaciones entre las dos capas fueron más bajas, siendo siempre más abundantes en la capa superficial de estos sectores.
32. En cuanto a las abundancias de dinoflagelados solo se encontraron buenas correlaciones entre las dos capas en tres sectores, Los Lagos, centro y las zonas norte de Aysén y Magallanes, mientras que en todos los otros sectores no se observa una correlación entre las capas superficial y subsuperficial.
33. Existe un patrón de disminución norte-sur en las abundancias de diatomeas, llegando a tener diferencias de hasta dos órdenes de magnitud entre la región de Los Lagos y La región de Magallanes.
34. Los dinoflagelados presentan abundancias mas altas en la región de Aysén, con valores mas altos en la capa subsuperficial a diferencia de las otras dos regiones donde las abundancias fueron mayores en la capa superficial.
35. Con respecto a la composición fitoplanctónica, tanto para diatomeas como dinoflagelados, solo entre tres y cinco especies representan cerca del 60 al 80% del total del ensamble fitoplanctónico.



36. A pesar que este la composición de especies de diatomeas cambia según la región, podemos observar que hay ciertas especies que se repiten y que representan el porcentaje mas alto del ensamble fitoplanctónico, tales como *Pseudo-nitzschia cf. pseudodelicatissima*, *Skeletonema spp.*, *Chaetoceros debilis*, *Leptocylindrus minimus*, *Amphora spp.*, *Chaetoceros socialis* y algunas especies del género *Thalassiosira*.

Objetivo específico 4: Incorporar el desarrollo, implementación y utilización de nuevas técnicas de detección de microalgas y de biotoxinas, así como mantener en cultivo especies nocivas chilenas que permitan avanzar el conocimiento y comprensión de los eventos nocivos.

Actividad 1. Identificación molecular en especies de microalgas nocivas.

37. Tanto con qPCR como con metabarcoding los resultados logrados muestran potencialidades para que estas técnicas puedan ser usadas como técnicas rutinarias en las acciones de monitorización, pero ambas aún requieren mejorar su eficiencia en el caso del qPCR y mejorar la certidumbre respecto de los taxones identificados mediante secuenciaciones masivas.

Actividad 2. Distribución anual de toxinas mediante LC-Masas y LC-Fl y su asociación con microalgas que las producen identificadas mediante microscopía electrónica.

38. Se dio inicio al muestreo de muestras de agua para la detección de toxinas lipofílicas y paralizantes mediante HPLC MS/MS.
39. Se detectó la presencia de AD en gran parte de las estaciones de Los Lagos y Aysén. En la región de Magallanes hubo dos muestras positivas. Los niveles detectados son bajos, siendo una muestra de Los Lagos, donde se obtuvo el valor máximo de 735 ng/L de agua filtrada.
40. En las tres regiones se detecta la presencia de PTX-2, pero con niveles muy bajos, obteniéndose un nivel máximo de 9 ng/L de agua filtrada.
41. YTX se detecta solo en las regiones de Los Lagos y Aysén.
42. El espirólido SPX1 se detecta en la región de Magallanes, con niveles bajo el límite de cuantificación.
43. Toxinas paralizantes fueron detectadas en dos muestras de la región de Magallanes (GTX1, GTX2 y GTX3).

Actividad 3. Estudio de biotoxinas en tejido de mariscos.

44. Acido domoico se detecta en muestras de mariscos de las regiones de Los Lagos y Aysén, pero con niveles sub-tóxicos. La concentración más alta encontrada fue de 306 ng/g.
45. PTX-2 se detecta solamente en la región de Magallanes, pero todos con niveles menores al límite de cuantificación.
46. YTX se presenta principalmente en muestras provenientes de la región de Aysén, pero con niveles bajos, concentración máxima de 623 mg/g.
47. AZA 2 es detectada solamente en algunas muestras de la Región de Los Lagos y Aysén, pero bajo el límite de cuantificación.
48. AO fue detectado en una muestra de la región de Magallanes, con niveles sub-tóxicos (45 ng/g).



49. En la región de Magallanes se detecta la presencia de SPX1. En esas mismas muestras se detecta la presencia de un posible espirólido, que tiene las mismas transiciones de SPX1, pero un tiempo de retención un poco mayor.
50. Se seguirán estudiando las muestras positivas a SPX1 y al posible espirólido, para intentar dilucidar la identidad de éste, además de investigar la posible presencia de otras toxinas.
51. Los resultados de toxinas paralizantes por HPLC/Ms con los de TPM (Bioensayo del ratón) son concordantes, solamente en un caso una muestra dio resultados superiores a 80 µg STX eq/100 g de tejido, con HPLC/Ms da una concentración levemente inferior (68 µg STX eq/100 g de tejido). Hay casos positivos solamente con HPLC/Ms, producto de la sensibilidad de la técnica.

Actividad 4. Implementación de nuevas herramientas analíticas in vitro con el fin de ampliar conocimiento de la taxonomía, distribución biogeográfica, sus biotoxinas y su respuesta eco-fisiológica frente a variables ambientales, de las principales especies de microalgas tóxicas.

Heterosigma akashiwo

52. Dado que la identificación mediante microscopía de campo luminoso es difícil e incierta, la cepa aislada de la floración ocurrida en el fiordo Comau (Leptepu) muestra que, tanto con el análisis de máxima verosimilitud como con el análisis filogenético bayesiano, que la secuencia obtenida se unió a un clado monofilético que comprendía solo secuencias de *Heterosigma akashiwo*, confirmando a este taxón como el responsable de esta floración.

Efectos de estresores múltiples sobre las tasas ecofisiológicas y toxicidades del dinoflagelado nocivo *Alexandrium catenella*.

53. Las tasas de crecimiento más altas en relación con la temperatura se encontraron para la cepa M41 (Magallanes) en el tratamiento con la temperatura más baja (12 °C), mientras que las tasas más bajas también se encontraron en esta cepa, pero con el tratamiento a temperatura más alta (17 °C).
54. Con respecto a la intensidad lumínica, las tasas de crecimiento más bajas se encontraron en el tratamiento con la menor intensidad lumínica (50 µE) con rangos que van entre 0.16 – 0.42 d⁻¹. Sin embargo, dentro de este rango la cepa M41 (Magallanes) tiene una mayor tasa de crecimiento que la cepa ACPU (Aysén), mientras que las tasas más altas fueron encontradas en el tratamiento con una mayor intensidad lumínica (150 µE), no encontrándose diferencias entre las dos cepas.
55. A pesar que se podría esperar que una disminución drástica en los nutrientes podrían ser un factor en las tasas de crecimiento, nuestros resultados muestran que para ambas cepas no es un factor determinante, por lo que no se encontraron diferencias en las tasas de crecimiento entre cepas.
56. En cuanto a la salinidad, el análisis es similar al de nutrientes, donde no se observa una influencia mayor en las tasas de crecimiento para ambas cepas.



57. A pesar que las tasas de crecimiento fueron más altas en la cepa de Magallanes, en todos los tratamientos las abundancias celulares fueron mucho mayores en la cepa de Aysén con respecto a la de Magallanes.

Objetivo específico 5: *Difundir los resultados del programa, realizar acciones de capacitación y fortalecer la vinculación con el medio.*

58. Por segundo año consecutivo, las actividades de difusión de forma presencial, no han sido posibles por la pandemia COVID-19. Sin embargo, las actividades de forma remota tienen resultados positivos, debido a la cantidad de personas que muestran interés y permiten realizar las actividades programadas.
59. Los alumnos de colegios rurales, presentan un mayor conocimiento en temas asociados a Floraciones de Algas Nocivas que aquellos de colegios de zonas urbanas de la región de Los Lagos para los cuatro niveles consultados (5to y 8vo básico, II° y IV° medio).
60. El conocimiento de los alumnos de colegios y/o zonas rurales se sustentan en experiencias familiares y que son sociabilizadas en las comunidades.



ÍNDICE GENERAL

Resumen ejecutivo	i
ÍNDICE GENERAL	x
ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS	xi
ANEXOS	xxix
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	5
3. OBJETIVOS	9
3.1 Objetivo general	9
3.2 Objetivos específicos	9
4. METODOLOGÍA	10
4.1 Metodología Objetivo Específico 1	10
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.	
4.2. Metodología Objetivo Específico 2	20
Registrar variables oceanográficas y biológicas en zonas representativas del área de estudio para continuar la modelación físico-biológico de <i>Alexandrium catenella</i> .	
4.3 Metodología Objetivo Específico 3	28
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.	
4.4 Metodología Objetivo Específico 4	36
Incorporar el desarrollo, implementación y utilización de nuevas técnicas de detección de microalgas y de biotoxinas, así como mantener en cultivo especies nocivas chilenas que permitan avanzar el conocimiento y comprensión de los eventos nocivos.	



4.5. Metodología Objetivo Específico 5	43
Difundir los resultados del programa, realizar acciones de capacitación y fortalecer la vinculación con el medio.	

5. RESULTADOS

5.1. Objetivo Específico 1	45
<u>Monitorear y analizar las variaciones espacio-temporales de microalgas nocivas, biotoxinas marinas, fitoplancton, quistes de dinoflagelados y de variables hidrográficas y meteorológicas en la zona de estudio.</u>	

5.2. Objetivo Específico 2	74
<u>Continuar el desarrollo del modelo físico-biológico para estimar la distribución y abundancia de Alexandrium catenella, en sitios selectos del sistema de fiordos y canales.</u>	

5.3 Objetivo Específico 3	80
<u>Continuar con el análisis interpretativo de la serie de datos histórica, para lograr una mejor comprensión de la variabilidad espacio-temporal del fitoplancton y de los taxones nocivos, incluyendo niveles de toxicidad y su relación con variables ambientales.</u>	

5.4 Objetivo Específico 4	105
<u>Incorporar el desarrollo, implementación y utilización de nuevas técnicas de detección de microalgas y de biotoxinas, así como mantener en cultivo especies nocivas chilenas que permitan avanzar el conocimiento y comprensión de los eventos nocivos.</u>	

5.5. Objetivo Específico 5	111
<u>Difundir los resultados del programa, realizar acciones de capacitación y fortalecer la vinculación con el medio.</u>	

6. DISCUSIÓN	122
7. CONCLUSIONES	151
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	160



ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

Figura 1.1.1. 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.

Figura 1.1.2. 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 1.1.3. 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 1.1.4. Localización de las 146 estaciones de muestreo utilizadas para el análisis de conglomerados y análisis de dos capas.

Figura 1.1.5. Ubicación geográfica de las estaciones de muestreo en el fiordo Reloncaví.

Figura 1.1.6. Secciones verticales de temperatura ($^{\circ}\text{C}$), salinidad (PSU), oxígeno disuelto (mL L^{-1}) y fluorescencia ($\mu\text{g L}^{-1}$), a lo largo de las estaciones de muestreo del estuario de Reloncaví.

Figura 1.1.7. Abundancia celular y distribución en profundidad de las 10 especies más importantes en términos de contribución al total de la abundancia fitoplanctónica

Figura 1.1.8. Perfiles verticales de las variables oceanográficas (izquierda) y distribución de *P. cf. australis* (línea azul) *P. cf. pseudodelicatissima* (línea negra), fitoplancton total (línea roja) y nutrientes (derecha) en las estaciones de A) Yates, B) Sotomó; C) Pocolhuén, D) Isla Caicura y E) Caleta la Arena.

Figura 1.1.9. Secciones verticales de concentración de nutrientes ($\mu\text{mol L}^{-1}$) nitrato, nitrito, fosfato y silicato en las estaciones de muestreo, Pocolhuén, Sotomó, Yates, isla Caicura y caleta La Arena.

Figura 1.1.10. Imagen satelital de clorofila (Aqua/Modis) para el día 22 de diciembre de 2020 (Fuente: <https://worldview.earthdata.nasa.gov/>)

Figura 1.2.1. Se representa la Frecuencia (%) de Toxinas Paralizantes de los Mariscos (TPM), monitoreadas a lo largo de las tres regiones entre Los Lagos, Aysén y Magallanes, con rangos entre No Detectada (ND; gris), niveles sub-tóxicos ($<80 \mu\text{g SXT} \cdot 100\text{g}^{-1}$ marisco; verde), y niveles tóxicos ($>80 \mu\text{g SXT} \cdot 100\text{g}^{-1}$ marisco; rojo), entre los meses de marzo 2020 a marzo 2021. Para la región de Aysén, la información fue representada hasta el mes de enero 2021.



Figura 1.2.2. Se representa la Frecuencia (%) de Toxinas Diarreicas de los Mariscos (VDM) monitoreadas a lo largo de las tres regiones entre Los Lagos, Aysén y Magallanes. Se indica cuando las muestras fueron negativas a esta toxina (negro), y positivas (gris), entre los meses de marzo 2020 a febrero 2021. Para la región de Magallanes, la información fue representada desde el mes de mayo 2020.

Figura 1.3.1. Distribución espacial y temporal de temperatura °C promedio del estrato 0-10m, desde marzo 2020 a febrero 2021 desde Puerto Montt a Magallanes.

Figura 1.3.2. Distribución espacial y temporal de temperatura °C promedio del estrato 10-20m, desde marzo 2020 a febrero 2021 desde Puerto Montt a Magallanes.

Figura 1.3.3. Distribución espacial y temporal de salinidad UPS promedio del estrato 0-10m, desde marzo 2020 a febrero 2021 desde Puerto Montt a Magallanes.

Figura 1.3.4. Distribución espacial y temporal de salinidad UPS promedio del estrato 10-20m, desde marzo 2020 a febrero 2021 desde Puerto Montt a Magallanes.

Figura 1.3.5. Distribución espacial y temporal de nitrito del estrato 0-10m, desde marzo 2020 a febrero 2021 en la región de Los Lagos.

Figura 1.3.6. Distribución espacial y temporal de nitrito del estrato 10-20m, desde marzo 2020 a febrero 2021 en la región de Los Lagos.

Figura 1.3.7. Distribución espacial y temporal de nitrato del estrato 0-10m, desde marzo 2020 a febrero 2021 en la región de Los Lagos.

Figura 1.3.8. Distribución espacial y temporal de nitrato del estrato 10-20m, desde marzo 2020 a febrero 2021 en la región de Los Lagos.

Figura 1.3.9. Distribución espacial y temporal de fosfato del estrato 0-10m, desde marzo 2020 a febrero 2021 en la región de Los Lagos.

Figura 1.3.10. Distribución espacial y temporal de fosfato del estrato 10-20m, desde marzo 2020 a febrero 2021 en la región de Los Lagos.

Figura 1.3.11. Distribución espacial y temporal de sílice del estrato 0-10m, desde marzo 2020 a febrero 2021 en la región de Los Lagos.

Figura 1.3.12. Distribución espacial y temporal de sílice del estrato 10-20m, desde marzo 2020 a febrero 2021 en la región de Los Lagos.



Figura 1.4.1. Quistes de resistencia de dinoflagelados registrados en sedimentos de las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes durante 2020. **A.** *Alexandrium catenella*. **B.** *Alexandrium catenella* vacío. **C.** *Alexandrium ostenfeldii*. **D.** *Protoceratium reticulatum*. **E.** *Lingulodinium polyedrum*. **F.** *Nematosphaeropsis labyrinthus*. **G.** *Spiniferites ramosus*. **H.** *Prorocentrum lima*. **I.** *Pentaparsodinium dalei*. **J.** *Scrippsiella patagonica*. **K.** *Scrippsiella trochoidea*. **L.** *Scrippsiella* sp. **M.** *Protoperidinium* cf. *abei*. **N.** *Protoperidinium americanum*. **Ñ.** *Protoperidinium avellana*. **O.** *Protoperidinium claudicans*. **P.** *Protoperidinium conicoides*. **Q.** *Protoperidinium conicum*. **R.** *Protoperidinium denticulatum*. **S.** *Protoperidinium excentricum*. Barras de escala: 10 μ m.

Figura 1.4.2. Quistes de resistencia de dinoflagelados registrados en sedimentos de las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes durante 2020. **A.** *Protoperidinium* cf. *nudum*. **B.** *Protoperidinium leonis*. **C.** *Protoperidinium oblongum*. **D.** *Protoperidinium pentagonum*. **E.** *Protoperidinium subinermis*. **F.** *Protoperidinium thorianum*. **G.** *Protoperidinium tricingulatum*. **H.** *Protoperidinium* spp. **I.** *Protoperidinium* sp. 3. **J.** *Protoperidinium* sp. 6. **K.** *Protoperidinium* sp. 9. **L.** *Trinovantedinium variabile*. **M.** *Niea acanthocysta*. **N.** *Diplopsalopsis ovata*. **Ñ.** *Preperidinium meunieri*. **O.** *Protoperidinium sinuosum*. **P.** *Archaeoperidinium constrictum*. **Q.** *Archaeoperidinium minutum*. **R.** *Archaeoperidinium* sp. **S.** *Gymnodinium aureolum*. Barras de escala: 10 μ m.

Figura 1.4.3. Quistes de resistencia de dinoflagelados registrados en sedimentos de las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes durante 2020. **A.** *Gyrodinium undulans*. **B.** *Polykrikos schwartzii*. **C.** *Polykrikos* sp. 1. **D.** No identificado 1. **E.** No identificado 2. **F.** No identificado 4. **G.** No identificado 8. **H.** No identificado 9. **I.** No identificado 10. **J.** No identificado 13. **K.** No identificado 14. **L.** No identificado 27. **M.** No identificado 34. **N.** No identificado 36. **Ñ.** No identificado 42. **O.** No identificado 43. Barras de escala: 10 μ m.

Tabla 1.4.1. Diversidad y abundancia de quistes (quistes cm^{-3} de sedimento húmedo) obtenidos en sedimentos de la región de Los Lagos durante otoño-invierno 2020.

Tabla 1.4.2. Diversidad y abundancia de quistes (quistes cm^{-3} de sedimento húmedo) obtenidos en sedimentos de la región de Los Lagos durante primavera 2020.

Tabla 1.4.3. Diversidad y abundancia de quistes (quistes cm^{-3} de sedimento húmedo) obtenidos en sedimentos de la región de Aysén durante otoño-invierno 2020.

Tabla 1.4.4. Diversidad y abundancia de quistes (quistes cm^{-3} de sedimento húmedo) obtenidos en sedimentos de la región de Aysén durante primavera 2020.

Tabla 1.4.5. Diversidad y abundancia de quistes (quistes cm^{-3} de sedimento húmedo) obtenidos en sedimentos de la región de Magallanes durante otoño-invierno 2020.



Tabla 1.4.6. Diversidad y abundancia de quistes (quistes cm^{-3} de sedimento húmedo) obtenidos en sedimentos de la región de Magallanes durante primavera 2020.

Figura 1.4.4. Abundancia total (quistes $\times \text{cm}^{-3}$) de quistes de dinoflagelados en sedimento superficial de la región de Los Lagos durante muestreo de otoño-invierno 2020.

Figura 1.4.5. Abundancia total (quistes $\times \text{cm}^{-3}$) de quistes de dinoflagelados en sedimento superficial de la región de Aysén durante muestreo de otoño-invierno 2020.

Figura 1.4.6. Abundancia total (quistes $\times \text{cm}^{-3}$) de quistes de dinoflagelados en sedimento superficial de la región de Magallanes durante muestreo de otoño-invierno 2020.

Figura 1.4.7. Abundancia total (quistes $\times \text{cm}^{-3}$) de quistes de dinoflagelados en sedimento superficial de la región de Los Lagos durante muestreo de primavera 2020.

Figura 1.4.8. Abundancia total (quistes $\times \text{cm}^{-3}$) de quistes de dinoflagelados en sedimento superficial de la región de Aysén durante muestreo de primavera 2020.

Figura 1.4.9. Abundancia total (quistes $\times \text{cm}^{-3}$) de quistes de dinoflagelados en sedimento superficial de la región de Magallanes durante muestreo de primavera 2020.

Figura 1.4.10. Abundancia (quistes $\times \text{cm}^{-3}$) de quistes de *A. catenella* en sedimento superficial de la región de Los Lagos durante muestreo de otoño-invierno 2020.

Figura 1.4.11. Abundancia (quistes $\times \text{cm}^{-3}$) de quistes de *A. catenella* en sedimento superficial de la región de Los Lagos durante muestreo de primavera 2020.

Figura 1.4.12. Abundancia (quistes $\times \text{cm}^{-3}$) de quistes de *P. reticulatum* en sedimento superficial de la región de Los Lagos durante muestreo de otoño-invierno 2020.

Figura 1.4.13. Abundancia (quistes $\times \text{cm}^{-3}$) de quistes de *P. reticulatum* en sedimento superficial de la región de Los Lagos durante muestreo de primavera 2020.

Figura 1.4.14. Abundancia (quistes $\times \text{cm}^{-3}$) de quistes de *A. catenella* en sedimento superficial de la región de Aysén durante muestreo de otoño-invierno 2020.

Figura 1.4.15. Abundancia (quistes $\times \text{cm}^{-3}$) de quistes de *A. catenella* en sedimento superficial de la región de Aysén durante muestreo de primavera 2020.

Figura 1.4.16. Abundancia (quistes $\times \text{cm}^{-3}$) de quistes de *A. ostenfeldii* en sedimento superficial de la región de Aysén durante muestreo de otoño-invierno 2020.



Figura 1.4.17. Abundancia (quistes $\times \text{cm}^{-3}$) de quistes de *P. reticulatum* en sedimento superficial de la región de Aysén durante muestreo de otoño-invierno 2020.

Figura 1.4.18. Abundancia (quistes $\times \text{cm}^{-3}$) de quistes de *P. reticulatum* en sedimento superficial de la región de Aysén durante muestreo de primavera 2020.

Figura 1.4.19. Abundancia (quistes $\times \text{cm}^{-3}$) de quistes de *A. ostenfeldii* en sedimento superficial de la región de Magallanes durante muestreo de otoño-invierno 2020.

Figura 1.4.20. Abundancia (quistes $\times \text{cm}^{-3}$) de quistes de *P. reticulatum* en sedimento superficial de la región de Magallanes durante muestreo de otoño-invierno 2020.

Figura 2.1.1. Ubicación de las estaciones de marea roja (rojo) y datos del modelo atmosférico (azul).

Figura 2.1.2. Sistema de modelación que incluye los módulos físicos (hidrodinámico, atmosférico, hidrológico) y biológico (*A. catenella*).

Figura 2.1.3. Malla desestructurada y dominio del modelo de la región de Aysén.

Figura 2.1.4. Dominio y batimetría del modelo.

Tabla 2.1.1. Parámetros el modelo NPDZ.

Figura 2.1.5. Esquema del modelo NPZD.

Tabla 2.1.2. Tasas experimentos factoriales realizados con la cepa de *Alexandrium catenella* de Aysén y Magallanes. Las tasas fueron obtenidas a diferentes combinaciones de luz (50, 100 y 150 μE), nutrientes (2.2, 4.4 y 8.8 μM), salinidad (15, 25 y 35 psu) y temperatura (12, 15 17 $^{\circ}\text{C}$).

Figura 2.1.6. Condiciones iniciales de *A. catenella*.

Figura 2.1.7. Ubicación del anclaje.

Figura 2.1.8. Distribución latitudinal de abundancia relativa de *A. catenella* registrada durante los años 2017-2018 y promedio mensual de abundancia relativa de *A. catenella* desde 2006 al 2019.

Figura 2.1.9. Promedio mensual de viento y en líneas negras las isobaras de presión atmosférica (hPa) en el Canal Moraleda.

Figura 2.1.10. Radiación solar promedio mensual en el Canal Moraleda.



Figura 2.1.11. Series de tiempo horario de nivel del mar observado (negro) y modelado (azul) para fiordo Puyuhuapi.

Figura 2.1.12. Series de tiempo de temperatura en canal Moraleda: a 20 m (a) y 120 m (b), canal Costa a 20 m (c) y 120 m (d) y en fiordo Quitralco a 15 m (e) y 110 m (f) para valores observados (negro) y modelados (rojo).

Figura 2.1.13. Series de tiempo observadas (negro) y modeladas (gris) para a) presión atmosférica, b) Temperatura del aire a 10 m y c) Magnitud del viento en un punto ubicado en Melinka.

Figura 2.1.14. Diagrama de temperatura-salinidad asociado a nitrato (μM) disuelto para los datos de ubicados en boca del Guafo. Las líneas punteadas de color gris se corresponden a las isopícnas y en línea negra los porcentajes de contribución de las masas de agua.

Figura 2.1.15.: Distribución latitudinal de abundancia relativa modelada para los años 2017 y 2018.

Figura 2.1.16. Series de tiempo de temperatura y salinidad promedios del modelo hidrodinámico (azul) y series de tiempo de las respuestas a la función de temperatura y salinidad promedios del modelo biológico (naranja) de todas las estaciones de marea roja del modelo a 5m de profundidad.

Figura 2.1.17. Series de tiempo de tasa de mortalidad promedio simulada de todas las estaciones de marea roja del modelo a 5m de profundidad.

Figura 2.1.18. Series de tiempo de la tasa de crecimiento simulada dependiente de radiación, temperatura y salinidad de *A. catenella* para las estaciones de marea roja a 5m.

Figura 2.1.19. Series de tiempo concentración promedio y desviación estándar de *A. catenella* modelada para las estaciones de marea roja en los primeros 10m.

Figura 2.1.20. Series de tiempo de la tasa máxima de crecimiento bajo condiciones óptimas de temperatura y salinidad promedio simulada de *A. catenella* para las estaciones de marea roja a los 5m.

Figura 2.2.1. Tasas de máximo crecimiento de *A. catenella* a distintos rangos de temperatura y salinidad.

Tabla 2.2.1. Parámetros utilizados en el modelo biológico.

Figura 2.2.2. Tasas de máximo crecimiento de *A. catenella* a distintos rangos de luz y nutrientes.

Tabla 2.2.2. Comparación de tasas de germinación de *A. catenella*.



Figura 2.4.1 Perfiles de abundancias de diatomeas, dinoflagelados, silicato, nitrato y fosfato, la línea gris punteada corresponde a la piconclina en Isla Ovalada.

Figura 2.4.2. Temperatura y salinidad en el anclaje de Isla Ovalada, los triángulos las fechas de toma de muestras biológicas.

Figura 2.4.3. Series de tiempo de componente magnitud del viento y radiación solar en la estación meteorológica de Melinka.

Figura 3.1.1. Representación gráfica de series temporales para dos estaciones de muestreo a) A03- Puerto Barrientos y b) M16 Isla Piazzì. Las variables graficadas (en orden descendente) son las siguientes: abundancia relativa, densidad celular de *A. catenella*, Toxinas asociadas, porcentaje de abundancia microfitoplancton, temperatura y salinidad.

Figura 3.1.2. Análisis de CLUSTER para la matriz de datos de **fitoplancton total** de la macro-región sur-austral (L: región de Los Lagos; A: región de Aysén; M: región de Magallanes). Los símbolos indican las estaciones por región y las líneas rojas indican las estaciones que significativamente (5%) se encuentran agrupadas por el test SIMPROF.

Figura 3.1.3. Análisis de CLUSTER para la matriz de datos de **diatomeas total** de la macro-región sur-austral (L: región de Los Lagos; A: región de Aysén; M: región de Magallanes). Los símbolos indican las estaciones por región y las líneas rojas indican las estaciones que significativamente (5%) resultaron agrupadas por el test SIMPROF.

Figura 3.1.4. Análisis de CLUSTER para la matriz de datos de **dinoflagelados total** de la macro-región sur-austral (L: región de Los Lagos; A: región de Aysén; M: región de Magallanes). Los símbolos indican las estaciones por región y las líneas rojas indican las estaciones que significativamente (5%) se encuentran agrupadas. La elipse azul, indica un conglomerado, conformado por una estación ubicada al norte de Los Lagos, y dos estaciones del sector norte de Aysén.

Figura 3.1.5. Representaciones gráficas nMDS de los conglomerados resultantes del análisis de CLUSTER para el grupo **fitoplancton total** de la región de Los Lagos (L). Las estaciones significativamente agrupadas (nivel de confianza 5%, prueba SIMPROF), están delineados con una línea elíptica.

Figura 3.1.6. Representaciones gráficas nMDS de los conglomerados resultantes del análisis de CLUSTER para el grupo **fitoplancton total** de la región de Aysén (A). Las estaciones significativamente agrupadas (nivel de confianza 5%, prueba SIMPROF), están delineados con una línea elíptica.

Figura 3.1.7. Representaciones gráficas nMDS de los conglomerados resultantes del análisis de CLUSTER para el grupo **fitoplancton total** de la región de Magallanes (M). Las estaciones



significativamente agrupadas (nivel de confianza 5%, prueba SIMPROF), están delineados con una línea elíptica.

Figura 3.1.8. Representaciones gráficas nMDS de los conglomerados resultantes del análisis de CLUSTER para el grupo **diatomeas** de la región de Los Lagos (L). Las estaciones significativamente agrupadas (nivel de confianza 5%, prueba SIMPROF), están delineados con una línea elíptica.

Figura 3.1.9. Representaciones gráficas nMDS de los conglomerados resultantes del análisis de CLUSTER para el grupo **diatomeas** de la región de Aysén (A). Las estaciones significativamente agrupadas (nivel de confianza 5%, prueba SIMPROF), están delineados con una línea elíptica.

Figura 3.1.10. Representaciones gráficas nMDS de los conglomerados resultantes del análisis de CLUSTER para el grupo **diatomeas** de la región de Magallanes (M). Las estaciones significativamente agrupadas (nivel de confianza 5%, prueba SIMPROF), están delineados con una línea elíptica.

Figura 3.1.11. Representaciones gráficas nMDS de los conglomerados resultantes del análisis de CLUSTER para el grupo **dinoflagelados** de la región de Los Lagos (L). Las estaciones significativamente agrupadas (nivel de confianza 5%, prueba SIMPROF), están delineados con una línea elíptica.

Figura 3.1.12. Conglomerados resultantes del análisis de CLUSTER para el grupo **dinoflagelados** de la región de Los Lagos (L). Los grupos de estaciones significativos (nivel de confianza 5%, prueba SIMPROF), se muestran en líneas rojas e igual símbolo.

Figura 3.1.13. Distribución geográfica de los conglomerados significativos, resultantes del análisis de CLUSTER para el grupo **dinoflagelados** de la región de Los Lagos (L).

Figura 3.1.14. Representaciones gráficas nMDS de los conglomerados resultantes del análisis de CLUSTER para el grupo **dinoflagelados** de la región de Aysén (A). Las estaciones significativamente agrupadas (nivel de confianza 5%, prueba SIMPROF), están delineados con una línea elíptica.

Figura 3.1.15. Conglomerados resultantes del análisis de CLUSTER para el grupo **dinoflagelados** de la región de Aysén (A). Los grupos de estaciones significativos (nivel de confianza 5%, prueba SIMPROF), se muestran en líneas rojas e igual símbolo.

Figura 3.1.16. Distribución geográfica de los conglomerados significativos, resultantes del análisis de CLUSTER para el grupo **dinoflagelados** de la región de Aysén (A).

Figura 3.1.17. Representaciones gráficas nMDS de los conglomerados resultantes del análisis de CLUSTER para el grupo **dinoflagelados** de la región de Magallanes (M). Las estaciones



significativamente agrupadas (nivel de confianza 5%, prueba SIMPROF), están delineados con una línea elíptica.

Figura 3.1.18. Conglomerados resultantes del análisis de CLUSTER para el grupo **dinoflagelados** de la región de Magallanes (M). Los grupos de estaciones significativos (nivel de confianza 5%, prueba SIMPROF), se muestran en líneas rojas e igual símbolo.

Figura 3.1.19. Distribución geográfica de los conglomerados significativos, resultantes del análisis de CLUSTER para el grupo **dinoflagelados** de la región de Magallanes Norte (M).

Figura 3.1.20. Distribución geográfica de los conglomerados significativos, resultantes del análisis de CLUSTER para el grupo **dinoflagelados** de la región de Magallanes Centro-Sur (M).

Figura 3.1.21. Distribución temporal de los promedios de abundancia absoluta (N° células L^{-1}) de **fitoplancton total**, por estación del año: Primavera (p), verano (v), otoño (o) e invierno (i), (sin considerar el año), para la macrozona sur-austral en el periodo octubre 2007-febrero 2019.

Figura 3.1.22. Distribución temporal de los promedios de abundancia absoluta (N° células L^{-1}) de **diatomeas**, por estación del año: Primavera (p), verano (v), otoño (o) e invierno (i), (sin considerar el año), para la macrozona sur-austral en el periodo octubre 2007-febrero 2019.

Figura 3.1.23. Distribución temporal de los promedios de abundancia absoluta (N° células L^{-1}) de **dinoflagelados**, por estación del año: Primavera (p), verano (v), otoño (o) e invierno (i), (sin considerar el año), para la macrozona sur-austral en el periodo octubre 2007-febrero 2019.

Figura 3.1.24. Patrón estacional de los promedios de abundancia absoluta (N° células L^{-1}) por región de **fitoplancton**, por estación del año: Primavera (p), verano (v), otoño (o) e invierno (i), (sin considerar el año), para la macrozona sur-austral en el periodo octubre 2007-febrero 2019.

Figura 3.1.25. Patrón estacional de los promedios de abundancia absoluta (N° células L^{-1}) por región de **diatomeas**, por estación del año: Primavera (p), verano (v), otoño (o) e invierno (i), (sin considerar el año), para la macrozona sur-austral en el periodo octubre 2007-febrero 2019.

Figura 3.1.26. Patrón estacional de los promedios de abundancia absoluta (N° células L^{-1}) por región de **dinoflagelados**, por estación del año: Primavera (p), verano (v), otoño (o) e invierno (i), (sin considerar el año), para la macrozona sur-austral en el periodo octubre 2007-febrero 2019.

Figura 3.1.27. Concentraciones de fosforo ($PO_4 \mu M$) y de nitrato+nitrato ($NO_2+NO_3 \mu M$) del estrato 0-10m durante los meses de diciembre 2017 a abril 2018 para la región de Los Lagos.

Figura 3.1.28. Concentraciones de fosforo ($PO_4 \mu M$) y de nitrato+nitrato ($NO_2+NO_3 \mu M$) del estrato 0-10m durante los meses de diciembre 2017 a abril 2018 para la región de Aysén.



Figura 3.1.29. Concentraciones de fosforo ($\text{PO}_4 \mu\text{M}$) y de nitrito+nitrato ($\text{NO}_2+\text{NO}_3 \mu\text{M}$) del estrato 0-10m durante los meses de diciembre 2017 a abril 2018 para la región de Magallanes.

Figura 3.1.30. Concentraciones de fosforo ($\text{PO}_4 \mu\text{M}$) y de nitrito+nitrato ($\text{NO}_2+\text{NO}_3 \mu\text{M}$) del estrato 0-10m durante los meses de diciembre 2018 a abril 2019 para la región de Los Lagos.

Figura 3.1.31. Concentraciones de fosforo ($\text{PO}_4 \mu\text{M}$) y de nitrito+nitrato ($\text{NO}_2+\text{NO}_3 \mu\text{M}$) del estrato 0-10m durante los meses de diciembre 2018 a abril 2019 para la región de Aysén.

Figura 3.1.32. Concentraciones de fosforo ($\text{PO}_4 \mu\text{M}$) y de nitrito+nitrato ($\text{NO}_2+\text{NO}_3 \mu\text{M}$) del estrato 0-10m durante los meses de diciembre 2018 a abril 2019 para la región de Magallanes.

Figura 3.1.33. Concentraciones de fosforo ($\text{PO}_4 \mu\text{M}$) y de nitrito+nitrato ($\text{NO}_2+\text{NO}_3 \mu\text{M}$) del estrato 0-10m durante los meses de diciembre 2019 a marzo 2020 para la región de Los Lagos.

Figura 3.1.34. Concentraciones de fosforo ($\text{PO}_4 \mu\text{M}$) y de nitrito+nitrato ($\text{NO}_2+\text{NO}_3 \mu\text{M}$) del estrato 0-10m durante los meses de diciembre 2019 a marzo 2020 para la región de Aysén.

Figura 3.1.35. Concentraciones de fosforo ($\text{PO}_4 \mu\text{M}$) y de nitrito+nitrato ($\text{NO}_2+\text{NO}_3 \mu\text{M}$) del estrato 0-10m durante los meses de diciembre 2019 a marzo 2020 para la región de Magallanes.

Figura 3.3.1. Abundancia (Cel. Litro) de *A. catenella* en distinta profundidad (grafico superior estrato 0-10 m; grafico inferior estrato 10-20 m), salinidad, temperatura y zonas. Datos tomados entre 2013 al 2019 desde 11 estaciones de Chiloé Sur (L20, L20N1, L19, L18N2, L18, L19N2, L19N3, L19N4, L23, L24, L22), 6 estaciones de Raúl Marín Balmaceda (A08N3, A08N2, A08N1, A08, A07, A06) y 6 de Melinka (A02, A04, A04N1, A05, A34, A11N1).

Figura 3.3.2. Abundancia (Cel. Litro) de *Alexandrium ostenfeldii* en distinta profundidad (grafico superior estrato 0-10 m; grafico inferior estrato 10-20 m), salinidad, temperatura y zonas. Datos tomados entre 2013 al 2019 desde 11 estaciones de Chiloé Sur (L20, L20N1, L19, L18N2, L18, L19N2, L19N3, L19N4, L23, L24, L22), 6 estaciones de Raúl Marín Balmaceda (A08N3, A08N2, A08N1, A08, A07, A06) y 6 de Melinka (A02, A04, A04N1, A05, A34, A11N1).

Figura 3.3.3. Abundancia (Cel. Litro) de *Protoceratium reticulatum* en distinta profundidad (grafico superior estrato 0-10 m; grafico inferior estrato 10-20 m), salinidad, temperatura y zonas. Datos tomados entre 2013 al 2019 desde 11 estaciones de Chiloé Sur (L20, L20N1, L19, L18N2, L18, L19N2, L19N3, L19N4, L23, L24, L22), 6 estaciones de Raúl Marín Balmaceda (A08N3, A08N2, A08N1, A08, A07, A06) y 6 de Melinka (A02, A04, A04N1, A05, A34, A11N1).

Figura 3.3.4. Abundancia (Cel. Litro) de *Dinophysis acuminata* en distinta profundidad (grafico superior estrato 0-10 m; grafico inferior estrato 10-20 m), salinidad, temperatura y zonas. Datos tomados entre



2013 al 2019 desde 11 estaciones de Chiloé Sur (L20, L20N1, L19, L18N2, L18, L19N2, L19N3, L19N4, L23, L24, L22), 6 estaciones de Raúl Marín Balmaceda (A08N3, A08N2, A08N1, A08, A07, A06) y 6 de Melinka (A02, A04, A04N1, A05, A34, A11N1).

Figura 3.3.5. Abundancia (Cel. Litro) de *Dinophysis acuta* en distinta profundidad (grafico superior estrato 0-10 m; grafico inferior estrato 10-20 m), salinidad, temperatura y zonas. Datos tomados entre 2013 al 2019 desde 11 estaciones de Chiloé Sur (L20, L20N1, L19, L18N2, L18, L19N2, L19N3, L19N4, L23, L24, L22), 6 estaciones de Raúl Marín Balmaceda (A08N3, A08N2, A08N1, A08, A07, A06) y 6 de Melinka (A02, A04, A04N1, A05, A34, A11N1).

Tabla 3.3.1. Tabla de ANOVA para dinoflagelados tecados nocivos efectos de salinidad y temperatura.

Tabla 3.3.2. Tabla de coeficientes obtenidos de la regresión logística para las especies toxicas.

Figura 3.3.6. Abundancia celular de los taxones nocivos observada entre 2013-2019. El número de observaciones positivas (presencia) por especies se muestra en el eje X (N). El gráfico no considera los valores de cero lo cuales fueron eliminados. Datos tomados desde 11 estaciones de Chiloé Sur (L20, L20N1, L19, L18N2, L18, L19N2, L19N3, L19N4, L23, L24, L22), 6 estaciones de Raúl Marín Balmaceda (A08N3, A08N2, A08N1, A08, A07, A06) y 6 de Melinka (A02, A04, A04N1, A05, A34, A11N1).

Figura 3.3.7. Presencia de los taxones tóxicos en rangos de salinidad-temperatura. Datos tomados entre 2013 al 2019 desde 11 estaciones de Chiloé Sur (L20, L20N1, L19, L18N2, L18, L19N2, L19N3, L19N4, L23, L24, L22), 6 estaciones de Raúl Marín Balmaceda (A08N3, A08N2, A08N1, A08, A07, A06) y 6 de Melinka (A02, A04, A04N1, A05, A34, A11N1).

Figura 3.3.8. Correlación entre la AR y la abundancia celular (tomada desde el estrato 0-10 m) para dinoflagelados tecados nocivos.

Figura 3.3.9. Correlación entre la AR y la abundancia celular (tomada desde el estrato 0-10 m) para dinoflagelados tecados nocivos.

Figura 3.3.10. Probabilidad de la presencia de las especies toxicas estimadas por zonas, años, meses. Gráficos del lado derecho corresponden al análisis de la base de datos cualitativa. Gráficos del lado izquierdo corresponden al análisis de la base de datos cuantitativa transformada. Los números en las barras muestran los valores de probabilidad por especie más altos sin diferencias significativas (Tukey HSD).

Tabla 3.3.3. Tabla ANOVA resultados de la evaluación de efectos de las zonas, estratos, años y meses sobre la probabilidad de presencia de las especies toxicas. Base de datos cuantitativa transformada.



Tabla 3.3.4. Test a posteriori Tukey HSD y valores medios de probabilidad de presencia de las especies tóxicas para la base de datos cuantitativa transformada.

Tabla 3.3.5. Tabla ANOVA resultados de la evaluación de efectos de las zonas, años y meses sobre la probabilidad de presencia de las especies tóxicas. Base de datos cualitativa.

Tabla 3.3.6. Test a posteriori Tukey HSD y valores medios de probabilidad de presencia de las especies tóxicas para la base de datos cualitativa.

Figura 3.3.11. Distribución de las sumatorias de las abundancias relativas para *Alexandrium catenella* para el lapso octubre de 2007 y febrero de 2020 por nivel estimado, según la escala entre 0 (ausente) y 10 (>mega abundante). A: primer decil para las primeras 15 localidades (mayor a menor); b: cuatro localidades centinela mostradas en conjunto; C, D, E y F, distribución por localidad elegida como centinela. Eje X= escala de abundancia relativa (0,1,2, 3.....8,9,10); eje Y= sumatoria de las abundancias relativas.

Figura 3.3.12. Sumatorias de las abundancias relativas de *Alexandrium catenella*, distribuidas en orden decreciente por fecha de muestreo, según datos mensuales obtenidos de 146 localidades, entre octubre de 2007 y febrero de 2020.

Figura 3.4.1 Escalamiento dimensional no métrico de los resultados del análisis de conglomerados entre localidades aplicado a los datos mensuales de abundancia relativa de *Dinophysis acuminata* (Dam), *Protoceratium reticulatum* (Pr), *Alexandrium catenella* (Ac), *Alexandrium ostenfeldii* (Ao) y *Dinophysis acuta* (Dat) entre octubre de 2007 y febrero de 2019.

Figura 3.4.2. Dendrograma y escalamiento dimensional no métrico de los resultados del análisis de conglomerados entre periodos estacionales del año, aplicado a los datos mensuales de abundancia relativa de *Dinophysis acuminata* (Dam), *Protoceratium reticulatum* (Pr), *Alexandrium catenella* (Ac), *Alexandrium ostenfeldii* (Ao) y *Dinophysis acuta* (Dat) entre octubre de 2007 y febrero de 2019. (P) primavera, (V) verano, (O) otoño, (I) invierno entre 2007 y 2018.

Figura 3.4.3. Gráficos de dispersión de las sumatorias de las estimaciones de abundancia relativa por localidad para cada taxón versus la temperatura (TEM) y la salinidad (SAL) del agua de mar entre octubre de 2007 y diciembre de 2018. *Alexandrium catenella* (ACA), *Alexandrium ostenfeldii* (AOS), *Dinophysis acuminata* (DAM), *Dinophysis acuta* (DAT) y *Protoceratium reticulatum* (PRE) n= 146.

Figura 3.5.1. Abundancia fitoplanctónica total (cell-1) para a) Diatomeas estrato 0-10 metros (verde claro) y estrato 10-20 metros (verde oscuro) y b) dinoflagelados, estrato 0-10 metros (burdeo) y estrato 10-20 metros (naranja) para cada una de las estaciones de las tres zonas administrativas correspondiente a la región de Los Lagos.



Figura 3.5.2. Abundancia fitoplanctónica total (cell L^{-1}) para a) Diatomeas estrato 0-10 metros (verde claro) y estrato 10-20 metros (verde oscuro) y b) dinoflagelados, estrato 0-10 metros (burdeo) y estrato 10-20 metros (naranja) para cada una de las estaciones de las tres zonas administrativas correspondiente a la región de Aysén.

Figura 3.5.3. Abundancia fitoplanctónica total (cel L^{-1}) para a) Diatomeas estrato 0-10 metros (verde claro) y estrato 10-20 metros (verde oscuro) y b) dinoflagelados, estrato 0-10 metros (burdeo) y estrato 10-20 metros (naranja) para cada una de las estaciones de las tres zonas administrativas correspondiente a la región de Magallanes.

Figura 3.5.4. Análisis de correlaciones y nivel de significancia entre estrato superficial (0-10 m) y estrato subsuperficial (10-20 m) para abundancias totales (cel L^{-1}) de diatomeas (círculos verdes) y dinoflagelados (círculos naranjos), para las tres zonas administrativas de la región de Los Lagos.

Figura 3.5.5. Análisis de correlaciones y nivel de significancia entre estrato superficial (0-10 m) y estrato subsuperficial (10-20 m) para abundancias totales (cel L^{-1}) de diatomeas (círculos verdes) y dinoflagelados (círculos naranjos), para las tres zonas administrativas de la región de Aysén.

Figura 3.5.6. Análisis de correlaciones y nivel de significancia entre estrato superficial (0-10 m) y estrato subsuperficial (10-20 m) para abundancias totales (cel L^{-1}) de diatomeas (círculos verdes) y dinoflagelados (círculos naranjos), para las tres zonas administrativas de la región de Magallanes.

Tabla 3.5.1. Análisis ANOVA realizada por especie para ver diferencias entre los estratos de 0-10 metros y 10-20 metros.

Figura 3.5.7. Contribución porcentual de las abundancias de las diferentes especies de diatomeas de la región de Los Lagos. Los gráficos de la izquierda (a, c y e) muestran el estrato superficial (0-10 m), mientras que las figuras de la derecha (b, d y f) muestran el estrato de 10-20 m.

Figura 3.5.8. Contribución porcentual de las abundancias de las diferentes especies de diatomeas de la región de Aysén. Los gráficos de la izquierda (a, c y e) muestran el estrato superficial (0-10 m), mientras que las figuras de la derecha (b, d y f) muestran el estrato de 10-20 m.

Figura 3.5.9. Contribución porcentual de las abundancias de las diferentes especies de diatomeas de la región de Magallanes. Los gráficos de la izquierda (a, c y e) muestran el estrato superficial (0-10 m), mientras que las figuras de la derecha (b, d y f) muestran el estrato de 10-20 m.

Tabla 3.5.2. Índices de dominancia (Simpson (D')) y diversidad (Shannon (H')) para las especies de diatomeas y dinoflagelados de las tres regiones administrativas, para ambas etapas y estratos.



Figura 3.5.10. Contribución porcentual de las abundancias de las diferentes especies de dinoflagelados de la región de Los Lagos. Los gráficos de la izquierda (a, c y e) muestran el estrato superficial (0-10 m), mientras que las figuras de la derecha (b, d y f) muestran el estrato de 10-20 m.

Figura 3.5.11. Contribución porcentual de las abundancias de las diferentes especies de dinoflagelados de la región de Aysén. Los gráficos de la izquierda (a, c y e) muestran el estrato superficial (0-10 m), mientras que las figuras de la derecha (b, d y f) muestran el estrato de 10-20 m.

Figura 3.5.12. Contribución porcentual de las abundancias de las diferentes especies de dinoflagelados de la región de Magallanes. Los gráficos de la izquierda (a, c y e) muestran el estrato superficial (0-10 m), mientras que las figuras de la derecha (b, d y f) muestran el estrato de 10-20 m.

Figura 3.6.1. Batimetría [m] del área de estudio.

Figura 3.6.2. Campo promedio de clorofila-a [mg m^{-3}] entre enero 2006 hasta junio 2019 (13.5 años = 4929 imágenes)

Figura 3.6.3. Promedio anual de clorofila-a [mg m^{-3}], años 2006 a 2019.

Figura 3.6.4. Promedio estacional de clorofila-a [mg m^{-3}], años 2006 a 2019.

Figura 4.1.1. Detección molecular mediante PCR cuantitativa (qPCR) para las especies *A. catenella*, *A. ostenfeldii* y *P. reticulatum*.

Figura 4.1.2. Riqueza de especies observada para la clase Dinophyceae.

Figura 4.1.3. Abundancia (N° de lecturas) de los géneros pertenecientes a la clase Dinophyceae.

Figura 4.1.4. Riqueza de especies observada para la clase Bacillariophyta.

Figura 4.1.5. Abundancia (N° de lecturas) de los géneros pertenecientes a la clase Bacillariophyta.

Tabla 4.2.1. Concentración de toxinas lipofílicas (HPLC-Ms/Ms) en muestras de agua de la región de Los Lagos

Tabla 4.2.2. Concentración de toxinas lipofílicas (HPLC-Ms/Ms) en muestras de agua de la región de Aysén.

Tabla 4.2.3. Concentración de toxinas lipofílicas (HPLC-Ms/Ms) en muestras de agua de la región de Magallanes



Tabla 4.2.4. Concentración de toxinas paralizantes (HPLC-Ms/Ms) en muestras de agua de la región de Los Lagos

Tabla 4.2.5. Concentración de toxinas paralizantes (HPLC-Ms/Ms) en muestras de agua de la región de Aysén

Tabla 4.2.6. Concentración de toxinas paralizantes (HPLC-Ms/Ms) en muestras de agua de la región de Magallanes.

Tabla 4.3.1. Resultados de análisis de toxinas lipofílicas (HPLC Ms/Ms), TDM (ensayo del ratón) y TAM (HPLC FI) en muestras de moluscos bivalvos colectados en la región de los Lagos.

Tabla 4.3.2. Resultados de análisis de toxinas lipofílicas (HPLC Ms/Ms), TDM (ensayo del ratón) y TAM (HPLC FI) en muestras de moluscos bivalvos colectados en la región de Aysén.

Tabla 4.3.3. Resultados de análisis de toxinas lipofílicas (HPLC Ms/Ms), TDM (ensayo del ratón) y TAM (HPLC FI) en muestras de moluscos bivalvos colectados en la región de Magallanes.

Tabla 4.3.4. Resultados de análisis de toxinas paralizantes (HPLC Ms/Ms), TPM (ensayo del ratón) en muestras de moluscos bivalvos colectados en la región de los Lagos.

Tabla 4.3.5. Resultados de análisis de toxinas paralizantes (HPLC Ms/Ms), TPM (ensayo del ratón) en muestras de moluscos bivalvos colectados en la región de Aysén

Tabla 4.3.6. Resultados de análisis de toxinas paralizantes (HPLC Ms/Ms), TPM (ensayo del ratón) en muestras de moluscos bivalvos colectados en la región de Magallanes

Figura 4.4.1. Filogenia de las secuencias de ADN_r de LSU de la cepa *Heterosigma akashiwo* CREAN_HA03 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. La barra de escala indica el número de cambios por sitio.

Figura 4.4.2. Proporción de pigmentos fotosintéticos (%) derivado del perfil de HPLC de *H. akashiwo* cepa chilena CREAN_HA03.

Tabla 4.4.1. Composición de ácidos grasos en *H. akashiwo* en cultivo (como % del total de ácidos grasos).

Figura 4.5.1. Diseño experimental factorial cruzado utilizado para obtención de tasas de crecimiento de la especie *A. catenella*. Se aprecian las 45 diferentes condiciones experimentales que surgen de la



combinación de 3 temperaturas (12,15,17 °C), 3 intensidades de Luz (50, 100, 150 $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$), 3 salinidades (15, 25, 35 psu) y 3 concentraciones de nutrientes (2,2 - 4,4 - 8,8 μM).

Figura 4.5.2. Tasas de crecimiento específico para los distintos tratamientos. En azul se muestran los datos obtenidos para la cepa de Aysén y en rojo para la cepa de Magallanes.

Figura 4.5.3. Curvas de crecimiento para el tratamiento con constates de temperatura (12°C) y luz (100 μE). En negro se muestran los datos obtenidos para la cepa de Aysén y en rojo para la cepa de Magallanes.

Figura 4.5.4. Curvas de crecimiento para el tratamiento con constates de temperatura (15°C) y luz (45 μE). En negro se muestran los datos obtenidos para la cepa de Aysén y en rojo para la cepa de Magallanes.

Figura 4.5.5. Curvas de crecimiento para el tratamiento con constates de temperatura (15°C) y luz (100 μE). En negro se muestran los datos obtenidos para la cepa de Aysén y en rojo para la cepa de Magallanes.

Figura 4.5.6. Curvas de crecimiento para el tratamiento con constates de temperatura (15°C) y luz (150 μE). En negro se muestran los datos obtenidos para la cepa de Aysén y en rojo para la cepa de Magallanes.

Figura 4.5.7. Curvas de crecimiento para el tratamiento con constates de temperatura (17°C) y luz (100 μE). En negro se muestran los datos obtenidos para la cepa de Aysén y en rojo para la cepa de Magallanes.

Figura 5.1.1. 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 5.1.2. 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 5.1.3. 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 5.1.4. En la sección del menú “Más”, se despliega la información general del Monitoreo, además de noticias, preguntas frecuentes y fotografías.



Figura 5.2.1. Invitación al “taller de difusión de resultados del Programa de manejo y monitoreo de las Floraciones Algales Nocivas y Toxinas Marinas”, realizado el 31 de mayo 2021 de forma remota.

Figura 5.2.2. Participantes del taller de difusión de resultados del Programa de manejo y monitoreo de las Floraciones Algales Nocivas y Toxinas Marinas”, realizado el 31 de mayo 2021 de forma remota.

Figura 5.3.1. Pregunta #1 ¿Has escuchado hablar de Marea Roja?, la cual fue realizada en la encuesta de percepción para alumnos de enseñanza básica (5to y 8vo básico) y enseñanza media (II y IV° medio), para colegios en zonas urbanas y rurales de la región de Los Lagos. Se trabajó con un total de 250 alumnos. Las respuestas fueron Si (verde), No (naranja) y No sabe (celeste).

Figura 5.3.2. Pregunta #2 ¿Crees que este fenómeno se presenta en nuestro país?, la cual fue realizada en la encuesta de percepción para alumnos de enseñanza básica (5to y 8vo básico) y enseñanza media (II y IV° medio), para colegios en zonas urbanas y rurales de la región de Los Lagos. Se trabajó con un total de 250 alumnos. Las respuestas fueron Si (verde), No (naranja) y No sabe (celeste).

Figura 5.3.3. Pregunta #3 ¿La Marea Roja lo asocian a algo positivo?, la cual fue realizada en la encuesta de percepción para alumnos de enseñanza básica (5to y 8vo básico) y enseñanza media (II y IV° medio), para colegios en zonas urbanas y rurales de la región de Los Lagos. Se trabajó con un total de 250 alumnos. Las respuestas fueron Si (verde), No (naranja) y No sabe (celeste).

Figura 5.3.4. Pregunta #4 ¿Crees que las personas pueden morir por Marea Roja?, la cual fue realizada en la encuesta de percepción para alumnos de enseñanza básica (5to y 8vo básico) y enseñanza media (II y IV° medio), para colegios en zonas urbanas y rurales de la región de Los Lagos. Se trabajó con un total de 250 alumnos. Las respuestas fueron Si (verde), No (naranja) y No sabe (celeste).

Figura 5.3.5. Pregunta #5 ¿Sabes con qué organismo, al consumirlo, te puedes intoxicar?, la cual fue realizada en la encuesta de percepción para alumnos de enseñanza básica (5to y 8vo básico) y enseñanza media (II y IV° medio), para colegios en zonas urbanas y rurales de la región de Los Lagos. Se trabajó con un total de 250 alumnos. Las respuestas fueron Si (verde), No (naranja) y No sabe (celeste).

Figura 5.3.6. Pregunta #6 ¿Se imaginan algún síntoma de intoxicación?, la cual fue realizada en la encuesta de percepción para alumnos de enseñanza básica (5to y 8vo básico) y enseñanza media (II y IV° medio), para colegios en zonas urbanas y rurales de la región de Los Lagos. Se trabajó con un total de 250 alumnos. Las respuestas fueron Si (verde), No (naranja) y No sabe (celeste).



ANEXOS

ANEXO 1. SUB-PROGRAMA DE MONITOREO REGULAR: estaciones de monitoreo entre marzo 2020 y febrero de 2021 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 2020 y febrero de 2021 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 2020 y febrero 2021 en un sector de la región de Aysén, incluyendo código, topónimo, sectorización, transvector, institución requirente y coordenadas geográficas.

ANEXO 4. Resúmenes enviados a Congresos.



1. INTRODUCCIÓN

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, (XIV etapa) 2020-2021, correspondiente al período marzo 2020 – febrero 2021, en lo que se refiere al trabajo de terreno.

Si bien las floraciones de *Alexandrium catenella* en fiordos y canales, detectadas a partir de 1972, fueron esporádicas inicialmente y restringidas a la región de Magallanes y Antártica Chilena, paulatinamente fueron siendo detectadas en sectores de menor latitud abarcando actualmente todo el sistema de fiordos. Hoy las evidencias muestran una variedad de taxones nocivos en el sistema fiordos que afectan la salud pública y actividades productivas, como la pesca artesanal, la acuicultura y en menor grado, el turismo. Esta es una realidad que ha sido asumida en forma progresiva, en la que este programa refleja el interés y la necesidad de disponer antecedentes objetivos y oportunos para minimizar los impactos que ocasionan estas floraciones. Desde el punto de vista de la inocuidad de los alimentos afectados por biotoxinas, resta aún por modificar las normas nacionales, orientadas a evaluar las toxinas lipofílicas; la norma oficial sigue siendo el bioensayo ratón, con todas las limitaciones conocidas, no obstante que para fines de exportación se aplica la técnica de espectrometría de masas; y aún está pendiente también una evaluación del uso del bioensayo ratón como técnica rutinaria para evaluar las toxinas paralizantes.

Las secuelas de las floraciones de *Pseudochattonella verruculosa* y *Alexandrium catenella* del verano y otoño de 2016, respectivamente, las floraciones de *A. catenella* de 2018, unido a las diversas floraciones registradas a fines de la primavera de 2020, verano y otoño de 2021, en distintos sectores de los fiordos septentrionales asociados a diatomeas del género *Pseudo-nitzschia* (toxina amnésica) y *Leptocylindrus* (nociva por su morfología), además de la rafidofícea *Heterosigma akashiwo* (ictiotóxica) y el dinoflagelado *Dinophysis acuminata* (pectenotoxinas), todas ocasionan efectos sociales y económicos, que en esta oportunidad, se circunscribieron a las regiones de Los Lagos y de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo. Estos eventos reiteran la imprescindibilidad de contar con un sistema de detección confiable y oportuno, de microalgas nocivas y de toxinas marinas, además de monitorizar las condiciones ambientales asociadas, para disponer de alertas tempranas para usuarios ligados a la extracción de mariscos susceptibles de ser afectados por estas floraciones, o para advertir al sector acuicultor, sin perjuicio de las medidas que deba adoptar la autoridad para resguardar el consumo interno o la calidad de los productos destinados a mercados de exportación. Ello tiene relevancia para proteger la salud pública, pero también facilita la minimización de los impactos sobre actividades productivas, que se desarrollan en el ecosistema marino.

Por otro lado, de manera particular, es necesario conocer la distribución y abundancia de *A. catenella* dado que la legislación y normativa, definen a este taxón como especie plaga FAN (Floración Algal Nociva), y por lo mismo, en determinados sectores, se debe disponer de información para administrar la navegación de “wellboats”, dada la potencialidad de trasladar la forma vegetativa y/o los quistes de esta microalga desde sectores calificados como área plaga hacia aquellos que no han sido declarados como tal. Y también es información pertinente para calificar las categorías definidas en el reglamento



de plagas.

El Programa es de car3cter permanente, desarrollado a trav3s de etapas anuales. Entre marzo de 2020 y febrero de 2021 se ejecut3 la XIV 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 del estero Pitipalena (Ra3l Mar3n Balmaceda), estos dos 3ltimos con una frecuencia de muestreo cada 10 d3as. El detalle y caracter3sticas de cada uno de estos subprogramas se entrega en la metodolog3a por objetivos.

El estudio mantiene la estructura, organizaci3n y cobertura de tem3ticas, pero a fin de simplificar la planificaci3n y facilitar la presentaci3n de resultados, pero sin afectar la calidad y cantidad de actividades consideradas, tal como fue indicado en la etapa previa del Programa, ha disminuido sus objetivos, que en esta oportunidad son cinco objetivos espec3ficos, uno m3s que en la etapa previa, pero sin afectar los compromisos abordados entre las etapas I y XII.

El programa es financiado en su mayor parte por el Ministerio de Econom3a, Fomento y Turismo y en menor grado por el Ministerio de Salud, que asume el costo del an3lisis de biotoxinas en mariscos, y considera cinco objetivos espec3ficos:

(i) El primer objetivo est3 orientado al monitoreo propiamente tal, y desarrollado a trav3s de subprogramas, a) Regular (con muestreo de baja frecuencia: cuasi mensual), b) Fiscalizaci3n y Vigilancia, y c) Ra3l Mar3n Balmaceda (los dos 3ltimos con muestreo de alta frecuencia: cada 10 d3as); en s3ntesis las actividades est3n orientadas a monitorear y analizar las variaciones espacio-temporales de microalgas nocivas, biotoxinas marinas, fitoplancton, quistes de dinoflagelados y de variables hidrogr3ficas y meteorol3gicas en la zona de estudio; (ii) el segundo objetivo contin3a con el desarrollo del modelo f3sico-biol3gico para estimar la distribuci3n y abundancia de *Alexandrium catenella*, en sitios selectos del sistema de fiordos y canales; (iii) el tercer objetivo contin3a con el an3lisis interpretativo de la serie de datos hist3rica, para lograr una mejor comprensi3n de la variabilidad espacio-temporal del fitoplancton y de los taxones nocivos, incluyendo niveles de toxicidad y su relaci3n con variables ambientales; (iv) el cuarto objetivo, incorpora el desarrollo, implementaci3n y utilizaci3n de nuevas t3cnicas de detecci3n de microalgas y de biotoxinas, as3 como mantener en cultivo especies nocivas chilenas que permitan avanzar el conocimiento y comprensi3n de los eventos nocivos; en esta oportunidad en forma adicional se incorporan en este objetivo, la interpretaci3n de los resultados de los experimentos multifactoriales con *A. catenella*; y finalmente (v) el quinto objetivo, est3 orientado a difundir los resultados del programa, realizar acciones de capacitaci3n y fortalecer la vinculaci3n con el medio.



Un párrafo especial debe dedicarse a los efectos de la pandemia COVID-19. Dado que la pandemia ha afectado las actividades humanas con distinta intensidad a nivel global, el desarrollo de la XIV etapa de este programa, no podía estar ajeno a estos efectos. Ellos se originaron según las medidas adoptadas por la autoridad para proteger la salud de las personas, y que se aplicaron de manera diferencial en las tres regiones administrativas que considera este programa, además de las actividades propias de este estudio, trabajo de terreno, trabajo de laboratorio y análisis de gabinete. En cuanto a las medidas de la autoridad, cabe destacar la aplicación de cuarentenas en los meses de marzo y abril, tanto en Tortel en el sur de la región de Aysén del General Carlos Ibañez del Campo, como en Puerto Williams, capital de la provincia Antártica de la región de Magallanes y Antártica Chilena, asimismo en esta última región hubo restricciones que impidieron iniciar el trabajo de terreno en marzo, comenzando efectivamente en mayo de 2020. En la región de Aysén ocurrieron los mismos efectos, pero el trabajo de terreno fue más afectado en el sector de Tortel, por las razones indicadas. En la región de Los Lagos, las dificultades mayores surgieron por la dificultad de calificar como actividad esencial el trabajo abordado, y recién en julio de 2020 se logró un oficio respaldatorio suscrito por la Subsecretaria de Salud Pública Dra. Paulina Daza, de tal forma que, desde agosto de 2020 fue posible enfrentar debidamente el trabajo de terreno, sin perjuicio del cumplimiento de los protocolos impuestos por la autoridad y el propio Instituto de Fomento Pesquero. También hubo situaciones de personal de terreno con resultados de PCR positivos a SARS CoV-2, como también contactos estrechos, que complicaron el normal desarrollo, incluso con cuarentenas de personal, con resultado negativos, pero que estuvieron implicados en contacto estrecho (casos en las tres regiones administrativas).

No obstante, todas las actividades que implicaban muestreos mensuales, pudieron completarse, abordando los 11 cruceros comprometidos en 8 de los 9 sectores en que ha dividido el área de estudio; la excepción fue el sector Chiloé sur, que considera un trabajo de terreno con una frecuencia de muestreo cada 10 días (31 cruceros en 12 meses), y el efecto de las medidas por la pandemia, además de las habituales limitaciones por condiciones climáticas, determinaron que finalmente se realizaran 28 de 31 cruceros comprometidos (esto implica sólo 10 cruceros regulares de los 11 comprometidos), y con fecha de término, no en febrero de 2021, sino que en abril de este año. Los tres cruceros pendientes serán incorporados en la XV etapa de este programa. En cuanto trabajo de laboratorio, los efectos se manifestaron de forma diferencial entre regiones, pero en todas, el trabajo presencial debió abordarse aplicando turnos, para respetar los aforos, y con jornadas parciales, que, hasta julio de 2021, aún persisten, no obstante, ello, se ha logrado abordar debidamente el trabajo, pero desarrollado más lentamente, y por lo mismo hubo que solicitar una prórroga en la entrega del informe final, desde el 30 de abril al 15 de julio. El trabajo de laboratorio ligado al desarrollo de experimentos o análisis de laboratorio, o mantención de cultivos de microalgas, también se enfrentó con ingreso por turnos, y se ha logrado mantener los cultivos de microalgas de Puerto Montt y Punta Arenas, y desarrollar los distintos experimentos y análisis biológico moleculares o químicos comprometidos. Algo similar para el análisis de nutrientes, lo cual se realiza con un autoanalizador instalado en Puerto Montt, pero en este caso, no se ha logrado abordar la totalidad del trabajo comprometido, tiene retraso, pero dado que las muestras han sido recogidas, esta información estará disponible, para el mes de septiembre de 2021, con posterioridad a que este informe final haya sido entregado. En el análisis químico de muestras para



la detección de toxinas, se ha enfrentado también con las mismas restricciones tanto lo que se efectúa en Punta Arenas (HPLC) como en Puerto Montt (HPLC-MS MS) pero se ha podido cumplir oportunamente, lo mismo ocurre con los análisis de muestras tanto por PCR como metabarcoding, lo cual ha sido abordado también en la ocasión requerida. Finalmente, el trabajo de gabinete, ha sido realizado a distancia, con un compromiso que debe ser destacado, por la seriedad y responsabilidad con que ha sido abordado por el equipo de trabajo ligado a este programa.

Las tablas, cuadros y figuras están numeradas en forma correlativa dentro de cada objetivo específico, precedidas por el número del objetivo a que están vinculadas, seguido por el número de la actividad respectiva de ese objetivo (e.g. Fig. 2.1.5, corresponde a una figura del objetivo 2, de la primera actividad y a la quinta figura de esa actividad). Por tanto, los números correlativos de los cuadros, tablas y figuras están acotados por actividad de cada objetivo específico. En los anexos la numeración es correlativa y no está vinculada a ningún objetivo. Además, para facilitar la lectura de este informe final, dado que las figuras y las tablas se presentan en un tomo anexo (Tomo II), en esta oportunidad, además de ordenar el índice por objetivo, también se presentan de manera conjunta las figuras y tablas referidas a un mismo tema, evitando que éstas queden separadas, como ocurría previamente dado que las figuras se presentaban segregadas de las tablas.



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 o de otro tipo (e.g. nocivas por su morfología), afectando la salud pública y las actividades económicas y al entorno social, particularmente aquellas ligadas a la pesca, acuicultura y al turismo. Durante los últimos 50 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*, *Heterosigma*, *Karlodinium*, entre otros, siendo *Alexandrium*, *Pseudochattonella*, *Heterosigma* y *Karenia*, los que han provocado los impactos más severos desde el punto de vista de la salud pública, social y económico.

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](#)). Actualmente la definición se extiende también hacia floraciones nocivas de macroalgas. Los impactos que ocasionan sobre el ser humano 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 antidotos para las toxinas que producen algunas microalgas, la falta o lo limitado de las 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 las limitadas capacidades para 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. En este



contexto, se entiende por prevención a todo el conjunto de acciones orientadas a minimizar los efectos de las floraciones nocivas y/o brotes tóxicos sobre las personas y las actividades productivas, una de cuyas fuertes de información más importantes es la monitorización sistemática de las variables ambientales claves relativas a esta temática. Pero se incluyen también en este concepto todas las normas desarrolladas al efecto, el desarrollo de capacidades de todo tipo, incluyendo las habilidades cognitivas y conductas responsables de las comunidades que son afectadas por este tipo de eventos.

En Chile, la preocupación en torno a las floraciones de algas nocivas ha estado centrada en proteger la salud pública y 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, complementado lo indicado en un párrafo previo, 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 FAN 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, minimizar los impactos sobre actividades productivas 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.

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 interés, 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 2020 e inicios de 2021, este taxón no se ha presentado en condiciones de floración. Durante tres últimos años, en el extremo norte de Aysén y el extremo sur de Chiloé, 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. Sin embargo, si ha ocurrido un brote de toxina amnésica de los mariscos asociado a una floración de *Pseudo-nitzschia* cf. *australis* y *P. cf. pseudodelicatissima*, en el extremo norte del mar interior de Chiloé, lo que obligó a la autoridad a aplicar vedas en sectores localizados dado los niveles alcanzados por esta toxina, pero por otra parte en el verano de 2021, en el extremo norte de la región de Aysén, en la boca del canal Jacaf y parte del fiordo Puyuhuapi y sectores adyacentes una intensa floración de las diatomeas *Leptocylindrus danicus* y *L. minimus*, las cuales por su morfología (espinas) provocaron problemas en las branquias de peces en cultivo (salmónidos), además hubo una floración en el fiordo Comau en la región de Los Lagos a fines del verano y comienzos del otoño de 2021, causada por una rafidoficea *Heterosigma akashiwo*, una microalga ictiotóxica. Tanto las floraciones de *Leptocylindrus* como de *Heterosigma* ocasionaron una mortalidad del orden 8.500 toneladas de salmónidos, provocando un fuerte impacto sobre esta actividad productiva, con menores ingresos del orden de 10 millones de dólares.

Las floraciones de *Pseudo-nitzschia* cf. *australis* y *P. cf. pseudodelicatissima* se iniciaron en diciembre de 2020 en el estuario de Reloncaví y se mantuvieron, a lo menos, hasta marzo de 2021 y se expandieron hacia el sur por la costa este de la isla de Chiloé, hasta isla Quinchao, con registros de toxina amnésica en mariscos y con cierres de área en distintas localidades, pero no hubo intoxicaciones en humanos o muerte de fauna marina. En tanto que la floración de la rafidoficea *H. akashiwo* ocurrió en marzo de 2021, sólo en el estuario de Comau (también conocido como Leptepu), en el sector continental de la región de Los Lagos, en la provincia de Palena, esta floración estuvo asociada a un fuerte impacto sobre la actividad de la salmonicultura. En cambio, en la región de Aysén, en su sector septentrional, las floraciones también ocurrieron durante abril de 2021 y fueron ocasionadas por las diatomeas *Leptocylindrus minimus* y *L. danicus*, microalgas que son nocivas por su morfología afectando a salmónidos en engorda, en los sectores del canal Jacaf, fiordo Puyuhuapi y sectores



adyacentes, con un impacto sobre salmónidos en engorda comparable con aquel registrado en el fiordo Comau. Durante el periodo estival de 2021 también se registraron floraciones de *Dinophysis acuminata*, taxón asociado a pectenotoxinas. Asimismo, durante el período de estudio en la región de Aysén se observó la primera floración de *Alexandrium ostenfeldii*. Un análisis más detallado sobre estas floraciones se entrega en los resultados y discusión del objetivo 1 (*Pseudo-nitzschia*, *Leptocyldrus*, *Dinophysis*, *A. ostenfeldii*) y objetivo 4 (*Heterosigma*), referidos al monitoreo propiamente tal, y temas emergentes, respectivamente.

Por otro lado, la implementación de herramientas moleculares para el estudio de las FAN permite la detección y cuantificación de microalgas, ya que es posible detectarlas 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. Asimismo la aplicación de metodologías químicas para la detección y cuantificación de toxinas (HPLC-MS; HPLC-FI) han permitido mejorar la calidad de los resultados, ya que por una parte, es factible evaluar los diferentes análogos de compuestos complejos como la toxina paralizante, o la detección de toxinas lipofílicas, que mediante la técnica oficial del bioensayo ratón resultan totalmente enmascaradas, además de disponer de una herramienta para detectar otros compuestos que mediante las técnicas biológicas no es posible detectarlas.

Asimismo, adicionalmente a lo comprometido en este cuarto objetivo, como resultado del trabajo experimental realizado en condiciones de laboratorio para estimar tasas ecofisiológicas de *A. catenella*, se incorpora una interpretación de estos resultados obtenidos de un diseño multifactorial usando tres cepas de esta microalga.



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

- 3.2.1. Monitorear y analizar las variaciones espacio-temporales de microalgas nocivas, biotoxinas marinas, fitoplancton, quistes de dinoflagelados y de variables hidrográficas y meteorológicas en la zona de estudio.
- 3.2.2. Continuar el desarrollo del modelo físico-biológico para estimar la distribución y abundancia de *Alexandrium catenella*, en sitios selectos del sistema de fiordos y canales.
- 3.2.3. Continuar con el análisis interpretativo de la serie de datos histórica, para lograr una mejor comprensión de la variabilidad espacio-temporal del fitoplancton y de los taxones nocivos, incluyendo niveles de toxicidad y su relación con variables ambientales.
- 3.2.4. Incorporar el desarrollo, implementación y utilización de nuevas técnicas de detección de microalgas y de biotoxinas, así como mantener en cultivo especies nocivas chilenas que permitan avanzar el conocimiento y comprensión de los eventos nocivos.
- 3.2.5. Difundir los resultados del programa, realizar acciones de capacitación y fortalecer la vinculación con el medio.



4. METODOLOGÍA

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

4.1 Metodología Objetivo Específico 1

Monitorear y analizar las variaciones espacio-temporales de microalgas nocivas, biotoxinas marinas, fitoplancton, quistes de dinoflagelados y de variables hidrográficas y meteorológicas en la zona 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, de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo y de Magallanes y Antártica Chilena, en adelante Los Lagos, Aysén y Magallanes, respectivamente. 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 considera 228 sitios de muestreo (Anexos 1-3), el trabajo de campo se extendió entre marzo 2020 y febrero 2021 (exceptuando Chiloé sur que se extendió hasta abril de 2021), las fechas de muestreo se indican en la base de datos de Marea Roja.

El estudio está estructurado en 3 subprogramas, con sus respectivas actividades según los distintos compromisos. Aun cuando cada subprograma 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.

Cabe indicar que todos los sectores experimentaron efectos de la pandemia COVID-19, pero fueron más relevantes en el sector de Chiloé sur, Tortel, y todos los sectores de Magallanes, siendo de mayor magnitud en el primero de ellos, dado que el muestreo de alta frecuencia, hizo más complejo el cumplimiento de los cruceros programados, que finalmente determinaron que de los 31 cruceros



considerados, 28 pudieron ser ejecutados hasta fines de abril de 2021 (dos meses de retraso), y los tres cruceros pendientes (29, 30 y 31), si bien fueron realizados, estos serán informados en la etapa 2021-2022 (XV). Desde luego también hubo efectos de las condiciones climáticas y oceanográficas, las que, unidas a aquellos de la pandemia, determinaron un año muy complejo, no sólo en lo que se refiere al trabajo de terreno, sino que también de laboratorio y gabinete.

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 2020 y finalizando en febrero de 2021. En cada estación se realizaron 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 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 1.1.1 y 1.1.2. y Anexo 1.**

Subprograma Fiscalización y Vigilancia:

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 1.1.1 y Anexo 2**. La frecuencia de muestreo para estas estaciones fue cuasi 10 días, completando un total de 28 cruceros en un ciclo anual. Los cruceros 29, 30 y 31 serán informados en la etapa XV (2021-2022). El trabajo de terreno fue entre marzo de 2020 y abril de 2021, ambos meses inclusive (hubo dos meses de retraso respecto de un calendario normal de 12 meses por efectos de la pandemias y condiciones climáticas). 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. 1.1.1; Anexo 3**). Se realizó un total de 31 cruceros entre marzo de 2020 y abril de 2021, siendo válida la misma explicación entregada en el párrafo precedente. En cada una de las estaciones 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 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 RMB, respectivamente y 11 son muestreos regulares. En esta oportunidad, dado que sólo se efectuaron 28 cruceros entre marzo 2020 y abril 2021, pues derivado de esta circunstancia sólo se realizaron 10 cruceros regulares en este sector, y 18 de vigilancia. Por lo mismo, los tres cruceros pendientes serán informados en la siguiente etapa, incrementando con ello, la cantidad de muestreos de vigilancia (2) y regular (1) para la próxima etapa. Cabe indicar, qué de los tres muestreos realizados en un mes, el primero y el último, son de MFV y RMB, respectivamente, y que 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 un muestreo de alta frecuencia.

Actividad 1: Realizar los muestreos y analizar el fitoplancton cualitativo, cuantitativo y estimar abundancia relativa de siete taxones nocivos, en todas las estaciones de la red de monitoreo.

Estaciones y frecuencia de muestreo:

Las estaciones (Figs. 1.1.1-1.1.3; 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 1.1.1). 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.

Cuadro 1.1.1. 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

- 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 (cels L⁻¹). Estos resultados son entregados por estación y crucero, según corresponda por subprograma.

Actividad 2: Muestreo de transvectores y detección toxinas.

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 por requerimientos de la salud pública, u otras particularidades de cada región. La recolección de estos recursos por región administrativa fue según se indica en el **cuadro 1.1.2**, 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 1.1.2. 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>) Ostión del sur (<i>Chlamys vitrea</i>)*

*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 5 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 (especies secundarias).

Las muestras fueron etiquetadas y almacenadas en bolsas plásticas para conservarlas en recipientes con hielo o refrigeradas y trasportadas 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 se efectuó usando 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 3. Recolectar información hidrográfica y meteorológica, incluyendo nutrientes, en la red de estaciones definida.

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 $41^{\circ}26'20''\text{S}$ y $73^{\circ}05'38''\text{W}$, 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, una correspondiente al estrato superficie – 10 m de profundidad y otra, referida al estrato 10 - 20 m de profundidad. Las muestras fueron recolectadas de la misma forma que se utiliza para la toma de muestras para el fitoplancton cuantitativo (muestreo integrado por estrato mediante manguera).

Método de ensayo de nutrientes

Para los análisis de nitritos se preparó una solución estándar de nitrito de sodio, (secado a 105 ° C), de 500 mg N / L-NO₂, y el autoanalizador de nutrientes discretos AQ 400 realiza una autocalibración estándar de 7 puntos, (0.001 mg N / L- NO₂ a 0,2 mg N / L-NO₂), para una cuantificación de regresión lineal, $r > 0,9985$, rango aplicado entre 0,0009-0,2 mg N / L, estimación del límite de notificación 0,002 mg N / L, límite del método de detección según el procedimiento de la EPA MDL = 0,0001 mg N / L. Patrón de nitrato-nitrito y curva de calibración.

Para análisis de nitrato-nitrito, se puede agregar una solución estándar de nitrito de sodio (secado a 105 ° C) hasta 7 ml de ácido sulfúrico, 5 normal, para su conservación, de 500 mg N / L-NO₃ y autoanalizador de nutrientes discretos AQ 400 realiza una autocalibración estándar de 8 puntos, (0.01 mg N / L-NO₃ a 2.0 mg N / L-NO₃), para una cuantificación de regresión lineal, $r > 0.9985$, rango aplicado entre 0.012-2.0 mg N / L, detección límite del método según el procedimiento de la USEPA MDL = 0,003 mg N / L. Para los análisis de fosfato, se preparó una solución estándar de ortofosfato de dihidrógeno de potasio, anhidro (secado a 105 ° C), de 1000 mg P / L PO₄3, y el autoanalizador de nutrientes discretos AQ 400



realiza una autocalibración estándar de 7 puntos, (0,003 mg P / L-PO43 a 0,3 mg P / L-PO43), para una cuantificación de regresión lineal, $r > 0,9985$, rango aplicado entre 0,003-0,3 mg P / L, estimación del límite de notificación 0,003 mg P / L, límite del método de detección mediante el procedimiento de la USEPA MDL = 0,0006 mg P / L.

Para los análisis de sílice, se preparó una solución estándar de metasilicato de sodio monohidrato de 1000 mg de sílice / L, y el autoanalizador de nutrientes discretos AQ 400 realiza una autocalibración estándar de 8 puntos, (0,10 mg de sílice / L a 10 mg de sílice / L), para una cuantificación de regresión lineal, $r > 0,9985$, rango aplicado entre 0,1-10,0 mg de sílice / L, límite del método de detección mediante el procedimiento de la USEPA MDL = 0,018 mg de sílice / L.

Las muestras fueron conservadas en viales asépticas de polietileno de alta densidad y congeladas hasta su análisis a -20°C . Los nutrientes considerados son nitratos, nitritos, fosfatos y silicatos. El análisis se hizo mediante multianalizador de nutrientes y las técnicas aplicadas corresponden a USEPA Y APHA/AWWA/WEF, para nitritos, nitratos, fosfatos y silicatos (EPA 600/R93/100).

Actividad 4. Realizar los muestreos y análisis para la detección y cuantificación de quistes de dinoflagelados.

Frecuencia de muestreo

Durante esta etapa XIV, el estudio de quistes de resistencia de dinoflagelados en sedimento superficial se realizó en 26 estaciones de muestreo distribuidas entre las regiones de Los Lagos (8 estaciones), Aysén (9 estaciones) y Magallanes (9 estaciones) (Cuadro 3-5). Para esta actividad se programaron dos muestreos, uno en otoño y otro en primavera (Cuadro 3-5). Sin embargo, debido a la contingencia nacional, y a la imposibilidad de poder movilizarse de manera normal durante el 2020, el muestreo de otoño se realizó solo en las regiones de Aysén y Magallanes, mientras que el muestreo de Los Lagos se realizó en invierno (julio). El muestreo de primavera se realizó normalmente según lo programado.

Cuadro 3. Sitios de muestreo de sedimentos en la región de Los Lagos

Estación	E. Yaldad	S. Antonio	P. Chiguao	Yelcho	B. Velahue	C. Coldita	I. Laitec	I. San Pedro
Código	L18	L18N2	L19	L19N1	L20N1	L19N2	L20	L23
Muestreo 1	27-07-20	27-07-20	31-07-20	31-07-20	31-07-20	31-07-20	31-07-20	31-07-20



Muestreo 2	04-12-20	04-12-20	02-12-20	04-12-20	02-12-20	04-12-20	04-12-20	04-12-20
---------------	----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------	----------

Cuadro 4. Sitios de muestreo de sedimentos en la región de Aysén

Estación	I. Oreste	C. Hermanas	I. Elena	I. Julián	I. Viola	I. Vergara	I. Ester	C. Pilcomayo	C. Rodríguez
Código	A23	A24	A25	A30	A30N1	A32	A32N1	A42	A45
Muestreo 1	19-06-20	24-06-20	24-06-20	19-06-20	19-06-20	19-06-20	19-06-20	20-06-20	20-06-20
Muestreo 2	15-11-20	18-11-20	17-11-20	15-11-20	15-11-20	15-11-20	15-11-20	15-11-20	15-11-20

Cuadro 5. Sitios de muestreo de sedimentos en la región de Magallanes.

Estación	P. Edén	R. Valdera	D. Edimburgo	I. Salamandra	P. Mancilla	I. Morton	I. Carlos	I. Carlos N.	A. Hamond
Código	M06	M06N	M06N1	M06N2	M06N3	M01N	M02N	M06N4	M03N
Muestreo 1	24-05-20	24-05-20	25-05-20	25-05-20	25-05-20	25-05-20	24-05-20	24-05-20	24-05-20
Muestreo 2	02-11-20	02-11-20	02-11-20	02-11-20	02-11-20	02-11-20	02-11-20	02-11-20	02-11-20



Muestreo de sedimentos

Las muestras de sedimento fueron recolectadas mediante buceo autónomo considerando los sedimentos más apropiados para la búsqueda de quistes, siendo estos, sedimentos finos tipos limo y arcilla. No obstante, otros tipos de sedimentos fueron también considerados (i.e. arenas medias y gruesas) cuando no fue posible obtener los más adecuados. Para la obtención se utilizó un frasco cilíndrico de 3 cm de boca con tapa y contratapa recogiendo el material depositado sólo en los primeros tres centímetros de sedimento de cada sitio. Las muestras no fueron fijadas y los frascos fueron enrasados con agua del lugar, se cubrieron con papel aluminio para evitar la entrada de luz, y se almacenaron a baja temperatura ($\sim 4^{\circ}\text{C}$) para evitar la germinación de los quistes.

Procesamiento de muestras

El procesamiento de las muestras se basó en el método biológico de limpieza y concentración de quistes descrito por [Matsuoka y Fukuyo \(2000\)](#). Este método consiste, básicamente, en mezclar una cantidad conocida de sedimento con agua de mar filtrada, para luego aplicar ultrasonido con la finalidad de disgregar todas las partículas, entre ellas los quistes. Luego, la muestra es tamizada a través de mallas de $100\ \mu\text{m}$ y $20\ \mu\text{m}$, y la fracción retenida en el tamiz de $20\ \mu\text{m}$ se recoge con agua de mar filtrada y se lleva a un contenedor de vidrio graduado anotando su volumen final. De este volumen una alícuota es analizada en una cámara Sedgwick Rafter de 1 mL bajo aumentos de 100x y 400x utilizando un microscopio de luz equipado con contraste de fases y cámara fotográfica. Los resultados de los análisis son reportados como abundancia de quistes de dinoflagelados (quistes $\times\ \text{cm}^{-3}$ de sedimento húmedo) dando particular énfasis a las especies nocivas.

Identificación de quistes de resistencia

La identificación taxonómica de los quistes, basada de acuerdo a su nomenclatura biológica o paleontológica, se realizó de acuerdo sus características morfológicas, tales como, forma, tamaño, color, tipo de pared, ornamentaciones y arqueopilo (estructura por donde emerge la célula germinada) usando material de referencia recolectado en las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes, además de publicaciones especializadas (e.g. [Mertens et al., 2012, 2019](#); [Zonneveld & Pospelova, 2015](#); [Liu et al., 2015](#); [Mudie et al., 2017](#)). Especial atención se tuvo con los quistes del género *Alexandrium*, particularmente de las especies *A. catenella* y *A. ostenfeldii*.



4.2. Metodología Objetivo Específico 2

Continuar el desarrollo del modelo físico-biológico para estimar la distribución y abundancia de *Alexandrium catenella*, en sitios selectos del sistema de fiordos y canales.

Durante la Etapa XIV del proyecto se ha continuado con el desarrollo del modelo físico-biológico para estimar la distribución y abundancia de *A. catenella*. De manera similar a lo realizado desde la Etapa XII de este proyecto, se realizan de manera conjunta, las actividades asociadas al registro de variables oceanográficas y biológicas en zonas representativa del área de estudio y la modelación físico-biológica de la distribución y abundancia de *A. catenella*. Como parte del desarrollo y avance de la modelación físico-biológica es necesario contar con datos para sustentar el progreso y validación del modelo hidrodinámico, continuando con el registro de variables oceanográficas (e.g. perfiles de temperatura, salinidad, oxígeno, fluorescencia y luz; instalación de sensores registro continuo de temperatura, salinidad, clorofila), así como el desarrollo y validación de la modelación biológica.

Hasta el momento, el esfuerzo de la modelación físico-biológica se ha desarrollado en el fiordo Puyuhuapi y canal Jacaf, donde se ha concentrado la construcción, evaluación y validación de los modelos hidrodinámicos y biológicos, sin embargo, esta zona no ha reportado presencia de *A. catenella*.

Actividad 1: Registro y uso de información oceanográfica y biológica para la evaluación de la calidad de los modelos implementados.

En esta oportunidad con la finalidad de caracterizar la distribución de *A. catenella* en la región de Aysén para el periodo de 2017-2018, a partir de los datos del programa de monitoreo de marea roja se graficaron latitudinalmente los datos de abundancia relativa de 0 a 10m de profundidad de las estaciones cercanas al Canal Moraleda y con los datos del 2007 al 2019 se realizó una climatología, con la finalidad de caracterizar la distribución de abundancia relativa para un año promedio. Además, se graficó el promedio mensual de la rapidez del viento y las isobatas de presión del modelo WRF a lo largo de la transecta a lo largo del Canal Moraleda (**Figura 2.1.1**).

Modelación

El modelo físico-biológico se basa en un acoplamiento de componentes físicas (corrientes, temperatura y salinidad) como forzantes de un modelo euleriano que calcula la concentración de *A. catenella* determinado por crecimiento, transporte y mortalidad. Para esto se requirió de un sistema de modelación físico que permitió el suministro del forzamiento atmosférico y la entrada de agua dulce a un modelo hidrodinámico para posteriormente forzar al modelo biológico (**Figura 2.1.2**). A continuación, se describe cada componente:



a) **Modelo hidrodinámico**

Se utilizó el modelo hidrodinámico MIKE 3D FM (DHI, 2019). Este sistema de modelamiento en 3 dimensiones 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. La estructura de discretización es una malla triangular irregular permitiendo que tenga un buen ajuste en sectores costeros y en la vertical utiliza coordenadas sigma permitiendo que la malla se adapte a la topografía submarina. La información batimétrica fue obtenida de las cartas náuticas del Servicio Hidrográfico y Oceanográfico de la Armada de Chile (SHOA). Se utilizaron distintos tamaños en los elementos triangulares, de acuerdo a la geometría de la cuenca, de forma que aquellos lugares someros y estrechos tuvieran una mayor resolución, la que varió entre 200m en lugares restringidos o zonas somera y 1000m en zonas oceánicas (**Figura 2.1.3**).

Las condiciones de borde de nivel del mar, fueron obtenidas mediante el análisis armónico de mareas de mediciones realizadas desde el año 2011 producto de campañas oceanográficas realizadas por el Instituto de Fomento Pesquero (IFOP). En cuanto a los bordes de temperatura y salinidad fueron utilizadas observaciones provenientes de perfiles de CTD realizados por el programa CIMAR-Fiordos. Para las condiciones iniciales de temperatura y salinidad fueron utilizadas mediciones de CTD de campaña realizadas por IFOP previamente.

b) **Modelo atmosférico WRF**

La circulación marina en fiordos con entornos montañosos está fuertemente influenciada por el patrón de viento local, esto requiere de modelos atmosféricos con resolución suficientemente alta para resolver los impactos de la topografía en la circulación atmosférica (Myksvoll *et al.*, 2012). Se modelaron las condiciones atmosféricas locales utilizando el modelo no hidrostático (WRF v. 3.5.1) (Skamarock *et al.*, 2008), anidado dentro del sistema operacional NCEP con resolución espacial de 25 km (National Centers for Environmental Prediction, 2000). Para este caso se establecieron dos dominios, siguiendo una relación de 1:3. El primero corresponde al padre y comprendió un área entre $\sim 39 - 48^{\circ}\text{S}$ y $\sim 69 - 85^{\circ}\text{W}$, con resolución espacial de 9km. Y el segundo corresponde al dominio hijo, alcanzando una resolución horizontal de 3 km y abarcando un área entre $\sim 41 - 47^{\circ}\text{S}$ y $\sim 71 - 76^{\circ}\text{W}$, zona que se encuentran las regiones de mares interiores de Chiloé y Aysén.

c) **Modelo hidrológico VIC**

En cuanto a los caudales de ríos, estos fueron simulados con el modelo hidrológico VIC que es alimentado con series de precipitaciones y temperatura del producto grillado CR2MET (<http://www.cr2.cl/datos-productos-grillados/>). De una resolución espacial de 5 x 5 km. Con esa información, VIC simula la escorrentía en intervalos horarios mediante la cual se calculan series diarias de caudales en una red hidrográfica sintética (obtenida a partir de información satelital) para el dominio de análisis. Luego de un proceso de calibración realizada con observaciones fluviométrica de la DGA, en la cual algunos parámetros del modelo VIC se ajustan para optimizar



el desempeño del modelo determinado, el modelo es ejecutado para obtener estimaciones del caudal diario para el periodo 1980 a 2018, en todas las cuencas costeras del dominio espacial de la simulación. El modelo VIC fue desarrollado para IFOP por la empresa consultora Meteo Data Limitada y está disponible en la plataforma Chonos de IFOP en <http://chonos.ifop.cl/aguadulce/visor>.

d) **Modelo Biogeoquímico**

Como manera de avanzar en la falta de datos biogeoquímicos en la zona de estudio, se comenzó con la implementación de un modelo NPDZ simple desarrollado por [Fasham et al. \(1990\)](#), este modelo se encuentra incorporado en el software libre Roms-Agrif ([Debreu et al. 2012](#)). El dominio del modelo tiene una grilla regional que abarca desde la región de los Ríos hasta parte de la región de Magallanes (39 ° a 50° Sur) incluido el sector oceánico (**Figura 2.1.4**) con una resolución de ~3km y se construyó a partir de datos batimétricos de General Bathymetric Chart of the Oceans (GEBCO) y complementada por datos batimétricos de cartas náuticas del Servicio Hidrográfico y Oceanográfico de la Armada de Chile (SHOA). Se eligió este dominio con la estrategia de utilizar datos globales para forzar el modelo; de esta manera los datos de IFOP y otras fuentes de datos fueron utilizados para evaluar el desempeño del modelo. Esta estrategia se debió principalmente a que los datos de nutrientes son escasos.

Este modelo simula 4 variables de estados: nitrato, fitoplancton, zooplancton y cuenta con 16 parametrizaciones (**Tabla 2.1.1**). Los principales procesos incluidos en el modelo son el crecimiento del fitoplancton y la asimilación de nitrato por el fitoplancton, pastoreo del zooplancton sobre el fitoplancton, mortalidad del plancton (fitoplancton y zooplancton), sedimentación y remineralización del detritus. La interacción entre las variables de estado se resume en la **Figura 2.1.5**.

e) **Modelo Biológico de *Alexandrium catenella*.**

El modelo biológico de *A. catenella* está basado en el publicado por [Stock et al. \(2005\)](#) y es un modelo acoplado físico-biológico, donde la concentración de *A. catenella* en un punto en el tiempo y el espacio es descrita por la ecuación de advección-difusión.

Si bien en el modelo descrito por [Stock et al. \(2005\)](#), la concentración de *A. catenella* contempla los procesos de encistamiento y excistamiento, en este informe hacemos la suposición de que la distribución y concentración dependen solo de un inóculo inicial en su fase vegetativa, esto debido principalmente a que es un modelo que se ha implementado por etapas, donde en la actualidad se cuenta con información acerca de concentración de quistes de *A. catenella* en sedimentos.

Es por ello que el modelo contiene principalmente las parametrizaciones de crecimiento y mortalidad, ya que en esta simulación proponemos que la distribución de *A. catenella* es debido principalmente a su fase vegetativa, donde el crecimiento es modulado por las distintas condiciones de temperatura,



salinidad y radiación y donde el nitrato inorgánico disuelto no sería limitante, debido a la presencia de masa de agua subantártica modificada, que presenta valores intermedios de nitrato de $\sim 9 \mu\text{M}$, siendo resultado de la mezcla de agua de origen oceánico y agua dulce.

Por ende, las concentraciones y distribución de *A. catenella* en esta simulación dependen de las variables físicas y de la circulación hidrodinámica, que por su parte permitirá la acumulación o dispersión de células en determinados sectores.

En términos generales la concentración de *A. catenella* (C) está dada por:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \mu(E, T, S) \cdot C - m \cdot C$$

Donde μ es la tasa de crecimiento y m tasa de mortalidad.

La parametrización de la tasa de crecimiento (μ) utilizada fue la forma sugerida por [Platt & Jassby \(1976\)](#) que incluye la irradiancia y que fue usada por [Langdon \(1987, 1988\)](#) en sus estudios del crecimiento del fitoplancton:

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

Donde μ_{max} es la tasa de crecimiento máxima (d^{-1}) para una determinada temperatura (T) y salinidad (S), μ_0^r es la tasa de respiración basal (d^{-1}), E es el promedio de la irradiancia diaria (W m^{-2}) y α_g es la eficiencia de crecimiento ($\text{d}^{-1} \text{W}^{-1} \text{m}^{-2}$). Los valores de los parámetros utilizados en el modelo biológico se describen en la **Tabla 2.1.2**.

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 máxima de crecimiento bajo condiciones óptimas de temperatura y salinidad, $f(T)$ y $f(S)$ son ajustes polinomiales cúbicos.

En este informe las ecuaciones de temperatura y salinidad utilizadas fueron ajustadas a partir de las ecuaciones utilizadas por [McGillicuddy et al. \(2011\)](#), para que las tasas de crecimiento respondieran a los rangos descritos en los fiordos chilenos. Para *A. catenella* se ha descrito que una alta tasa de crecimiento y máxima densidad celular ocurre entre un estrecho rango de temperatura (12 y 15°C) y un amplio rango de salinidad, entre 20 y 30 PSU ([Paredes-Mella et al., 2020](#)). La ecuación utilizada fue:



$$f(T) = -0.0004T^3 + 0.0066T^2 + 0.0387T + 0.1897$$
$$f(S) = -0.0022S^2 \cdot 0.125S - 0.765$$

Con salinidad mayor a 7 PSU y temperatura menor a 22 °C.

Las pérdidas totales (m) en el modelo representa la remoción de células debido a la predación, donde se asume que esta actividad aumenta con el incremento de temperatura del agua (T); la que está basada en la ecuación formulada por [Durbin & Durbin \(1992\)](#) y es la siguiente;

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

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

El propósito de esta simulación fue determinar por una parte la respuesta de diferentes condiciones de radiación solar como lo fueron los años 2017 y 2018, para ello se utilizó como forzantes los datos del modelo WRF y condiciones iniciales de *A. catenella* para enero del 2017 y 2018 (**Figura 2.1.6**).

Para la construcción de las condiciones iniciales los valores de abundancias relativas se transformaron a concentración a través de la ecuación publicada por [Guzmán et al. \(2015\)](#):

$$D_{ac} = 23.2 + 30.8 \cdot Ar^{4.36}$$

Donde D_{ac} es la densidad y Ar es la abundancia relativa.

Como manera de estimar la habilidad del modelo, se extrajeron los datos de las estaciones de marea roja utilizadas para la figura de distribución latitudinal y se promediaron los datos de concentración de *A. catenella* de los 10 primeros metros de la columna de agua, posteriormente se llevaron a la escala de abundancia relativa utilizada por el proyecto de marea roja.

Además, se realizaron dos experimentos con la finalidad de determinar la respuesta del modelo a:

Experimento 1. Distintas tasas de respiración basal.

Para evaluar la respuesta al modelo a distintas tasas de respiración basal, se utilizaron los valores de 0.15, 0.075 y 0.05 día⁻¹ como tasa de respiración basal (u_o). Como condición inicial la concentración de *A. catenella* de enero del 2017, sin condición de borde y como forzante la radiación solar del 2017 y 2018 del modelo WRF. Además, los valores de tasa máxima de crecimiento bajo condiciones óptimas de temperatura y salinidad fueron de 1 día⁻¹ y eficiencia de crecimiento 0.017 día⁻¹ W⁻¹ m².



Experimento 2. Tasa máxima de crecimiento bajo condiciones óptimas de temperatura y salinidad.

Con el objetivo de conocer la respuesta del modelo a distintas tasas de crecimiento óptimo, se utilizaron los valores 1 y 0.6 día⁻¹ como tasa máxima de crecimiento bajo condiciones óptimas de temperatura y salinidad. Como condición inicial la concentración de *A. catenella* de enero del 2017, sin condición de borde y como forzante la radiación solar del 2017 y 2018 del modelo WRF. Además, los valores utilizados para la tasa de respiración basal 0.075 día⁻¹ y eficiencia de crecimiento 0.017 día⁻¹ W⁻¹ m².

Con la finalidad de mostrar los resultados de los experimentos se graficó el promedio de las tasas y concentraciones obtenidas en los primeros 5m de las estaciones del proyecto (**Figura 2.1.7**), esto solo con el objetivo de comparar entre distintos experimentos.

Actividad 2: Generar información acerca de las tasas de crecimiento, mortalidad, ingestión y germinación de *Alexandrium catenella*.

Experimento con distintas cepas de *Alexandrium catenella*.

De las cepas de *Alexandrium catenella* actualmente cultivadas en el CREAN-IFOP se utilizarán solo 3 cepas, teniendo como criterio de selección las de mejor crecimiento durante el periodo de prueba con las condiciones estándar. Para la obtención de organismos en buen estado, las cepas seleccionadas serán aclimatadas por un periodo de 10 días o hasta que el cultivo alcance la fase exponencial, tiempo en el cual serán resembrados en matraces de 250 mL para comenzar el cultivo experimental.

Los cultivos experimentales de cada una de las cepas seleccionadas se realizarán bajo campana previamente desinfectada con metanol al 70% y luz UV para evitar contaminación. Se inocularán 5 mL de cultivo en fase exponencial en matraces autoclavados de 250 mL cada uno con 200 mL con agua de mar esterilizada y enriquecida con medio de cultivo L1. Cada uno de los inóculos de las tres cepas seleccionadas se realizará por triplicado. Los cultivos se mantendrán en una cámara fría, con temperatura, luz y fotoperiodo controlado los cuales variarán según los requerimientos de cada experimento, se contempla realizar experimentos a cinco temperaturas y salinidades diferentes. El día de inicio del experimento se tomarán tres submuestras de 1 mL de cada una de los matraces experimentales (tiempo inicial o T₀) y serán fijadas en una solución de lugol (concentración final 2%). Este mismo procedimiento para la toma de muestras se realizará cada dos días para su posterior conteo en cámaras Sedgewick-Rafter para su posterior conteo bajo microscopio.

Cálculo tasas de crecimiento y mortalidad

Siguiendo el trabajo propuesto por [Guillard \(1973\)](#), las tasas específicas de crecimiento (μ) para cada especie, definidas como el incremento en la abundancia de células por unidad de tiempo, serán estimadas a partir de la pendiente de una regresión lineal a lo largo de toda la fase exponencial de



crecimiento. Esto será realizado mediante el ajuste mínimo de una recta a los datos después de la transformación logarítmica a partir de la ecuación logística de crecimiento aplicando el logaritmo natural del número de células. Se ha considerado que esto es lo más adecuado para describir el crecimiento de dinoflagelados los cuales durante las floraciones y en cultivo presentan reproducción binaria.

$$\mu = \ln C_t / \ln C_i / \Delta t$$

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

Por su parte, las tasas de mortalidad (m) para cada especie, definidas como la disminución en la abundancia de células por unidad de tiempo, serán estimadas a partir de la pendiente de una regresión lineal a lo largo de toda la fase exponencial de decaimiento.

Estimación de la tasa de germinación de *Alexandrium catenella*.

Para generar quistes de *A. catenella* en laboratorio se mezclaron en placas Petri células provenientes de 2 cepas (en triplicado), las que fueron aisladas desde distintas localidades de la región de Aysén. Para ello las cepas fueron cultivadas en matraces de 100 mL y cosechadas en fase exponencial. 4 mL de cada cepa con una concentración de aproximadamente 8075 células/mL fueron depositadas en placas Petri de plástico. Además, se adicionaron 4 mL de agua de mar. Las placas fueron depositadas en una cámara termorregulada a 12°C y fueron mantenidas con baja intensidad de luz de 10 $\mu\text{mol seg}^{-1} \text{m}^{-2}$. Luego de 100 días las placas fueron revisadas para verificar la presencia de quistes y aislarlos por medio de microcapilares. Luego, los quistes se dispusieron en placas de 24 pocillos (uno en cada pocillo). Las placas contenían agua de mar estéril, una a 30 PSU y otra a 35 PSU. Ambas placas fueron mantenidas a 15°C, intensidad luz 100 $\mu\text{mol seg}^{-1} \text{m}^{-2}$. Al finalizar el experimento se estimó la tasa de germinación (% quistes germinados día⁻¹), para lo cual, se dividió el porcentaje de quistes germinados por el tiempo de extensión del experimento.

Actividad 3: Registrar información hidrográfica, meteorológica y biológica en condiciones de estratificación de la columna de agua durante los periodos de máxima concentración de *Alexandrium catenella*.

Es conocido que la estratificación de la columna de agua prolongada favorece a los organismos del fitoplancton. Este proceso puede acumular las células del fitoplancton en una capa de agua donde condiciones favorables de nutrientes y luz posibiliten su buen crecimiento. A pesar de ello, no tenemos antecedentes de cómo *Alexandrium catenella* responde a cambios de estratificación y menos como es la estratificación en el área de estudio. Es por esto que en esta etapa se proponía describir la estratificación en la zona de estudio con el objetivo de evaluar cuál o cuáles son las variables (agua



dulce proveniente de ríos, precipitación, marea o viento) que la determinan y su efecto en la distribución vertical de esta microalga.

El desarrollo de esta actividad tiene una fuerte evaluación en terreno y especialmente está condicionada por algún evento de floración de *A. catenella*, que nos permita conocer la estructura vertical de esta microalga y su relación con la estratificación de la columna de agua. Lamentablemente, para el desarrollo de esta actividad, no se han registrado, en la región de Aysén, eventos importantes de floración *A. catenella* desde el verano del 2018, con densidades y abundancias relativas que no representan un estado de floración y que son acotadas en tiempo. Por este motivo, es que esta actividad quedará pendiente de ejecución, a la espera que se den condiciones para una floración de la microalga y la oportunidad de realizar el muestreo en el momento de mayor crecimiento celular.

Actividad 4: Registrar información hidrográfica, meteorológica y biológica dentro de la red de estaciones del Programa de Monitoreo de las Mareas Rojas en Fiordos, donde realizar nuevos ejercicios de modelación.

A partir del informe anterior se destacó la zona norte de Aysén, sobre todo de la zona cercana a Melinka, como una zona cuya importancia se debe por un lado a la alta ocurrencia y niveles de *A. catenella*, que sumado a condiciones oceanográficas y principalmente a vientos favorables provocarían el transporte de esta microalga desde la zona de Aysén al sur de Chiloé. Es por ello que se propuso avanzar en una eventual modelación en esta zona.

Por consiguiente, con la finalidad de aumentar la densidad de información que permita una buena modelación en la zona de Melinka, además de conocer la distribución vertical de *A. catenella* durante un periodo de incremento celular (primavera y verano) y su relación con la disponibilidad de nutrientes.

Con el objetivo de registrar las variables de temperatura y salinidad se instaló un fondeo desde noviembre del 2020 en la estación A05 (**Figura 2.4.1**) del programa de marea roja, el que tenía instalado a 10, 15, 20 y 30 m de profundidad sensores de temperatura, conductividad y presión.

Por otro lado, en la misma estación se tomaron muestras de agua de mar a 6 profundidades (0, 5, 10, 15, 20 y 30 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 recolectaron 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% para el posterior 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 para su posterior análisis.



4.3. Metodología Objetivo Específico 3

Continuar con el análisis interpretativo de la serie de datos histórica, para lograr una mejor comprensión de la variabilidad espacio-temporal del fitoplancton y de los taxones nocivos, incluyendo niveles de toxicidad y su relación con variables ambientales.

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

Representación gráfica de series temporales

Una serie temporal está formada por una sucesión de observaciones de una variable, efectuadas a intervalos regulares de tiempo, por lo tanto, las series temporales siempre presentan un orden natural determinado por el tiempo y el mantenimiento de este orden es fundamental para analizar la serie. El objetivo fundamental del estudio de las series temporales es el conocimiento del comportamiento de una variable a través del tiempo para, a partir de dicho conocimiento, realizar predicciones, es decir, determinar qué valor tomará la variable objeto de estudio en uno o más períodos situados en el futuro, mediante la aplicación de un modelo calculado previamente. Por lo tanto, el análisis de cualquier serie temporal debe partir de su representación gráfica. El gráfico más frecuente es la representación en un sistema cartesiano con el tiempo en el eje de abscisas y los valores de la variable temporal en el de ordenadas. Esta representación muestra las características más importantes de la serie como pueden ser patrones estacionales o a largo plazo, oscilaciones, rupturas, valores anómalos, variación absoluta entre periodos, etc. Sin embargo, este tipo de representaciones gráficas pueden ser bastante complejas dependiendo del tiempo, cantidad de datos y variables que uno quiera analizar. Es por esto que la automatización gráfica para la entrada de datos anuales o mensuales es fundamental para la mantención de una serie temporal y en este caso para la respuesta grafica rápida de cualquiera de las 228 estaciones de muestreo que presenta el programa. Con estos datos, se ha comenzado a trabajar en una rutina hecha a través del programa R, la cual permite en forma rápida actualizar gráficas de series temporales para distintas variables que contempla el monitoreo.

Análisis de patrones espacio-temporal de distribución de abundancia (N° células L^{-1}) del fitoplancton total y de los grupos mayores que lo componen: Diatomeas y Dinoflagelados.

La data existente del monitoreo marea roja, muestra una variabilidad geográfica e interanual de la densidad celular del fitoplancton, así como de los grupos que la conforman: Diatomeas y dinoflagelados, principalmente. Dentro de estos grupos, están las microalgas nocivas, entre las que se encuentran las productoras de toxinas. Sin embargo, aún existe escaso conocimiento de la vinculación entre estos grandes grupos y, dentro de estos grupos, con las especies que forman floraciones de algas nocivas. Así mismo se requiere establecer las relaciones de estos conglomerados biológicos, con las variables ambientales: Oceanográficas, meteorológicas, climáticas, que caracterizan los sistemas de fiordos y canales del sur-austral.

El objetivo de este análisis, es establecer el patrón de distribución geográfica y relación espacio-temporal de los ensambles de fitoplancton, para luego establecer relaciones, entre los propios



ensambles formados, con las especies de microalgas (entre ellas las nocivas), y con las variables ambientales. La meta a lograr, es aumentar la certidumbre de las probabilidades de ocurrencia de las especies de interés.

Durante 2020, hubo la oportunidad de realizar una capacitación de perfeccionamiento de alto nivel, referente al uso de del programa PRIMER-7, programa que va mejorando con el paso del tiempo. Este está centrado en el análisis de las variables biológicas, esencialmente a nivel de comunidades, pero proyectable al análisis de organismos de interés en particular, así como asociar éstos con las características de los hábitats y ecosistemas asociados. Por tal razón, el análisis de datos históricos disponibles, fue re-analizado bajo el nuevo conocimiento adquirido, aplicando las mejoras del programa respecto de versiones anteriores, y confirmar o corregir los resultados obtenidos a la fecha.

Para abordar esta actividad y como primera aproximación exploratoria, se ha aplicó el análisis de CLUSTER, y el Análisis de Escalamiento Multidimensional (MDS) al ensamble fitoplanctónico considerando los grandes grupos que lo componen, en términos densidad celular. Los grupos seleccionados como variables fueron tres: Fitoplancton total, diatomeas y dinoflagelados. Primero se realizó un análisis exploratorio, para establecer el patrón de distribución geográfica en base a los conglomerados de sitios de muestreo en base a la mayor similitud de Bray-Curtis. Luego se estableció la relación temporal de los grupos, en base a la estación del año.

Parte de estos resultados, son utilizados para realizar más complejos con estas técnicas, y otras disponibles, de modo de establecer sectores espacio-temporales singulares dentro del ecosistema de fiordos y canales, hipotéticamente representativos de microhábitats favorables para la proliferación de grupos y especies particulares de microalgas (e.g. [Antezana et al., 2002](#); [Karasiewicz et al., 2018](#); [Alves-de-Souza et al., 2019](#)) y determinar su influencia en la proliferación de otras especies.

Las estaciones de muestreo del estrato de profundidad 0-10 m, un total de 146 estaciones de monitoreo en la macrozona sur-austral: 43 estaciones de la región de Los Lagos; 57 estaciones de la región de Aysén; 46 estaciones de la región de Magallanes, fueron agrupadas en base a la similitud temporal (índice Bray Curtis), de la composición del ensamble de fitoplancton, en términos de densidad celular (N° células L^{-1}), de los principales grupos que lo componen, *i.e.* diatomeas, dinoflagelados y densidad del fitoplancton total. El fitoplancton total, consideró la sumatoria de las densidades celulares de los grupos de diatomeas, dinoflagelados, silicoflagelados, euglenofíceas y prasinofíceas.

Para agrupar los sitios de muestreo, considerando las tres regiones australes de Chile, se utilizó la densidad celular por grupo fitoplanctónico (fitoplancton total, diatomeas y dinoflagelados) dispuestas en matrices de datos mensuales por año, en el lapso octubre de 2007 a febrero 2019. Esto significó, que de las más de 200 estaciones de muestreo del monitoreo que se realiza actualmente en la macrozona sur-austral, se seleccionaran 146, que son aquellas estaciones con datos de densidad celular continua dentro de cada año (10-11 meses según la etapa de estudio) y entre años. En el lapso, no fue considerado el año 2011, por carecer de datos de densidad celular de microalgas durante ese año. Tampoco fueron considerados en el análisis, los meses de los años 2006 y parte de 2007 (Etapa 1), por los numerosos vacíos de información mensual. Las estaciones sin información, con un número mayor a cuatro meses, fueron eliminadas del análisis. En aquellos meses con carencia de información de hasta



cuatro meses consecutivos, se indic3 como valor “missing” al momento de importar la matriz de datos desde la base original de datos en Excel, en el entorno de PRIMER-7. Los an3lisis estadísticos y gr3ficos de la data descrita, fueron realizados con el mismo programa de an3lisis de la data.

El primer an3lisis consistió en establecer el patr3n espacial de las estaciones para el lapso octubre 2007-febrero 2019, en base a la abundancia mensual disponible para cada grupo: Fitoplancton, diatomeas y dinoflagelados.

Para este fin, la agrupaci3n de los sitios de muestreo de la macrozona sur-austral para cada variable grupo, fueron realizados mediante el índice de similitud de Bray-Curtis, previa transformaci3n a raíz cuadrada de los datos. El resultado fue una matriz triangular de similitud. El proceso siguiente, fue realizar un an3lisis de CLUSTER con generaci3n del dendrograma, utilizando el promedio de grupo como medida de agrupaci3n, y el test SIMPROF al 5% de significancia. El resultado del test SIMPROF, determina la significancia de los grupos resultantes al nivel de confianza indicado, de modo de evitar falso grupos y disminuir al mínimo los errores del tipo I y II.

La representaci3n gr3fica de la matriz triangular de similitud Bray-Curtis de los sitios de muestreo, se realiz3 mediante el an3lisis de ordenaci3n de escalamiento multidimensional no métrico (nMDS), proyectando en esta gr3fica, los niveles de significancia (líneas elípticas del SIMPROF) de los grupos resultantes del an3lisis de CLUSTER.

Los grupos de estaciones definidos (por grupo de fitoplancton considerado) para el lapso octubre 2007-febrero 2019, se representan geográficamente en mapas.

Tambi3n se realiz3 un an3lisis temporal de las abundancias celulares, por estaci3n de muestreo y para cada grupo fitoplanctónico, considerando el gradiente latitudinal, con el prop3sito de identificar la existencia de patrones de distribuci3n estacional y anual de los tres grandes grupos. Para este fin, se procedió a promediar, los valores de abundancia de cada sitio de muestreo, por estaci3n anual, sin considerar el ańo. Para esto, se ańadi3 el factor estaci3n del ańo a la matriz de datos, considerando los siguientes meses para definir cada estaci3n anual: Octubre-diciembre para primavera; enero-marzo para verano; abril-junio para otońo; julio-septiembre para invierno.

Se realizaron pruebas de ANOSIM y RELATE: El primero para establecer el grado de similitud Bray-Curtis entre las abundancias de las respectivas regiones por grupo de fitoplancton; y el segundo para establecer el grado de correlaci3n entre las matrices resultantes de los respectivos grupos fitoplanct3nicos.



Actividad 2. Análisis interpretativo base de datos de fitoplancton cualitativo.

Sólo se ha trabajado en la ordenación de la base de datos, en términos que se pueda generar una matriz que permita trabajar estos antecedentes usando análisis de conglomerados. El grado de avance alcanza al 80% de la información, pero ha sido más complejo que el ordenamiento de los datos cuantitativos.

Actividad 3. En búsqueda de índices como alerta temprana.

Esta actividad fue abordada usando dos criterios. Uno considera los datos recogidos en el sector de muestreo de alta frecuencia (subprogramas de Fiscalización y Vigilancia y de Raúl Marín Balmaceda) y el otro, aborda el análisis de los datos de abundancia relativa de *Alexandrium catenella* disponibles entre octubre de 2007 y febrero de 2020 para un total de 146 sitios sobre la base de un muestreo mensual.

Análisis de bases de datos cuantitativa y cualitativa de los programas de monitoreo de Vigilancia y Raúl Marín Balmaceda.

Los principales taxones tecados pertenecientes al grupo de los dinoflagelados que generan efectos nocivos en el sur de Chile son *A. catenella*, *A. ostenfeldii*, *D. acuminata*, *D. acuta* y *P. reticulatum*. Como una medida de salvaguardar las actividades acuícolas y salud humana que pueden ser afectadas por estas especies, en el 2013 se implementaron los Sub-Programas Vigilancia y Fiscalización y Sub-Programa Raúl Marín Balmaceda (RMB). Estos Sub-Programas tienen entre sus propósitos ser una herramienta de alerta temprana de posibles floraciones nocivas, por lo cual, tienen una alta frecuencia de muestreos (aproximadamente 31 muestreos en el año). La zona geográfica que cubren estos programas se encuentran al sur de la Isla de Chiloé, El norte de la Región de Aysén en Melinka, y Raúl Marín Balmaceda. Aun cuando estas zonas son relativamente cercanas presentan diferentes condiciones ambientales, lo cual podría influir en la variación de la presencia de las especies nocivas a nivel espacial y temporal. Los propósitos de este estudio fueron:

- 1) Describir gráficamente la abundancia histórica a distinta profundidad, zona, salinidad y temperatura (gráficos de burbuja) de las especies tóxicas.
- 2) Comparar la abundancia (células/L) histórica entre las especies tóxicas.
- 3) Evaluar el efecto de la salinidad, temperatura en la variación de la probabilidad (pb) de detectar la presencia de dinoflagelados tecados nocivos.
- 4) Conocer la densidad celular que corresponde a cada nivel de abundancia relativa (AR).
- 5) Analizar las bases de datos cuantitativas y cualitativas, compararlas e inferir la dinámica espacial y temporal de la probabilidad de presencia de las especies tóxicas de los géneros *Alexandrium*, *Protoceratium* y *Dinophysis*.



Efecto de la salinidad y temperatura en la probabilidad de presencia de los g3neros *Alexandrium*, *Protoceratium* y *Dinophysis*.

Se analizaron las bases de datos de abundancia celular (c3lulas/L) obtenidos entre el 2013 y 2019, en el marco de los Sub-Programa de Vigilancia y Ra3l Mar3n Balmaceda. Se realizaron gr3ficas de burbuja para describir la distribuci3n de los taxones a distinta profundidad, zona, temperatura y salinidad. Por otro lado, se graficaron las abundancias de los taxones t3xicos (boxplot) y se compararon entre ellas, para esto, previamente se eliminaron los valores de abundancia cero.

Para evaluar el efecto de variables oceanogr3ficas salinidad y temperatura del agua sobre la probabilidad de presencia de los principales taxones t3xicos: *A. catenella*, *A. ostenfeldii*, *P. reticulatum*, *D. acuminata* y *D. acuta*, se realizaron regresiones log3sticas entre presencia/ausencia de especies y variables continuas de salinidad (PSU) y temperatura (3C). Adem3s, se eliminaron los datos de los meses de junio, julio, agosto y septiembre (temporada de invierno). En esos meses se observaron las probabilidades m3s bajas, lo que puede deberse a los bajos niveles de luz m3s que a los efectos de la salinidad y la temperatura (ver tablas de probabilidad de presencia de especie bases datos cualitativa transformada y cualitativa). Se realiz3 un an3lisis de varianza (ANOVA) en el marco de modelos lineales generalizados (GLM) y los coeficientes de la regresi3n log3stica: B0 (intersecci3n) y B1 (pendiente) se estimaron y compararon entre especies (Fox and Weisberg, 2011). Estos coeficientes corresponden al logaritmo natural de la raz3n de probabilidad, la que se define como la raz3n entre la probabilidad de 3xito y la probabilidad de fracaso. Para todos los an3lisis se rechazaron hip3tesis estad3sticas nulas bajo un nivel de significancia (α) de 0.05. Los an3lisis se realizaron con el software R (R Core Team, 2020). Adicionalmente, la comparaci3n visual de los rangos de temperatura y salinidad en que los taxones t3xicos tienen un mayor registro hist3rico de presencia se realiz3 mediante gr3ficas de boxplot.

Determinaci3n de la abundancia celular (c3ls L⁻¹) correspondiente a los niveles de AR para los g3neros *Alexandrium*, *Protoceratium* y *Dinophysis*

Se ajustaron regresiones exponenciales entre la abundancia relativa (AR) y la abundancia celular, con el prop3sito de conocer la densidad celular (c3ls L⁻¹) que corresponde a cada nivel de abundancia relativa.

Comparaci3n de bases de datos cualitativa y cuantitativa (2013-2019) de los monitoreos de vigilancia y Ra3l Mar3n Balmaceda: Efectos de estratos, zona, a3o y meses.

Se analizaron las bases de datos generadas en el marco de los programas de monitoreo de vigilancia y de Ra3l Mar3n Balmaceda obtenidos desde el 2013 al 2019. Estas bases de datos correspondieron a las cuantitativas y cualitativas. Para el an3lisis de probabilidad de presencia de especies la base de datos cuantitativa (c3lulas/litro) se transform3 en una variable binomial (presencia / ausencia). Luego, se utiliz3 un modelo lineal general (GLM) con un modelo residual binomial para evaluar los efectos de estratos (0-10 y 10-20 m), zonas (CS, RMB y Mek), a3os (2013 a 2019) y meses (12 meses) sobre la probabilidad de presencia de especies t3xicas. Para la base de datos cualitativa, se utiliz3 el mismo modelo GLM, y se evalu3 los efectos de zonas, a3os y meses sobre la probabilidad de presencia de las especies t3xicas. Para cada especie y por cada base de dato (cuantitativa transformada y cualitativa)



se realizó análisis de varianza (ANOVA) en el marco GLM y se utilizó la prueba HSD de Tukey a posteriori para efectos significativos (Fox y Weisberg, 2011).

Análisis de las abundancias relativas de *Alexandrium catenella*

En cuanto a la información de abundancia relativa para *Alexandrium catenella*, esta fue trabajada tanto entre localidades, como entre periodos mensuales de muestreo, ordenando los antecedentes de mayor a menor según las sumatorias de las abundancias relativas. Luego estos resultados fueron analizados estadísticamente usando deciles además de representación gráfica. Los gráficos consideraron tanto sitios de muestreo del primer decil, como de localidades tanto de forma individual como considerando en conjunto, como una forma que usar estos antecedentes como una alerta temprana, para el sector de Chiloé sur, dado que los antecedentes previos muestran que las floraciones de *Alexandrium catenella* que han afectado a este sector de la isla, se originan en la región de Aysén, y luego por procesos de transporte pasivo, el incremento de la densidad de esta microalga, no puede ser explicado a través de procesos biológicos, sino por transporte de las aguas superficiales de S a N, mediadas por vientos del S y SE. Antecedentes sobre el particular fueron presentados al ICHA 2018 en Nantes, Francia (Guzmán *et al.*, 2018).

Actividad 4. Explorando las relaciones entre *Alexandrium*, *Dinophysis* y *Protoceratium*.

Complementando el trabajo desarrollado en la etapa previa, en esta oportunidad sobre la base de los resultados del análisis de conglomerados (ver párrafos previos) se trabajaron los resultados del análisis SIMPER, en términos de distinguir la contribución de los distintos taxones en la conformación de los distintos grupos segregados y su distribución espacio temporal, tanto del análisis entre localidades, como entre periodos estacionales del año. De esta forma se profundizarán los resultados entregados durante la etapa XIII.

Actividad 5. Comparación de la densidad celular entre el estrato superior (0-10 metros) y el profundo (10-20 metros) a escala temporal y espacial.

Se realiza un primer análisis exploratorio de los datos obtenidos desde las etapas II (2007-08) 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 de Mareas rojas para las tres regiones administrativas. El objetivo de este primer análisis es ver si existen diferencias entre ambos estratos, tanto para la abundancia total de fitoplancton, como para la abundancia por especies y composición del ensamble fitoplanctónico, presentándose una visión general y primeras interpretaciones del comportamiento de la comunidad fitoplanctónica generados a partir de la densidad total anual (cels L⁻¹) de un total de 301 especies que incluyen los grupos de diatomeas y dinoflagelados distribuidos en un total de 146 estaciones de monitoreos abarcando las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes. Para una mejor comprensión 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.

Por otra parte y debido a la gran extensi3n de terreno que abarca el programa de monitoreo adem3s de la gran diversidad de ambientes que podemos encontrar en esta basta extensi3n de terreno, es que en esta primera instancia los an3lisis se realizaron abarcando los 9 sectores administrativos (3 por regi3n) que se utilizan en el programa de monitoreo los cuales son los siguientes: para la regi3n de Los Lagos encontramos los sectores de Los Lagos Norte, Los Lagos Centro y Los Lagos Sur, mientras que en la regi3n de Ays3n encontramos los sectores de Ays3n Norte, Ays3n Sur y Tortel, finalmente la regi3n de magallanes se divide en Norte, Centro y Sur respectivamente.

Los an3lisis estadísticos 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 índices de dominancia de Simpson (D') e índice de diversidad de Shannon (H') para ver diferencias entre las especies para los dos estratos.

Actividad 6. Exploraci3n de datos satelitales.

Para complementar la interpretaci3n de informaci3n hist3rica descrita anteriormente, se inici3 la exploraci3n de informaci3n disponible de clorofila-a satelital, para contrastar los antecedentes de terreno y eventualmente reconstruir señaes originadas por floraciones previas (e.g. floraci3n de *Alexandrium catenella* de 2009, 2016, 2018), y contrastar esa informaci3n con los ensambles de fitoplancton definidos con antecedentes generados por el programa. Estos antecedentes requieren ser validados seg3n sus respectivas huellas espectrales y que no est3n comprometidos en este estudio, sin embargo, permitir3n disponer de los primeros antecedentes y configuraciones espacio temporales asociados a FAN.

En una primera etapa se abordará el sector geogr3fico del extremo norte del sistema de fiordos y que corresponde con el mar interior de Chilo3, golfo Corcovado y extremo norte de la regi3n de Ays3n; en las regiones de Ays3n y de Magallanes el an3lisis es m3s complejo y por lo mismo debe ser abordado m3s adelante.

Como primera aproximaci3n, a trav3s del an3lisis en los dominios del tiempo, el espacio y la frecuencia, se pretenden identificar/caracterizar las principales escalas de variabilidad (estacional, anual e interanual) entre los 41° a 45°S, abarcando el mar interior de Chilo3 hasta el sector norte de la regi3n de Ays3n. Se propone utilizar 12 a3os (2006 - 2018) de datos diarios de concentraci3n superficial de



clorofila-a con una resolución espacial de 4 km, los que serán obtenidos desde el producto CMEMS (Copernicus Marine Environment Monitoring Service):

OCEANCOLOUR_GLO_CHL_L4_REP_OBSERVATIONS_009_082, distribuido por el Programa Europeo de Observación Terrestre: COPERNICUS (<https://www.copernicus.eu/en>). El producto combina las misiones SeaWiFS, MODIS-Aqua, MERIS, VIIRS y OLCI-S3A, y contiene un algoritmo de interpolación objetiva otorgando imágenes libres de cobertura nubosa (Saulquin *et al.*, 2019).



4.4. Metodología Objetivo Específico 4

Incorporar el desarrollo, implementación y utilización de nuevas técnicas de detección de microalgas y de biotoxinas, así como mantener en cultivo especies nocivas chilenas que permitan avanzar el conocimiento y comprensión de los eventos nocivos.

Actividad 1: Identificación molecular en especies de microalgas nocivas.

Se descargarán secuencias correspondientes a los genes 28S (LSU) y 18S (SSU) de las especies *A. catenella*, *A. ostenfeldii*, *P. reticulatum*, *D. acuta*, *D. acuminata* provenientes de la base de datos NCBI en la sección nucleótidos, las cuales se alinearon para buscar regiones conservadas que permitan el diseño de primers (Forward and Reverse) para la técnica de qPCR, los cuales serán enviados a sintetizar en la empresa IDT (Integrated DNA Technologies, <https://www.idtdna.com>). Una vez recibidos los nuevos primers se probarán en muestras de cultivos monoclonales de las especies objetivo antes señaladas, en diferentes concentraciones celulares para determinar los límites de detección y también en muestras de ambiente.

Extracción de ADN

El fitoplancton fue recolectado en todas las estaciones 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 μm . Los arrastres se realizaron en triplicado (3 réplicas). Las muestras se filtraron mediante bomba de vacío, donde el material biológico quedó retenido en filtros de fibra de tamaño de poro 0,7 μm el cual se almacenó en tubos eppendorf de 2mL a una temperatura de -20°C para evitar degradación de la muestra. La extracción de ADN se realizó mediante el método de CTAB, el cual fue cuantificado usando el kit dsDNA BR Assay (Invitrogen) y el equipo Qubit V4 (Invitrogen) mientras que la integridad se corroboró usando geles de agarosa. Posteriormente el ADN extraído se conservó a -20°C para posteriores amplificaciones mediante PCR cuantitativa (qPCR).

PCR con partidores especie-específicos.

La PCR usando los partidores diseñados anteriormente será en un volumen de reacción de 25 μL . El producto de PCR obtenido será purificado usando el kit EZNA, el producto se enviará a secuenciar a la empresa MACROGEN Inc (Korea), con la finalidad de establecer la especificidad de los partidores con las especies objetivo.

PCR en tiempo real

Una vez determinada la especificidad de los partidores antes señalados mediante PCR tradicional, se empleará diluciones seriadas para determinar la eficiencia de estos, usando PCR tiempo real (qPCR). Con la eficiencia establecida anteriormente los primers serán testeados en muestras de monocultivo en una batería de concentraciones desde 25 a 3000 céls mL^{-1} con la finalidad de detectar los límites de detección. De forma paralela los partidores se probarán en muestras de ambiente para determinar concentraciones de las especies objetivos en este tipo de muestras usando el kit Master mix LightCycler



480 II y a su vez se diseñarán sondas Taqman para incrementar la especificidad de los marcadores diseñados anteriormente.

Metabarcoding

Para el caso de este proyecto las estaciones de muestreos contempladas para la identificación molecular basados en la metodología de metabarcoding corresponderán a las estaciones: L02N1, L09, L12, L18N2, L20, L23, L22, L24, A02, A05, A34, A11N1, A08N3, A19N1, A20N1, A29, A49N1, M12, M17, M35.

Secuenciación

Para caracterizar la diversidad de taxa fitoplanctónicos se usó un par de partidores que amplifican la región V4 del gen ribosomal 18S (Forward: CCAGCASCYGC GGTAATTCC – Reverse: ACTTCGTTCTTGATYRA) (Giner *et al.* 2019). Esta región entrega información taxonómica y filogenética del conjunto de taxa que están presentes en una determinada muestra (Giner *et al.* 2019). Para secuenciar esta región se realizaron bibliotecas que luego fueron secuenciadas a través de 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 primer paso es una PCR de la región a amplificar (25 ciclos). Luego se realiza un pool de 36 muestras post PCR y se realiza 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 y un perfil de ciclo de temperaturas con el siguiente programa: 95°C por 3 min, 25 o 8 ciclos de: 95°C for 30 s, 55°C por 30 s, 72°C por 30 s y 72°C por 5 min.

Análisis bioinformáticos

La calidad de las librerías obtenidas fue evaluada a través del software FastQC v0.9.11, mientras que los *reads* asociados a cada muestra fueron separados usando el script Fqgrep (<https://github.com/indranielfqgrep>). Los nucleótidos que representaron primers, indexes y espaciadores de cada *read* fueron eliminados usando Cutadapt. DADA2 fue utilizado para construir los ASVs (amplicon sequence variant) con la modalidad *denoise-paired* y los siguientes parámetros: --p-trunc-len-f 0; --p-trunc-len-r 200; --p-max-ee-f 2; --p-max-ee-r 2; --p-n-reads-learn 1000000; --p-chimera-method pooled). La asignación taxonómica de las secuencias de nucleótidos representativas de cada ASV se realizó a través del comando *qiime feature-classifier classify-consensus-vsearch* implementado en el Software QIIME2, mientras que PR2 v4.13.0 fue usada como base de datos de referencia con un porcentaje de identidad de 90%. Una vez obtenida esta asignación taxonómica, aquellos ASVs que fueron clasificados como Bacteria, Unassigned, Rhodophyta y Opisthokonta fueron removidos. Para visualizar el nivel de cobertura de diversidad en cada muestra se construyeron curvas de rarefacción. Mientras que para estimar métricas de alfa (número de ASVs e índice de Shannon) y beta diversidad (Bray Curtis y Jaccard) se utilizó el comando *qiime diversity core-metrics* implementado en el Software



QIIME2. Previo a esto, las muestras fueron homogenizadas en el nivel de profundidad de muestreo a 10.000 y 20.000 secuencias por muestra. Aquellas muestras que no alcanzaron este nivel de profundidad de muestreo fueron descartadas de los análisis. Finalmente, la composición taxonómica y abundancia relativa de fitoplancton por muestra y factor de análisis del estudio puede ser visualizada a través de la plataforma interactiva de QiimeView (<https://view.qiime2.org/>).

Actividad 2. Distribución anual de toxinas mediante LC-Masas y LC-Fl y su asociación con microalgas que las producen identificadas mediante microscopía electrónica.

Si bien se conocen las especies de microalgas que producen toxinas, los perfiles de éstas en la columna de agua presentan aún escasa información y menos de las especies emergentes (e.g. *Karenia* spp, *Azadinium* spp, *Pseudo-nitzschia* spp).

Se realizaron muestreos con manguera de 2.5 cm de diámetro y 10 m de largo del estrato superficial. De la muestra obtenida, se filtraron 4 L de agua previamente homogeneizada por filtros de membrana GF/F (Whatmann), para ello se utilizó una unidad de filtración Nalgene de 1 L y una bomba de vacío Rocket 300. Se utilizaron 1 o más filtros, cuando la filtración se hizo lenta hubo que cambiar de filtro. Todos los filtros utilizados se doblaron utilizando guantes y se guardaron en tubos cónicos tipo falcón de 15 mL debidamente rotulados, los que fueron congelados a -20°C hasta ser despachados al Laboratorio del CREAN en Puerto Montt. En general las estaciones de muestreo fueron seleccionadas de acuerdo a que en estas se tomen muestras para análisis de fitoplancton cuantitativo, nutrientes y extracción de mariscos (en algunas estaciones no hay extracción de mariscos). Las estaciones de muestreo son las siguientes:

- Región de Los Lagos: Yates (L02); Hueihue (L06); Isla Butachauques (L09, sin extracción de marisco); Ayacara (L10); Isla Guapiquilán (L24); Tic-Toc (L25).
- Región de Aysén: Isla Ovalada (A05); Añihué (A10); Isla Ipún (A38N4); Canal Moraleda Isla Cuptana (A35N1, sin extracción de marisco); Isla Isquiliac (A49N1, sin extracción de marisco); Tronador (A50).
- Región de Magallanes: Canal Adalberto (M04); Isla Larga (M20), Bahía Mussel (M30); Segunda Angostura (M39N1, sin extracción de marisco); Seno Ventisquero (M40); Puerto Eugenia (M46).

En el Laboratorio del CREAN en Puerto Montt, los filtros se dividieron en dos mitades, una mitad se utilizó para la detección de toxinas lipofílicas, y la otra mitad se utilizó para la detección de toxinas paralizantes.

Un extracto (100% metanol) se utilizó para analizar la presencia de okadatos, pectenotoxinas, yesotoxinas, azaspirácidos, gimnodiminas, espirólidos y ácido domoico, utilizando cromatografía en fase reversa en condiciones ácidas, basados en las siguientes metodologías:



“EU-Harmonised Standard Operating Procedure for determination of Lipophilic marine biotoxins in molluscs by LC-MS/MS. Version 5 (EU-RL-MB, January 2015)”

“Intralaboratory Validation of a Fast and Sensitive UHPLC/MS/MS Method with Fast Polarity Switching for the Analysis of Lipophilic Shellfish Toxins. Journal of AOAC International Vol. 97, No. 2.” ([Braña-Magdalena et al., 2014](#))

El otro extracto (ácido acético 0.05M), se diluyó 1:4 con acetonitrilo, para posteriormente analizar la presencia de toxinas marinas paralizantes utilizando cromatografía HILIC, basados en la metodología de [Turner et al., \(2020\)](#)

Actividad 3. Estudio de biotoxinas en tejido de mariscos.

Dado que la metodología oficial para evaluar la toxina diarreica, arroja numerosos falsos positivos, se evaluaron situaciones puntuales en todo el espacio geográfico que cubre el estudio (los puntos exactos de toma de muestras se indican en la actividad anterior), tendiente a identificar y cuantificar las toxinas presentes. Para ello se realizó un análisis de HPLC MS/MS.

Se determinaron biotoxinas marinas lipofílicas de los grupos de ácido okadaico (AO), pectenotoxina (PTX), azaspirácido (AZA), espirólido (SPX1), gimnodimina (GYM) y yesotoxina (YTX) en mariscos. La determinación cuantitativa de AO, PTX2, AZA1, AZA2, AZA3, DTX1, DTX2, YTX, homoYTX, Gym, 12 metil Gym, SPX1 y DA es en forma directa, por medio de los estándares de referencia disponibles comercialmente. Asumiendo un factor de respuesta equivalente, el procedimiento permite la cuantificación indirecta de PTX1 por medio del uso de PTX2.

El método se basa en la extracción de las toxinas de los tejidos previamente homogeneizados con 100% metanol (MeOH). Los extractos se analizaron por HPLC-MS/MS para determinar AO libre, DTX1 libre, DTX2 libre, PTX1, PTX2, AZA1, AZA2, AZA3, YTX, Homo YTX, Gym, 12 metil Gym, SPX1 y DA. Para determinar el contenido total del grupo de las toxinas AO, se realizó una hidrólisis alcalina del extracto para convertir todos los ésteres acetilados de estas toxinas a sus formas libres, para luego ser analizados en HPLC MS/MS. Además, aunque es una toxina hidrofílica, se determinó ácido domoico (DA).

Adicionalmente a las mismas muestras se les determinó biotoxinas marinas paralizantes, utilizando la metodología descrita por [Turner et al., \(2020\)](#). Específicamente se determinó C1, C2, GTX1, GTX2, GTX3, GTX4, GTX5, dc GTX2, dc GTX3, dc NeoSXT, dc STX, NeoSXT y SXT. Debido a que la metodología lo permite, se incluyó la búsqueda de Tetrodotoxina (TTX). Los resultados son tabulados como nanomoles de toxina por litro en el vial, y ordenados por estación y crucero, según cada región administrativa. Posteriormente la concentración de cada análogo se transforma en $\mu\text{g STX di-HCl eq/100 g}$ utilizando la siguiente fórmula (adaptada de [Turner et al., 2000](#)):



Conc. $\mu\text{g STX di-HCl eq/100 g}$: $(\text{Conc}_{\text{nmol/L}} * M_{\text{SXT}} * \text{DF} * \text{TEF})/10000$

Conc. $\mu\text{g STX di-HCl eq/100 g}$: STX di HCL eq en el homogeneizado de muestra en microgramos STX TEF) / di-HCl por 100 gramos de muestra.

Conc. nmol/L : Concentración medida del extracto de muestra en nanomoles por litro.

M_{SXT} : Peso molecular de SXT di- HCl (372.32)

DF: Factor de Dilución

TEF: Factor de Toxicidad equivalente

Para comparar con el bioensayo del ratón, se suman las concentraciones obtenidas de cada análogo.

Actividad 4. Implementación de nuevas herramientas analíticas in vitro con el fin de ampliar conocimiento de la taxonomía, distribución biogeográfica, sus biotoxinas y su respuesta eco-fisiológica frente a variables ambientales, de las principales especies de microalgas tóxicas.

Análisis de pigmentos de *Heterosigma akashiwo* por HPLC

Para el análisis de pigmentos, se filtraron 100 mL de cultivo de *H. akashiwo* (cepa CREAM_HA03) 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 24h 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 desgasificador 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 m v: v) y la fase móvil B con etanol. El programa de gradiente se ajustó a un caudal de $1,0\text{ mL min}^{-1}$. 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).

Extracción y análisis de lípidos de *H. akashiwo*.

Los filtros que contienen los cultivos de *H. akashiwo* cepa CREAN_HA03 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., \(2007\)](#). Después de la separación de fases, se recuperaron los lípidos en la capa inferior de diclorometano y se realizó una segunda extracción para maximizar la recuperación de los lípidos. Los disolventes se eliminaron al vacío mediante evaporador rotativo. Los lípidos extraídos se transmetilaron en metanol / cloroformo / ácido clorhídrico (10: 1: 1, v / v / v) durante 2 h a 85 °C. Después de la adición de agua, la mezcla se extrajo tres veces con hexano / cloroformo (4: 1, v / v) para obtener ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME), que se concentraron bajo una corriente de gas nitrógeno. Las muestras se prepararon a un volumen conocido con la solución estándar de inyección interna (FAME 19: 0) y se analizaron por cromatografía de gases utilizando un GC 7890N de Agilent Technologies (Palo Alto, CA, EE. UU.) equipado con una sílica metílica reticulada Equity-1 columna capilar de sílice fundida (15 mx 0.1 mm id) y un FID. Se utilizó helio como gas portador. Las muestras fueron inyectadas por un inyector dividido / sin división y un inyector automático de la serie 7683B de Agilent Technologies en modo sin división a una temperatura del horno de 120 °C. Después de 1 minuto, la temperatura del horno se aumentó a 270 °C a 10 °C min⁻¹, luego a 310 °C a 5 °C min⁻¹. Los FAME se identificaron mediante la evaluación de los tiempos de retención de los estándares auténticos y de laboratorio. Se realizaron análisis de cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS) para muestras seleccionadas para la confirmación 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 equipó con una columna capilar de polaridad similar a la descrita anteriormente.

Actividad 5. Efectos de estresores múltiples sobre tasas ecofisiológicas y toxicidad del dinoflagelado nocivo *Alexandrium catenella*.

Experimento con distintas cepas de *Alexandrium catenella*.

Con el fin de poder conocer las tasas de crecimiento máximo del dinoflagelado nocivo *Alexandrium catenella* y observar si existen diferencias en el crecimiento entre distintas cepas de esta especie, se realizarán experimentos de tipo factorial haciendo combinaciones de 4 parámetros distintos en un mismo experimento (luz, nutrientes, temperatura y salinidad). Esto además de permitirnos observar la variabilidad entre las diferentes especies, también nos permitirá diferenciar cuál de estos parámetros (o la combinación de estos), tiene una mayor influencia en el crecimiento de *A. catenella*. Para esto se aislaron cepas de tres regiones administrativas diferentes (Los Lagos, Aysén y Magallanes) denominadas según la siguiente nomenclatura: Cepa AC-CU, perteneciente a la región de Los Lagos y aislada desde la localidad de Cucao (Chiloé, zona mar expuesto). Cepa ACPU, aislada desde la zona de Canal Puyuhuapi en la Región de Aysén y por último la cepa M41 obtenida desde la zona de Ventisquero España en la zona sur de la región de Magallanes.



Mantenición de cultivos de *Alexandrium catenella*.

Los cultivos iniciales se desarrollarán en matraces esterilizados de 150 mL llenos con 100 mL de agua de mar filtrada enriquecida con medio L1 (Guillard & Hargraves 1993). La inoculación de las microalgas se realizará una vez que el medio alcance la temperatura experimental deseada utilizando entre 1 a 5 mL de cultivo. El proceso de inoculación será realizado en condiciones asépticas bajo una campana previamente tratada con luz UV y flameando en un mechero la boca de los matraces para evitar contaminación.

Los recuentos para observar el estado celular se realizarán extrayendo 2 mL de cada cultivo homogenizado delicadamente. Las muestras serán fijadas con Lugol y contabilizadas en una cámara Sedgewick-Rafter utilizando microscopía convencional o invertida (Garrido *et al.*, 2012).

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

Diseño experimental.

Antes de realizar los experimentos, y con el fin de evitar cualquier tipo de interferencia debido a los cambios en las diferentes variables a medir, los cultivos serán aclimatados escalonadamente a las diferentes condiciones experimentales por lo menos durante dos generaciones (1 a 2 meses), periodo en el cual, el cultivo, deberá alcanzar un volumen y concentración celular suficiente para comenzar el experimento.

Para esto se inoculan 5 mL de cultivo en fase exponencial en matraces autoclavados de 150 mL (escalando luego a matraces de 250 mL) cada uno con 100 mL con agua de mar esterilizada enriquecida con medio de cultivo L1.

Las tasas de crecimiento fueron obtenidas utilizando un diseño factorial cruzado con 45 condiciones diferentes (Fig. 4.5.1), obtenidas combinando un total de 3 temperaturas (12, 15, 17 °C), 3 salinidades (15, 25, 35 psu), 3 intensidades lumínicas (50, 100, 150 $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$) y 3 concentraciones de nutrientes (2,2 – 4,4 – 8,8 μM).

Una vez terminado el período de aclimatación cada uno de los inóculos de la cepa seleccionada son transferidos a matraces de 500 mL inoculando un volumen variable de células para obtener una concentración aproximada de 300-500 cél mL^{-1} . Los cultivos se mantienen en cámaras con temperatura, luz y fotoperiodo controlados, los cuales son modificados según los requerimientos de cada experimento.

El día de inicio del experimento se toman 3 submuestras de 1 mL de cada uno de los matraces experimentales (tiempo inicial o T_0) y son fijadas en una solución de Lugol (concentración final 2%). Este



mismo procedimiento para la toma de muestras se hace cada dos días durante un periodo de 28 días para su posterior conteo a través de un contador de células (Coulter Counter Beckman Z2).

Cálculo tasas de crecimiento.

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

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

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

4.5. Metodología Objetivo Específico 5

Difundir los resultados del programa, realizar acciones de capacitación y fortalecer la vinculación con el medio.

Actividad 1. Difusión de los estimadores de abundancia relativa de los taxones nocivos.

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.

Actividad 2. Difusión de resultados y capacitación.

La entrega de resultados de las principales actividades realizadas en este monitoreo, como también de aquellas líneas de investigación que complementan las complejidades de algunos de estos resultados, se realizaron en forma telemática, permitiendo la exposición de investigadores de nuestro centro en simposios nacionales e internacionales. Además, se realizaron cuatro capacitaciones para funcionarios públicos, siguiendo la modalidad telemática, abordando las principales temáticas de FAN.

Actividad 3. Vinculación con el Medio.

Conversatorios y actividades colaborativas

Durante el segundo semestre 2020, se realizaron 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 distintos 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”, donde cada asistente indica en sólo una palabra que es lo que primero se le viene a la mente cuando escucha los vocablos 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 percepción

Previo a iniciar los talleres, se realizó una evaluación de percepción, 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 seis preguntas generales. 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 incluyeron tres opciones: Sí, No, No sabe.



5. RESULTADOS

5.1. Objetivo Específico 1:

Monitorear y analizar las variaciones espacio-temporales de microalgas nocivas, biotoxinas marinas, fitoplancton, quistes de dinoflagelados y de variables hidrográficas y meteorológicas en la zona de estudio.

Actividad 1: Realizar los muestreos y analizar el fitoplancton cualitativo, cuantitativo y estimar abundancia relativa de siete taxones nocivos, en todas las estaciones de la red de monitoreo.

Descripción de la abundancia relativa (AR), de los principales taxones nocivos (*Alexandrium catenella*, *A. ostenfeldii*, *Dinophysis acuminata*, *D. acuta*, *Protoceratium reticulatum*, *Pseudonitzschia. cf. pseudodelicatissima* y *P. cf. australis*), para el periodo comprendido entre marzo de 2020 a marzo de 2021 en las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes.

***Alexandrium catenella*.** Para la zona norte de la región de Los Lagos se detectó la presencia de esta especie entre marzo de 2020 a enero de 2021, sin embargo, la abundancia relativa sólo alcanzó el nivel 2 (escaso) en la estación L04N3 Chayahué en septiembre de 2020. En las estaciones de monitoreo ubicadas en el sector centro de Los Lagos se detectó esta especie en los meses de julio y septiembre de 2020 pero en bajos niveles, siendo la estación L08 Isla Mechuque la que registró un nivel máximo de abundancia relativa de 2 (escaso) en septiembre de 2020. En la zona sur de Los Lagos se detectó esta microalga entre marzo de 2020 y marzo de 2021, alcanzado como máximo un nivel 4 (abundante) en octubre de 2020 en las estaciones L22N1 Ensenada Quilanlar, L22N3 Isla Redonda, L23N2 Isla San Pedro 2 y L24N1 Isla Guapikilán 2. La estación L16N1 Isla Chaullín registró este mismo nivel en los meses de diciembre de 2020 y marzo de 2021.

En las estaciones de la zona norte de la región de Aysén se detectó la presencia de *A. catenella* en todo el período del estudio, sin embargo, los índices de abundancia relativa fueron bajos ya que no se superó el nivel 2 (escaso) en ninguna estación. En las estaciones de la zona sur de la región de Aysén, la presencia de esta microalga se registró durante todo el estudio, pero con bajos indicadores de abundancia relativa en la mayoría de las estaciones. En marzo de 2020, solamente seis estaciones mostraron indicadores entre los niveles 4 (abundante) y 7 (hiper abundante), este último registrado en la estación A48 Isla Palumbo, en abril de 2020 las estaciones A44 Canal Carrera del Chivato y A47 Isla Castillo registraron nivel 4 y la estación A48 Isla Palumbo, nivel 5 (muy abundante) y en octubre de 2020, sólo la estación A32 Isla Vergara registró nivel 5. Las estaciones del sector Tortel presentaron bajos índices de abundancia relativa, llegando a un máximo de nivel 2 (escaso) en la estación A59 Isla Zealous en mayo de 2020 y en las estaciones A57 Isla Scout y A60 Punta Baker en julio de 2020.



En las estaciones de la zona norte de Magallanes se detectó la microalga *A. catenella* durante gran parte del periodo comprendido entre mayo de 2020 a febrero de 2021, pero en bajos niveles de abundancia relativa, sólo la estación M12 Isla Figueroa registró nivel 5 (muy abundante) en diciembre de 2020 y nivel 4 (abundante) en enero de 2021. Las estaciones de la zona centro de esta región registraron bajos niveles de abundancia relativa durante todo el periodo del estudio. Entre junio y julio de 2020 no se detectó la presencia de este dinoflagelado y sólo en el mes de enero de 2021 se alcanzó como máximo nivel 3 (regular) en las estaciones M25 Estero Silva Palma, M29N1 Isla Engelfield, M32 Bahía Cordes y M39 Puerto Zenteno. Al igual que en las otras zonas, las estaciones del sector sur de Magallanes registraron bajos niveles de abundancia relativa, sólo las estaciones M42 Ventisquero Holanda y M44 Puerto Navarino presentaron nivel 4 (abundante) en noviembre y diciembre de 2020 respectivamente.

Alexandrium ostenfeldii. Para las estaciones de la región de Los Lagos norte no se registraron floraciones de *A. ostenfeldii* durante todo el periodo de estudio. En abril de 2020 las estaciones L01 Metri y L03N1 Potrerillos registraron nivel 4 (abundante), en junio y agosto de 2020 la estación L03 Caleta La Arena registró nivel 4, en agosto además las estaciones L06N1 Isla Caicura y L06N3 Pichicolo alcanzaron nivel 4 y 5 (muy abundante) respectivamente. En las estaciones del sector centro de la región de Los Lagos, esta especie estuvo presente durante todo el periodo de estudio, pero sólo en marzo y septiembre de 2020 se registraron los valores más altos de abundancia relativa. En marzo la estación L10N2 Isla Talcán 2 registró nivel 4 (abundante) y la estación L10N3 Bahía Pumalín registró nivel 6 (extremadamente abundante). En septiembre 2020, las estaciones L07 Canal Caucahué, L08 Isla Mechuque, L09N1 Isla Butachauques y L11 Canal Dalcachue registraron nivel 4 y las estaciones L09 Isla Butachauques, L10 Ayacara y L10N2 Isla Talcán 2 registraron nivel 5 (muy abundante). En el sector sur de la región de Los Lagos, esta especie presentó bajos niveles de abundancia relativa en la mayoría de las estaciones durante el periodo de estudio. En marzo de 2020, las estaciones L17 Auchemó y L17N1 Estero Palvidad registraron nivel 4 (abundante) de abundancia relativa y la estación L25 Bahía Tic-Toc registró nivel 8 (ultra abundante), siendo esta la estación con más alto registro durante el estudio. En el mes de octubre de 2020 las estaciones L16N1 Isla Chaullín, L19N1 Yelcho, L23N1 Canal Guamblad y L23N2 Isla San Pedro 2 fueron las únicas en alcanzar nivel 4 de abundancia relativa al igual que la estación L25 Bahía Tic-Toc en el mes de enero de 2021.

En las estaciones del sector norte de la región de Aysén se registraron bajos niveles de abundancia relativa de este dinoflagelado durante la mayor parte del estudio registrándose como máximo nivel 4 (abundante) en las estaciones A18N2 Seno Canalad en abril de 2020, A22 Isla San Andrés en mayo de 2020 y A18N3 Seno Medio en junio de 2020. En las estaciones del sector sur de Aysén, se registraron bajos niveles de abundancia relativa durante la mayor parte del estudio. Se registró nivel 4 (abundante) en la estación A32 Isla Vergara en mayo, junio y septiembre de 2020, en la estación A42 Canal Pilcomayo en junio y septiembre y en la estación A48N1 Canal Carrera del Cuchi en junio. También se registró nivel 5 (muy abundante) en las estaciones A30 Isla Julián en mayo y junio de 2020, en la estación A30N1 Isla Viola en mayo de 2020 y en la estación A32 Isla Vergara en el mes de octubre de 2020. En las estaciones del sector Tortel, esta especie presentó registro bajos niveles de abundancia



relativa durante todo el período del estudio, en donde ninguna estación superó el nivel 3 (regular) de abundancia relativa. Este nivel se registró en julio de 2020 en las estaciones A55 Isla Orlebar, A59 Isla Zealous y A60 Punta Baker y en agosto de 2020 en la estación A55 Isla Orlebar.

La zona norte de Magallanes presentó valores de abundancia relativa de *A. ostenfeldii* entre los niveles 0 (ausente) y 6 (extremadamente abundante). Se registró nivel 5 (muy abundante) en las estaciones M6N3 Puerto Mancilla, M01N Isla Norton y M6N4 Isla Carlos Norte en los meses de mayo, junio y agosto respectivamente y en septiembre, la estación M05 Bahía Liberta registró nivel 6 (extremadamente abundante). Las estaciones del sector centro de Magallanes presentaron bajos valores de abundancia relativa durante todo el estudio, incluso durante junio y julio de 2020 no se detectó la presencia de este dinoflagelado, sólo en noviembre de 2020 las estaciones M34N1 Canal Gabriel Occidental, M39C3 Canal Gabriel Oriental, M39N3 Puerto Yartou, M39N4 Dalmacia y M39N5 Santa María alcanzaron nivel 3 (regular). Al igual que en los sectores norte y centro de Magallanes, en estas estaciones la abundancia relativa de esta especie no superó el nivel 3, siendo la estación M42 Ventisquero Holanda la única en alcanzar nivel 4 (abundante) en noviembre de 2020.

***Dinophysis acuminata*.** En las estaciones de la zona norte de la región de Los Lagos, se detectó la presencia de este dinoflagelado durante todo el período del estudio, pero a partir del mes de agosto de 2020 la abundancia relativa estuvo entre los niveles 4 (abundante) y 9 (mega abundante) en la mayor parte de las estaciones lo que indica una floración importante de esta especie en esta área. La estación L03N1 Potrerillos en el mes de noviembre de 2020 y las estaciones L01 Metri y L06N1 Isla Caicura en enero de 2021 registraron nivel 9 de abundancia relativa. En las estaciones del sector centro de la región de Los Lagos, *D. acuminata* estuvo presente durante todo el período del estudio. Entre marzo y abril de 2020 los indicadores de la abundancia relativa estuvieron entre los niveles 3 (regular) y 6 (extremadamente abundante), siendo las estaciones L 11 Canal Dalcahue y L12 Isla Quehui las que registraron el valor más alto de abundancia relativa en el mes de abril de 2020. En el mes de julio de 2020 ninguna estación superó el nivel 3 de abundancia relativa y a partir de septiembre de 2020 y hasta febrero de 2021 los indicadores comenzaron a aumentar fluctuando entre los niveles 4 (abundante) y 6 (extremadamente abundante) en la mayoría de las estaciones lo que evidencia una floración de esta especie ya que incluso en la estación L09N1 Isla Butachauques 2 registró nivel 9 (mega abundante) en septiembre de 2020 y las estaciones L10 Ayacara, L10N3 Bahía Pumalín y L09 Isla Butachauques se registró nivel 7 (hiper abundante) de abundancia relativa en los meses de septiembre, octubre y noviembre de 2020 respectivamente. En las estaciones situadas en el sector sur de la región de Los Lagos, se registró la presencia de esta especie durante todo el período del estudio. Durante marzo de 2020 se detectó una floración de *D. acuminata* ya que la mayoría de las estaciones estuvieron entre los niveles 3 (regular) y 6 (extremadamente abundante) y la estación L25 Bahía Tic Toc registró el valor más alto de abundancia relativa, llegando a nivel 9 (>mega abundante). Entre agosto y septiembre de 2020 los indicadores de abundancia relativa disminuyeron notoriamente ya que la mayoría de las estaciones presentaron niveles entre 1 (raro) y 3 (regular), en este período sólo la estación L25 Bahía Tic Toc registró nivel 5 (muy abundante) de abundancia relativa. A partir de octubre de 2020 y hasta



marzo de 2021, la abundancia relativa comenzó a aumentar en la mayoría de las estaciones fluctuando entre los niveles 4 (abundante) y 8 (ultra abundante) lo que indica una nueva floración de esta especie.

En las estaciones del sector norte de la región de Aysén, la presencia de esta especie se detectó durante todo el período del estudio. Entre marzo y abril de 2020 los indicadores de abundancia relativa fluctuaron entre los 1 (raro) y 3 (regular) en la mayoría de las estaciones, sin embargo, en abril las estaciones A18N3 Seno Medio y A18N4 Canal Moraleda 3 registraron nivel 8 (ultra abundante) y 6 (extremadamente abundante) respectivamente. A inicios de mayo de 2020, se registraron valores de abundancia relativa entre los niveles 4 (abundante) y 9 (mega abundante) en algunas estaciones, siendo la estación A19 Seno Magdalena la que registró el nivel más alto. Entre julio de 2020 y febrero de 2021, la abundancia relativa disminuyó en la mayoría de las estaciones. En este período las estaciones que registraron los indicadores más altos fueron A19N2 Seno Ventisquero 2, que registró nivel 6 (extremadamente abundante) en julio, las estaciones A18 Punta Cálqueman y A10 Añihué que registraron nivel 5 (muy abundante) en agosto y diciembre respectivamente y las estaciones A14 Seno Miller y A17 Isla Bobadilla – Seno Soto que en febrero de 2021 registraron nivel 8 (ultra abundante). En las estaciones del sector sur de la región de Aysén se registró una floración de esta especie entre marzo y abril de 2020, ya que, en la mayoría de las estaciones, los indicadores de abundancia relativa estuvieron entre los niveles 4 (abundante) y 10 (>mega abundante), siendo la estación A27 Estero Quitralco la que registró el nivel más alto en marzo de 2020. Entre mayo y noviembre de 2020 los indicadores disminuyeron notoriamente ya que, en la mayor parte de las estaciones, los valores no superaron el nivel 3 (regular), en este período las estaciones que registraron los niveles más altos fueron A30 Isla Julián con nivel 8 (ultra abundante) en el mes de mayo y A32 Isla Vergara con nivel 7 (hiper abundante) en el mes de octubre. Entre diciembre de 2020 y febrero de 2021 nuevamente se registró un incremento en los indicadores de abundancia relativa, los cuales oscilaron entre los niveles 4 y 10 en la mayoría de las estaciones. Las estaciones que registraron el nivel más alto fueron A30 Isla Julián y A32N1 Isla Ester en el mes de diciembre y las estaciones A23 Isla Orestes, A24 Cinco Hermanas, A30 Isla Julián, A30N1 Isla Viola, A32 Isla Vergara A32 Isla Ester y A42 Canal Pilcomayo en el mes de enero. En las estaciones del sector Tortel se registraron valores altos de abundancia relativa durante la mayor parte del estudio con indicadores entre niveles 4 (abundante) y 10 (>mega abundante) principalmente en octubre de 2020 en donde las estaciones A55 Isla Orlebar, A57 Isla Scout y A59 Isla Zealous registraron nivel 10. En junio de 2020 sólo la estación A55 Isla Orlebar registró nivel 4 y en enero de 2021 sólo las estaciones A55 Isla Orlebar y A62 Islote Porvenir. En febrero de 2021 ninguna estación superó el nivel 3 (regular).

En las estaciones del sector norte de la región de Magallanes, se detectó la presencia de esta especie durante todo el período del estudio con niveles de abundancia relativa entre 0 (ausente) y 10 (>mega abundante). Entre mayo y junio de 2020, la abundancia relativa en la mayoría de las estuvo entre los niveles 4 (abundante) y 10, siendo las estaciones M17 Caleta Williams y M23 Isla Ballesteros las que registraron el valor más alto de abundancia relativa en junio de 2020. Entre julio y septiembre de 2020 se registraron bajos valores de abundancia relativa en la mayoría de las estaciones con excepción de las estaciones de las estaciones M6N1 Seno Duque Edimburgo, M02N1 Isla Carlos y M20 Isla Larga



que registraron nivel 5 (muy abundante) en julio de 2020, las estaciones M22 Estero de las Montañas y M23 Isla Ballesteros que en agosto de 2020 registraron nivel 5 (muy abundante) y 6 (extremadamente abundante) respectivamente y en septiembre de 2020 en donde la estación M04 Canal Adalberto registró nivel 5, la estación M6N3 Puerto Mancilla registró nivel 6 y la estación M05 Bahía Liberta registró nivel 8 (ultra abundante). En octubre de 2020 casi la mitad de las estaciones muestran indicadores entre los niveles 4 y 6, sin embargo, en noviembre de 2020 ninguna estación superó el nivel 3 (regular). Entre diciembre de 2020 y febrero de 2021 sólo algunas estaciones presentaron indicadores por sobre el nivel 4, entre ellas la estación M23 Isla Ballesteros que registró nivel 8 (ultra abundante) en diciembre y la estación M22 Estero de las Montañas que registró nivel 9 (mega abundante) en el mes de enero. En las estaciones situadas en el sector centro de la región de Magallanes se registraron bajos indicadores de abundancia relativa y únicamente las estaciones M29N1 Isla Engelfield y M36 Bahía Buena registraron nivel 4 (abundante) de abundancia relativa en los meses de enero y febrero de 2021 respectivamente. Al igual que en las estaciones del sector centro, las estaciones del sector sur de Magallanes no registraron valores altos de abundancia relativa ya que la mayoría de las estaciones no superó el nivel 3 (regular), con la excepción entre los meses de noviembre de 2020 y febrero de 2021 en donde algunas estaciones registraron indicadores de abundancia relativa entre niveles 4 (abundante) y 7 (hiper abundante) siendo las estaciones M42 Ventisquero Holanda y M43 Bahía Yendegaia las que registraron nivel el nivel más alto en noviembre.

Dinophysis acuta. Este dinoflagelado prácticamente no se detectó en las estaciones de la zona norte de la región de Los Lagos ya que el indicador de abundancia relativa sólo alcanzó en nivel 1 (raro) en la estación L06N3 Pichicolo en marzo de 2020, en la estación L04 Calbuco Paso Queno en enero de 2021 y en la estación L06 Hueihue en febrero de 2021. En las estaciones del sector centro de la región de Los Lagos, sólo en abril de 2020 la estación L11 Canal Dalcahué registró nivel 1 en abril de 2020. Al igual que en las zonas norte y centro de la región de Los Lagos, las estaciones de la zona sur de esta región se registraron valores de abundancia relativa bajos, siendo las estaciones L23N1 Canal Guamblad y L24N1 Isla Guapiquilán 2 las únicas en alcanzar nivel 2 (escaso) en febrero de 2021.

En las estaciones de la zona norte de la región de Aysén, la abundancia relativa de esta especie fluctuó entre los niveles 0 (ausente) y 10 (>mega abundante) pero sólo algunas estaciones registraron indicadores entre los niveles 4 y 10 en mayo de 2020, julio de 2020 y febrero de 2021, siendo la estación A19 Seno Magdalena la que registró nivel 10 de abundancia relativa en mayo de 2020. En las estaciones de la zona sur de la región de Aysén la abundancia relativa de este dinoflagelado no superó el nivel 3 (escaso) durante la mayor parte del estudio, sin embargo, algunas estaciones registraron niveles de abundancia relativa entre 4 (abundante) y 10 (>mega abundante) principalmente en enero de 2021, siendo la estación A27 Estero Quitalco la que alcanzó este último nivel en este mes. Las estaciones de la zona de Tortel presentaron bajos valores de abundancia relativa durante todo el período del estudio y sólo la estación A59 Isla Zealous alcanzó nivel 4 (abundante) en mayo de 2020.

En las estaciones de la zona norte de la región de Magallanes, la abundancia relativa presentó bajos indicadores durante el período de estudio. Sólo en mayo de 2020 algunas estaciones registraron niveles



de abundancia relativa entre los niveles 4 (abundante) y 6 (extremadamente abundante) siendo la estación M03N Arrecife Hamond la que alcanzó nivel 6, luego entre marzo y febrero de 2021 se registraron niveles de abundancia relativa entre niveles 4 y 10 (>mega abundante) siendo las estaciones M04 Canal Adalberto y M05 Bahía Liberta las que registraron nivel 10 en marzo de 2021. En las estaciones de la zona centro de la región de Magallanes prácticamente no se detectó esta especie ya que sólo la estación M37N1 Guairabo Sur registró nivel 1 (raro) en enero de 2021. En las estaciones de la zona sur de Magallanes no se detectó la presencia de este dinoflagelado durante el período de estudio.

Protoceratium reticulatum. El dinoflagelado productor de yesotoxinas *P. reticulatum*, presentó bajos niveles de abundancia relativa en las estaciones de la zona norte de la región de Los Lagos durante la mayor parte del estudio y sólo entre enero y marzo de 2021 algunas estaciones registraron indicadores de abundancia relativa entre los niveles 4 (abundante) y 6 (extremadamente abundante), siendo las estaciones L06N1 Isla Caicura en enero de 2021, L03 Caleta La Arena en enero de 2021 y L02N2 Cochamó, L06N3 Pichicolo y L06N4 Hornopirén en marzo de 2021, las que registraron nivel 6. En las estaciones de la zona centro de la región de Los Lagos, se registraron valores bajos de abundancia relativa de esta especie durante la mayor parte del estudio, en abril de 2020 sólo cuatro estaciones registraron nivel 4 (abundante) de abundancia relativa, en enero de 2021 una sola estación y en febrero de 2021 tres estaciones. La estación L09 Isla Butachauques la única que alcanzó nivel 5 (muy abundante) en este último mes. Las estaciones de la zona sur de la región de Los Lagos presentaron bajos niveles de abundancia relativa y sólo entre enero y marzo de 2021 algunas estaciones registraron valores entre el nivel 4 (abundante) y el nivel 6 (extremadamente abundante), siendo las estaciones L17 Auchemó y L17N1 Estero Palvidad alcanzaron nivel 6 en marzo de 2021.

En las estaciones de la zona norte de la región de Aysén, este dinoflagelado presentó bajos valores de abundancia relativa. En mayo de 2020 sólo las estaciones A15 Isla Manuel y A19 Seno Magdalena registraron nivel 4 (abundante), lo mismo para el mes de octubre de 2020 en las estaciones A16 Isla Gama Zañartu – Canal Yacaf y A19 Seno Magdalena. Entre diciembre de 2020 y febrero de 2021 algunas estaciones registraron indicadores entre los niveles 4 y 6 (extremadamente abundante). En diciembre las estaciones A21 Puerto Amparo y A22 Isla San Andrés mostraron el valor más alto, lo mismo que la estación A18 Punta Cálqueman en el mes de enero de 2021. Las estaciones de la zona sur de la región de Aysén registraron bajos valores de abundancia relativa durante la mayor parte del estudio, sin embargo, algunas estaciones mostraron indicadores entre los niveles 4 (abundante) y 7 (hiper abundante) en marzo, mayo y diciembre de 2020. Entre enero y febrero de 2021 en algunas estaciones los valores de abundancia relativa fluctuaron entre los niveles 4 y 10 (>mega abundante), en donde las estaciones A30 Isla Julián y A32N1 Isla Ester presentaron el valor más alto de abundancia relativa. En las estaciones de la zona de Tortel, prácticamente no se detectó esta especie y sólo la estación A59 Isla Zealous registró nivel 3 (regular) en mayo de 2020. En las otras estaciones la abundancia relativa fluctuó entre los niveles 0 (ausente) y 2 (escaso).



Las estaciones de la zona norte de la región de Magallanes presentaron bajos valores de abundancia relativa durante todo el período de el estudio, sólo las estaciones M06 Puerto Edén, M01N Isla Morton y M10 Seno Europa registraron nivel 3 (regular) en junio de 2020. En las estaciones de la zona centro de Magallanes este dinoflagelado registró bajos niveles de abundancia relativa durante todo el período del estudio ya que ninguna estación superó el nivel 1 (raro). Al igual que en la zona centro, en las estaciones de la zona sur de Magallanes prácticamente no se detectó la presencia de este dinoflagelado, sólo las estaciones M42 Ventisquero Holanda y M43 Bahía Yendegaia alcanzaron nivel 1 (raro) de abundancia relativa en noviembre de 2020.

Pseudo-nitzschia cf. australis. Esta diatomea se encontró presente durante todo el estudio en las estaciones de la zona norte de la región de Los Lagos, con valores de abundancia relativa entre los niveles 0 (ausente) y 9 (mega abundante). Los niveles más altos de abundancia relativa se registraron a partir de octubre de 2020 y hasta marzo de 2021, en este período la mayoría de las estaciones registraron indicadores de abundancia relativa entre los niveles 4 (abundante) y 9 (mega abundante), lo que indica una floración importante de esta diatomea en este lapso de tiempo, siendo la estación L04N4 Isla Puluqui la que registró el valor más alto de abundancia relativa en enero de 2021. Se detectó la presencia de esta diatomea durante todo el estudio en las estaciones de la zona centro de la región de Los Lagos con indicadores de abundancia relativa entre los niveles 0 (ausente) y 9 (mega abundante). En marzo de 2020 todas las estaciones presentaron altos valores de abundancia relativa, con excepción de las estaciones L07 Canal Caucahue que registró nivel 2 (escaso) y la estación L12 Isla Quehui que registró nivel 3 (regular) lo que indica una floración de esta especie en este mes. El valor más alto se registró en la estación L09 Isla Butachauques (nivel 9). Entre abril y octubre de 2020 los indicadores de abundancia relativa disminuyeron y sólo la estación L 11 Canal Dalcachue registró nivel 5 (muy abundante). Entre noviembre de 2020 y febrero de 2021 nuevamente comenzaron a aumentar los indicadores de abundancia relativa, fluctuando entre los niveles 4 (abundante) y 9 (mega abundante), lo que indica otra floración de esta diatomea en este período. La estación L13 Isla Chaulinec fue la que registró el nivel más alto de abundancia relativa (nivel 9). En las estaciones de la zona sur de la región de Los Lagos se registró esta diatomea durante todo el período del estudio con indicadores de abundancia relativa entre los niveles 0 (ausente) y 7 (hiper abundante). Entre marzo y septiembre de 2020 la mayoría de las estaciones presentó bajos valores de abundancia relativa, sólo las estaciones L17N1 Estero Palvita y L25 Bahía Tic Toc registraron nivel 4 (abundante) en marzo de 2020, lo mismo que las estaciones L22N2 Inio y L24N1 Isla Guapiquilán 2 en septiembre de 2020. En marzo de 2020 la estación L17 presentó el indicador más alto registrando nivel 6 (extremadamente abundante). A partir de octubre de 2020, los indicadores de abundancia relativa aumentaron fluctuando entre los niveles 4 y 7 en algunas estaciones, lo que evidencia una floración de esta diatomea en este período. En enero de 2020 todas las estaciones registraron valores de abundancia relativa entre los niveles 5 (muy abundante) y 7 (hiper abundante), siendo las estaciones L16 Isla Acui, L16N1 Isla Chaulín y L17N1 Estero Palvita las que registraron los valores más altos de abundancia relativa. En marzo de 2021 las estaciones L17 Auchemó, L17N1 Estero Palvita y L17N2 Isla Tranqui también registraron nivel 7 de abundancia relativa.



En las estaciones de la zona norte de la región de Aysén se pudo detectar la presencia de esta diatomea durante todo el período del estudio con valores de abundancia relativa entre los niveles 0 (ausente) y 6 (extremadamente abundante). Entre marzo y mayo de 2020 se registraron bajos niveles de abundancia relativa en la mayoría de las estaciones, alcanzando como máximo nivel 6 en doce estaciones. Entre junio y septiembre de 2020 se detectó una disminución en los indicadores de abundancia relativa ya que ninguna estación superó el nivel 3 (regular). Entre octubre y diciembre de 2020 se observó un aumento en los niveles de abundancia relativa en algunas estaciones, principalmente en el mes de noviembre en donde ocho estaciones alcanzaron nivel 6. En enero de 2021 nuevamente disminuyeron los indicadores de abundancia relativa y sólo la estación A02N1 Repollal Bajo – Canal Puquitrín registró nivel 5 (muy abundante). En febrero de 2021 se registra otra floración de esta diatomea ya que la mayoría de las estaciones registraron valores entre los niveles 4 (abundante) y 6. Al igual que en la zona norte, en las estaciones de la zona sur de la región de Aysén se detectó la presencia de esta diatomea durante todo el período del estudio con valores de abundancia relativa entre los niveles 0 (ausente) y 7 (hiper abundante). Entre marzo y abril de 2020 se detectó una floración de esta diatomea ya que la mayoría de las estaciones presentaron indicadores entre los niveles 4 (abundante) y 7. Entre mayo y septiembre de 2020 los valores de abundancia relativa disminuyeron y en sólo las estaciones A30N1 Isla Viola y A32 Isla Vergara registraron nivel 4 (abundante) en el mes de mayo, al igual que las estaciones A23 Isla Orestes y A30 Isla Julián en el mes de septiembre. Entre octubre y diciembre de 2020 la mayoría de las estaciones registraron valores entre los niveles 4 y 7, lo que indica una floración de esta diatomea. En enero de 2021, los indicadores disminuyeron y sólo las estaciones A48 Isla Palumbo y A53 Canal Chacabuco registraron nivel 5 (muy abundante). En febrero de 2021 los valores de abundancia relativa aumentaron en la mayoría de las estaciones, fluctuando entre los niveles 4 y 7. En las estaciones de la zona de Tortel, se registraron valores de abundancia relativa entre los niveles 1 (raro) y 8 (ultra abundante) durante la mayor parte del estudio, en donde las estaciones A55 Isla Orlebar, A59 Isla Zealous y A62 Islote Porvenir registraron el nivel más alto de abundancia relativa (nivel 8) en noviembre de 2020. Sólo en junio de 2020 y febrero de 2021 ninguna estación superó el nivel 3, y en enero de 2021 la estación A55 Isla Orlebar fue la única que registró nivel 4 (abundante).

Las estaciones de la zona norte de Magallanes registraron altos valores de abundancia relativa durante todo el período del estudio, en varias de estas estaciones la abundancia relativa fluctuó entre los niveles 4 (abundante) y 8 (ultra abundante) siendo la estación M06N Río Valderas la que registró el nivel más alto. Sólo en junio de 2020 las estaciones presentaron bajos indicadores de abundancia relativa ya que ninguna estación superó el nivel 3 (regular), con la excepción de la estación M06 Puerto Edén que registró nivel 4. En las estaciones de la zona centro de Magallanes se registraron bajos indicadores de abundancia relativa entre mayo y septiembre de 2020 ya que las estaciones no superaron el nivel 3 (regular), salvo la estación M30 Bahía Mussel que registró nivel 5 (muy abundante) y la estación M39C3 Canal Gabriel Oriental que registró nivel 4 (regular) en el mes de septiembre. Entre octubre y diciembre de 2020 los indicadores de abundancia relativa comenzaron a aumentar y la mayoría de las estaciones registraron indicadores entre los niveles 4 y 7 (hiper abundante) lo que indica una floración de esta diatomea durante este período. Las estaciones que registraron los valores más altos fueron M33 Bahía Bell y M36 Bahía Buena en el mes de diciembre. En enero y febrero de 2021, los indicadores de



abundancia relativa disminuyeron notoriamente ya que ninguna estación superó el nivel 3. En las estaciones de la zona sur de Magallanes, la abundancia relativa de esta especie fue baja durante la mayor parte del período del estudio, no superándose el nivel 3 (regular). Sólo en diciembre de 2020 algunas estaciones registraron indicadores entre los niveles 4 (abundante) y 7 (hiper abundante), siendo las estaciones M 42 Ventisquero Holanda, M44N1 Río Douglas, M45 Puerto Williams, M46 Puerto Eugenia y M46N1 Isla Mariotti las que presentaron el nivel más alto de abundancia relativa.

Pseudo-nitzschia cf. pseudodelicatissima. Esta diatomea se detectó durante todo el período del estudio en las estaciones de la zona norte de la región de Los Lagos con valores de abundancia relativa entre los niveles 0 (ausente) y 8 (ultra abundante). Entre marzo y agosto 2020 los indicadores de abundancia relativa fueron bajos en la mayoría de las estaciones. En marzo la estación L06 Hueihue registró nivel 6 (extremadamente abundante), en agosto la estación L03 Caleta La Arena registró nivel 5 (muy abundante) y las estaciones L01 Metri y L06N1 Isla Caicura registraron nivel 6. A partir de septiembre de 2020 y hasta principios de marzo de 2021 los indicadores de abundancia relativa se incrementaron, ya que la mayoría de las estaciones registraron indicadores entre los niveles 4 (abundante) y 8 (ultra abundante) lo que indica una floración de esta diatomea durante este período. Esta especie se detectó durante todo el período del estudio en las estaciones de la zona centro de la región de Los Lagos, con bajos valores de abundancia relativa entre marzo y julio de 2020 en donde ninguna estación superó el nivel 3 (regular) con la excepción en el mes de marzo en donde la estación L10 Ayacara registró nivel 4 (abundante) y las estaciones L08 Isla Mechuque y L11 Canal Dalcahue que registraron nivel 5 (muy abundante) y en el mes de abril en donde las estaciones L09N1 Isla Butachauques 2, L10 Ayacara y L14 Isla Talcán registraron nivel 4. A inicios de septiembre de 2020 se observó una floración de esta diatomea ya todas las estaciones registraron valores elevados de abundancia relativa con indicadores entre los niveles 4 y 8 (ultra abundante), siendo la estación L09N1 Isla Butachauques 2 la que registró el valor más alto. A fines de septiembre de 2020 la abundancia relativa disminuyó en la mayoría de las estaciones, sin embargo, algunas registraron indicadores de abundancia relativa elevados, en donde la estación L08 Isla Mechuque registró nivel 5 y las estaciones L07 Canal Caucahué y L11 Canal Dalcahue, nivel 6. Entre octubre de 2020 y febrero de 2021 se registró otra floración de esta diatomea, ya que la mayoría de las estaciones registraron altos valores de abundancia relativa, con indicadores que fluctuaron entre los niveles 4 y 9 (mega abundante). El registro máximo se detectó en enero de 2021 en las estaciones L13 Isla Chaulinec, L13N1 Isla Chaulinec 2 y L14 Isla Talcán. En las estaciones de la zona sur de la región de Los Lagos, se pudo detectar esta diatomea durante todo el período del estudio, con bajos niveles de abundancia relativa entre marzo y septiembre de 2020, sólo la estación L17N1 Estero Palvitad alcanzó nivel 5 (muy abundante) en septiembre de 2020. En octubre de 2020 la mayoría de las estaciones presentaron valores altos de abundancia relativa, entre los niveles 4 (abundante) y 6 (extremadamente abundante), lo que indica una floración de esta especie en este mes, en donde la estación L17 Auchemó registró el valor más alto de abundancia relativa. Entre noviembre y diciembre de 2020, sólo algunas estaciones registraron altos indicadores de abundancia relativa, entre ellas las estaciones L17 Auchemó, L17N1 Estero Palvitad y L25 Bahía Tic Toc que alcanzaron nivel 5 (muy abundante). Entre enero y febrero de 2021 se detectó otra floración de esta diatomea ya que la mayoría de las estaciones registraron altos indicadores de



abundancia relativa, los cuales fluctuaron entre los niveles 4 y 8 (ultra abundante). La estación L17N1 Estero Palvidad fue la que registró el valor más alto de abundancia relativa en este período. A principios de marzo de 2021, la abundancia relativa disminuyó notoriamente en todas las estaciones y ninguna superó el nivel 3 (regular). A fines de este mes, la abundancia relativa aumentó en algunas estaciones, llegando hasta nivel 5 (muy abundante) en la estación L17N2 Isla Tranqui y nivel 6 (extremadamente abundante) en las estaciones L17 Auchemó y L17N1 Estero Palvidad.

Las estaciones de la zona norte de la región de Aysén registraron valores de abundancia relativa en entre los niveles 0 (ausente) y 9 (mega abundante). Entre marzo y abril de 2020, se registraron altos valores de abundancia relativa en la mayoría de las estaciones, fluctuando entre los niveles 4 (abundante) y 8 (ultra abundante). Entre junio y septiembre de 2020, se registró una disminución en los indicadores de abundancia relativa y en sólo algunas estaciones los indicadores fluctuaron entre los niveles 4 y 6 (extremadamente abundante), siendo la estación A40 Isla Silachilu la que presentó el valor más alto en junio de 2020. Entre octubre y noviembre de se registró un aumento en los indicadores de abundancia relativa, fluctuando entre los niveles 4 (abundante) y 9 (mega abundante) en la mayoría de las estaciones indicando una floración de esta diatomea, en donde la estación A16 Isla Gama Zañartu – Canal Yacaf fue la que presentó el más alto en octubre de 2020. En este período sólo diez estaciones no superaron el nivel 3 (regular). Entre diciembre de 2020 y enero de 2021 se registró un descenso en los niveles en algunas estaciones, no superando el nivel 3 (regular), sin embargo, en otras estaciones los niveles se mantuvieron altos, entre los niveles 4 y 7 (hiper abundante). En febrero de 2021 se registró otra floración de esta especie ya que en todas las estaciones los indicadores oscilaron entre los niveles 4 y 7. Las estaciones de la zona sur de la región de Aysén se registró una floración entre los meses de marzo y abril de 2020 ya que todas las estaciones superaron el nivel 4 (abundante), llegando a nivel 9 (mega abundante en las estaciones A27 Estero Quitralko en marzo y abril y en las estaciones A29 Puerto Bonito, A43 Playas Largas, A45 Canal Rodríguez, A47 Isla Castillo y A51N1 Isla Traiguén – Sector Las Mentas en abril. En este período sólo las estaciones A30N1 Isla Viola y A49 Isla Isquiliac registraron nivel 3 (regular). En el período comprendido entre mayo y agosto de 2020, se registró un descenso notorio en los niveles de abundancia relativa ya que en sólo nueve estaciones los indicadores fluctuaron entre los niveles 4 y 7 (hiper abundante), siendo la estación A30N1 Isla Viola la que registró el valor más alto. Entre septiembre y diciembre de 2020, nuevamente se detectó una floración de esta especie ya que la mayoría de las estaciones presentaron indicadores entre los niveles 4 y 8 (ultra abundante), este último nivel se registró en noviembre de 2020 en las estaciones A23 Isla Orestes, A27 Estero Quitralko, A30 Isla Julián, A30N1 Isla Viola, A32 Isla Vergara y A32N1 Isla Ester. En todo este período sólo nueve estaciones no superaron el nivel 3. En enero de 2021 los indicadores no superaron el nivel 3, con la excepción de las estaciones A26 Isla Canquenes y A48 Isla Palumbo que registraron nivel 5 (muy abundante) y la estación A53 Canal Chacabuco que registró nivel 8. En febrero de 2021 se registró otra floración de esta diatomea ya que en la mayoría de las estaciones los indicadores oscilaron entre los niveles 4 y 9, este último nivel se presentó en la estación A48 Isla Palumbo. En este mes, sólo cinco estaciones no superaron el nivel 3.

En las estaciones de la zona de Tortel en la región de Aysén, se detectó esta diatomea durante todo el periodo del estudio, con índices de abundancia relativa entre los niveles 1 (raro) y 8 (ultra abundante).



Entre julio y agosto de 2020 se registraron los valores más altos de abundancia relativa ya que todas las estaciones superaron el nivel 4 (abundante), en este período la estación A62 Islote Porvenir registró nivel más alto (nivel 8). En diciembre de 2020 y en febrero de 2021 nuevamente las estaciones registraron indicadores altos de abundancia relativa, entre los niveles 4 y 6 (extremadamente abundante), sólo la estación A59 Isla Zealous registró nivel 2 (escaso) en febrero de 2021. Los valores más bajos de abundancia relativa se registraron entre mayo y junio de 2020, entre septiembre y noviembre de 2020 y en enero de 2021, en este período sólo seis estaciones registraron indicadores entre niveles 4 (abundante) y 5 (muy abundante).

En las estaciones de la zona norte de la región de Magallanes se detectó la presencia de esta especie durante todo el período del estudio. Entre mayo y julio de 2020 se detectaron bajos niveles de abundancia relativa, sólo las estaciones M04 Canal Adalberto y M05 Bahía Liberta registraron nivel 5 (muy abundante) en el mes de julio. En agosto de 2020 sólo en doce estaciones no se superó el nivel 3 (regular), en el resto de las estaciones los indicadores fluctuaron entre los niveles 4 (abundante) y 7 (hiper abundante), este último nivel registrado en las estaciones M04 Canal Adalberto, M05 Bahía Liberta, M6N1 Seno Duque Edimburgo, M6N2 Isla Salamandra y M07N5 Punta Hayman. Entre septiembre y noviembre de 2020 se registraron bajos niveles de abundancia relativa, solamente en trece estaciones los niveles fluctuaron entre 4 y 6 (extremadamente abundante), este último registrado en la estación M08 Estero Falcon en el mes de septiembre. En el período comprendido entre diciembre de 2020 y enero de 2021 se registró un incremento en los valores de abundancia relativa en algunas estaciones, llegando a nivel 7 en las estaciones M6N3 Puerto Mancilla y M25N Estero Ringdove en el mes de diciembre. A fines de febrero de y principios de marzo de 2021, algunas estaciones presentaron bajos niveles de abundancia relativa, pero en la mayoría de ellas los indicadores fluctuaron entre los niveles 4 y 6 (extremadamente abundante), este último registrado en febrero en la estación M24N1 Paso Piloto Pardo y en marzo en las estaciones M6N2 Isla Salamandra, M07N4 Isla Foot y M07N5 Punta Hayman. En las estaciones de la zona centro de la región de Magallanes, se registraron bajos índices de abundancia relativa entre los meses de mayo y octubre de 2020, solamente en el mes de septiembre las estaciones M30 Bahía Mussel y M33 Bahía Bell registraron nivel 5 (muy abundante) y 4 (abundante) respectivamente y en el mes de octubre, la estación M36N1 Punta Carrera Sur registró nivel 4 además de las estaciones M36 Bahía Buena y M36N2 Punta Carrera Norte que registraron nivel 5. Entre noviembre y diciembre de 2020 se registró una floración de esta especie ya que en sólo cuatro estaciones no se superó el nivel 3 (regular), el resto de las estaciones presentaron indicadores entre los niveles 4 y 7 (hiper abundante), este último registrado en diciembre en las estaciones M30 Bahía Mussel, M31 Bahía Nash, M32 Bahía Cordes y M33 Bahía Bell. Entre enero y febrero de 2021, se registró una disminución en la densidad de esta especie ya que los índices de abundancia relativa no superaron el nivel 2 (escaso). Las estaciones de la zona sur de la región de Magallanes presentaron bajos niveles de abundancia relativa durante todo el período del estudio, en donde no se superó el nivel 3 (regular) en la mayor parte de las estaciones, sólo se registraron indicadores altos en septiembre de 2020, en donde las estaciones M46 Puerto Eugenia y M46N1 Isla Mariotti registraron nivel 5 (muy abundante), en octubre de 2020, donde las estaciones M44N1 Río Duglas, M46 Puerto Eugenia y M46N1 Isla Mariotti registraron nivel 4 (abundante) y en diciembre de 2020, en donde las estaciones M42 Ventisquero



Holanda y M43 Bahía Yendegaia registraron nivel 6 (extremadamente abundante) y las estaciones M44 Puerto Navarino y M44N1 Río Duglas registraron nivel 7 (hiper abundante).

Floración de *Pseudo-nitzschia* spp en la región de Los Lagos

El mar interior de la región de Los Lagos fue afectado por una prolongada floración provocada por *Pseudo-nitzschia* cf. *australis* y *P. cf. pseudodelicatissima*, que se extendió a lo menos desde fines de diciembre de 2020 hasta mediados de marzo de 2021, iniciándose en el estuario de Reloncaví y expandiéndose posteriormente al sector medio de la isla de Chiloé hasta isla Quinchao en el sector de Dalcahue, afectando principalmente los sectores adyacentes a la costa este de la isla de Chiloé. Fue un evento muy prolongado, ya que habitualmente las floraciones de estos taxones son de corta duración, una o dos semanas como máximo tres semanas; asimismo, hubo registros de toxina amnésica de los mariscos (TAM, ácido domoico: AD), que estuvieron en ciertos casos por sobre la norma, extendiéndose el brote tóxico a lo menos por dos meses y medio, por lo que la autoridad aplicó vedas localizadas durante este período desde el seno de Reloncaví hacia el sur. Esta ha sido la floración asociada a TAM más prolongada registrada en los fiordos chilenos. El brote tóxico no estuvo asociado con intoxicaciones en personas y tampoco afectó la fauna marina o la vida silvestre. A fin de diciembre de 2020, en el seno de Reloncaví se aplicó la primera veda por concentraciones de TAM de riesgo en choritos, oportunidad en que se registró un nivel de TAM de $58 \mu\text{g g}^{-1}$ (la norma es de $20 \mu\text{g g}^{-1}$). El muestreo en el área reveló densidades de *P. cf. australis* de $0,9 \times 10^6$ células L^{-1} y de *P. cf. pseudodelicatissima* de $1,1 \times 10^6$ células L^{-1} . Asimismo, en muestras de agua de mar se detectaron concentraciones de ácido domoico de hasta $10 \times 10^3 \text{ ngL}^{-1}$. Posteriormente, durante enero y febrero de 2021 aumentaron las concentraciones de AD en mariscos recolectados en diferentes sitios a lo largo de la costa este de la isla de Chiloé, que provocaron nuevos cierres con estimaciones máximas de $140 \mu\text{gg}^{-1}$ y *P. cf. pseudodelicatissima* con densidades de $1,5 \times 10^6$ células L^{-1} .

A continuación, se entregan antecedentes referidos al inicio de esta floración sobre la base de datos recolectados en ocho sitios de muestreo en el estuario de Reloncaví y que corresponden al programa de monitorización en los fiordos (**Figura 1.1.5**). Los resultados de los perfiles verticales de temperatura, salinidad, oxígeno y fluorescencia (CTD-O) en cada una de las 8 estaciones de monitoreo se presentan en la **Figura 1.1.6**. Las distribuciones verticales de temperatura y salinidad muestran a lo largo de todo el fiordo, una capa muy poco salobre ($<15 \text{ PSU}$), de aproximadamente de 10 metros de espesor (entre superficie y 10 m de profundidad), con temperaturas $>14^\circ\text{C}$. Esta condición de estratificación de la columna de agua facilitó el desarrollo de un máximo subsuperficial de clorofila_a, que estuvo entre los 8 y 18 metros de profundidad y que presentó valores máximos ($>40 \mu\text{g L}^{-1}$) asociados a los puntos de muestreo de Pocolhuén e isla Caicura.

En el sector del estuario de Reloncaví, donde se inició la floración, el ensamble fitoplanctónico estuvo dominado por *Chaetoceros debilis*, *Ch. socialis*, *Eucampia zodiacus*, *Pseudo-nitzschia* cf. *australis* y *P. cf. pseudodelicatissima*, *Rhizosolenia setigera*, *Skeletonema* spp., *Thalassiosira* spp., *Amphidinium* spp. y dinoflagelados atecados, que contribuyeron en más del 90% de la abundancia numérica total del fitoplancton. En la **Figura 1.1.7** se observa la distribución por estaciones y profundidades de estas



especies. Para todas las estaciones de muestreo a profundidades de 2 y 5 metros la especie dominante fue *Skeletonema* spp. que alcanzó un registro máximo de $26,4 \times 10^6$ (células L^{-1}) a 5m de profundidad. Mientras que, para las profundidades de 10, 15 y 20 metros, las especies dominantes fueron *P. cf. australis* y *P. cf. pseudodelicatissima*, que alcanzaron registros máximos de $0,9 \times 10^6$ y $1,1 \times 10^6$ (células L^{-1}) a los 15 y 5 metros de profundidad en isla Caicura y Caleta La Arena, respectivamente.

En la **Figura 1.1.8** se muestra la distribución vertical del máximo subsuperficial de clorofila_a, el cual se ubica por abajo de la picnoclina a una profundidad cercana a los 15 metros de profundidad, mientras que, las mayores densidades de *P. cf. australis* y *P. cf. pseudodelicatissima* se ubican en el máximo de clorofila_a, donde además se observa una importante disminución de los nutrientes, especialmente del silicato, el cual registra sus mayores concentraciones en las profundidades de 2 y 5 metros (**Figura 1.1.9**), alcanzando valores promedio mayores a $50 \mu\text{mol } L^{-1}$ y un valor máximo de $114 \mu\text{mol } L^{-1}$ en Pocihuén.

Respecto de las abundancias estimadas para los siete taxones monitorizados en este programa, pero referidas sólo a esta floración, y que fueron analizadas, de manera general, en párrafos previos de este informe, *P. cf. australis*, registró un nivel de 8 (ultra abundante), en cada punto de muestreo, mientras que *P. cf. pseudodelicatissima* mostró una estimación máxima de 8 en Marimeli y Caleta la Arena, con un mínimo de 6 (extremadamente abundante) en Pocihuén, en tanto que, *Dinophysis acuminata*, alcanzó niveles de abundancia relativa de 7 (Hiper abundante) en la mayoría de las localidades de muestreo, en tanto que las dos especies de *Alexandrium* estuvieron ausentes, con la excepción que *A. ostenfeldii* que sólo estuvo en Potrerillos (nivel 1, raro) (**Cuadro 1.1.1**).

A fines de diciembre, la concentración de TAM en choritos, expresada en microgramos de ácido domoico por gramos de carne de marisco ($\mu\text{g g}^{-1}$) no superó el límite máximo permisible para consumo humano ($20 \mu\text{g g}^{-1}$) en ninguna de las estaciones de muestreo, donde el valor mayor fue de $11,7 \mu\text{g g}^{-1}$ registrado en la localidad de Yates. Por su parte, la concentración de toxinas en la columna de agua, arrojó valores máximos de 10.683 y 7.973 ($\text{ng } L^{-1}$) de ácido domoico en Caleta La Arena e Isla Caicura, respectivamente. Hacia el interior del fiordo estas concentraciones bajan considerablemente hasta 1.700 y 78 ($\text{ng } L^{-1}$) en Potrerillos y Yates, respectivamente. Otras toxinas lipofílicas presentes en la columna de agua fueron pectenotoxinas (PTX2) y yessotoxinas (YTX) (**Cuadro 1.1.1**).

Las altas concentraciones de *Skeletonema* spp. y su desarrollo en la capa superficial del estuario de Reloncaví, pudo ser observada en la imagen satelital de clorofila_a (Aqua/Modis) del día 22 de diciembre de 2020, día posterior al trabajo de terreno (**Figura 1.1.10**), en ella se observan las altas concentraciones de clorofila en los sectores del fiordo, seno de Reloncaví y mar interior de Chiloé.

A partir de todos estos antecedentes, se ha planteado la hipótesis que la extensión espacial y temporal anómala de las floraciones de *Pseudo-nitzschia* y la producción de ácido domoico, podría estar relacionada con procesos advectivos del norte de la isla de Chiloé, siguiendo los principales patrones de circulación, y condiciones climáticas favorables asociadas a la fase positiva de Modo Anular Sur



(SAM), que promueve anomalías de temperatura positiva y radiación fotosintética activa, y menor precipitación durante fines de la primavera de 2020 y el verano de 2021 en el área estudiada.

Cuadro 1.1.1. Valores estimadores de abundancia relativa para las especies nocivas, concentración de toxinas muestras de agua (particulado): DA (ácido domoico), PTX2 (pectenotoxinas) y YTX (yesotoxinas) y toxina amnésica en mariscos (TAM).

Código	Estación	LAT	LONG	<i>A. catenella</i>	<i>A. ostenfeldii</i>	<i>D. acuminata</i>	<i>D. acuta</i>	<i>P. reticulatum</i>	<i>P. cf. australis</i>	<i>P. cf. pseudodelicatissima</i>	DA (ng/L)	PTX2 (ng/L)	YTX (ng/L)	TAM (ug/g)
L02	Yates	-41,69665	-72,398749	0	0	7	0	4	8	7	78	1,8	5	11,7
L02N1	Sotomó	-41,67065	-72,40540	0	0	7	0	3	8	7	1598	4,5	3,2	3,0
L02N2	Cochamó	-41,50966	-72,29808	0	0	7	0	3	8	7	212	1,6	2,1	8,4
L02N3	Marimeli	-41,684180	-72,432026	0	0	7	0	3	8	8	545	2,5	5,4	4,7
L02N4	Pocoihuén	-41,512231	-72,326448	0	0	7	0	2	8	6	102	3,9	3	0
L03	Cta. La Arena	-41,688671	-72,647390	0	0	5	0	1	8	8	10683	1,9	0	9,8
L03N1	Potrenillos	-41,719432	-72,466148	0	1	7	0	4	8	7	1701	5	6,6	8,9
L06N1	l. Caicura	-41,724326	-72,679387	0	0	5	0	2	8	7	7973	2,7	0	3,7

Floración de *Lepidodinium cf. chlorophorum* en la región de Los Lagos

El día 29 de marzo de 2020, a bordo de la embarcación L/M Chelo, durante la expedición correspondiente al primer monitoreo regular del Programa de manejo y monitoreo de las mareas rojas en fiordos y canales de Chile, período 2020-21, los funcionarios de IFOP: Rodrigo Rojas y Darwin Retamal observaron una mancha de color verde en la columna de agua en los alrededores del sector Melimoyu, región de Aysén y que además se detectó en varios sectores del Canal Moraleda e Isla Magdalena.

De acuerdo a lo informado por los buzos de la expedición la mancha era superficial, no teniendo más de 0,5mts de profundidad.

Se tomaron muestras para ser observadas en laboratorio con el propósito de identificar la especie de microalga que generó este cambio de coloración en el agua.

De acuerdo a lo observado en el microscopio se trataría de la especie *Lepidodinium cf. chlorophorum*, antes llamado *Gymnodinium chlorophorum*, un dinoflagelado atecado del grupo gymnodiniales cuya abundancia representa sobre el 95% de las especies presentes en la muestra. Es una especie que no presenta toxinas y no es ictiotóxica, sin embargo, puede llegar a ocasionar trastornos en el medio ambiente pudiendo ocasionar eutroficación si la densidad poblacional es alta.

Entre sus principales características es que a diferencia de la gran mayoría de especies de dinoflagelados presenta clorofila b en lugar de clorofila a, el cual se caracteriza por la coloración verde que muestra la columna de agua durante su florecimiento.

Actividad 2: Muestreo de transvectores y detección toxinas.

Toxina Paralizante de Los Mariscos (TPM)

En la región de Los Lagos, el resultado predominante fue "No Detectable", alcanzando un rango entre los 91,9 (N=33) a 100% (N=37) de las estaciones. Sólo entre los meses de marzo y abril 2020, el 5,4% (N=2), presentó niveles subtóxicos de toxina paralizante ($<80 \mu\text{g STX Eq. } 100 \text{ g}^{-1}$), y no se registraron niveles tóxicos ($>80 \mu\text{g STX Eq. } 100 \text{ g}^{-1}$) en ninguna de sus estaciones (**Fig. 1.2.1**)



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 los $80,5 - 399 \mu\text{g STX Eq. } 100 \text{ g}^{-1}$ por TPM. Sin embargo, de las estaciones monitoreadas ($N=72$), sólo entre el 6,9% ($N=5$) a un 15,2% ($N=11$) alcanzó este nivel de toxicidad, con un máximo de $399 \mu\text{g STX eq. } 100 \text{ g}^{-1}$ en la estación Isla Francisco (A35N3) en el mes de agosto 2020. Los niveles subtóxicos ($<80 \mu\text{g STX eq. } 100 \text{ g}^{-1}$), afectaron entre un 37,6% ($N=27$) a 58,4% ($N=44$) de las estaciones y ocurrió con mayor frecuencia dentro del periodo de julio y septiembre de 2020 (**Fig. 1.2.1**)

En la región de Magallanes, el resultado predominante fue “No Detectable” (ND), alcanzado el 100% de las estaciones monitoreadas ($N=64$) en los meses de octubre 2020 y enero 2021. Los niveles subtóxicos ($<80 \mu\text{g STX Eq. } 100 \text{ g}^{-1}$), ocurrieron en un bajo porcentaje (0-6,1%) de los sitios monitoreados durante todo el periodo de muestreo. No se registraron niveles tóxicos de TPM ($>80 \mu\text{g STX Eq. } 100 \text{ g}^{-1}$) en ninguna de las estaciones para todo el periodo (marzo 2020 – febrero 2021) (**Fig. 1.2.1**)

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 5-16% y se distribuyó en el 51,4% ($N=19$) de las estaciones monitoreadas ($N=37$). Las estaciones se distribuyeron tanto en el sector norte (L01, L02N1, L02N4, L03, L03N1, L04N3, L05, L06N1, L06N3, L06N4), centro (L11) y sur (L17, L17N1, L19, L22N1, L22N2, L23, L23N2, L24 y L25). (**Fig. 1.2.2**)

La región de Aysén, presentó un 86,1% ($N=32$) con muestras positivas, con una frecuencia positiva entre el 19,4 - 47,2% en que fueron muestreadas. Estas estaciones están distribuidas en casi toda la región, con estaciones desde el sector norte (A01) hasta estaciones en la zona de Tortel (A55, A59 y A60) principalmente en el último trimestre del año 2020 (octubre, noviembre y diciembre). (**Fig. 1.2.2**)

La región de Magallanes, presentó un 98% ($N=63$) de las estaciones monitoreadas ($N=64$). Las estaciones presentaron una frecuencia de registro positivo entre 15-68% del total de cruceros realizados ($=11$). (**Fig. 1.2.2**)

Toxina Amnésica de los Mariscos (TAM).

En la región de Los Lagos, un 27% ($N=10$) de las estaciones monitoreadas ($N=37$), presentaron Toxina Amnésica, tanto en la zona norte y centro de la región. De esta manera, seis estaciones de la zona norte (L02, L02N1, L02N2, L03, L03N1 y L06N1) presentaron valores entre los $3,0$ a $11,7 \mu\text{g g}^{-1}$ de ácido domoico (diciembre 2020); dos estaciones de la zona norte (L04-L04N3) y dos estaciones de la zona



centro (L11 y L12) presentaron valores de AD entre 2,2 a 11,3 $\mu\text{g g}^{-1}$ (enero 2021), y sólo 1 estación (L12) en el mes de febrero 2021 con un valor bajo el nivel de toxicidad (3,3 $\mu\text{g g}^{-1}$).

En la región de Aysén, un 9,7% (N=7) de las estaciones monitoreadas (N=72), presentaron Toxina Amnésica, localizándose en la zona norte de la región. De esta manera, sólo en la estación A11, se detectó 1,2 $\mu\text{g g}^{-1}$ (julio 2020), y seis estaciones (A16, A19, A19N1, A19N2, A21 y A22), presentaron valores de AD entre los 0,5 a 9,8 $\mu\text{g g}^{-1}$ (noviembre 2020).

En la región de Magallanes, no fue detectada esta toxina en ninguna de sus estaciones para todo el periodo de estudio.

Actividad 3. Recolectar información hidrográfica y meteorológica, incluyendo nutrientes, en la red de estaciones definidas.

Temperatura

Región Los Lagos

La temperatura promedio del estrato 0-10m en otoño 2020 registró un promedio de 12,38 °C, con un mínimo de 10,52 °C en Sotomó (L02N1) y un máximo de 15,61 °C en Hornopirén (L06N4). Para los meses de invierno, el promedio de temperatura fue de 10,42 °C, con un máximo de 11,43 °C en Pichicolo (L06N3) y un mínimo de 9,15 °C en Hornopirén (L06N4). En primavera la temperatura promedio fue de 11,22 °C, con un mínimo de 9,82 °C ensenada Quilanlar (L22N1) y un máximo de 12,71°C Pichicolo (L06N3). Para verano, el promedio de temperatura para el estrato 0-10m fue de 13,59°C con un mínimo de 10,61°C canal Guamblad (L23N1) y un máximo de 17,59 °C en Marimeli (L02N3) (**Fig. 1.3.1; Cuadro 1.3.1**).

Para el estrato 10-20m, durante los meses de otoño 2020, el promedio fue de 12,11°C, con un mínimo de 11,06 °C en isla San Pedro 2 (L23N2) y un máximo de 13,69 °C en Hueihue (L06). Para invierno el promedio de temperatura fue de 10,64°C, con un mínimo de 9,75 °C en Boca Guafo(L25N1) y un máximo de 11,40°C (L01). Para los meses de primavera, el promedio fue de 10,93 °C, el mínimo de 9,78 °C en isla Chaullin(L16N1) y el máximo de 12,10 °C en isla Butachauques 2(L09N1). En verano, el promedio de temperatura fue de 12,33°C con un máximo de 15,07°C en Quetalmahue (L05) y un mínimo de 10,03°C ensenada Quilanlar (L22N1) (**Fig. 1.3.2; Cuadro 1.3.1**).

Cuadro 1.3.1. Se indican los valores mínimos (Min), máximos (Max), promedios (Prom) y desviación estándar (DE) de la temperatura (°C) para el estrato superficial (0-10m) y profundo (10-20m), en los periodos de otoño 2019, invierno 2019, primavera 2019 y verano 2020, para la región de Los Lagos.

Temperatura °C		Región de Los Lagos			
	Estrato	Min	Max	Prom	DE
Otoño 2020					



	0-10	10,52	15,61	12,38	1,00
	10-20	11,06	13,69	12,11	0,61
Invierno 2020					
	0-10	9,15	11,43	10,42	0,39
	10-20	9,75	11,40	10,64	0,36
Primavera 2020					
	0-10	9,82	12,71	11,22	0,82
	10-20	9,78	12,10	10,93	0,62
Verano 2021					
	0-10	10,61	17,94	13,59	1,97
	10-20	10,03	15,07	12,33	0,97

Región de Aysén

Para el estrato 0-10m, la temperatura promedio ($\pm$ DE) en los meses de otoño fue de 11,67°C ($\pm$ 1,09), con una temperatura mínima de 8,38°C en Uspallante (A20N1) y una máxima de 14,08°C en isla Ester (A32N1). En los meses de invierno, la temperatura promedio fue de 9,30 °C ($\pm$ 0,7), con una temperatura mínima de 6,94°C en Uspallante (A20N1) y una máxima de 10,46°C en seno Gala (A12). Para los meses de primavera, la temperatura promedio fue de 11,25 °C ($\pm$ 1,34), con un valor mínimo de 8,21°C Punta Baker (A60), y un valor máximo de 15,31°C en seno Medio (A18N3). En verano, la temperatura promedio fue de 13,44°C ($\pm$ 1,27), con un valor mínimo de 11,11 °C en isla Filomena (A35N2), y un valor máximo de 16,60°C punta Apablaza (A16N1) (**Fig. 1.3.1; Cuadro 1.3.2**).

Para el estrato 10-20m, durante los meses de otoño, la temperatura promedio fue de 11,71°C ($\pm$ 0,7), con un valor mínimo de 10,01°C isla Vergara (A32) y un máximo de 13,23°C en isla Stokes (A38N3). En los meses de invierno, la temperatura promedio fue de 9,75°C ($\pm$ 0,43), con un valor mínimo de 8,83°C en islote Porvenir (A62), y un valor máximo de 10,98°C en seno Medio (A18N3). En los meses de primavera, la temperatura promedio fue de 10,77°C ($\pm$ 0,94), con un valor mínimo de 8,41°C en isla Scouts (A57), y un máximo de 10,77°C en canal Rodríguez (A45). Durante los meses de verano, la temperatura promedio fue de 12,10°C ($\pm$ 0,63), con un valor mínimo de 10,93°C en isla Vergara e isla Ester (A32 y A32N1), y un máximo de 13,94°C en isla Orlebar (A55) (**Fig. 1.3.2; Cuadro 1.3.2**).

Cuadro 1.3.2. Se indican los valores mínimos (Min), máximos (Max), promedios (Prom) y desviación estándar (DE) de la temperatura (°C) para el estrato superficial (0-10m) y profundo (10-20m), en los periodos de otoño 2019, invierno 2019, primavera 2019 y verano 2020, para la región de Aysén.

Temperatura °C		Región de Aysén			
	Estrato	Min	Max	Prom	DE
Otoño 2020					
	0-10	8,39	14,08	11,67	1,09



	10-20	10,01	13,23	11,71	0,70
Invierno 2020					
	0-10	6,94	10,46	9,30	0,64
	10-20	8,83	10,98	9,75	0,43
Primavera 2020					
	0-10	8,21	15,31	11,25	1,34
	10-20	8,41	13,88	10,77	0,94
Verano 2021					
	0-10	11,11	16,60	13,44	1,27
	10-20	10,93	13,94	12,10	0,63

Región de Magallanes

Para el estrato 0-10m, la temperatura promedio para los meses de otoño fue de 8,18°C ($\pm 0,88$), con un valor mínimo de 5,78°C en isla Ballesteros (M23) y un máximo de 10,01 °C Paso del Abismo (M24N). En invierno, la temperatura promedio fue de 6,82°C ($\pm 1,21$), con un valor mínimo de 3,85°C en isla Ballesteros (M23), y un máximo de 9,1°C en río Valderas (M06N). Para los meses de primavera, la temperatura promedio fue de 8,02°C ($\pm 1,39$), con un valor mínimo de 5,52°C en Puerto Navarino (M44) y un máximo de 12,47°C en canal Adalberto (M04). En los meses de verano, la temperatura promedio fue de 9,9 °C ($\pm 1,1$), con un valor mínimo de 8,16°C en seno Duque Edimburgo (M06N1), y un máximo de 13,85°C en canal Adalberto (M04) (**Fig. 1.3.1; Cuadro 1.3.3**).

Para el estrato 10-20m, la temperatura promedio registrada en los meses de otoño, fue de 8,78°C ($\pm 1,05$), con un valor mínimo de 7,2 °C en seno Europa (M10), y un máximo de 10,94°C en bahía Liberta (M05). Para los meses de invierno, la temperatura promedio fue de 7,46 °C ($\pm 1,47$), con un valor mínimo de 4,48°C en isla Englenfield (M29N1), y un máximo de 10,82°C en canal Adalberto (M04). Para los meses de primavera, la temperatura promedio fue de 7,72°C ($\pm 1,01$), con un valor mínimo de 5,47°C en estero Peel (M13) y un máximo de 10,34°C en canal Adalberto (M04). En verano, la temperatura promedio fue de 9,43°C ($\pm 0,84$), con un valor mínimo de 8,16°C en bahía Fanny (M24) y un máximo de 11,69°C en canal Adalberto (M04) (**Fig. 1.3.2; Cuadro 1.3.3**).

Cuadro 1.3.3. Se indican los valores mínimos (Min), máximos (Max), promedios (Prom) y desviación estándar (DE) de la temperatura (°C) para el estrato superficial (0-10m) y profundo (10-20m), en los periodos de otoño 2019, invierno 2019, primavera 2019 y verano 2020, para la región de Magallanes.

Temperatura		Región de Magallanes			
	Estrato	Min	Max	Prom	DE
Otoño 2020					
	0-10	5,78	10,01	8,18	0,88
	10-20	7,20	10,94	8,78	1,05



Invierno 2020					
	0-10	3,85	9,10	6,82	1,21
	10-20	4,48	10,82	7,46	1,47
Primavera 2020					
	0-10	5,52	12,47	8,02	1,39
	10-20	5,47	10,34	7,72	1,01
Verano 2021					
	0-10	8,16	13,85	9,90	1,10
	10-20	8,16	11,69	9,43	0,84

Salinidad

Región de Los Lagos

Para el estrato superficial (0-10m), el promedio de salinidad en los meses de otoño fue de 30,85 psu ($\pm 3,7$), con un valor mínimo de 21,93 psu en Cochamó (L02N2) y un valor máximo de 33,65 psu en isla Quehui (L12). En los meses de invierno, la salinidad promedio ($\pm$ DE) fue de 30,01 psu ($\pm 3,76$), con un valor mínimo de 20,3 psu en Cochamó (L02N2), y un valor máximo de 33,45 psu en isla San Pedro 2 (L23N2). Para los meses de primavera, el promedio fue de 30,56 psu ($\pm 3,81$), con un valor mínimo de 18,3 psu en Sotomó (L02N1) y un máximo de 33,43 psu en isla Redonda (L22N3). Para verano, el promedio fue de 29,82 psu ($\pm 5,03$), con un mínimo de 12,99 psu en Pocihuén (L02N4), y un máximo de 33,91 psu en isla Quehui (L12) (**Fig. 1.3.3; Cuadro 1.3.4**).

Para el estrato profundo (10-20m), en los meses de otoño, la salinidad promedio fue de 32,77 psu ($\pm 0,61$), con un valor mínimo de 30,23 psu en Paso Nao (L06N2), y un valor máximo de 33,65 psu en Cochamó (L12). Para los meses de invierno, la salinidad promedio ($\pm$ DE) fue de 32,36 psu ($\pm 0,61$), donde el mínimo fue de 30,04 psu en Hornopirén (L06N4) y el máximo de 33,44 psu en ens. Quilanlar e isla Redonda (L22N1 y L22N3). Para los meses de primavera, la salinidad promedio fue de 32,66 psu ($\pm 0,58$), con un mínimo de 31,20 psu en isla Caicura (L06N1) y un máximo de 33,53 psu en Inio (L22N2). En verano, el promedio fue de 32,80 psu y el mínimo fue de 30,63 psu en bahía Ilque (L04N2) con un máximo de 34,11 psu en Calbuco (L04) (**Fig. 1.3.4; Cuadro 1.3.4**).

Cuadro 1.3.4. Se indican los valores mínimos (Min), máximos (Max), promedios (Prom) y desviación estándar (DE) de la salinidad (psu) para el estrato superficial (0-10m) y profundo (10-20m), en los periodos de otoño 2019, invierno 2019, primavera 2019 y verano 2020, para la región de Los Lagos.

Salinidad	Región de Los Lagos				
	Estrato	Min	Max	Prom	DE
Otoño 2020					
	0-10	21,93	33,65	30,85	3,70
	10-20	30,23	33,65	32,77	0,61



Invierno 2020					
	0-10	20,30	33,45	30,01	3,76
	10-20	30,04	33,44	32,36	0,61
Primavera 2020					
	0-10	18,30	33,43	30,56	3,81
	10-20	31,20	33,53	32,66	0,58
Verano 2021					
	0-10	12,99	33,91	29,82	5,03

Región de Aysén

Para el estrato superficial (0-10m), la salinidad promedio ($\pm$ DE) en los meses de otoño fue de 28,32 psu ($\pm$ 3,3), con un mínimo de 16,26 psu en Uspallante (A20N1) y un máximo de 33,65 psu en isla Virginia (A01). En el mes de invierno, el promedio fue de 32,75 psu ($\pm$ 2,57), donde el valor mínimo fue de 18,54 psu en punta Baker (A60) y un máximo de 32,75 psu en canal Tuamapu (A03N1). Para los meses de primavera, el promedio fue de 28,68 psu ($\pm$ 3,26), con un valor mínimo de 18,08 psu en Uspallante (A20N1) y un máximo de 32,93 psu en Puerto Barrientos (A03). En verano, el promedio fue de 28,03 psu ($\pm$ 4,21), con un valor mínimo de 6,97 psu en isla Zealous (A59), y un máximo de 32,69 psu en canal Tuamapu (A03N1) (**Fig. 1.3.3; Cuadro 1.3.5**).

Para el estrato profundo (10-20m), la salinidad promedio en los meses de otoño fue de 30,43 psu ($\pm$ 1,84), con un mínimo de 25,87 psu en Puerto Bonito (A29) y un máximo de 33,84 psu en isla Virginia (A01). En los meses de invierno, el promedio fue de 30,11 psu ($\pm$ 1,55), con un mínimo de 25,60 psu (A29), y un máximo de 32,79 psu en canal Tuamapu (A03N1). En los meses de primavera, el promedio fue de 30,72 psu ($\pm$ 3,26), con un valor mínimo de 27,16 psu en Punta Apablaza (A16N1), y un valor máximo de 32,97 psu en canal Tuamapu (A03N1). Durante los meses de verano el promedio fue de 30,63 psu ($\pm$ 1,74), con un valor mínimo de 17,87 psu en isla Zealuos (A59), y un valor máximo de 32,89 psu en canal Tuamapu (A03N1) (**Fig. 1.3.4; Cuadro 1.3.5**).

Cuadro 1.3.5. Se indican los valores mínimos (Min), máximos (Max), promedios (Prom) y desviación estándar (DE) de la salinidad (psu) para el estrato superficial (0-10m) y profundo (10-20m), en los periodos de otoño 2019, invierno 2019, primavera 2019 y verano 2020, para la región de Aysén.

Salinidad	Región de Aysén				
	Estrato	Min	Max	Prom	DE
Otoño 2020					
	0-10	16,26	33,65	28,32	3,30
	10-20	25,87	33,84	30,43	1,84
Invierno 2010					



	0-10	18,54	32,75	28,65	2,57
	10-20	25,60	32,79	30,11	1,55
Primavera 2010					
	0-10	18,08	32,93	28,68	3,26
	10-20	27,16	32,97	30,72	1,32
Verano 2021					
	0-10	6,97	32,69	28,03	4,21
	10-20	17,87	32,89	30,63	1,74

Región de Magallanes

Para el estrato superficial (0-10m), la salinidad promedio ($\pm$ DE) en los meses de otoño fue de 26,31 psu ($\pm$ 3,81), con un mínimo de 14,01 psu en isla Ballesteros (M23) y un máximo de 30,67 psu en bahía Nash (M31). Para los meses de invierno, el promedio de salinidad fue de 29,36 psu ($\pm$ 2,09), con un valor mínimo de 16,74 psu en isla Ballesteros (M23), y un valor máximo de 32,24 psu en río Douglas (M44N1). En los meses de primavera, la salinidad promedio fue de 29,04 psu ($\pm$ 2,65), con un mínimo de 15,67 psu en canal Adalberto (M04), y un máximo de 32,02 psu en río Douglas (M44N1). En los meses de verano, la salinidad promedio fue de 27,45 psu ($\pm$ 3,78), con un mínimo de 14,27 psu en canal Adalberto (M04), y un máximo de 31,78 psu en Guaraibo sur (M37N1) (**Fig. 1.3.3; Cuadro 1.3.6**)

Para el estrato sub-superficial (10-20m), la salinidad promedio ($\pm$ DE) en los meses de otoño fue de 28,92 psu ($\pm$ 2,41) con un mínimo de 17,45 psu isla Ballesteros (M23) y un máximo de 30,84 psu en bahía Nash (M31). En los meses de invierno, la salinidad promedio fue de 30,46 psu ($\pm$ 1,60), con un valor mínimo de 18,63 psu isla Ballesteros (M23), y un valor máximo de 32,36 psu en río Douglas (M44N1). Para los meses de primavera, el promedio fue de 30,16 psu ($\pm$ 1,67), con un valor mínimo de 19,91 psu en isla Ballesteros (M23), y un valor máximo de 32,30 psu en río Douglas (M44N1). En los meses de verano, la salinidad promedio fue de 29,37 psu (2,64), con un valor mínimo de 14,07 psu en Seg. Angostura (M39N1), y un valor máximo de 31,19 psu en Guairabo sur (M37N1) (**Fig. 1.3.4; Cuadro 1.3.6**).

Cuadro 1.3.6. Se indican los valores mínimos (Min), máximos (Max), promedios (Prom) y desviación estándar (DE) de la salinidad (psu) para el estrato superficial (0-10m) y profundo (10-20m), en los periodos de otoño 2019, invierno 2019, primavera 2019 y verano 2020, para la región de Magallanes.

Salinidad	Región de Magallanes				
	Estrato	Min	Max	Prom	DE
Otoño 2020					
	0-10	14,01	30,67	26,31	3,81
	10-20	17,45	30,84	28,92	2,41



Invierno 2020					
	0-10	16,74	32,24	29,36	2,09
	10-20	18,63	32,36	30,46	1,60
Primavera 2020					
	0-10	15,67	32,02	29,04	2,65
	10-20	19,91	32,30	30,16	1,67
Verano 2021					
	0-10	14,27	31,78	27,45	3,78
	10-20	14,07	31,99	29,37	2,64

Nutrientes.

Los nutrientes analizados (nitrito, nitrato, fosfato y sílice), son representados para el estrato superficial (0-10m) y sub-superficial (10-20m), a través de un análisis general latitudinal durante la Etapa XIV (marzo 2020 y febrero 2021) para las estaciones localizadas en la región de Los Lagos (**Figs. 1.3.5–1.3.12**).

Nitrito (NO_2^-)

Durante los meses de otoño 2020, en el estrato superficial (0-10m), la concentración promedio de nitrito ($\pm \text{DE}$) fue de $0,15 \mu\text{M}$ ($\pm 0,05$), con una concentración mínima de $0,06 \mu\text{M}$ en Caucahue (L07), y un máximo de $0,25 \mu\text{M}$ en el sector de Butachauque (L09N1). Para el estrato subsuperficial (10-20m), la concentración promedio de nitrito ($\pm \text{DE}$) en los meses de otoño 2020 fue de $0,17 \mu\text{M}$ ($\pm 0,11$), con una concentración mínima de $0,02 \mu\text{M}$ en Auchemó (L17), y un máximo de $0,58 \mu\text{M}$ en el sector de Metri (L01).

Para los meses de invierno 2020, para el estrato superficial (0-10m), la concentración de nitrito promedio ($\pm \text{DE}$) fue de $0,20 \mu\text{M}$ ($\pm 0,16$), con una concentración mínima de $0,02 \mu\text{M}$ en isla Talcán (L14), y un máximo de $0,71 \mu\text{M}$ en el sector de Ayacara (L10). Para el segundo estrato (10-20m), la concentración promedio de nitrito ($\pm \text{DE}$) en los meses de otoño 2020 fue de $0,21 \mu\text{M}$ ($\pm 0,20$), con una concentración mínima de $0,01 \mu\text{M}$ en isla Caicura (L06N1), y un máximo de $1,29 \mu\text{M}$ en Ayacara (L10).



Para los meses de primavera 2020, para el estrato superficial (0-10m), la concentración de nitrito promedio ($\pm$ DE) fue de $0,37 \mu\text{M}$ ($\pm 0,15$), con una concentración mínima de $0,02 \mu\text{M}$ en Hueihue (L06), y un máximo de $0,81 \mu\text{M}$ en el sector de isla Quehui (L12). En el estrato 10-20m, la concentración promedio ($\pm$ DE) fue de $0,46 \mu\text{M}$ ($\pm 0,25$), con una concentración mínima de $0,04 \mu\text{M}$ en Butachauque (L09N1), y un máximo de $1,60 \mu\text{M}$ en Canal Dalcahue (L11).

Para los meses de verano 2020-2021, para el estrato superficial (0-10m), el promedio fue de $0,33 \mu\text{M}$ ($\pm 0,22$), y el máximo se registró en Pichicolo (L06N3) con un valor $0,99 \mu\text{M}$ y el mínimo fue de $0,04 \mu\text{M}$ en la localidad Metri (L01). En verano, para el estrato 10-20m, la máxima concentración fue de $0,75 \mu\text{M}$ ubicado en Hueihue (L06) y la mínima en la localidad de Yates (L02) con un valor de $0,04 \mu\text{M}$, y un valor promedio ($\pm$ DE) $0,42 \mu\text{M}$ ($\pm 0,18$) (**Cuadro 1.3.7; Fig. 1.3.5**).

Cuadro 1.3.7. Se indican los valores mínimos (Min), máximos (Max), promedios (Prom) y desviación estándar (DE) para la concentración de nitrito (NO_2), en el estrato superficial (0-10m) y subsuperficial (10-20m), en los periodos de otoño 2020, invierno 2020, primavera 2020 y verano 2021, para la región de Los Lagos.

	Región de Los Lagos				
	Estrato	Min	Max	PROM	DE
Otoño 2020					
	0-10	0,06	0,25	0,15	0,05
	10-20	0,02	0,58	0,17	0,11
Invierno 2020					
	0-10	0,02	0,71	0,20	0,16
	10-20	0,01	1,29	0,21	0,20
Primavera 2020					
	0-10	0,02	0,81	0,37	0,15
	10-20	0,04	1,60	0,46	0,25
Verano 2021					
	0-10	0,04	0,99	0,33	0,22
	10-20	0,04	0,75	0,42	0,18

Nitrato (NO_3^-)

Durante los meses de otoño 2020, en el estrato superficial (0-10m), la concentración promedio de nitrato ($\pm$ DE) fue de $21 \mu\text{M}$ ($\pm 7,74$), con una concentración mínima de $0,48 \mu\text{M}$ en Cochamó (L02N2), y un máximo de $36,75 \mu\text{M}$ en la isla Quehui (L12). Para el estrato subsuperficial (10-20m), la concentración promedio de nitrato ($\pm$ DE) en los meses de otoño 2020 fue de $20,84 \mu\text{M}$ ($\pm 10,97$), con una



concentración mínima de 1,84 μM en Calbuco (L04), y un máximo de 37,16 μM en el sector de Yates (L02).

Durante los meses de invierno 2020, en el estrato superficial (0-10m), la concentración promedio de nitrato ($\pm\text{DE}$) fue de 21,77 μM ($\pm 4,32$), con una concentración mínima de 4,68 μM en isla Caicura (L06N1), y un máximo de 28,96 μM en Yates (L02). Para el estrato subsuperficial (10-20m), la concentración promedio de nitrato ($\pm\text{DE}$) fue de 23,60 μM ($\pm 2,87$), con una concentración mínima de 15,17 μM en isla Caicura (L06N1), y un máximo de 29,30 μM en el sector de Calbuco (L04).

Durante los meses de primavera 2020, en el estrato superficial (0-10m), la concentración promedio de nitrato ($\pm\text{DE}$) fue de 16,24 μM ($\pm 10,75$), con una concentración mínima de 0,60 μM en canal Caucahue (L07), y un máximo de 24,99 μM en Yates (L02). Para el estrato subsuperficial (10-20m), la concentración promedio de nitrato ($\pm\text{DE}$) fue de 17,23 μM ($\pm 7,90$), con una concentración mínima de 0,76 μM en isla Quehui (L12), y un máximo de 30,93 μM en el sector de Calbuco (L04).

Durante los meses de verano 2021, en el estrato superficial (0-10m), la concentración promedio de nitrato ($\pm\text{DE}$) fue de 12,63 μM ($\pm 7,72$), con una concentración mínima de 0,75 μM en Paso Nao (L06N2), y un máximo de 28,99 μM en Calbuco (L04). Para el estrato subsuperficial (10-20m), la concentración promedio de nitrato ($\pm\text{DE}$) fue de 10,24 μM ($\pm 8,08$), con una concentración mínima de 0,36 μM en Yates (L02), y un máximo de 25,79 μM en el sector de Calbuco (L04). (**Cuadro 1.3.8; Fig. 1.3.6**)

Cuadro 1.3.8. Se indican los valores mínimos (Min), máximos (Max), promedios (Prom) y desviación estándar (DE) para la concentración de nitrato (NO_3) en el estrato superficial (0-10m) y subsuperficial (10-20m), en los periodos de otoño 2020, invierno 2020, primavera 2020 y verano 2021, para la región de Los Lagos.

	Región de Los Lagos				
	Estrato	Min	Max	Prom	DE
Otoño 2020					
	0-10	0,48	36,75	21,00	7,74
	10-20	1,84	37,16	20,84	10,97
Invierno 2020					
	0-10	4,68	28,96	21,77	4,32
	10-20	15,17	29,30	23,60	2,87
Primavera 2020					
	0-10	0,60	74,62	16,24	10,75
	10-20	0,76	30,93	17,23	7,90
Verano 2021					
	0-10	0,75	28,99	12,63	7,72



	10-20	0,36	25,79	10,24	8,08
--	-------	------	-------	-------	------

Fosfato (PO_4^{3-})

Durante los meses de otoño 2020, en el estrato superficial (0-10m), la concentración promedio de fosfato ($\pm$ DE) fue de 2,41 μM ($\pm$ 0,92), con una concentración mínima de 0,88 μM en Butachauques (L09N1), y un máximo de 36,75 μM en la isla Quehui (L12). Para el estrato subsuperficial (10-20m), la concentración promedio de fosfato ($\pm$ DE) en los meses de otoño 2020 fue de 2,73 μM ($\pm$ 0,74), con una concentración mínima de 1,48 μM en Calbuco (L04), y un máximo de 4,27 μM en el sector de Yates (L02).

Durante los meses de invierno 2020, en el estrato superficial (0-10m), la concentración promedio de nitrato ($\pm$ DE) fue de 1,75 μM ($\pm$ 0,74), con una concentración mínima de 0,10 μM en isla Quehui (L12), y un máximo de 3,16 μM en Metri (L01). Para el estrato subsuperficial (10-20m), la concentración promedio de nitrato ($\pm$ DE) fue de 1,85 μM ($\pm$ 0,65), con una concentración mínima de 1,07 μM en Metri (L01), y un máximo de 4,70 μM en el sector de isla Caicura (L06N1).

Durante los meses de primavera 2020, en el estrato superficial (0-10m), la concentración promedio de fosfato ($\pm$ DE) fue de 1,12 μM ($\pm$ 0,59), con una concentración mínima de 0,11 μM en Calbuco (L04), y un máximo de 2,78 μM en Pichicolo (L06N3). Para el estrato subsuperficial (10-20m), la concentración promedio de nitrato ($\pm$ DE) fue de 1,39 μM ($\pm$ 0,36), con una concentración mínima de 0,39 μM en canal Dalcahue (L11), y un máximo de 2,30 μM en isla Caicura (L06N1).

Durante los meses de verano 2021, en el estrato superficial (0-10m), la concentración promedio de fosfato ($\pm$ DE) fue de 0,88 μM ($\pm$ 0,51), con una concentración mínima de 0,75 μM en Paso Nao (L06N2), y un máximo de 1,69 μM en Calbuco (L04). Para el estrato subsuperficial (10-20m), la concentración promedio de nitrato ($\pm$ DE) fue de 1,33 μM ($\pm$ 0,40), con una concentración mínima de 0,45 μM en Calbuco (L04), y un máximo de 2,22 μM en el sector de isla Caicura (L06N1). (**Cuadro 1.3.9; Fig. 1.3.7**)

Cuadro 1.3.9. Se indican los valores mínimos (Min), máximos (Max), promedios (Prom) y desviación estándar (DE) para la concentración de fosfato (PO_4) en el estrato superficial (0-10m) y subsuperficial (10-20m), en los periodos de otoño 2020, invierno 2020, primavera 2020 y verano 2021, para la región de Los Lagos.

Fosfato	Región de Los Lagos				
	Estrato	Min	Max	Prom	DE
Otoño 2020					
	0-10	0,88	4,59	2,41	0,92
	10-20	1,48	4,27	2,73	0,74
Invierno 2020					
	0-10	0,47	4,97	1,75	0,74



	10-20	1,07	4,70	1,85	0,65
Primavera 2020					
	0-10	0,11	2,78	1,12	0,59
	10-20	0,39	2,30	1,39	0,36
Verano 2021					
	0-10	0,10	1,69	0,88	0,51
	10-20	0,45	2,22	1,33	0,40

Silicatos (SiO_4)

La concentración promedio de sílice para el estrato de 0-10m en la región de Los Lagos durante los meses de otoño 2020 fue de 15,25 μM , donde el mínimo fue de 1,60 μM Butachauque (L09N1) y el máximo en Yates (L02) con una concentración de 39,56 μM . En la **Figura 1.1.9** de sílice para el estrato 10-20m en el otoño 2020, la máxima concentración se registró 66,61 μM en la localidad de Cochamó (L02N2), y el mínimo en la localidad de Isla Talcán (L14) con un valor de 4,09 μM , el promedio para la región durante los meses de otoño fue de 17,15 μM . Durante los meses de invierno la concentración promedio fue de 25,68 μM , donde el máximo fue de 75,01 μM y se registró en Isla Francisco (L06N3) y el valor mínimo fue de 10,59 μM en Colonia Grande (L06N1). Para los meses de invierno, la concentración promedio fue de 20,17 μM , con un máximo ubicado en la localidad de Pichicolo (L06N3) con un valor de 30,91 μM , el mínimo se registró en Isla Acui donde fue de 9,64 μM . Para primavera la concentración de silicato de 0-10 μM promedio fue de 15,11 μM , donde el máximo fue de 78,56 μM en Isla Caicura (L06N1). Y el mínimo de 0,15 μM en Isla Quehui (L12). Para primavera los valores promedios fueron de 11,71 μM , donde el máximo se registró en Ayacara (L10) con un valor de 47,12 μM y el mínimo fue de 0,05 μM y fue en el sector de Cochamó (L02N2). En los meses de verano, el valor promedio fue de 18,57 μM , donde el máximo se registró en Yates (L02) con una concentración de 9,87 μM y el mínimo en Metri (L01) con un valor de 0,20 μM de silicato. En verano, el promedio fue de 3,81 μM , la máxima concentración de sílice fue de 9,77 μM ubicado en Pichicolo (L06N3) y la mínima en la localidad Isla Quehui (L12) con un valor de 0,03 μM .

Cuadro 1.1.5. Mínimos, máximos, promedios y desviación estándar de las concentraciones de sílice (SiO_4 μM) para los estratos 0-10m y 10-20m, en los periodos de otoño, invierno 2020, primavera 2020 y verano 2021, para la región de Los Lagos.

Sílice SiO_4 μM	Región de Los Lagos				
	Estrato	Min	Max	$\bar{x}$	sd
Otoño 2020					
	0-10	1.60	39.56	15.25	8.67



	10-20	4.09	66.61	17.15	12.09
Invierno 2020					
	0-10	10.59	75.03	25.68	15.43
	10-20	9.64	30.91	20.17	4.60
Primavera 2020					
	0-10	0.15	78.56	15.11	18.35
	10-20	0.05	47.12	11.71	8.63
Verano 2021					
	0-10	0.20	70.64	18.57	24.19
	10-20	0.03	9.77	3.81	3.30

Actividad 4. Realizar los muestreos y análisis para la detección y cuantificación de quistes de dinoflagelados.

En esta etapa XIV, el análisis de 52 muestras (considerado ambos muestreos) de sedimento obtenidas desde las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes permitió identificar un total de 56 tipos de quistes distintos (**Figs. 1.4.1–1.4.3**). Todas las muestras de sedimento presentaron quistes de dinoflagelados, Sus abundancias por región y por muestreo (otoño-invierno y primavera) son entregadas en Tablas 1.4.1–1.4.6. Se identificaron y documentaron especies de quistes de los géneros *Alexandrium*, *Protoceratium*, *Lingulodinium*, *Nematosphaeropsis*, *Spiniferites*, *Prorocentrum*, *Pentaparsodinium*, *Scrippsiella*, *Protoperidinium*, *Trinovantedinium*, *Archaeoperidinium*, *Niea*, *Diplopsalopsis*, *Preperidinium*, *Gymnodinium*, *Gyrodinium* y *Polykrikos*, Los quistes que no pudieron ser identificados a nivel de género por sus características morfológicas, y por la ausencia de éstos en publicaciones científicas que den cuenta de su identidad, fueron registrados como quistes No identificados (**Figs. 1.4.3. D–O**). Entre las formas identificadas se reporta la presencia de tres especies productoras de toxinas para aguas chilenas, *Alexandrium catenella*, *Alexandrium ostenfeldii* y *Protoceratium reticulatum* (**Figs. 1.4.1. A–D**) y dos especies potencialmente nocivas, *Lingulodinium polyedrum* y *Gonyaulax spinifera* (con su quiste *Nematosphaeropsis labyrinthus*) (**Figs. 1.4.1. E–F**).

El género de dinoflagelado que presentó mayor número de especies correspondió a *Protoperidinium*, con 16 formas distintas (*P. cf. abei*, *P. americanum*, *P. avellana*, *P. claudicans*, *P. conicoide*, *P. conicum*, *P. denticulatum*, *P. excentricum*, *P. cf. nudum*, *P. leonis*, *P. oblongum*, *P. pentagonum*, *P. punctulatum*, *P. subinermis*, *P. thorianum*, y *P. tricingulatum*). Adicionalmente, dada la morfología que presentaron algunos quistes, tres de estos (*Protoperidinium* sp. 3, *Protoperidinium* sp. 6, y *Protoperidinium* sp. 9) fueron agrupados dentro del género *Protoperidinium*. Los quistes redondos de color café que suelen pertenecer al género *Protoperidinium*, pero que en esta oportunidad no presentaron un arqueopilo que pudiera permitir su identificación, fueron agrupados como *Protoperidinium* spp, Las especies que presentan este tipo de quistes son *P. avellana*, *P. denticulatum*, *P. punctulatum* y *P. thorianum*.



En esta etapa se identificó por primera vez para aguas del sur de Chile las especies *Protoperidinium cf. abei* y *Trinovantedinium variabile*, este último, el quiste de un dinoflagelado no identificado en la actualidad (Mertens *et al.*, 2018). Adicionalmente, durante esta etapa mediante experimento de germinación se comprobó la identidad del quiste registrado en etapas anteriores como Quiste No identificado 33 el cual correspondió a la especie *Gymnodinium aureolum* (Fig. 1.4.2 S).

El análisis de quistes, considerando ambos muestreos, arrojó una abundancia total de 9603 quistes (Los Lagos: 2289, Aysén: 3410, Magallanes: 3904). En los muestreos de otoño-invierno y primavera las abundancias totales correspondieron a 1188 y 1101 quistes en Los Lagos, 2220 y 1190 quistes en Aysén, y 3039 y 865 quistes en Magallanes, respectivamente (Tablas 1.4.1–1.4.6). En período otoño-primavera las estaciones de muestreo que presentaron las abundancias totales más altas correspondieron a Yaldad (L18) en Los Lagos (656 quistes $\times$ cm⁻³), Isla Julián (A30) en Aysén (729 quistes $\times$ cm⁻³), e Isla Morton (M01N) en Magallanes (669 quistes $\times$ cm⁻³) (Figs. 1.4.4–1.4.6). Posteriormente, en el muestreo de primavera, las estaciones con los valores más altos fueron registrados en San Antonio (L18N2) en Los Lagos (540 quistes $\times$ cm⁻³), Isla Elena (A25; 444 quistes $\times$ cm⁻³) en Aysén y Río Valderas (M06N; 257 quistes $\times$ cm⁻³) en Magallanes (Figs. 1.4.7–1.4.9). La abundancia promedio ($\pm$ DE) de quistes totales en los muestreos de otoño-invierno y primavera en Los Lagos fue 149 ± 218 y 138 ± 185 quistes, en Aysén 291 ± 204 y 152 ± 148 quistes, y en Magallanes 338 ± 162 y 96 ± 82 quistes, respectivamente. Considerando ambos muestreos, la región que presentó un mayor número de tipos de quistes distintos fue Magallanes con 42 tipos, seguido por Los Lagos con 36 tipos, y Aysén con 34 tipos de quistes (Tablas 1.4.1–1.4.6). Respecto a la especie más abundante por región, en Los Lagos correspondió a *Polykrikos schwartzii*, en Aysén a *Protoceratium reticulatum*, y en Magallanes a *Protoperidinium* spp. (Tablas 1.4.1–1.4.6).

Al analizar solo la presencia de quistes de especies nocivas en cada región, en Los Lagos se identificó a las especies productoras de toxinas *A. catenella* y *P. reticulatum*, en Aysén a *Schwartz. catenella*, *A. ostenfeldii* y *P. reticulatum* y en Magallanes a *Schwartz. ostenfeldii* y *P. reticulatum*. En Los Lagos durante el muestreo de otoño-invierno *A. catenella* estuvo presente en las estaciones Punta Chaiguao (L19; 3 quistes $\times$ cm⁻³), Isla Laitec (L20; 2 quistes $\times$ cm⁻³) y Banco Velahué (L20N1; 15 quistes $\times$ cm⁻³) (Fig. 1.4.10); mientras que en el muestreo de primavera fue registrada en San Antonio (L18N2; 36 quistes $\times$ cm⁻³) y Yelcho (L19N1; 2 quistes $\times$ cm⁻³) (Fig. 1.4.11). Se señala que en las estaciones Banco Velahué y San Antonio se registraron quistes vacíos de la especie (Fig. 1B). En el caso de *P. reticulatum*, sus quistes en el muestreo de otoño-invierno se registraron en Punta Chaiguao (L19; 3 quistes $\times$ cm⁻³), Canal Coldita (L19N2; 6 quistes $\times$ cm⁻³), Banco Velahué (L20N1; 10 quistes $\times$ cm⁻³) y San Pedro (L23; 9 quistes $\times$ cm⁻³) (Fig. 1.4.12) y en primavera fueron registrados en S. Antonio (L18N2; 9 quistes $\times$ cm⁻³), P. Chaiguao (L19; 3 quistes $\times$ cm⁻³), Yelcho (L19N1; 2 quistes $\times$ cm⁻³), C. Coldita (L19N2; 28 quistes $\times$ cm⁻³), B. Velahué (L20N1; 1 quistes $\times$ cm⁻³) y S. Pedro (L23; 18 quistes $\times$ cm⁻³) (Fig. 1.4.13).

En la región de Aysén, los quistes de *A. catenella* durante otoño-invierno fueron identificados en Isla Orestes (A23; 6 quistes $\times$ cm⁻³), Isla Viola (A30N1; 4 quistes $\times$ cm⁻³), e Isla Ester (A32N1; 5 quistes $\times$ cm⁻³) (Fig. 1.4.14). En época de primavera la especie fue registrada en Isla Vergara (A32; 4 quistes $\times$



cm⁻³), Canal Pilcomayo (A42; 5 quistes × cm⁻³) y Canal Rodríguez (A45; 5 quistes × cm⁻³) (**Fig. 1.4.15**). Paralelamente, el registro de los quistes de *A. ostenfeldii* en la región se dio solo en el muestreo de otoño-invierno, siendo identificado en las estaciones Cinco Hermanas (A24; 4 quistes × cm⁻³), Isla Viola (A30N1; 4 quistes × cm⁻³) y Canal Rodríguez (A45; 2 quistes × cm⁻³) (**Fig. 1.4.16**). Los quistes de *P. reticulatum* fueron los más abundantes de las tres especies productoras de toxinas y fueron registrados con una distribución más amplia. Durante el muestreo de otoño-invierno fueron identificados en I. Orestes (A23; 99 quistes × cm⁻³), I. Julián (A30; 252 quistes × cm⁻³), I. Viola (A30N1; 51 quistes × cm⁻³), I. Vergara (A32; 120 quistes × cm⁻³), I. Ester (A32N1; 49 quistes × cm⁻³), C. Pilcomayo (A42; 45 quistes × cm⁻³), y C. Rodríguez (A45; 2 quistes × cm⁻³) (**Fig. 1.4.17**), mientras que en primavera se registraron en I. Orestes (A23; 36 quistes × cm⁻³), I. Julián (A30; 198 quistes × cm⁻³), I. Viola (A30N1; 3 quistes × cm⁻³), I. Vergara (A32; 24 quistes × cm⁻³), I. Ester (A32N1; 12 quistes × cm⁻³), C. Pilcomayo (A42; 32 quistes × cm⁻³), y C. Rodríguez (A45; 9 quistes × cm⁻³) (**Fig. 1.4.18**).

En la región de Magallanes, la presencia de especies productoras de toxinas fue menor que en las regiones antes mencionadas y solo se registraron en otoño-invierno. En muestreo de otoño-invierno se identificó la presencia de *A. ostenfeldii* en las estaciones Puerto Edén (M06; 12 quistes × cm⁻³), Río Valderas (M06N; 10 quistes × cm⁻³), Paso Mancilla (M06N3; 18 quistes × cm⁻³), e Isla Morton (M01N; 17 quistes × cm⁻³) (**Fig. 1.4.19**); mientras que los quistes de *P. reticulatum* se registraron en isla Salamandra e Isla Morton (**Fig. 1.4.20**).



5.2. Objetivo Específico 2:

Continuar el desarrollo del modelo fisico-biol3gico para estimar la distribuci3n y abundancia de *Alexandrium catenella*, en sitios selectos del sistema de fiordos y canales.

Actividad 1: Registro y uso de informaci3n oceanogr3fica y biol3gica para la evaluaci3n de la calidad de los modelos implementados,

Caracterizaci3n de distribuci3n de *A. catenella* y variables oceanogr3ficas entre los a3os 2017-2018. Durante el a3o 2017 los valores de abundancia relativa de *A. catenella* para la regi3n de Ays3n variaron aproximadamente entre 0 y 7, donde en general los valores mayores a 4 se registraron desde enero a abril y diciembre, principalmente entre los 45° y 46° de latitud. Esta tendencia tambi3n se observ3 en el a3o 2018, sin embargo, se advierte que la presencia de valores de abundancia relativa mayores a 4 se extendi3 desde enero a mayo del 2018 y durante junio a septiembre del 2018 los valores de abundancia relativa fueron de 2. Esta situaci3n es bastante an3mala al momento de compararla con la distribuci3n promedio de abundancia relativa (**Fig. 2.1.8**), ya en general en los meses de junio a octubre los valores de abundancia relativa son de 0.

En cuanto a las variables atmosf3ricas (**Fig. 2.1.9**), en la zona sur de la transecta a partir de mayo a octubre del 2017 se observ3 la presencia de una baja presi3n la que estuvo asociada a altos valores de velocidad de viento. En cuanto al 2018, la baja presi3n estuvo presente solo en el mes de septiembre.

La radiaci3n solar en superficie durante 2017 vario entre 51 y 461 W m⁻², los que se registraron en los 46° latitud durante julio y en los 45° latitud durante enero el 2017 respectivamente. Durante 2018, la menor y mayor radiaci3n se registraron en las mismas latitudes, sin embargo, los valores fueron mayores ya que se registraron entre 61 y 475 W m⁻², durante junio y enero del 2018 (**Fig. 2.1.10**).

a) Modelo Hidrodinámico

i) **Nivel del mar:** Un primer punto de control del modelo hidrodinámico es la capacidad que tiene para reproducir las fluctuaciones del nivel del mar las mediciones con el mare3grafo, ubicado en la entrada del fiordo Puyuhuapi. Los resultados muestran un buen ajuste entre el modelo y la observaci3n, alcanzando valores para el fiordo Puyuhuapi valores de $r=0.96$ y $d=0.97$ (**Fig. 2.1.11**).

ii) **Hidrografia:** La temperatura en los primeros 20 metros en todos los sitios, mostr3 una alta fluctuaci3n estacional con bajos valores hacia finales de agosto y los m3ximos en febrero, esto fue replicado por el modelo, lo cual se corrobor3 con las altas correlaciones encontradas ($r > 0.9$) (**Figs. 2.1.12a, 2.1.12c y 2.1.12e**). En aguas m3s profundas (~120 m), el canal Moraleda present3 una menor variaci3n, lo que el modelo reprodujo de manera correcta, sin embargo, la serie observada present3 pulsos que el modelo no logr3 estimar, lo cual incidi3 en menores valores de correlaci3n (**Fig. 2.1.12b**). Para el caso de canal



Costa y fiordo Quitralco, mostraron una estacionalidad más evidente, lo que fue apreciado tanto en las series observadas, como en las modeladas y sus altas correlaciones (> 0.96) (**Figs. 2.1.12d y 2.1.12f**).

b) Modelo Atmosférico WRF

Se comparó la observación de la estación meteorológica de Melinka. Los resultados mostraron que el modelo WRF predice correctamente distintas variables meteorológicas, como la presión atmosférica ($r=0.98$, $d=0.7$) (**Figura 2.1.13a**), la temperatura ($r=0.93$, $d=0.84$) (**Figura 2.1.13b**) y la magnitud del viento ($r=0.87$, $d=0.78$). Estas variables evaluadas del modelo WRF son forzantes del modelo hidrodinámico.

c) Modelo biogeoquímico

Las concentraciones de nitrato modelado (**Fig. 2.1.14**), registraron un aumento de concentración a medida que aumenta la densidad. Los valores de nitrato son parecidos a los datos observados cuando la densidad es menor a 26.75; sin embargo, cuando la densidad aumenta las diferencias de nitrato observado y modelo son mayores, siendo el nitrato modelado menores a las concentraciones observadas.

d) Modelo biológico de *Alexandrium catenella*

A partir de la distribución latitudinal de abundancia relativa modelada para los años 2017 y 2018 (**Fig. 2.1.15**), se observó que en general tendieron a disminuir a medida que pasaba el tiempo de simulación, sin embargo, es destacable que bajo la 45.5° de latitud las concentraciones se extendieron hasta abril al igual que las observadas el 2017, esto considerando que las concentraciones utilizadas para las condiciones iniciales del 2018 fueron menores a las 2017.

Con el fin de evaluar la respuesta del modelo a la temperatura y salinidad, se graficaron las funciones de temperatura y salinidad (**Fig. 2.1.16**). La respuesta de la temperatura en el modelo, varío entre 0.8 a 0.94 a diferencia de la salinidad, donde la variación fue de 0.98 a 1, siendo la temperatura la determinante para establecer la variación de la tasa máxima de crecimiento. La función de temperatura, presentó los mayores valores a altas temperatura del modelo hidrodinámico, los que se presentaron en los meses de primavera y verano y los menores valores durante los meses de invierno. En cuanto, a la función de salinidad los mayores valores se presentaron cuando el modelo hidrodinámico presentó valores de salinidad de entre 28 y 30 psu.

Por otro lado, la tasa de mortalidad promedio (**Fig. 2.1.17**) fue mayor durante los meses de mayores temperaturas y en general fue de ~ 0.2 , a diferencia de lo observado durante los meses de invierno donde tasa de mortalidad fue mínima (~ 0.05).

Experimento 1. Tasa de respiración basal.



Para evaluar la respuesta del modelo a distintas tasas de respiraci3n basal, se utilizaron distintos valores. En la **Figura 2.1.18** se observ3 c3mo a distintas tasas de respiraci3n basal el modelo obtuvo distintas tasas de crecimiento dependiente de radiaci3n, temperatura y salinidad. En general la tendencia mostr3 que entre menor valor de la tasa de respiraci3n basal mayor fue la tasa de crecimiento, es importante notar que la m3nima tasa de respiraci3n basal recomendada por [Stock et al. \(2005\)](#), siempre result3 en una tasa de crecimiento negativo. En cuanto a la concentraci3n simulada con distintas tasas de respiraci3n basal (**Figura 2.1.19**), se observ3 que a la menos tasa de respiraci3n basal la concentraci3n promedio tendi3 a aumentar.

Experimento 2. Tasa m3xima de crecimiento bajo condiciones 3ptimas de temperatura y salinidad.

Con el objetivo de conocer la respuesta del modelo a las distintas tasas m3xima de crecimiento bajo condiciones 3ptimas de temperatura y salinidad (**Fig. 2.1.20**), los valores de 1 y 0.6. Se observ3 que a mayor tasa de crecimiento 3ptimo mayor fue la tasa de crecimiento m3xima dependiente de temperatura y salinidad, sin embargo, esto no se reflej3 en los resultados de tasa de crecimiento ni en las concentraciones simuladas de *A. catenella*.

Actividad 2: Generar informaci3n acerca de las tasas de crecimiento, mortalidad, ingest3n y germinaci3n de *Alexandrium catenella*.

Relaciones entre las floraciones de *A. catenella* y los par3metros ambientales.

Temperatura y salinidad

A partir de los experimentos factoriales realizados durante esta etapa, con el objetivo de conocer las tasas de m3ximo crecimiento de la cepa de Magallanes de *A. catenella* a distintos rangos de temperatura y salinidad, se observ3 que las mayores tasas de crecimiento (0,63 div. d⁻¹) fueron obtenidas en los tratamientos a una temperatura y salinidad de 15°C y 35 psu. Estos valores de temperatura y salinidad son cercanos a los registrados para los m3ximos celulares obtenidos en las etapas anteriores de este proyecto, para la regi3n de Ays3n.

La dependencia de las tasas de crecimiento con la temperatura y salinidad son evaluadas a partir del modelo propuesto por [Platt & Jassby \(1976\)](#), en el que la tasa de crecimiento m3xima es modulada por las condiciones 3ptimas de temperatura (*T*) y salinidad (*S*). En nuestro caso, y tomando en consideraci3n los datos de los experimentos de tasas de crecimiento, tenemos que el rango de temperatura y salinidad 3ptimo se encuentra en 15°C y 35 PSU en ambientes controlados experimentalmente. Si trasladamos esta informaci3n a la interacci3n del crecimiento celular de *A. catenella* con la variabilidad ambiental, tenemos que fuera de estos rangos 3ptimos, la tasa de crecimiento m3xima deber3 verse afectada, lo cual es calculado con la siguiente ecuaci3n:



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

Donde 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. \(1982\)](#).

Como forma de ajustar los parámetros a las condiciones de nuestros datos experimentales, es que fue necesario recalcular las funciones de temperatura y salinidad con ajustes polinomiales cuadrados en el caso de la temperatura y cúbicos en el caso de la salinidad:

$$f(T) = 0,0105T^2 - 0,2762T + 1,8657$$

$$f(S) = 0,0005S^3 - 0,0351S^2 + 0,8339S - 6,1105$$

En la **Figura 2.2.1** se muestra la representación gráfica del cálculo de la tasa de crecimiento máximo, utilizando 0,63 div. d⁻¹ como valor máximo de tasa de crecimiento de *A. catenella*. Esta figura muestra los valores de las tasas de crecimiento en función de las distintas combinaciones de temperatura y salinidad, donde los valores máximos se ajustaron a las condiciones de temperatura y salinidad óptimas de acuerdo a nuestros registros de datos experimentales. En término de la modelación biológica, las tasas de crecimiento de *A. catenella* serán máximas cuando se encuentren condiciones de temperatura con valores cercanos a los 15°C y con salinidades cercanas a los 35 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 observó que las mayores tasas de crecimiento (0,63 div. d⁻¹) fueron obtenidas en los tratamientos con una concentración de nutrientes de 8,8 µM y luz de 50 µE m⁻² s⁻¹ (**Tabla 2.2.1**).

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

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

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

De acuerdo a las tasas de crecimiento calculadas, los valores máximos están asociados a condiciones de luz de 50 µE m⁻² s⁻¹ (**Fig. 2.2.2**).



Estimaci3n de la tasa de germinaci3n de *Alexandrium catenella*

El ciclo de vida de *A. catenella* posee varios estados lo que dificulta la predicci3n de la generaci3n de un evento de floraci3n. En general esta especie tiene una alternancia de estados entre c3lula vegetativa (haploide) y quiste de resistencia (diploide) las que se expresan en la columna de agua y bentos, respectivamente ([Anderson, 1998](#)). Cuando existe un ambiente favorable para las c3lulas vegetativas, 3stas se reproducen asexualmente en la columna de agua incrementando su densidad ([Anderson et al., 2012](#)). En un ambiente desfavorable, las c3lulas vegetativas se convierten en gametos, y la fusi3n de dos gametos formar3 un planocigoto, este a su vez, puede convertirse en un quiste de resistencia que sedimentar3 ([Anderson et al., 2012](#)). La acumulaci3n de varios quistes en el bentos formar3 un banco de quistes, los que podr3n germinar, luego de pasar su periodo de dormancia o cuando exista un ambiente favorable para su germinaci3n ([Genovesi et al., 2009](#)).

En este experimento se observ3 un 24 % de germinaci3n a 30 PSU y un 27 % a 35 PSU luego de 100 d3as de mantenci3n de los quistes generados en laboratorio en condiciones ambientales favorables. Estos valores dan como resultado una tasa de germinaci3n de 0.24% y 0.27 % d3a⁻¹ (**Tabla 2.2.1**). [Mardones et al., \(2016\)](#), report3 que los valores de dormancia (tiempo que transcurre entre que se genera el quiste de resistencia y su germinaci3n) puede depender entre otros factores de los atributos gen3ticos de las cepas que se mezclan para generar quistes, as3 como las condiciones ambientales. Este autor mostr3 que el periodo de dormancia para quistes generado en laboratorio puede oscilar entre 133.4 ± 13.2 y 99.8 ± 26.7 d3as. Adem3s, al evaluar el efecto de la salinidad en la germinaci3n observ3 resultados contrastantes. As3 en el cruce de las cepas Q09 x CERES8 mostr3 que la dormancia se extendi3 a altos valores de salinidades de 30-33 PSU y se redujo a bajos valores de 20 y 25 PSU. No obstante, el cruce entre las cepas Q09 x K7 no mostr3 un efecto de la salinidad.

Por otro lado, en los experimentos de germinaci3n realizado por [Correa et al., \(2015\)](#) se report3 un 11% de germinaci3n luego de 20 d3as al mantener los quistes en medio de cultivo L1, y un 86% de germinaci3n luego de 20 d3as luego de mantener los quistes en agua de mar natural. Como resultado de estos experimentos podemos estimar una tasa de germinaci3n de 0,55 % d3a⁻¹ al ser mantenidos en medio L1 y 4,3% d3a⁻¹ al ser mantenidos en agua de mar natural. Es importante indicar que los experimentos de [Correa et al., \(2015\)](#) fueron realizados con quistes aislados desde el sedimento (ambiente natural).

La comparaci3n de los resultados del experimento presentado en este informe con los de [Correa et al., \(2015\)](#) revela que los quistes aislados desde el campo tienen una mayor tasa de germinaci3n en comparaci3n con los generados en laboratorio (**Tabla 2.2.2**). Posiblemente, los quistes aislados desde el campo ya han pasado por su periodo de dormancia, por lo que el aislamiento de estos quistes y su mantenci3n en un ambiente favorable promueven la germinaci3n.

Actividad 3: Registrar informaci3n hidrogr3fica, meteorol3gica y biol3gica en condiciones de



estratificación de la columna de agua durante los periodos de máxima concentración de *Alexandrium catenella*.

Como se mencionó en la metodología esta actividad queda pendiente de ejecución, la cual dependerá de las condiciones de floración de *A. catenella*.

Actividad 4: Registrar información hidrográfica, meteorológica y biológica dentro de la red de estaciones del Programa de Monitoreo de las Mareas Rojas en Fiordos, donde realizar nuevos ejercicios de modelación.

Durante el periodo de muestreo, no se registró la presencia de *A. catenella*, sin embargo, en general se observaron bajas concentración de dinoflagelados (**Fig. 2.4.1**), a grandes rasgos se observó una leve tendencia al aumento de presencia de dinoflagelados a medida que los muestreos avanzan en el tiempo.

La mayor abundancia de dinoflagelados se registró en el muestreo del 20 de enero del 2021 a 40m de profundidad y donde la especie dominante fue *Scrippsiella trochoidea*, asociado a este máximo además se registró el máximo de fosfato y silicato (5,5 y 12 μM) y una disminución de nitrato y diatomeas con abundancia cercana a 2100 cels/L. Además, se observó un máximo secundario a 15 m de profundidad donde la especie dominante fue *Thalassiosira* spp.

El anclaje instalado tenía como objetivo registrar entre 10, 15, 20 y 30 m de profundidad, sin embargo, este registró a 19, 20, 21 y 24m.

En cuanto a la temperatura registrada en Isla Ovalada (**Fig. 2.4.2**), este vario entre 10 a 13°C en octubre de 2020 y enero de 2021 respectivamente. Además, se observó una clara tendencia al aumento de temperatura durante el periodo del registro, sin embargo, entre las distintas profundidades la temperatura no varió significativamente.

Por otra parte, la salinidad, registro valores de entre 22.3 a 30.1 psu en enero de 2021 y octubre de 2020, además desde diciembre entre los 19.5 y 20m se observó la presencia de una capa de menor salinidad de espesor variable.

Para el periodo de registro la magnitud del viento (**Fig. 2.4.3**) varió entre 1 a 9 m/s y las fechas de los muestreos biológicos con mayor presencia de dinoflagelados estuvieron asociados a bajos valores de magnitud del viento, donde el muestreo del 20 de enero de 2020 registro 1.3 m/s de rapidez del viento, lo mismo se observó para el muestreo del 13 de enero de 2020, donde la magnitud del viento fue superior con 2.2 m/s.

En cuanto a la radiación, esta variable fluctuó entre 100 y 800 W/m² y el muestreo con mayor presencia de dinoflagelados se registró con una radiación de 550 W/m², a diferencia de la radiación asociada al muestreo que presenta del 13 de enero de 2020, donde la radiación fue de 800 W/m², sin embargo, es



importante notar que durante este muestreo la abundancia de diatomeas fue alta, donde el máximo se registró a 15m dominado por *Coscinodiscus* cf. *radiatus*.

5.3. Objetivo Específico 3:

Continuar con el análisis interpretativo de la serie de datos histórica, para lograr una mejor comprensión de la variabilidad espacio-temporal del fitoplancton y de los taxones nocivos, incluyendo niveles de toxicidad y su relación con variables ambientales.

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

Representación gráfica de series temporales

Una serie temporal está formada por una sucesión de observaciones de una variable, efectuadas a intervalos regulares de tiempo, por lo tanto, las series temporales siempre presentan un orden natural determinado por el tiempo y el mantenimiento de este orden es fundamental para analizar la serie. El objetivo fundamental del estudio de las series temporales es el conocimiento del comportamiento de una variable a través del tiempo para, a partir de dicho conocimiento, poder realizar predicciones, es decir, determinar qué valor tomará la variable objeto de estudio en uno o más periodos de tiempo situados en el futuro, mediante la aplicación de un determinado modelo calculado previamente. Por lo tanto, el análisis de cualquier serie temporal debe partir de su representación gráfica. El gráfico más frecuente es la representación en un sistema cartesiano con el tiempo en el eje de abscisas y los valores de la variable temporal en el de ordenadas. Esta representación nos muestra las características más importantes de la serie como pueden ser patrones estacionales o a largo plazo, oscilaciones, rupturas, valores anómalos, variación absoluta entre periodos, etc. Sin embargo, este tipo de representaciones graficas pueden ser bastante complejas dependiendo del tiempo, cantidad de datos y variables que uno quiera analizar. Es por esto que la automatización grafica para la entrada de datos anuales o mensuales es fundamental para la mantención de una serie temporal y en nuestro caso para la respuesta grafica rápida de cualquiera de las más de 200 estaciones de muestreo que presenta el Monitoreo de Mareas Rojas. En nuestro caso, se ha comenzado a trabajar en una rutina hecha a través del programa R, la cual nos permite en forma rápida poder actualizar graficas de series temporales para distintas variables que contempla el monitoreo. La **figura 3.1.1** nos muestran un ejemplo de las series de tiempo a partir del año 2007 al 2019 de dos estaciones de muestreo, A03 – Puerto Barrientos ubicada en la zona norte de la región de Aysén y la M16- Isla Piazzzi ubicada en la zona norte de la región de Magallanes, para las siguientes variables; Abundancia relativa y densidad celular de *A. catenella*, toxinas asociadas, proporción de *A. catenella* con respecto al total de diatomeas y dinoflagelados y por ultimo temperatura y salinidad superficial (5m). Si bien no haremos una descripción o análisis de los gráficos aquí mostrados, a modo de ejemplo podemos ver las variaciones estacionales de la abundancia relativa de *A. catenella*, las altas densidades celulares y de toxinas alcanzadas los años 2009, 2016 y 2018 en la estación A03, o la baja en la densidad celular y en el contenido de toxinas a partir del año 2012 en la estación M16. Sin ir más lejos, ese tipo de rutinas nos sirven para observar patrones en localidades



específicas, o hacer comparaciones entre ellas, ver anomalías en datos oceanográficos entre otros. Este primer prototipo de gráficos no solo puede incorporar estas variables, pudiéndose agregar otras como variables meteorológicas, nutrientes u otra información que pueda ser relevante para una mejor comprensión de nuestros datos. Sin embargo, hay que mejorar algunos aspectos dentro de nuestra rutina, mejoras que iremos desarrollando a medida que avancemos en el ordenamiento de nuestros datos y el ingreso de estos para optimizar la parte gráfica.

Continuación con Análisis rutinario.

Análisis de CLUSTER

El análisis de CLUSTER para la matriz de datos de **fitoplancton total** de la macroregión sur-austral, arrojó la formación de 71 grupos significativos de estaciones de muestreo (**Fig. 3.1.2**): 26 grupos para la región de Los Lagos, 25 grupos para la región de Aysén, 20 grupos para la región de Magallanes.

El análisis de CLUSTER para la matriz de datos de **diatomeas total** de la macroregión sur-austral, resultó en la formación de 69 grupos significativos de estaciones de muestreo (**Fig. 3.1.3**): 23 grupos para la región de Los Lagos, 26 grupos para la región de Aysén, 20 grupos para la región de Magallanes.

El análisis de CLUSTER para la matriz de datos de **dinoflagelados total** de la macroregión sur-austral, arrojó la formación de 45 grupos significativos de estaciones de muestreo (**Fig. 3.1.4**): 15 grupos para la región de Los Lagos, 14 grupos para la región de Aysén, 16 grupos para la región de Magallanes. Cabe hacer notar, que este fue el único grupo, en que una estación del norte de la región de Los Lagos (L04N3) conformó un conglomerado con dos estaciones del sector norte de Aysén (A01 y A03). Este conglomerado es indicado con una elipse (azul) en (**Fig. 3.1.3**). Aun considerando la observación anterior del análisis de CLUSTER a nivel de macroregión, para ayudar al lector a visualizar los resultados del análisis de CLUSTER, éstos se representan en gráficas de similitud de abundancias obtenidos mediante el análisis nMDS, cuyas gráficas fueron organizadas por región y por grupo de fitoplancton: Fitoplancton total, diatomeas y dinoflagelados. En las respectivas gráficas nMDS, los grupos significativos resultantes del análisis de CLUSTER, están delineados por una línea elíptica que indica el 5% de significancia (prueba SIMPROF). En las tres regiones, fue posible visualizar conglomerados mayores de estaciones de muestreo, así como conglomerados menores, y finalmente, estaciones que no fueron agrupadas. Así mismo, en el caso específico del grupo dinoflagelados, por ser el grupo objetivo que contiene un mayor número de especies productoras de toxinas, se consideraron en el análisis además de los gráficos nMDS, las gráficas de CLUSTER por región, y los mapas con la distribución geográfica de los conglomerados.



Análisis nMDS del grupo fitoplancton total

En la región de Los Lagos, solo hubo un conglomerado con el mayor número de estaciones similares, 4 estaciones, en términos de abundancia de un total de 26. Este grupo, estuvo ubicado en el sector medio del fiordo Reloncaví (**Fig. 3.1.5**). El resto de los conglomerados estuvo conformado por 2 estaciones, mientras que 11 estaciones resultaron no agrupadas.

En la región de Aysén, de 25 grupos resultantes, dos conglomerados estuvieron conformados por 5 estaciones (ubicadas en el canal Jacaf) y por 4 estaciones (zona de Tortel), respectivamente (**Fig. 3.1.6**). El resto de los conglomerados fueron conformados por 2 y 3 estaciones. Las estaciones sin grupo se contabilizaron en 8.

Para la región de Magallanes, de un total de 20 conglomerados, dos resultaron conformados por 5 estaciones (sector de Puerto Edén y sector de seno Otway, respectivamente). El resto de los conglomerados estuvieron conformados por 4, 3 y 2 estaciones, mientras 8 estaciones resultaron sin grupo (**Fig. 3.1.7**).

Análisis nMDS del grupo Diatomeas

Los conglomerados de diatomeas en la región de Los Lagos (23 en total), conformados por el mayor número de estaciones fueron dos (**Fig. 3.1.8**): Uno de 6 (en el sector islas Desertores) y el otro por 4 estaciones (sector medio del fiordo de Reloncaví). En este caso, las estaciones no agrupadas fueron 10. Los conglomerados restantes estuvieron conformados por 3 y 2 estaciones.

En la región de Aysén, de un total de 26 grupos, dos estuvieron conformados por 5 estaciones (canal Jacaf) y por 4 estaciones (sector de Tortel), respectivamente (**Fig. 3.1.9**). El resto de los conglomerados estuvo conformado por 3 y 2 estaciones, mientras que 10 estaciones resultaron no agrupadas.

Para la región de Magallanes, de un total de 20 conglomerados, dos estuvieron conformados por 5 estaciones cada uno (sector Puerto Edén y seno Otway, respectivamente) (**Fig. 3.1.10**). El resto de los conglomerados estuvo conformado por 4, 3 y 2 estaciones, siendo 8 las estaciones que resultaron no agrupadas.

Análisis nMDS, CLUSTER y distribución geográfica conglomerados de Dinoflagelados

Para la región de Los Lagos, de un total de 15 conglomerados, 2 fueron conformados por 12 estaciones (sector sur de Chiloé) y 10 estaciones (abarca estaciones del sector isla Desertores, Calbuco e isla Acuí-Chaulin) (**Figs. 3.1.11-12**). El segundo de 10 estaciones fue el más heterogéneo de los conglomerados analizados para la macrozona sur-austral, en términos geográficos (**Fig. 3.1.13**). El resto de los conglomerados en esta región estuvieron conformados por 4, 3 y 2 estaciones, mientras que 8 estaciones no fueron agrupadas.

En la región de Aysén, de un total de 14 conglomerados (**Figs. 3.1.14 -15**), cuatro de ellos estuvieron conformados por 5 estaciones de muestreo (sector de isla Concoto más sector Añihue-Melimoyu, ambos



situados en lados opuestos al canal Moraleda; sector entrada Puyuhuapi-islas Vergara-Julián; sector canal Tronador-Punta Lynch-isla Canquenes en el sur de Aysén; canal Jacaf-Puyuhuapi) (**Fig. 3.1.16**) Otros dos conglomerados compuestos por 8 estaciones cada uno (sector de canales Darwin-Chacabuco-Vicuña; sector grupo enjambre-canal Ninualac oeste). El resto estuvo conformado por 4, 3 y 2 estaciones, y solo una estación no fue agrupada (A18, Punta Cálqueman).

En Magallanes, hubo dos conglomerados con un mayor número de estaciones de muestreo (**Figs. 3.1.17-18**) 7 estaciones en canal Beagle, y 6 estaciones en el sector oeste del estrecho de Magallanes (**Figs. 3.1.19-20**). El resto de los conglomerados estuvo conformado por 4, 3 y 2 estaciones. En esta región, 4 estaciones resultaron no agrupadas.

Análisis del ensamble fitoplanctónico

De los grupos fitoplanctónicos analizados, los dinoflagelados resultaron con el menor número de conglomerados. Varios de ellos estuvieron conformados por un mayor número de estaciones similares en relación a la densidad de células. Los dinoflagelados también fueron el grupo con conglomerados que incluyeron estaciones muy distantes geográficamente, pero siempre dentro de la misma región.

De acuerdo a estos resultados, será de interés establecer la composición específica de las microalgas que conforman estos conglomerados y completar el análisis para el estrato de profundidad de 10-20 m, ambas variables complementarias que ayudarán a entender con mayor profundidad la conformación geográfica de los conglomerados obtenidos en base solo a densidad celular total de los grandes grupos que conforman el ensamble fitoplanctónico.

Análisis de ANOSIM y RELATE

Para los tres grupos de fitoplancton, el análisis de similitud (estadístico R), indicó diferencias significativas entre las regiones: Fitoplancton total con $R=0.556$ ($p<0.001$); Diatomeas con $R=0.559$ ($p<0.001$); Dinoflagelados con $R=0.506$ ($p<0.001$). En los tres grupos de fitoplancton, la mayor diferencia entre las similitudes ocurrió entre Aysén y Magallanes, mientras que la menor fue entre Los Lagos y Aysén para el caso del fitoplancton y diatomeas. En el caso de los dinoflagelados, la menor diferencia resultó entre Los Lagos y Magallanes.

La correlación de Spearman realizada con la subrutina RELATE, indicó un alta y significativa correlación, $Rho=0.988$ ($p<0.0001$) entre las similitudes de abundancia de fitoplancton y diatomeas, mientras entre el fitoplancton y los dinoflagelados, la correlación fue menor, aunque significativa, $Rho=0.47$ ($p<0.0001$). La correlación entre las diatomeas y dinoflagelados fue mayor, $Rho=0.569$ ($p<0.0001$), que la observada entre los grupos fitoplancton y dinoflagelados.



Distribución temporal de los conglomerados fitoplancton total, diatomeas y dinoflagelados periodo octubre 2007-febrero 2019

El promedio de abundancias, en valores absolutos de densidad celular (*i.e.* sin transformación previa de los valores), por estación del año (sin considerar el año), se muestran en las figuras **3.1.21-23**. El fitoplancton total y las diatomeas presentan un patrón de variabilidad estacional similar para el periodo octubre 2007- febrero 2019 (**Figs. 3.1.21-22**), así como en la magnitud de los valores de concentración celular, que contrasta con el observado para los dinoflagelados (**Fig.3.3.23**). Este resultado es consistente con el resultado de alta correlación Spearman encontrado entre las abundancias de los grupos fitoplancton total y diatomeas, en términos de similitud de Bray-Curtis ($Rho=0.988$, $p<0.0001$).

Para tener una idea de las magnitudes que pueden alcanzar los grupos de fitoplancton considerados en el lapso de estudio, la densidad máxima alcanzada por el fitoplancton total, fue de 41.124×10^6 ; las diatomeas 41.119×10^6 ; y dinoflagelados 3.680×10^6 céls L^{-1} . Los dinoflagelados pueden alcanzar densidades máximas de hasta una magnitud menor a las diatomeas y/o fitoplancton total.

Tendencias estacionales de la densidad celular en el gradiente latitudinal

Diatomeas y fitoplancton total

Temporalmente, se observó un patrón de variabilidad estacional dentro del gradiente latitudinal, con la prevalencia de primavera y verano en las abundancias del fitoplancton y las diatomeas (**Figs. 3.1.21-22**). Las abundancias de estos grupos fueron principalmente importantes durante estas estaciones del año, en el sector del fiordo y seno de Reloncaví.

La estación de otoño también fue importante en el sector fiordo y seno Reloncaví, en gran parte de la región de Aysén y en el área norte de Magallanes, sin embargo, su incidencia en las abundancias tendió a desaparecer hacia el extremo sur de Magallanes. Esta tendencia a disminuir hasta hacerse imperceptible en términos de la densidad celular, también fue observada en el sector sur de Chiloé. Sorprendentemente, la estación de invierno incidió en las abundancias de los grupos de fitoplancton en las tres regiones, con relativa importancia en la región de Magallanes y sector norte de la región de Los Lagos, pero con tendencia a desaparecer en el sector de Chiloé meridional.

Dinoflagelados

La distribución latitudinal estacional de la densidad celular de los dinoflagelados, fue diferente (**Fig. 3.1.23**). Las abundancias de este grupo fueron notoriamente importantes en verano y también en otoño para el periodo del análisis, en relación a la primavera, en las regiones de Los Lagos y Aysén.

En Magallanes en cambio, predominó la estación de primavera y verano. La estación de otoño en esta región tiene mayor incidencia en el sector norte de Magallanes y su influencia tiende a desaparecer hacia el sur del estrecho de Magallanes. En contraste, sorprendentemente la estación de invierno es



relativamente importante en el área norte de Magallanes, pero poco o nada en las áreas centro y sur de Magallanes y las regiones de Los Lagos y Aysén.

Patrones estacionales en nMDS de los promedios de los grupos fitoplancton total, diatomeas y dinoflagelados para el periodo octubre 2007-febrero 2019

Los gráficos anteriores, es posible representarlos mediante ordenamiento nMDS, para visualizar los patrones estacionales de los tres grupos en estudio, en términos de promedio estacional anual para el periodo octubre 2007- febrero 2019, ya descritos arriba (**Figs. 3.1.24 - 3.1.26**).

Grupo fitoplancton total

Para el caso del fitoplancton (**Fig. 3.1.24**), cuyo rango de densidad celular es 120-700 céls L⁻¹, el patrón estacional difiere en las tres regiones.

La región de Los Lagos (**Fig.3.1.24, color azul**), presenta una densidad muy similar en verano primavera con valores altos de densidad, mientras que en otoño e invierno también son similares en torno a las 300 céls L⁻¹.

En la región de Aysén (**Fig.3.1.24, color rojo**), el patrón estacional está claramente diferenciado, con valores de densidad celular máxima en verano y mínima en invierno (200 céls L⁻¹).

La región de Magallanes (**Fig.3.1.24, color verde**) también presenta una diferenciación estacional marcada en términos de densidad celular promedio estacional, sin embargo, la densidad celular máxima ocurre en primavera (536 céls L⁻¹) y mínima en otoño (120 céls L⁻¹). En este caso, la densidad celular de verano, es similar a la presentada en el otoño en la región de Los lagos y Aysén.

Grupo diatomeas

El rango de densidad celular de las diatomeas es muy similar al del fitoplancton (**Fig. 3.1.25**). De la misma manera, los patrones estacionales son similares a los descritos para el fitoplancton, en las tres regiones (colores azul, rojo y verde, respectivamente).

Grupo dinoflagelados

En el caso de los dinoflagelados, los patrones estacionales en las tres regiones, difieren del descrito para el fitoplancton y diatomeas (**Fig. 3.1.26**), comenzando por el rango de densidad celular promedio: entre 17 y 94 células L⁻¹, una magnitud menor a los grupos anteriores.

En la región de Los Lagos (**Fig. 3.1.26, color azul**), la densidad máxima (70 céls L⁻¹) ocurre en verano y la mínima en invierno (18 céls L⁻¹). Sin embargo, en primavera y otoño la densidad celular es similar (en torno a las 34 céls L⁻¹).



La región de Aysén (**Fig. 3.1.26**, color rojo) presenta un patrón estacional similar a la de Los Lagos, con el máximo de densidad celular en verano (94 céls L^{-1}) y mínimo en invierno (27 céls L^{-1}), y densidad intermedia en otoño e invierno con valores similares (45 céls L^{-1}).

En la región de Magallanes (**Fig. 3.1.26**, color verde), la densidad máxima celular de los dinoflagelados ocurrió en primavera (45 céls L^{-1}), valores similares a los presentados en otoño y primavera de la región de Aysén. La densidad celular de verano en Magallanes fue similar a la observada en otoño y primavera de la región de Los Lagos.

Estudio preliminar de la relación N: P entre los veranos 2017-2018, 2018-2019 y 2019-2020.

Durante los veranos australes de 2017-2018, 2018-2019 y 2019-2020, se compararon las concentraciones de nitrato-nitrógeno (NO_2+NO_3) y fosfato (PO_4) del estrato 0-10 m de la columna de agua en las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes, para establecer la proporción atómica, ya que el fitoplancton requiere ciertos nutrientes esenciales para mantener un crecimiento equilibrado a través de la fotosíntesis. La proporción de Redfield (Redfield, 1934) establece una relación de elementos ideales de carbonos, nitrógenos y fosfato ($106\text{C}:16\text{N}:1\text{P}$). Las desviaciones de estas proporciones pueden tener diferentes orígenes, aportes de materia orgánica con una proporción diferente de N:P, procesos de remineralización, y/o la presencia de nutrientes inorgánicos que van caracterizando la una columna de agua y pueden acumularse durante su transporte advectivo (Libes, 1992). Como resultado, la proporción entre N:P es un indicador de procesos físicos y biogeoquímicos que están ocurriendo en un sistema acuático con implicancias en las comunidades fitoplanctónicas que se desarrollan en la productividad del sistema.

Desde la proporción de Redfield que establece 16:1 en mares profundos y muy distintos en superficies, como también distintos modelos biogeoquímicos que asignan diferentes relaciones estequiométricas a la proporción N:P (Klausmeier *et al.*, 2004; Loladze *et al.*, 2011), esos enfoques sugieren que, dada una mezcla diferente de condiciones ambientales, la relación N:P, puede variar en un rango de N: P = 12 o 25, que puede dar un rango promedio biológico como 16:1 (Guildford *et al.*, 2000; Loladze *et al.*, 2011).

Para los meses de verano 2017-2018 (**Fig. 3.1.27**) en las estaciones de la región de Los Lagos, en muestras del estrato 0-10 metros, la relación muestra que a menores concentraciones de nitrógeno $\text{N}<\text{P}$, donde existe una mayor proporción de fósforo (PO_4) lo que indica una limitante de las concentraciones de nitrógeno (NO_2+NO_3) en el sistema, principalmente para el mes de abril de forma similar se observa en para verano 2018-2019 (**Fig. 3.1.28**) en la relación N:P, se observa como limitante los compuestos nitrogenados (NO_2+NO_3), $\text{N}<\text{P}$ donde abril tiene las mayores diferencias de N:P. En el verano 2019-2020 (**Fig. 3.1.29**), distinto a los periodos de veranos anteriores la relación N:P son co-limitantes, principalmente en los meses de enero, febrero y marzo.

En el caso de los meses de verano 2017-2018 (**Fig. 3.1.30**) para la región de Aysén en las muestras de 0-10 metros, se observan que en abril la limitante es el fosfato, aunque en una menor proporción comparada con los principales meses de verano que están limitados por compuestos nitrogenados



($\text{NO}_2 + \text{NO}_3$) $\text{N} < \text{P}$. Para el verano 2018-2019 (**Fig. 3.1.31**), los meses de diciembre 2018, enero 2019 y febrero 2019, presentan una relación $\text{N} < \text{P}$, para los meses de marzo 2019 y abril 2019 la relación es $\text{N} > \text{P}$ en algunas estaciones del estrato 0-10 metros, para todos los meses de verano existe en mayor proporción una razón co-limitantes por P y N. En el verano 2019-2020 (**Fig. 3.1.32**), en muestras del estrato 0-10 metros, la relación muestra que a menores concentraciones de nitrógeno ($\text{NO}_2 + \text{NO}_3$) $\text{N} < \text{P}$, lo que indica una limitante de las concentraciones de nitrógeno ($\text{NO}_2 + \text{NO}_3$) en el sistema para los meses de diciembre 2019 y enero 2020, para los meses de febrero y marzo se observa una razón co-limitantes por P y N.

Para el verano 2017-2018, 2018-2019 y 2019-2020, (**Figs. 3.1.33-35**) en la región de Magallanes, la proporción $\text{N}:\text{P}$ se observa una razón co-limitantes por P y N, para los meses de veranos analizados, esto puede ocurrir por las bajas concentraciones de nutrientes ($\text{NO}_2 + \text{NO}_3$ y PO_4) que se encuentran en esta región.

La caracterización en forma espacial y temporal de la relación de Redfield nos permite visualizar un estado de los aportes que el sistema está recibiendo o generando, pero es importante agregar otras variables ambientales para una mayor comprensión. Las mayores diferencias preliminares en la relación de Redfield se observan para la zona norte de canales y fiordos del sur de Chile.

Actividad 2. Análisis interpretativo base de datos de fitoplancton cualitativo.

En esta oportunidad no se ha podido incorporar resultados relativos a esta actividad. Ello es consecuencia del ordenamiento de los antecedentes disponibles para trabajar estos antecedentes, dado que validación de las distintas planillas para los distintos sectores y etapas de este programa, ha tomado más tiempo que el previsto, y que ha sido notablemente superior al dedicado para validar los datos del fitoplancton cuantitativo. No obstante, parte importante (>80%) se encuentra en un formato apropiado para ser analizado, y es un aspecto que será debidamente tratado en la etapa XV.

Actividad 3. En búsqueda de índices como alerta temprana.

Efecto de la salinidad y temperatura en la probabilidad de presencia de los géneros *Alexandrium*, *Protoceratium* y *Dinophysis*.

Los gráficos de burbuja mostraron una mayor densidad en el estrato 0-10m en comparación con el 10-20m para casi todas las especies. La excepción fue para *P. reticulatum* quien mostró abundancias similares en ambos estratos (**Figs. 3.3.1-3.3.5**). Las especies también mostraron mayores abundancias en ciertas zonas. Así, *P. reticulatum* y *A. catenella* tuvo una mayor abundancia en Melinka seguido de Chiloé sur, en tanto que en Raúl Marín Balmaceda se observó la menor abundancia de estas especies.



Por el contrario, *A. ostenfeldii*, *D. acuta* y *D. acuminata* mostraron una mayor abundancia en Raúl Marín Balmaceda (**Figs. 3.3.1-3.3.5**).

Respecto a la temperatura, esta afectó significativamente ($p < 0,05$) la probabilidad de presencia de las cinco especies observándose una relación positiva entre la mayor probabilidad de presencia y aumento de la temperatura (**Tablas 3.3.1– 3.3.2; Figs. 3.3.1-3.3.5**). Las mayores pendientes fueron observadas para *A. catenella* y *P. reticulatum*, mientras que las menores fueron para *D. acuminata* y *A. ostenfeldii* (**Tablas 3.3.1– 3.3.2**).

La salinidad también afectó la probabilidad de presencia de las cinco especies. No obstante, se observó que existió una relación positiva, es decir a medida que aumenta la salinidad aumenta la probabilidad de presencia de la especie, para *A. catenella* y *P. reticulatum*, mostrando la primera una mayor pendiente que la segunda (**Tablas 3.3.1– 3.3.2; Figs. 3.3.1-3.3.7**). Por el contrario *A. ostenfeldii*, *D. acuta* y *D. acuminata* mostraron una relación negativa, es decir a medida que disminuye la salinidad aumenta la probabilidad de presencia de la especie. La menor pendiente fue para *A. ostenfeldii* y *D. acuta*, mientras que para *D. acuminata* la pendiente fue más cercana a cero (**Tablas 3.3.1- 3.3.2; Figuras 3.3.1-3.3.7**).

Determinación de la abundancia celular (células / Litro) correspondiente a los niveles de AR para los géneros *Alexandrium*, *Protoceratium* y *Dinophysis*.

En las **Figs. 3.3.8 y 3.3.9** se muestra el valor de abundancia celular (tomada desde el estrato 0-10 m) que corresponde a cada nivel de AR. Estas graficas se obtuvieron luego de hacer el cruzamiento de las bases de datos de abundancia celular y AR. Los valores de AR van de 1 a 10 lo que es concordante con el incremento de la abundancia de las especies nocivas. No obstante, los máximos y mínimos de abundancia son distintos para las diferentes especies. Respecto a la correlación exponencial entre AR y abundancia celular (obtenida desde el primer estrato), ajustada para cada especie, se observó altos coeficientes de determinación para *A. catenella*, *D. acuminata* y *D. acuta*, Por el contrario, *P. reticulatum* y *A. ostenfeldii* mostraron los valores más bajos (**Figs. 3.3.8 y 3.3.9**).

Comparación de bases de datos cualitativa y cuantitativa (2013-2019) de los monitoreos de Vigilancia y Raúl Marín Balmaceda: Efectos de la zona, año y meses.

La comparación de las bases de datos mostró una mayor probabilidad de presencia de especies tóxicas en la base de datos cualitativa que la base de datos cuantitativa transformada (**Fig. 3.3.10; Tablas 3.3.4 y 3.3.6**). Los análisis de las bases de datos cuantitativa transformada y cualitativa mostraron altos valores de probabilidad de presencia de *A. catenella* en Melinka ($P < 0,01$, ANOVA). El análisis de la base cuantitativa transformada mostró una mayor y significativa probabilidad de presencia de la especie en febrero, mientras que el análisis de la base de datos cualitativa mostró valores altos desde enero a marzo (**Fig. 3.3.10; Tablas 3.3.4 y 3.3.6**). *P. reticulatum* también mostró una mayor probabilidad de



presencia en Melinka para las dos bases de datos analizadas. En enero se observó una mayor y significativa probabilidad de presencia de esta especie (base de datos cuantitativa transformada) aunque cuando se analizó la base de datos cualitativa el rango se extiende de febrero a abril (**Fig. 3.3.10; Tablas 3.3.4 y 3.3.6**). Para *A. ostenfeldii* no se observaron diferencias significativas de probabilidad de presencia de especie entre los meses (análisis la base de datos cuantitativa transformada), aunque el análisis de la base de datos cualitativa mostró una alta probabilidad entre marzo y septiembre, además de la preferencia por la zona de RMB (**Fig. 3.3.10; Tablas 5.3.4 y 5.3.6**). Para *D. acuminata* el análisis de la base de datos cualitativa transformada reveló una alta probabilidad de presencia de especies en RMB, pero al analizar la base de datos cuantitativa se incluyó la zona de Melinka. Además, la probabilidad de presencia de esta especie fue alta desde noviembre a marzo con la excepción de enero para el análisis de la base de datos cuantitativa transformada. No obstante, el análisis de la base de datos cualitativa reveló un amplio rango para alcanzar altos valores de probabilidad de presencia de la especie, desde enero a julio, y también en noviembre (**Fig. 3.3.10; Tablas 3.3.4 y 3.3.6**). *D. acuta* mostró una alta probabilidad de presencia para la zona de RMB y Melinka (análisis de ambas bases de datos). La base de datos de abundancia transformada mostró un amplio rango para alcanzar una mayor probabilidad de presencia de especie entre diciembre a julio. Sin embargo, cuando se evaluó la base de datos cualitativa, altas probabilidades de presencia de especie se observaron en marzo y abril.

En 2016 y 2018 en general *A. catenella*, *P. reticulatum*, *D. acuminata* y *D. acuta* mostraron una alta probabilidad de presencia de especie (análisis de ambas bases de datos). A pesar de que el año no afectó a la probabilidad de presencia de especie de *A. ostenfeldii* (análisis base datos cuantitativa transformada), el análisis de la base de datos cualitativa mostró altas probabilidades en 2014, 2017 y 2019 con valores incluso superiores a *acuminata*. *catenella* y *P. reticulatum* (**Fig. 3.3.10; Tablas 3.3.4 y 3.3.6**). Finalmente, cuando se analizó la base de datos cualitativa transformada, para la mayoría de las especies, la probabilidad de presencia de especie fue mayor en el estrato 0-10 que en el 10-20 ($P < 0.01$, ANOVA), con la excepción de *P. reticulatum* donde no se observaron diferencias significativas ($P > 0.01$, ANOVA) (**Tabla 3.3.4**).

Abundancia relativa (AR) de *Alexandrium catenella*.

De los siete taxones que son priorizados para estimar abundancia relativa, 5 son dinoflagelados y 2 son diatomeas. De éstos, la especie que ocasiona impactos de mayor magnitud sobre la salud pública y actividades productivas es *Alexandrium catenella* y por este motivo, los primeros análisis han sido orientados a esta especie. Los antecedentes incluyen 146 sitios de muestreo, distribuidos en todo el sistema de fiordos, con datos mensuales entre octubre de 2007 y febrero de 2020.

Al ordenar la información, de mayor a menor, sobre la base de la sumatoria de las estimaciones de abundancia relativa por localidad, para todo el lapso considerado, se aprecia que los sitios establecidos en la región de Aysén son aquellas con mayor frecuencia y abundancia de este taxón. El primer decil sólo incluye sitios de esta región (**Cuadro 3.3.1, Figura 3.3.11**), al igual que en el segundo, y recién en el tercer decil se incorporan sitios de la región de Magallanes, como es el caso en orden decreciente de



Canal Adalberto (M04, 247), Bahía Liberta (M05, 241) e Isla Morton (M01N, 218) (la cifra después del topónimo corresponde a la sumatoria de las abundancias relativas), todos ubicados en la provincia de Última Esperanza en el extremo norte de esta región. El último decil está integrado por sitios de la región de Los Lagos, con la excepción de isla Ballesteros (M23) que está ubicada en la región de Magallanes; y, además, en un par de localidades de este decil, la presencia de este taxón nunca fue detectada (**Cuadro 3.3.1, Figura 3.3.11**). En el cuadro se aprecian claramente las notorias diferencias entre las sumatorias por localidades de las estimaciones de abundancia relativa, al contrastar entre el primer y último decil.

Cuadro 3.3.1. Topónimo y código de los sitios de muestreo (TC), además de sumatoria de estimadores de abundancia relativa (SAR) para *Alexandrium catenella*, del primer decil (mayor a menor), para el período octubre de 2007 y febrero de 2020.

TC	SAR	TC	SAR
Canal Chacabuco (A53)	386	Isla Butachauques (L09)	41
Isla Roja-Paso Tres Cruces (A54)	375	Isla Chaulinec (L13)	39
Colonia Grande (A52)	371	Canal Dalcahue (L11)	37
Isla Palumbo (A48)	361	Isla Caicura (L06N1)	33
Canal Vicuña (A51)	359	Bahía Ilque (L04N2)	33
Puerto Bonito (A29)	358	Calbuco Paso Quenu (L04)	17
Playas Largas (A43)	353	Isla Ballesteros (M23)	17
Punta Lynch (A28)	352	Metri (L01)	8
Tronador (A50)	346	Caleta La Arena (L03)	6
Estero Quitralko (A27)	344	Marimeli (L02N3)	2
Canal Pilcomayo (A42)	332	Yates (L02)	1
Canal Darwin (A49)	333	Sotomó (L02N1)	1
Isla Castillo (A47)	331	Potrerillos (L03N1)	1
Canal Rodríguez (A45)	328	Cochamó (L02N2)	0
Isla Silachilu (A40)	317	Pocoihuén (L02N4)	0

A partir del ordenamiento de los sitios de muestreo según las sumatorias por localidad, fue posible evaluar la frecuencia por nivel de la escala de abundancia relativa (desde ausente, 0 hasta >mega abundante, 10) (**Fig. 3.3.12**). En la figura se aprecia en todos los casos representados, ya sea por localidad o por grupos de localidades, que entre los niveles de abundancia relativa de ausente (0), raro (1) y escaso (2) se encuentran las frecuencias más altas, siendo los niveles ≥ 7 , aquellos que presentaron las frecuencias más bajas. Esto a su vez está indicando un resultado que se ha señalado en otras partes de este informe o en informes previos, en cuanto a que hay sectores, como la región de Aysén que muestran una mayor probabilidad de presentar a *A. catenella*, pero además los niveles superiores de la escala, aquellos que reflejan floraciones intensas, están asociados a probabilidades más bajas de ocurrencia.



Por otro lado, al ordenar la informaci3n, de mayor a menor, sobre la base de la sumatoria de las estimaciones de abundancia relativa por fecha de muestreo (datos mensuales), para todo el lapso considerado, se aprecia para el primer decil, que algunos meses como enero, febrero, marzo y abril, de diferentes a1os tales como 2009, 2010, 2014, 2015, 2016, 2017 y 2018 son los que presentaron los niveles de abundancia relativa m1s altos de *A. catenella*, incluyendo noviembre y diciembre de 2009. Y adem1s estos resultados contrastan con el 1ltimo decil, pues, en 1ste, las sumatorias son notoriamente m1s bajas y ocurren principalmente en los meses de invierno, con registros en los meses de mayo, junio, julio, agosto y septiembre, pero en uno o dos meses, de los a1os 2008, 2010, 2011, 2012, 2013 y 2015, siendo este 1ltimo a1o el m1s interesante, dado que mostr3 estimadores muy bajos de *A. catenella* en junio, julio, agosto y septiembre de 2015, el a1o previo de la floraci3n m1s intensa de este dinoflagelado en tiempo recientes, ocurrida en el oto1o de 2016 en la regi3n de Los Lagos, pero iniciada en los meses previos en la regi3n de Ays3n.

Cuadro 3.3.2. Fechas de muestreo y sumatoria de estimadores de abundancia relativa (SAR) para *Alexandrium catenella*, del primer decil y 1ltimo (mayor a menor), para el per3odo octubre de 2007 y febrero de 2020.

PRIMER DECIL		1LTIMO DECIL	
FECHA	SAR	FECHA	SAR
ene.-18	423	may.-11	63
mar.-18	401	jul.-13	63
feb.-16	381	ago.-15	62
feb.-15	353	sep.-13	59
mar.-16	347	ago.-08	56
oct.-09	335	sep.-15	56
ene.-10	328	jun.-15	54
feb.-18	328	jul.-08	50
mar.-14	321	ago.-11	46
abr.-16	315	jun.-12	46
feb.-09	310	jun.-11	39
mar.-17	307	jul.-15	38
mar.-09	302	jul.-10	35
nov.-09	302	jul.-11	35
ene.-16	302	ago.-13	34

Si el an1lisis de las mayores sumatorias decrecientes, se extiende hasta el tercer decil, es decir, para las fechas con los estimadores m1s altos, correspondientes a las 45 sumatorias observadas m1s altas para la informaci3n entre octubre de 2007 y febrero de 2020, los meses de mayor riesgo son aquellos de primavera y verano, aunque en a1os excepcionales, las floraciones de esta microalga pueden ocurrir hasta en los meses de oto1o (e.g. 2016), como tambi3n se puede apreciar que en algunos a1os las floraciones son m1s intensas, seg1n las sumatorias de las abundancia relativas, y m1s prolongadas,



abarcando más meses. Una síntesis de estos resultados, considerando los tres primeros deciles se presentan en el **cuadro 3.3.3**.

Cuadro 3.3.3. Comportamiento temporal de las abundancias de *A. catenella* según los estimadores de abundancia relativa, usando las sumatorias más altas por fecha de muestreo en los en los tres primeros deciles (45 fechas), para el lapso octubre 2007 y febrero de 2020.

	ene	feb	mar	abr	may	jun	jul	ago	Sep	oct	nov	dic
2008		x										
2009	x	x	x							x	x	x
2010	x	x	x									x
2011	x											
2012										x	x	
2013	x		x	x	x							
2014	x	x	x									
2015	x	x	x									
2016		x		x	x	x					x	x
2017	x	x	x	x								x
2018	x	x	x	x							x	x
2019	x											

**Actividad 4. Explorando las relaciones entre Alexandrium, Dinophysis y Protoceratium.****Relaciones de las especies entre localidades**

La información abarca entre octubre 2007 y febrero de 2019, usando las estimaciones de abundancia relativa de 5 taxones de dinoflagelados nocivos, *Alexandrium catenella*, *A. ostenfeldii*, *Dinophysis acuminata*, *D. acuta* y *Protoceratium reticulatum*. Este estudio fue iniciado en la etapa previa, y ahora se profundiza el entendimiento de estos antecedentes. El análisis de conglomerados permitió distinguir 19 grupos significativamente diferentes, que se distribuyen claramente en las 3 regiones administrativas en que está dividido el sistema de fiordos chilenos, Los Lagos, Aysén y Magallanes, no obstante que se distinguen grupos propios de cada región (**Figura 3.4.1, Cuadro 3.4.1**).

Cuadro 3.4.1. Síntesis de los resultados del análisis de conglomerados entre localidades aplicado a los datos mensuales de abundancia relativa de *Dinophysis acuminata* (Dam), *Protoceratium reticulatum* (Pr), *Alexandrium catenella* (Ac), *Alexandrium ostenfeldii* (Ao) y *Dinophysis acuta* (Dat) entre octubre de 2007 y febrero de 2019. GRUPO= identificación de cada grupo segregado; CS=cantidad de sitios de muestreo por grupo; SITIOS= localidades de muestreo en cada grupo; la letra que antecede el numeral de cada sitio corresponde L, Los Lagos, A, Aysén y M, Magallanes; SP=similitud promedio; Dam; Pr; Ac; Ao; Dat=contribución porcentual por taxón en cada grupo (línea superior), la mayor en negrita y subrayado, la segunda en negrita sin subrayar y en subrayado sin negrita la tercera contribución; en la línea inferior abundancia promedio por taxón para el grupo; %CA-3= porcentaje de contribución acumulado de los tres taxones con los aportes más altos.

GRUPO	CS	SITIOS	SP	Dam	Pr	Ac	Ao	Dat	%CA-3
d	9	L01,L02,L02N1,L02N2, L02N3,L02N4,L03,L03N1,L06N1	83,92	<u>79,67</u> 521,11	<u>13,18</u> 129,28	0,49 5,56	<u>6,47</u> <u>66,22</u>	0,20 8	99,32
q	14	L04,L04N3,L04N4,L05,L06, L07,L08,L09,L10N2,L11,L12, L13,L14,M22	90,15	<u>57,73</u> 269,5	<u>10,42</u> 60,64	8,30 44,68	<u>17,76</u> 92,29	5,80 31,11	85,91
r	10	L04N2,L10,L10N3,L17,L17N1, L19N1,L25,A06,A07,A08	89,44	<u>54,21</u> 346,3	<u>10,03</u> 74,05	7,79 56,6	<u>22,18</u> 144,85	5,79 58,2	86,42
s	19	L16,L16N1,L19,L19N2,L20, L20N1,L22,L22N1,L22N2,L23, L23N1,L23N2,L24,L24N1,A01, A09,A10,A11,A60	91,10	<u>46,35</u> 300,82	9,03 64,68	<u>19,53</u> 131,39	<u>18,47</u> 125,11	6,61 48,29	84,35
e	8	A02,A03,A04,A12,A24, A55,A57,A59	90,12	<u>39,22</u> 309,38	<u>15,21</u> 137,81	<u>21,64</u> 174,13	11,17 98,5	12,76 116,31	76,10
i	2	A05,A34,	95,00	<u>34,48</u> 386	<u>19,25</u> 216,75	<u>23,75</u> 258,25	11,01 124,25	11,48 133,75	77,48
j	8	A05N1,A18,A25,A33,A35, A36,A38N1,A39,	95,81	<u>31,30</u> 306,5	<u>20,30</u> 207,88	<u>25,99</u> 262,31	7,93 81,31	14,48 149,56	77,59
g	9	A13,A14,A21,A23,A30, A32,A42,A45,A51	94,36	<u>30,11</u> 361,78	<u>21,81</u> 264,22	<u>21,80</u> 283,28	7,13 90,83	19,15 232,00	73,72
f	6	A15,A16,A17,A19,A20,A22	95,93	<u>30,49</u> 414,67	<u>23,13</u> 313,5	17,27 235,83	7,49 102,58	<u>21,61</u> 235,83	75,23
h	2	A26,A29	92,16	<u>26,26</u> 239,50	<u>17,54</u> 161,00	<u>33,80</u> 313,25	9,53 87,25	12,87 126,75	77,60
k	14	A27,A28,A37,A40,A41,A43,A44, A47,A48,A49,A50,A52,A53,A54	94,76	<u>27,64</u> 316,14	<u>18,46</u> 207,86	<u>29,01</u> 326,21	7,82 90,79	17,02 193,57	75,11
o	7	M01N,M02N,M03N, M06,M07,M10,M25N	94,72	<u>31,66</u> 183,36	7,36 44,64	<u>33,00</u> 186,43	<u>17,12</u> 110,14	10,86 64,43	81,78
n	2	M04,M05	96,08	<u>33,53</u> 234,50	8,45 69,50	<u>30,13</u> 214,00	<u>15,68</u> <u>111,50</u>	12,21 90,75	79,34
m	13	M08,M09,M11,M12,M13,M14, M15,M16,M18,M20,M21,M24N	91,37	<u>37,21</u> 188,85	5,05 26,15	<u>36,67</u> 169,85	<u>12,88</u> 62,69	8,20 40,42	86,76
p	1	M23		-	-	-	-	-	-



a	4	M24,M25,M26,M27	94,79	<u>55,99</u> 194,38	<u>16,75</u> 58,59	<u>17,08</u> 64,88	9,10 32,75	1,09 5,00	89,82
c	7	M29,M39,M31,M32, M35,M36,M37	91,75	<u>41,84</u> 127,59	7,48 27,50	<u>39,00</u> 114,71	<u>11,30</u> 34,71	0,36 2,21	92,14
b	4	M33,M34,M38,M39	91,01	<u>45,53</u> 90,38	5,62 13,13	<u>33,38</u> 72,50	<u>15,39</u> 32,50	0,08 0,75	94,30
l	7	M40,M41,M42,M43,M44,M45,M46	95,49	<u>35,56</u> 152,36	1,02 5,86	<u>44,00</u> 183,50	<u>19,36</u> 80,64	0,06 0,93	96,92

La región que presentó el menor número de grupos, fue la región de Los Lagos con 4 (**d, q, r, s**), y aquella con la mayor cantidad, fue la región de Magallanes con 8 (**o, n, m, p, a, c, b, l**), mientras que en la región de Aysén se segregaron 7 (**e, i, j, g, f, h, k**). En la región de Magallanes, hubo un grupo integrado sólo por un sitio de muestreo (grupo **p**; i.e. M23 isla Ballesteros) y que en las regiones de Los Lagos y de Aysén, hubo 2 grupos que presentaron sitios de muestreo ubicados en ambas regiones, aunque con más sitios de muestreo en la primera de estas regiones (grupos **r** y **s**, con 7 y 3 y 14 y 5 sitios en Los Lagos y Aysén, respectivamente), como también el grupo **q** integrado por 14 sitios, pero uno de ellos está ubicado en la región de Magallanes (i.e. M22, estero de Las Montañas). Y 3 grupos integrados por dos sitios de muestreo (grupos **i, h, n**), los dos primeros de la región de Aysén, en tanto que el último corresponde a sitios establecidos en la región de Magallanes. El resto de los grupos segregados, estuvo integrado entre 4 y 19 sitios, siendo la región de Los Lagos la que presentó los grupos de mayor tamaño (i.e. con más sitios de muestreo).

En cuanto al grupo **p** integrado sólo por isla Ballesteros M23 (**Anexos 1-3; Figs. 3.4.2-3.4.3**), fue un sitio caracterizado por *D. acuminata*, no obstante que los otros 4 taxones estuvieron presentes, pero con escasa relevancia, según la magnitud de los estimadores de abundancia relativa y frecuencia de aparición; aspectos que difirieron de los otros grupos segregados que estuvieron caracterizados principalmente por tres de los taxones considerados y que contribuyeron entre el 73,72 y 99,32% de la similitud del grupo.

Los grupos son definidos fundamentalmente por *D. acuminata*, *A. catenella*, y *P. reticulatum*, ordenados según la magnitud de las estimaciones de abundancia relativa, siendo el primero, el que estuvo presente en todos los grupos señalados y con las estimaciones más altas. En tanto que *A. ostentfeldii* tuvo menos importancia, pero notoriamente más relevante que *D. acuta*, que sólo destacó en el grupo **f**.

Respecto de los grupos **r** y **s** que integraron sitios de muestreo de las regiones de Los Lagos y Aysén, el primero (**r**), los sitios de la primera de estas regiones, presentaron una distribución geográfica amplia dentro de esta región, la mayoría ubicados en la costa de la provincia de Palena, en tanto que aquellos de la región de Aysén, las tres localidades están ubicadas en el estero Pitipalena (Laja Brazo Pillán 1, A06; Canal, A07; Repollal, estero Las Islas, A08); los sitios de este grupo ubicados en la región de Los Lagos correspondieron a bahía Ilque, L04N2; Ayacara, L10; bahía Pumalín, L10N3; Auchemó, L17, isla Tranqui, L17N1; Yelcho, L19N1; bahía Tic Toc, L25. El otro grupo integrado por sitios de ambas regiones (**s**), es el más grande y con algunos sitio dispersos geográficamente (e.g. isla Baker, A60 en el extremo sur de la región de Aysén, sector de Tortel), aunque la cobertura geográfica de los puntos de muestreo



que conforman este grupo, representan sectores alejados, entre sí, como sitios ubicados en las cercanías de la costa sur y sureste de la isla de Chiloé (e.g. Guapiquilán, L24; San Pedro, L23; isla Acui, L16; canal Coldita, L19N2; isla Laitec, L20) y del extremo norte de la región de Aysén, al Este y Oeste del canal Moraleda (e.g. isla Virginia bahía Low, A01; Santo Domingo, A09; Añihué, A10) al Sur del golfo Corcovado (**Anexos 1-3; Figuras 1.1.1-1.1.2**).

De los otros grupos definidos para la región de Los Lagos, el grupo **d**, estuvo integrado por sitios ubicados en el estuario de Reloncaví y sector Este del seno del mismo nombre, caracterizado por *D. acuminata* y *P. reticulatum* y por la virtual ausencia de *A. catenella* y *D. acuta*; el grupo **q** de esta misma región, incluyó los sitios desde Ancud (L05) por el Oeste hasta Calbuco (L04) por el Este, y hacia el sur por la costa Este de la isla de Chiloé incluyendo Hueihue (L06), canal Caucahué (L07), canal Dalcahue (L11) además de varias islas, entre ellas Mechuque (L08), Butachauques (L09), Quehui (L12) y Talcán (L10N2, L14), además del ya señalado sitio ubicado en la provincia de Última Esperanza en la región de Magallanes, estero de Las Montañas (M22); este grupo estuvo caracterizado por *D. acuminata*, *Alexandrium ostenfeldii* y *P. reticulatum*, siendo el segundo taxón el que otorgó la diferencia, pero además *A. catenella* y *D. acuta* fueron un poco más importantes, con respecto al otro grupo segregado en el extremo septentrional del mar interior de Chiloé (grupo **d**), (Cuadro 3.4.1; **Figura 1.1.1; Anexo 1**).

En Aysén, además de los dos grupos que compartieron sitios de muestreo entre Los Lagos y Aysén (**r, s**), hubo 7 integrados solo por sitios de esta última región (**e, i, j, g, f, h, k**); y exceptuando los grupos **f, h y k**, los otros, no obstante que fueron grupos independientes, estuvieron caracterizados, o la mayor parte de la contribución al grupo, fue realizada por *D. acuminata*, *A. catenella* y *P. reticulatum*. El grupo **e** estuvo integrado por sitios ubicados en sectores distantes dentro de esta región, como el extremo norte de archipiélago de Las Guaitecas (e.g. puerto Barrientos A03), cercanía de la entrada al canal Yacaf (e.g. seno Gala, A12), y fiordo Aysén (e.g. Cinco Hermanas, A24), además de sitios en el extremo sur de esta región al sur del golfo de Penas, en Tortel (e.g. isla Scout, A57). El grupo **i**, que estuvo integrado sólo por dos sitios ubicados en el extremo norte del archipiélago de Guaitecas, pero al sur de Melinka (i.e. isla Ovalada, A05 e isla García, A34). El grupo **j**, integrado por 8 sitios, aquellos más septentrionales fueron isla Valverde (A05N1) e isla Concoto (A33) en el archipiélago de Las Guaitecas y las más meridionales, isla Jesús (A38N1) y puerto Lampazo (A39). El grupo **g**, integrado por 9 sitios desde isla Toto (A13) hasta canal Vicuña (A51). Los grupos **h y k**, fueron distintos en tamaño, el primero sólo con dos sitios de muestreo (isla Canquenes, A26 y puerto Bonito, A29), ubicados en el extremo sur del archipiélago de Los Chonos, en tanto que el otro grupo fue el más grande de la región, con 14 sitios de muestreo, ambos, no obstante que presentaron los mismos tres taxones como los más relevantes, tuvieron como especie más importante a *A. catenella*, seguida por *D. acuminata* y *P. reticulatum*, siendo la abundancia media mayor en este último grupo. En el grupo **k**, todos los sitios están ubicados también en el mismo archipiélago (e.g. estero Quitralco, A27; isla Silachu, A40, isla Castillo, A47; Tronador, A50; canal Chacabuco, A53). El grupo **f**, fue el único en que *D. acuta* aportó un 21,61% de la similitud, pero las más importantes fueron *D. acuminata* y *P. reticulatum*; este grupo estuvo integrado por 6 sitios de muestreo, todos ubicados en el canal Jacaf y fiordo Puyuhuapi (isla Manuel, A15; isla Gama Zañartu-



canal Jacaf, A16; isla Bobadilla-seno Soto, A17; seno Magdalena, A19; Faro Marta fiordo Puyuhuapi; A20 isla Andrés, A22) (Cuadro 3.4.1; **Figura 1.1.1; Anexos 1-3**).

En la región de Magallanes, se distinguieron 7 grupos, además del sitio de isla Ballesteros (M23) que segregó sola (grupo **p**); con la excepción de estero de Las Montañas (M22) que se integró al grupo **q** conformado solo por sitios ubicados en la región de Los Lagos, todos los otros sitios de Magallanes segregaron en grupos que caracterizaron sectores claramente identificables en la geografía de esta región, aunque algunos incluyeron localidades geográficamente distantes. Hubo dos grupos que estuvieron caracterizados primariamente por *A. catenella*, dado que en los otros fue *D. acuminata*, pero apareció *A. ostensfeldii*, con mayor relevancia, aspectos que no fueron observado en las otras regiones administrativas. En esta región *P. reticulatum* y *D. acuta*, tuvieron muy poca relevancia desde la perspectiva de su abundancia. El grupo **o** estuvo integrado por 7 sitios, todos ubicados en el extremo norte de la región, en la provincia de Última Esperanza, y entre ellos los dos sitios que conformaron el grupo **n** (C. Adalberto M04 y bahía Liberta, M05), ambos estuvieron caracterizados por *A. catenella*, *D. acuminata* y *A. ostensfeldii*, pero difirieron en que en el primero tuvo más relevancia *A. catenella* por su porcentaje de contribución, pero las abundancias medias fueron superiores en las tres especies que caracterizaron a ambos grupos, además que en el segundo, *D. acuminata* realizó un mayor aporte porcentual a la contribución del grupo; el grupo **m** fue el más grande de esta región con 13 sitios, también ubicados en el extremo norte de esta región, pero más al Este y también hacia el Sur hasta isla Larga (M20), y también caracterizado por estos tres taxones, aunque con más importancia que en el grupo **n**; el grupo **a** estuvo representado por 4 sitios ubicados en el seno Otway y caracterizados por *D. acuminata*, *A. catenella* y *P. reticulatum*; el grupo **c** estuvo integrado por 7 sitios, la mayoría ubicado en el estrecho de Magallanes, pero distantes entre sí (e.g. bahía Nash, M31 y bahía Agua Fresca, M37), además que uno de los sitios está en el seno Otway (i.e. Cutter Cove, M29), los taxones que caracterizaron este grupo fueron *D. acuminata*, *A. catenella* y *A. ostensfeldii*; en el grupo **b**, integrado por 4 sitios, ocurre algo similar, un par ubicados en el sector occidental del estrecho de Magallanes (e.g. bahía Bell, M33) y un par, en el sector central del estrecho (e.g. puerto Zenteno, M39), y también caracterizados por los mismos taxones y en el mismo orden de importancia que en el grupo previo; finalmente hubo 7 sitios que constituyeron un grupo claramente distinguible y todos ubicados en el canal Beagle, en el extremo sur de esta región (e.g. seno Ventisquero, M40, bahía Yendegaia, M43 y puerto Eugenia, M46), los cuales estuvieron caracterizados por *A. catenella*, *D. acuminata* y *A. ostensfeldii* (**Cuadro 3.4.1; Figura 1.1.2, Anexo 3**).

En síntesis, la segregación de los distintos grupos obedeció a la dinámica como variaron las abundancias relativas de los 5 taxones considerados, y a los niveles alcanzados por las estimaciones. El único taxón que estuvo presente en todos los grupos segregados, fue *D. acuminata*, que fue, además, el taxón que presentó las estimaciones de abundancia relativa más altas, pero no fue siempre la que contribuyó en mayor proporción a los grupos que integró. Luego, en orden de mayor a menor importancia, según las abundancias observadas durante el periodo estudiado, el escalafón fue definido por *A. catenella*, *P. reticulatum*, *A. ostensfeldii* y *D. acuta*, siendo *D. acuminata*, *A. catenella* y *P. reticulatum*, las más relevantes. Además, los grupos **d**, **q**, **r** y **f**, no presentaron a *A. catenella* entre las



tres especies más importantes, lo que también ocurrió con *P. reticulatum*, que no fue importante en los grupos **s, o, n, m, b y l**; y por otro lado, *A. ostensfeldii* fue importante en los grupos **q, r, s, o, n, m, b y l**, así como *D. acuta* sólo fue importante en el grupo **f** (**Cuadro 3.4.1**).

Relaciones de las especies entre estaciones del año

En este caso la información abarca entre octubre de 2007 y diciembre de 2018. De manera similar a lo señalado para el análisis previo, en esta etapa se profundiza el estudio a estos antecedentes. Para este período según un análisis de conglomerados fue posible distinguir 5 grupos cuyas similitudes estuvieron entre 76,49 y 80,50; con grupos que incluyeron entre 6 y 11 periodos estacionales durante el lapso analizado (grupos **e, a, d, c, b**) (**Cuadro 3.4.2; Figura 3.4.2**).

En el cuadro y en la figura se aprecian la segregación de las estaciones del año abarcando periodos anuales claramente distinguibles; así el grupo **e** estuvo integrado por veranos entre 2008 y 2012, primaveras 2007-2009, además del otoño 2012; el grupo **a**, por otoños entre 2008 y 2011 e inviernos entre 2008 y 2011; el grupo **d**, integró los inviernos entre 2012 y 2018 además del otoño de 2015; el grupo **c**, el que incluyó la mayor cantidad de periodos estacionales, incluyó primaveras, un verano y otoños, las primeras entre 2013 y 2018, la segunda, el verano de 2013, y los otoños entre 2013 y 2017, excluyendo el otoño de 2015 que segregó en el grupo **d**; y finalmente el grupo **b**, el que integró la menor cantidad de estaciones del año, estuvo conformado sólo por veranos, entre 2014 y 2018 (**Cuadro 3.4.2; Figura 3.4.2**).

Cuadro 3.4.2. Síntesis de los resultados del análisis de conglomerados entre periodos estacionales aplicado a los datos mensuales de abundancia relativa de *Dinophysis acuminata* (Dam), *Protoceratium reticulatum* (Pr), *Alexandrium catenella* (Ac), *Alexandrium ostensfeldii* (Ao) y *Dinophysis acuta* (Dat) entre octubre de 2007 y diciembre de 2018. GR-SP= identificación de cada grupo segregado y similitud promedio del grupo; EA= estaciones del año entre 2007 y 2018, primavera (P), verano (V), otoño (O) invierno (I); N°P=número de periodos estacionales por grupo; AP=abundancia promedio; SP=similitud promedio; %C= porcentaje de contribución por especie; %CA= porcentaje de contribución acumulado.

GR-SP	EA	N°P	ESPECIES	AP	SP	%C	%A
e 80,75	P07,V08,P08,P09,V09, V10,V11,V12,O12	9	Dam	673,55	33,76	41,81	41,81
			Ac	575,50	24,41	30,22	72,04
			Pr	328,68	12,2	15,10	87,14
			Dat	193,64	8,34	10,32	97,47
			Ao	105,77	2,05	2,53	100
a 76,49	O08,I08,O09,I09, O10,I10,O11,I11,	8	Dam	339,33	36,66	47,93	47,93
			Ac	238,06	23,11	30,21	78,13
			Pr	102,89	7,63	9,97	88,1
			Ao	85,00	4,65	6,07	94,18
			Dat	61,72	4,45	5,82	100
d 86,99	I12,I13,I14,O15, I15,I16,I17,I18	8	Dam	783,63	37,91	43,58	43,58
			Ao	472,31	23,51	27,02	70,61
			Ac	267,13	10,39	11,94	82,55



			Pr	228,44	9,1	10,46	93,01
			Dat	149,06	6,08	6,99	100
c 87,36	V13,O13,P13,O14, P14,P15,O16,P16, O17,P17,P18	11	Dam	1194,73	40,01	45,80	45,8
			Ac	550,73	17,02	19,49	65,29
			Ao	422,27	12,54	14,35	79,64
			Pr	343	9,28	10,62	90,26
			Dat	298,86	8,51	9,74	100
b 87,50	V14,V15,V16, V17,V18,O18	6	Dam	1546,83	32,91	37,62	37,62
			Ac	886,42	17,3	19,77	57,39
			Pr	807,58	15,75	18,00	75,39
			Dat	732,5	12,79	14,62	90
			Ao	451,58	8,75	10	100

Las diferencias observadas entre los distintos períodos para el lapso estudiado, obedecen a las magnitudes de las abundancias relativas observadas para los distintos taxones, siendo más altas en los últimos cinco años analizados (grupos **c** y **b**), lapso en que las mayores abundancias fueron aquellas de los veranos entre 2014 y 2018 incluyendo el otoño de 2018 (grupo **b**). Estas diferencias son explicadas fundamentalmente por el incremento de la abundancia de tres taxones que fueron dominantes a lo largo de todo el periodo de estudio, *D. acuminata*, *A. catenella* y *P. reticulatum*, en ese orden de importancia según sus abundancias, siendo menos importantes en este sentido, *A. ostenfeldii* y *D. acuta*, resultados que complementan aquellos obtenidos cuando estos mismos antecedentes fueron analizados entre localidades.

Estos resultados muestran dos conjuntos de periodos estacionales (grupos **e** y **a**) con sumatorias de abundancias relativas promedio más bajas, correspondientes al lapso 2007-2012 que incluye las cuatro estaciones del año, respecto de otro grupo, con sumatorias de abundancias promedio notoriamente más altas, correspondientes a primavera, verano y otoño entre 2013 y 2018, se excluye el invierno (grupo **c**), pero siendo las abundancias más altas aquellas de los veranos entre 2014 y 2018, incluyendo el otoño de 2018 (grupo **b**). Ambos periodos, de bajas y altas sumatorias de abundancias relativas promedio, están interconectados, por las abundancias observadas durante los inviernos de los años 2012-2018 (grupo **d**), pero que mostró abundancias promedio más altas que las registradas para el otoño-invierno entre 2008 y 2011 (grupo **a**) (Cuadro 3.4.3; Figura 3.4.2).

Cuadro 3.4.3. Síntesis de los resultados del análisis de conglomerados entre períodos estacionales aplicado a los datos mensuales de abundancia relativa de *Dinophysis acuminata* (Dam), *Protoceratium reticulatum* (Pr), *Alexandrium catenella* (Ac), *Alexandrium ostenfeldii* (Ao) y *Dinophysis acuta* (Dat) entre octubre de 2007 y diciembre de 2018. Grupos segregados y abundancia promedio de cada taxón, incluyendo rango de mayor a menor, por grupo; P: primavera, V: verano, O: otoño, I: invierno, entre 2007 y 2018; SR= sumatoria de rangos por especies entre grupos según abundancias promedio. ET= escalafón de taxones según sumatoria de rangos de las abundancias por especies entre grupos. Grafica muestra las sumatorias de las abundancias promedio por grupo.



especie		grupo e		grupo a		grupo d		grupo c		grupo b	SR	ET
Dam	1	673,55	1	339,33	1	783,63	1	1194,73	1	1546,83	5	1
Ac	2	575,5	2	238,06	3	267,13	2	550,73	2	886,42	11	2
Pr	3	328,68	3	102,89	4	228,44	3	343,00	3	807,58	16	3
Ao	5	105,77	4	85,00	2	472,31	4	422,27	5	451,58	20	4
Dat	4	193,64	5	61,72	5	149,06	5	298,86	4	732,50	23	5
PERIODOS DEL AÑO		P07,V08,P08, V09,P09,V10, V11,V12,O12		O08,I08,O09, I09,O10,I10, O11,I11,		I12,I13,I14, O15,I15,I16, I17,I18		V13,O13,P13, O14,P14,P15, O16,P16,O17, P17,P18		V14,V15,V16, V17,V18,O18		



Relaciones de las especies con la temperatura y salinidad

Para el período octubre 2007 – febrero de 2019 se evaluaron las relaciones entre las estimaciones mensuales de la abundancia relativa de los cinco taxones nocivos con la temperatura y salinidad del agua de mar, a 5 m de profundidad, usando gráficos de dispersión y el coeficiente de correlación de Pearson.

Los resultados se presentan en el cuadro 3.4.4. y **figura 3.4.3**. En los gráficos de dispersión se aprecian tendencias más concretas con la temperatura, dado que con la salinidad las nubes de puntos reflejan ausencia o una muy baja correlación con las estimaciones de las abundancias relativas, como es el caso de *A. ostenfeldii*. Para la temperatura se aprecian covariaciones entre ambas variables abarcando todo el conjunto de datos trabajado, como ocurre con *D. acuminata*, en tanto que en los otros taxones se aprecia una estabilización de la relación luego de una covariación positiva entre ambas variables, como ocurre para *A. ostenfeldii*, *D. acuta* y *P. reticulatum*, y en menor grado para *A. catenella*. Ello se refleja en el valor tomado por el coeficiente de Pearson, que con la excepción de *A. catenella* que no presentó una correlación significativa, los otros cuatro taxones, *A. ostenfeldii*, *D. acuminata*, *D. acuta* y *P. reticulatum*, presentaron relaciones significativas que variaron entre 0,30727 y 0,82226, siendo las correlaciones más alta y más baja aquellas observadas con *D. acuminata* y *D. acuta*, respectivamente. Aquella con *D. acuminata* es una estimación muy alta para datos de esta naturaleza (i.e.0,82226).

Cuadro 3.4.4. Resultados de las correlaciones de las sumatorias de las estimaciones de abundancia relativa para cada taxón con la temperatura y salinidad del agua de mar entre octubre de 2007 y diciembre de 2018. *Alexandrium catenella* (Ac), *Alexandrium ostenfeldii* (Ao), *Dinophysis acuminata* (Dam), *Dinophysis acuta* (Dat) y *Protoceratium reticulatum* (Pr), n= 146

	Ac	Ao	Dam	Dat	Pr
Temperatura (°C)	-0,067694	0,48212	0,82226	0,30727	0,51385
Salinidad (PSU)	-0,13807	0,30936	-0,17107	-0,23867	-0,19497



Actividad 5. Comparación de la densidad celular entre el estrato superior (0-10 metros) y el profundo (10-20 metros) a escala temporal y espacial.

Correlaciones entre ambos estratos para la abundancia del fitoplancton total.

En la **figura 3.5.1a -b** se muestran las abundancias totales (cel L⁻¹) para el periodo comprendido entre el año 2007 al 2019 por cada estación de muestreo de la región de Los Lagos para los grupos de diatomeas y dinoflagelados para ambos estratos. En el caso de las diatomeas podemos observar un claro patrón de disminución en las abundancias de norte a sur, con una marcada diferencia en cuanto a las abundancias entre el estrato superficial y el profundo en la zona de Los Lagos norte, diferencia que va disminuyendo a medida que bajamos hacia el sur. Esto lo podemos apreciar en la **figura 3.5.4**, donde se realizaron correlaciones para ver si existen diferencias entre los dos estratos para las tres zonas de la región de Los Lagos. La **figura 3.5.4a** nos muestra que existe una correlación media entre los dos estratos de la zona de Los Lagos Norte ($r=0.59$; $p=0.01$). Esta correlación aumenta a medida que bajamos en latitud ya que para las otras dos zonas (Los Lagos centro y sur) se encontraron correlaciones altas en las abundancias de los dos estratos (**figura 3.5.4c-e**) las cuales fueron ambas estadísticamente significativas ($r=0.89$; $p<0.0001$ y $r=0.91$; $p<0.0001$ respectivamente). Al observar los datos de abundancia de la región de Aysén (**figura 3.5.2**) se puede observar una clara diferencia entre las abundancias totales de diatomeas entre los dos estratos, siendo mayores en el estrato superior. Esto se puede observar claramente en la zona norte de Aysén, diferencias que van disminuyendo en la zona sur. Si observamos la **figura 3.5.5a** corrobora lo antes dicho para la zona norte de Aysén, encontrándose una baja correlación entre las abundancias de ambos estratos ($r=0.49$; $p=0.004$). Esto cambia en la zona sur de Aysén donde se encontró un buen ajuste entre los dos estratos ($r=0.88$; $p<0.001$), al igual que en la zona de Tortel en la cual el ajuste entre ambas capas es alto, la diferencia con la zona anterior es que este ajuste no es significativo ($r=0.75$; $p=0.13$) (**figura 3.5.5c, e**). Por último, la región de Magallanes fue la que presentó los datos más homogéneos relativo a las abundancias totales entre los dos estratos (**figura 3.5.3**), observándose abundancias similares, además de no presentar grandes variaciones entre las tres zonas de la región. Sin embargo, al hacer los análisis encontramos que en la zona de Magallanes sur (**figura 3.5.6e**), no existe correlación entre los datos de abundancia de ambos estratos ($r=0.0006$; $p=0.99$). Caso contrario ocurre con los datos de la zona centro donde se encontró una alta correlación entre estratos (**figura 3.5.6c**), al igual que en la zona norte de Magallanes ($r=0.89$; $p<0.001$ y 0.60 ; $p=0.004$ respectivamente).

Otro resultado interesante que podemos observar es que las abundancias de diatomeas (en especial en el estrato superior) en la región de Los Lagos son un orden de magnitud más altas que en las regiones de Aysén y Magallanes, principalmente en la zona de Los Lagos norte y más específicamente en las estaciones ubicadas a lo largo del fiordo Reloncaví.

En cuanto a la abundancia de dinoflagelados, se observan patrones similares a los encontrados en diatomeas (**figura 3.5.1**), con abundancias más altas en la zona norte de la región y en el estrato



superior. Con respecto a este punto y también para el análisis de las siguientes regiones hay que aclarar que en cuanto a las abundancias entre diatomeas y dinoflagelados hay diferencias de un orden de magnitud e incluso dos órdenes en algunos casos más bajos de dinoflagelados en relación a las diatomeas. Sin embargo, en cuanto a las abundancias entre ambas capas se observa una diferencia muy grande entre ambos estratos en los valores muy superiores en la capa superficial, sobre todo en los sectores de Los Lagos norte y sur, siendo la zona de Los Lagos centro la que presenta los datos más similares entre ambas capas.

Esto se comprueba al hacer los análisis de correlaciones entre estratos, donde encontramos que en dos de las tres zonas de la región no existe una correlación entre ambas capas, precisamente en la zona norte de la región ($r=0.03$; $p=0.89$) y la zona de Los Lagos sur ($r=0.001$; $p=0.96$) (**figura 3.5.4b, f**). Solo en la zona centro se encontró un ajuste medio entre capas ($r=0.56$), ajuste que es estadísticamente significativo.

Un panorama totalmente distinto nos encontramos en la región de Aysén, donde podemos observar que las abundancias más altas de dinoflagelados se encuentran en la capa subsuperficial (10-20 m). Esto se ve acrecentado en un grupo de estaciones las cuales se encuentran ubicadas dentro y en las cercanías del fiordo Puyuhuapi y canal Jacaf.

Esta región no presenta un patrón claro en cuanto a las abundancias, pudiendo encontrar sectores dentro de una misma zona con los valores más bajos dentro de la región y otros sectores con los valores de abundancias más altos de todas las estaciones de muestreo. Si vemos esto en un análisis entre ambas capas nos encontramos que no existe una correlación entre estas en la zona norte de Aysén (**Fig. 3.5.5b**), mientras que en la zona de Aysén sur encontramos un alto ajuste entre capas ($r=0.79$; $p<0.001$). Por otro lado, la zona de Tortel, presenta una correlación media entre los dos estratos ($r=0.56$) sin embargo no es significativa ($p=0.32$), incluso podemos observar que tiene una pendiente negativa. Esto puede deberse a que es la única zona que presenta un patrón distinto a las otras dos, donde la abundancia es mayor en la capa superior.

Por último, la región de Magallanes presenta las abundancias más altas en las estaciones ubicadas en la zona norte (**Fig. 3.5.6b**), disminuyendo de forma considerable en los sectores centro y sur. Si bien al observar los gráficos de abundancias se observan las mayores diferencias en las estaciones ubicadas en el sector norte, al hacer una regresión se puede comprobar que la correlación más alta entre estratos se ubica también en esta zona ($r=0.88$; $p<0.001$), mientras que en las zonas centro y sur de Magallanes no encontramos relaciones entre capas (**Figs. 3.5.6d, f**).

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 (de un total de más de 300 especies) representan más del 50% 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 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) (**Tabla 3.5.1**), esto se corrobora cuando observamos la contribución de especies al total de diatomeas (**Figs. 3.5.7a,b**), donde las dos especies que predominan son *Skeletonema* spp., *Amphora* sp.2 y *Pseudo-nitzschia* spp., sumando entre las tres más del 60% de la contribución al total de diatomeas en la zona de Los Lagos norte. 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) (**Tabla 3.5.2**). Para la zona centro los resultados son bastante similares, repitiéndose en patrón anterior, no encontrándose diferencias significativas entre ambos estratos en cuanto a la abundancia de diatomeas se refiere (ANOVA; df: 1, p: 0.24) (**Tabla 3.5.1**), mientras que la composición de especies estuvo marcada por una dominancia de la especie *Pseudo-nitzschia* spp. y *Pseudo-nitzschia* cf. *pseudodelicatissima* (**Figs. 3.5.7c, 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) (**Tabla 3.5.2**). En cuanto a la zona de Los Lagos sur nuevamente no se encontraron diferencias significativas entre ambos estratos en la abundancia por especies, sin embargo podemos observar que es la única zona de la región de Los Lagos donde no encontramos a ninguno de los géneros de *Pseudo-nitzschia* como los dominantes del ensamble (figura Xe, f), sin embargo al igual que en las otras zonas la diversidad de especies es baja, donde 5 especies son las que se llevan más del 60% de la contribución del ensamble.

Para la región de Aysén se vuelven a repetir los mismos patrones encontrados en la región de Los Lagos y en especial vuelven a predominar las mismas especies que encontramos en las zonas de Los Lagos norte y centro: Para zona norte de Aysén no observamos diferencias significativas entre ambos estratos en cuanto a la abundancia de las especies de diatomeas (ANOVA; df: 1, p: 0.74) (**Tabla 3.5.1**). En cuanto a la contribución de especies al total de diatomeas se observa una alta dominancia de las especies *Pseudo-nitzschia* cf. *pseudodelicatissima*, *Skeletonema* spp. y *Amphora* sp.2 las cuales, en ambos estratos, representan más del 50% del total de diatomeas (**Figs. 3.5.8. 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) (**Tabla 3.5.2**). Con respecto a la zona de Aysén sur al igual que zona anterior la dominancia en el grupo de diatomeas (índice Simpson $D' = 0.85$ para el estrato superficial y $D' = 0.88$ para el estrato subsuperficial) (**Tabla 3.5.2**), estuvo dominada por las especies *Pseudo-nitzschia* cf. *pseudodelicatissima*, *Skeletonema* spp. y *Amphora* sp.2 contribuyendo con más del 50% del total (**Figs. 3.5.8a, b**). Tampoco se encontraron diferencias significativas en la abundancia entre los dos estratos (ANOVA; df: 1, p: 0.99) (**Tabla 3.5.1**) La zona de Tortel presenta valores similares con las mismas tres especies dominando el ensamble de fitoplancton representando entre las 3 más del 50% de la abundancia total del ensamble.



Por último, en la región de Magallanes no se encontraron diferencias significativas en las abundancias de diatomeas para la zona norte (ANOVA; df: 1, p: 0.84) (**Tabla 3.5.1**), zona centro (ANOVA; df: 1, p: 0.39) (**Tabla 3.5.1**). La zona sur es la única que presenta una diferencia significativa con respecto al estrato superior y zona sur (ANOVA; df: 1, p: 0.82). Si bien la composición de especies dominantes difiere entre las zonas, la dominancia está dada siempre solo por tres especies que dominan ampliamente sobre el resto. En el caso de la región de Magallanes, el ensamble de diatomeas estuvo dominado por las especies, *Chaetoceros socialis*, *Leptocylindrus minimus*, *Pseudo-nitzschia cf. pseudodelicatissima* y *Chaetoceros debilis*. En todas las zonas se vuelven a observar altos índices de dominancia y baja diversidad (**Tabla 3.5.2**).

En cuanto a los dinoflagelados, tampoco se encontraron diferencias significativas para las abundancias entre las especies de ambos estratos para ninguna de las zonas en las tres regiones. Siguen destacando la alta dominancia de especies y la baja diversidad de estas en todos los sectores, sin embargo, cabe destacar algunos aspectos referidos a la contribución de las distintas especies al ensamble fitoplanctónico.

Si bien no se encontraron diferencias de las abundancias de especies por estratos, hay tres aspectos que encontramos relevantes y es necesario darlos a conocer. El primero es la alta dominancia de una especie que encontramos por cada uno de los sectores y regiones. Así en la región, el grupo de dinoflagelados atecados indeterminados (grupo de pequeños dinoflagelados que no se pudieron clasificar a un nivel taxonómico más alto) representan más del 50% del total del ensamble seguido de *Tripos pentagonus* que contribuye con cerca del 20%, por lo tanto, dos especies de dinoflagelados representan más del 70% de la abundancia de todas las especies de dinoflagelados.

Este caso se hace más extremo en la región de Aysén, y es por eso que nuestro segundo punto es la extrema dominancia de *Tripos pentagonus* en esta región y su gran contribución en las otras regiones. Ya hablamos que en la región de Los Lagos representa entre el 20 y 40% del total fitoplanctónico en ambos estratos y en la región de Magallanes entre el 10 y el 25% del total. Sin embargo, en la zona de Aysén (para los dos estratos y para las tres zonas), esta especie representa entre el 65 y el 90% del total de todo el ensamble de fitoplancton (**Figs. 3.5.10 -3.5.12**). El tercer y último aspecto a considerar es la aparición de *Alexandrium catenella* dentro de las 5 especies de mayor contribución tanto en la región de Aysén como en Magallanes. Si bien no es una contribución alta en la mayoría de los casos (debido a la alta dominancia de *T. pentagonus*), si sorprende que esta especie se posicione dentro de las más importantes. Esto cobra mayor relevancia si observamos que en el caso de Magallanes norte su porcentaje de contribución (en ambos estratos) es más del 20%.

Si bien los resultados indican que no hay diferencias significativas entre las abundancias de ambos estratos en las tres regiones administrativas hay que tomar en cuenta que este es el primer análisis exploratorio (bastante general) para ver si existen diferencias entre los estratos superficial y subsuperficial que se muestrean en el Programa de Monitoreo de Mareas Rojas, utilizando solo



promedios anuales de la abundancia tanto para el total de diatomeas y dinoflagelados por cada estación de muestreo, como para la abundancia de cada especie por región, por lo que mucha de la variabilidad que existe entre especies (tanto espacial como temporal) puede estar siendo enmascarada dentro del análisis, por lo que no se pudo sacar una conclusión anticipada sin realizar otro tipo de análisis más finos. Sin embargo, estos análisis exploratorios nos sirven para tener una primera impresión de lo que sucede entre estos dos estratos de agua en los fiordos y canales del sur de Chile en cuanto a la abundancia y composición de especies. Es interesante destacar la dominancia de especies en las tres regiones, donde una o dos especies tanto de diatomeas como de dinoflagelados concentra la mayor parte de la abundancia del ensamble total, especies como *Skeletonema* spp. o *Pseudo-nitzschia* cf. *pseudodelicatissima* presentes en las tres regiones y el dinoflagelado *Heterocapsa triquetra* en las regiones de Aysén y Magallanes concentran gran parte de la abundancia total de ambos grupos.

Actividad 6. Exploración de datos satelitales.

La batimetría del área de estudio es mostrada en la **Figura 3.6.1**. Entre 41° - 45°S, el Mar Interior de Chiloé (MIC) está subdividido en 2 sectores por el cordón de islas Desertores. En términos generales, el sector norte es más profundo que el sector sur. El sector norte está compuesto por 2 cuencas (Seno Reloncaví y Golfo de Ancud) de ~330 m de profundidad, y el Canal de Chacao (~30 m de profundidad) que comunica al MIC con las aguas oceánicas. El sector sur, está compuesto por el Golfo Corcovado y la Boca del Guafo. El Golfo Corcovado presenta profundidades que oscilan ~100 a 150 m de profundidad con la presencia de 2 “sill/picos” cercanos entre sí, que tienen sus cimas ~30 m antes de la superficie, La Boca del Guafo es más profunda (~230 m de profundidad) y la conexión principal entre el océano y el MIC, en su sector oeste se encuentra la isla Guafo. Por otra parte, la Isla Grande de Chiloé, tiene una plataforma estrecha con una profundidad promedio de ~25 m. La zona oeste de Chiloé tiene un talud con pendiente suave que va incrementando gradualmente la profundidad, hasta alcanzar los 500 m a ~50-70 km de la costa.

Imágenes diarias de clorofila-a satelital (clo-a) entre enero 2006 y junio 2019 (13,5 años), con una resolución de 4 km, fueron utilizadas para la caracterización espacial y temporal de clo-a en el área de estudio. El campo promedio de clo-a para todo el periodo de estudio es presentada en la **Figura 3.6.2**, y los campos promedio por año, son mostrados en la **Figura 3.6.3**. En términos generales, para todos los años se observa una mayor concentración de clo-a en el sector norte del MIC, en la costa oeste de la región de Los Lagos, y en el canal Moraleda. En la variabilidad interanual, los contornos de clo-a (entre 2-3 mg m⁻³) muestran una clara conectividad entre el Canal Moraleda y el sur de la isla de Chiloé durante los años 2013, 2014, 2016 y el primer semestre de 2019, sugiriendo una propagación de los campos de clo-a con dirección sur – norte.

El promedio estacional para cada año de estudio es presentado en la **Figura 3.6.4**. Para todos los años el ciclo anual es marcado con mayores valores en primavera – verano, y menores en otoño – invierno. En términos espaciales, a lo largo del año, las mayores concentraciones se ubican en el sector norte



del MIC, en la costa oeste de la región de Los Lagos, y en el canal Moraleda. La conectividad entre el Canal Moraleda y la isla de Chiloé observada anteriormente en los promedios anuales se presenta principalmente en los periodos de primavera – verano, donde se observa una extensión/propagación hacia el norte de los campos de clo-a a través de la costa oceánica de la isla Grande de Chiloé.

Objetivo Específico 4:

Incorporar el desarrollo, implementación y utilización de nuevas técnicas de detección de microalgas y de biotoxinas, así como mantener en cultivo especies nocivas chilenas que permitan avanzar el conocimiento y comprensión de los eventos nocivos.

Actividad 1: Identificación molecular en especies de microalgas nocivas.

PCR cuantitativa (qPCR)

Hasta el momento se han desarrollado marcadores moleculares para la identificación mediante PCR en tiempo real (qPCR) correspondientes al gen 28S, para las especies *Alexandrium catenella*, *Alexandrium ostenfeldii* y *Protoceratium reticulatum*, los cuales se han testeado en muestras provenientes del sub programa vigilancia. La detección mediante qPCR se detalla en la **Figura 4.1.1** para las especies *Alexandrium catenella*, *Alexandrium ostenfeldii* y *Protoceratium reticulatum*, y respectivamente basándose el número de copias del gen ribosomal para cada estación analizada expresados en valor de tasa de cambio o fold change. Los ensayos realizados usando los marcadores para la especie *A. catenella* muestran altos niveles de sensibilidad en la detección de esta especie ya que en la mayoría de los casos se detecta incluso cuando no se reporta la presencia mediante análisis de microscopia. Los mayores niveles de detección se reportan entre los cruceros 11 al 20. Considerando todas las muestras analizadas el porcentaje de efectividad de los marcadores para *A. catenella* es del 62% (**Figura 4.1.1a**). Para *A. ostenfeldii* la detección mediante qPCR muestra mayores niveles de detección en comparación a *A. catenella*, no evidenciando diferencias significativas durante el transcurso de los cruceros analizados. Para esta especie la eficiencia es menor debido a al alto número de falsos positivos y negativos identificados mediante qPCR, alcanzando una eficiencia del 54% (**Figura 4.1.1b**). En *P. reticulatum* los ensayos de qPCR detectaron a esta especie en la mayoría de las estaciones donde la microscopia la detectaba, sin embargo, un bajo porcentaje de falsos positivos se evidencia principalmente en los cruceros del 5 al 11, generando un porcentaje de eficiencia del 79%, el cual es mayor en comparación a *A. catenella* y *A. ostenfeldii* (**Figura 4.1.1c**)

Metabarcoding

El número total de *reads* obtenidos en la secuenciación fue de 12,582,832. Después de los análisis bioinformáticas se detectaron un total de 3,444 ASVs los cuales fueron representados por 4,673,336 secuencias. Se logró la identificación de 406 especies para los supergrupos taxonómicos Alveolata, Amoebozoa, Apusozoa, Archaeplastida, Hacrobia, Rhizaria, Stramenopiles (**Anexo 5**). En términos de abundancia relativa, basándose en el número de lecturas, las divisiones Orchrophyta y Dinoflagellata



fueron los más abundantes para todas las estaciones. Dentro de estas divisiones el mayor número de especies detectadas se agrupan en las clases *Dinophyceae* y *Bacillariophyta*, siendo esta última la que muestra mayor número de especies para todas las estaciones.

La riqueza de especies para la clase *Dinophyceae* (**Figura 4.1.2**) muestra los mayores niveles de variación en las estaciones ubicadas en el área de Chiloé sur y Aysén norte las cuales variaron entre 15 a 60 especies observadas. Niveles más bajos de variación fueron reportadas en las estaciones ubicadas en Reloncaví, Aysén sur y Magallanes. Las abundancias relativas (**Figura 4.1.3**) de los géneros de esta clase fueron dominadas por *Gyrodinium*, *Dinophysis*, *Alexandrium*, *Tripos* y *Protoceratium*. A nivel de área geográfica las regiones de Chiloé sur, Aysén norte y Magallanes registraron los niveles de abundancia más elevados y particularmente los géneros *Tripos* y *Protoceratium* muestra mayores abundancias en el área de Chiloé sur y Aysén norte, mientras que para el resto de las áreas geográficas los géneros dominantes fueron *Dinophysis* y *Gyrodinium*.

La riqueza de especies en la clase *Bacillariophyta* (**Figura 4.1.4**) muestra alta variación en la mayoría de las estaciones analizadas donde las variaciones más elevadas se observan en el área de Aysén norte, estaciones puntuales como L02N1, L22, L24 y A20N1 registraron las menores variaciones. Las abundancias relativas evidencian una dominancia de los géneros *Thalassiosira*, *Chaetoceros* y *Skeletonema*, los cuales al igual que en la clase *Dinophyceae*, registran mayores abundancias en el área de Chiloé sur y Aysén norte (**Figura 4.1.5**).

Actividad 2. Distribución anual de toxinas mediante LC-Masas y LC-Fl y su asociación con microalgas que las producen identificadas mediante microscopía electrónica.

En las **tablas 4.2.1, 4.2.2 y 4.2.3** se presentan los resultados de TML en las primeras muestras de agua que se tomaron desde las regiones de los Lagos, Aysén y Magallanes, respectivamente.

En la región de los Lagos (**tabla 4.4.1**) en gran cantidad de muestras se detecta la presencia de PTX2 (desde < LC a 3 ng/L), YTX (desde < LC a 10 ng/L) y DA (desde < LC a 735 ng/L). En la tabla se incluyen las toxinas lipofílicas que en alguna muestra (de agua o mariscos) dio positiva, pero se analizaron todas las otras que se detallaron en el procedimiento. En la región de Aysén (**Tabla 4.2.2**) sucede algo similar, detectando la presencia de las mismas toxinas que en la región de Los Lagos, y con niveles dentro del mismo orden de magnitud. A diferencia de las otras dos regiones, en la región de Magallanes (**Tabla 4.2.3**) no se detecta YTX y muy pocas muestras positivas a DA, pero se detecta la presencia de SPX1 en algunas muestras en niveles muy bajos (< LC). En las **tablas 4.2.4, 4.2.5 y 4.2.6** se presentan los resultados de Toxinas Paralizantes de las mismas muestras de agua. A diferencia de las toxinas lipofílicas, todas las muestras son ND en la región de Los Lagos (**Tabla 4.2.4**) y de Aysén (**Tabla 4.2.5**). En la región de Magallanes (**Tabla 4.2.6**) solamente se detectó la presencia de GTX2 en el crucero 11 (seno Ventisquero y Puerto Eugenia) y de GTX1 en el crucero 11 (Puerto Eugenia).



Actividad 3. Estudio de biotoxinas en tejido de mariscos.

Toxinas Lipofílicas y Amnésica.

En las **tablas 4.3.1, 4.3.2 y 4.3.3** se presentan los resultados de TML realizados en el laboratorio del CREAN en las primeras muestras de mariscos que se tomaron desde las regiones de los Lagos, de Aysén y de Magallanes, respectivamente. En las tablas se incluyen los resultados de Toxina Diarreica de los Mariscos (TDM) y Toxina Amnésica de los Mariscos (TAM) realizados para estas muestras por el Servicio de Salud.

Las tres regiones presentan resultados Negativos para TDM, y No Detectado (ND) para TAM. En la región de Los Lagos (**Tabla 4.3.1**) se demuestra la presencia de AZA2 (< LC en Guapiquilán, cruceros 7, 8 y 10) y de AD en algunas muestras (niveles hasta 235 ng/g).

En la región de Aysén (**Tabla 4.3.2**) se presentan algunos resultados positivos para AD con niveles muy bajos (desde < LC a 306 ng/g). Además, se detectó en algunas muestras de mariscos, la presencia en bajos niveles de YTX (hasta 623 ng/g) y de AZA2 (< LC, en el crucero 11 de isla Ovalada e isla Ipún).

En La región de Magallanes (**Tabla 4.3.3**) se detecta la presencia de AO (45 ng/g, canal Adalberto, crucero 11), PTX2 (< LC, en todas las muestras), YTX (125 ng/g, canal Adalberto, crucero 11), SPX1 (desde < LC a 17 ng/g) y de un posible espirólido (no se ha determinado su identidad, niveles desde < LC a 24 ng/g).

Toxinas Paralizantes

En las **tablas 4.3.4, 4.3.5 y 4.3.6** se presentan los resultados de Toxinas Paralizantes de los Mariscos (TPM) realizados en el laboratorio del CREAN. Estas muestras corresponden a las primeras muestras de mariscos de las regiones de los Lagos, Aysén y Magallanes, respectivamente. En las tablas se incluyen los resultados de TPM realizados para estas muestras por el Servicio de Salud.

En la región de Los Lagos (**Tabla 4.3.4**) por HPLC-Ms se detectó la presencia de Gonyautoxina 2 (GTX2) y Saxitoxina (SXT) en tres muestras de Guapiquilán (cruceros 7, 8 y 9, con niveles máximos de 44 µg de SXT equivalentes/100 gr de tejido).

En la región de Aysén (**Tabla 4.3.5**) se presentan los resultados de TPM, la mayoría son positivos, (niveles desde 34 a 146 µg SXT equivalentes/100 gr de tejido). Por HPLC-Ms se detectó la presencia de Gonyautoxina 1 y 2 (GTX 1, 2), y Saxitoxina (SXT) en las mismas muestras (niveles desde 26 a 68 µg SXT equivalentes/100 gr de tejido). Además, se detectó GTX2 en niveles muy bajos en isla Ipun (3 µg SXT equivalentes/100 gr de tejido).

En la región de Magallanes (**Tabla 4.3.6**) se detectaron tres muestras positivas (niveles desde 33 a 44 µg SXT equivalentes/100 gr de tejido). En las mismas muestras se detecta GTX2 y SXT por HPLC-Ms



(niveles desde 38 a 71 μg SXT equivalentes/100 gr de tejido). Además, se detectó la presencia de SXT en dos muestras (29 y 35 μg SXT equivalentes/100 gr de tejido).

Actividad 4. Implementación de nuevas herramientas analíticas in vitro con el fin de ampliar conocimiento de la taxonomía, distribución biogeográfica, sus biotoxinas y su respuesta eco-fisiológica frente a variables ambientales, de las principales especies de microalgas tóxicas.

Filogenia de *Heterosigma akashiwo*

Tanto el análisis de máxima verosimilitud como el análisis filogenético bayesiano mostraron que la secuencia CREAM_HA03 obtenida en este estudio se agregó en un clado monofilético que comprendía solo a secuencias de *Heterosigma akashiwo* (Figura 4.4.1).

Perfil de pigmentos de *H. akashiwo*

El análisis de pigmento por HPLC de un cultivo autotrófico de *H. akashiwo* (CREAM_HA03) cultivado con una luz de 100 $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ demostró que la fucoxantina (48,4%) es el pigmento principal. La clorofila-a solo correspondió a un 14,7% con clorofila c2 (18,3%) y c1 (2,7%) como pigmentos accesorios de clorofila (Figura 4.4.2). Otros carotenoides del ciclo de las xantofilas, como la violaxantina (9,8%), anteraxantina (3,8%) y zeaxantina (2,2%), solo se presentaron en bajas concentraciones.

Composición de ácidos grasos

El perfil de ácido graso de la cepa CREAM_HA03 estuvo dominado por el ácido graso saturado (SFA) seguido por el ácido graso poliinsaturado (PUFA) y de ácido graso monoinsaturado (MUFA). Los principales ácidos grasos en orden decreciente de abundancia fueron ácido palmítico (16: 0), 20,94 $\pm$ 0,14%, eicosapentanoico (20:5w3) 13,04 $\pm$ 0,15%, y octadecatetraenoico (18: 4w3) 10,44 $\pm$ 0,13% (Tabla 4.4.1).

Actividad 5. Efectos de estresores múltiples sobre tasas ecofisiológicas y toxicidad del dinoflagelado nocivo *Alexandrium catenella*.

Se entregan resultados preliminares sobre los parámetros de crecimiento y abundancia celular de las cepas ACPU (Aysén) y M41 (Magallanes). Si bien nuestro diseño experimental está basado en la combinación de diferentes parámetros aún estamos en búsqueda de un modelo que se ajuste a nuestro diseño para poder ver la influencia de cada uno de los parámetros sobre las distintas cepas, por lo que el análisis se hará para cada variable por separado.



Parámetros de crecimiento.

Temperatura

Los resultados para las tasas de crecimiento se muestran la **figura 4.5.2**. Los análisis nos muestran que tanto para la cepa ACPU y M11 las mayores tasas de crecimiento específico fueron obtenidas en el tratamiento con la temperatura más baja (12°C) alcanzando rangos máximos entre $0,40 - 0,60 \text{ d}^{-1}$, siendo la cepa M11 la que tiene una mayor tasa de crecimiento. Por otro lado, las tasas de crecimiento más bajas para ambas cepas fueron obtenidas en el tratamiento con la temperatura más alta (17°C), siendo en este caso al igual que el anterior, la cepa de Magallanes la que obtuvo las menores tasas de crecimiento. El tratamiento de 15°C no muestra diferencias entre las tasas de crecimiento de ambas cepas. Si bien existen diferencias en las tasas entre ambas cepas y entre tratamientos, estas no fueron significativas (**Tabla 4.5.1**), sin embargo, la obtención de las tasas más altas y además las más bajas nos indica que la temperatura sigue siendo el parámetro que más afecta las tasas fisiológicas en el caso de las dos cepas.

Luz

Dentro de este set de experimentos podemos observar que las tasas de crecimiento más bajas se encontraron en el tratamiento con la menor intensidad lumínica ($50 \mu\text{E}$) con rangos que van entre $0.16 - 0.42 \text{ d}^{-1}$. Sin embargo, podemos observar que dentro de este rango la cepa M41 tiene una mayor tasa de crecimiento que la cepa ACPU, diferencia que fue significativa entre cepas. Las tasas más altas se obtuvieron en el tratamiento con una mayor intensidad lumínica (**Fig. 4.5.2**), no encontrándose diferencias significativas entre ambas cepas ($p=0.52$), sin embargo, siguen siendo más bajas que las reportadas para el tratamiento con menor temperatura (12°C). Por otro lado, el tratamiento con intensidad media (estándar) de luz sigue siendo la que presenta la menor variación entre cepas y entre valores de tasas de crecimiento.

Nutrientes

A pesar que se podría esperar que una disminución drástica en los nutrientes podrían ser un factor en las tasas de crecimiento, nuestros resultados muestran que para ambas cepas no es un factor determinante. Si bien las tasas fueron más bajas en los tratamientos con una menor carga de nutrientes, no se observan diferencias, pero lo que sí se puede observar es una leve tendencia a un aumento en las tasas en los tratamientos con una carga media de nutrientes ($2.2 \mu\text{M}$).

Salinidad

Al igual que los resultados interpretados para los nutrientes, no se ve una clara influencia de esta variable sobre las tasas de crecimiento. Sin embargo, en gran parte de los casos la salinidad de 25 psu



fue la que obtuvo una mejor tasa de crecimiento en ambas cepas. Sin embargo, esta tendencia es un poco más marcada en la cepa de Aysén mientras que la de Magallanes es menor.

En resumen, las mayores tasas de crecimiento para la cepa de Aysén (0.62 d^{-1}), fueron obtenidas con los siguientes parámetros: 12°C , 35 psu, $8,8 \mu\text{M}$ y $100 \mu\text{E}$ de luz, mientras que las tasas más bajas para esta cepa fue de 0.16 d^{-1} y fueron obtenidas con los siguientes parámetros 15°C , 15 psu, $4.4 \mu\text{M}$ y $50 \mu\text{E}$.

En cuanto a la cepa de Magallanes, las tasas más altas fueron obtenidas en dos tratamientos, el primero con los siguientes parámetros; 12°C , 25 psu, $2.2 \mu\text{M}$ y $100 \mu\text{E}$, y el segundo con los mismos parámetros solo variando en la intensidad de luz ($50 \mu\text{E}$).

Curvas de Crecimiento

Si bien las tasas de crecimiento nos pueden indicar un parámetro de cuánto puede crecer una población diariamente o el número de divisiones por día que puede tener cierta especie, lo cierto es que esta tasa es solo un número si no se puede asociar o relacionar con las curvas de crecimiento de cada una. De hecho, la tasa de crecimiento está relacionada directamente con la fase exponencial que se obtiene de una curva de crecimiento.

En el caso de este estudio solo haremos un repaso superficial de los distintos tratamientos y a diferencia de las tasas de crecimiento solo analizaremos brevemente las curvas de crecimiento en sus 5 tratamientos en general.

La figura **figura 4.5.3** nos muestra las curvas de crecimiento de ambas cepas donde tenemos constante la temperatura (12°C) y la intensidad lumínica ($100 \mu\text{E}$) donde encontramos las abundancias más altas en la cepa de Aysén con abundancias máximas de cerca de $25000 \text{ cels mL}^{-1}$ con el nivel máximo de nutrientes y a 25 psu de salinidad, estas abundancias fueron altas también en los tratamientos con menos carga de nutrientes, lo que indica que la cepa de Aysén puede tener algún tipo de preferencia por la salinidad de 25 psu. Las abundancias de la cepa de Magallanes fueron más altas solamente en el tratamiento con una menor salinidad, pero las abundancias fueron menores a la anterior bordeando las $8000 \text{ cels mL}^{-1}$.

La figura **figura 4.5.4** nos muestra una temperatura constante de 15°C y $45 \mu\text{E}$ de luz. En este caso las curvas muestran una menor abundancia con máximos que bordearon las $14000 \text{ cels mL}^{-1}$, muy inferior a los reportados para el otro tratamiento, sin embargo, en las abundancias hay cierta homogeneidad en los datos entre ambas cepas, salvo en el tratamiento con la salinidad más baja (15 psu) donde la cepa de Magallanes tiene una abundancia mucho mayor que la de Aysén.

En la **figura 4.5.5** con temperatura a 15°C y Luz de $100 \mu\text{E}$ no se ven diferencias entre las dos cepas salvo en los tratamientos de 25 psu y $8.8 \mu\text{M}$ donde la cepa de Aysén alcanza abundancias de más de $2000 \text{ cels mL}^{-1}$, el resto de los tratamientos presenta abundancias similares entre las dos cepas.



La **figura 4.5.6** nos muestra la curva de crecimiento para los tratamientos con temperatura constante de 15 °C y 150 µE de luz, donde nuevamente las curvas de crecimiento entre ambas cepas son bastante similares, salvo en tres casos puntuales de 25 y 35 psu con concentraciones de nutrientes de 4.4 y 8.8 µM donde la cepa de Aysén tiene una abundancia más alta e incluso la curva de crecimiento (en días) no alcanza para observar la caída del cultivo.

Por último, la **figura 4.5.7**, en el tratamiento con la temperatura más alta (17°C), muestra que la cepa de Magallanes tiene abundancias mucho menores a las que alcanza la cepa de Aysén (16000 a 2000 cels mL⁻¹), salvo en el tratamiento de 15 psu (salinidad más baja) donde las abundancias son similares salvo en el caso del tratamiento a 4.4 M de nutrientes. A pesar de esto las abundancias encontradas para la cepa de Magallanes no superaron los 8000 cels mL⁻¹.

5.5. Objetivo Específico 5

Difundir los resultados del programa, realizar acciones de capacitación y fortalecer la vinculación con el medio.

Actividad 1. Difusión de los estimadores de abundancia relativa de los taxones nocivos.

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

Desde el año pasado, contamos con 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. A los videos de difusión ya conocidos ¿Qué es el Plancton Marino? (<https://youtu.be/wvJ5rhCNeeQ>), Floraciones de Algas Nocivas (<https://youtu.be/uBL2joda5m0>) y Toxinas Marinas (<https://youtu.be/ymYdRFQMThw>), se sumó un cuarto video que trata sobre:

- “Prevención y Manejo en áreas afectadas por Floraciones Nocivas y Toxinas Marinas”

Aplicación para teléfonos móviles – i~FAN

Durante esta etapa, se continuó informando las abundancias relativas de los cinco principales taxones nocivos (*Alexandrium catenella*, *Alexandrium ostenfeldii*, *Dinophysis acuta*, *Dinophysis acuminata* y



Protoceratium reticulatum), para las nueve zonas del monitoreo (Chiloé norte, Chiloé centro, Chiloé sur, Aysén norte, Aysén sur, Tortel, Magallanes norte, Magallanes centro y Magallanes sur), sumando un total de 221 estaciones. En esta aplicación, además, se puede realizar una revisión específica del Subprograma de Fiscalización y Vigilancia, el cual incluye el subprograma de Raúl Marín Balmaceda (Alta Frecuencia). Este subprograma abarca 23 estaciones, distribuidas en el sureste y sur de la isla de Chiloé, golfo Corcovado, Melinka y Raúl Marín Balmaceda.

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 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. 5.1.1**).
- **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. ostentfeldii*, *D. acuminata*, *D. acuta* y *P. reticulatum*). De esta manera, y tal como se observa en la **Figura 5.1.2**, 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. 5.1.3**). 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.
- Magallanes sur: 10 estaciones.

➤ **MÁS.** En esta sección del Menú (**Fig. 5.1.4**), 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.

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.

Actividad 2. Difusión de resultados y capacitación.

Difusión de los Resultados.

Congresos nacionales e internacionales.

Durante el periodo junio 2020 a junio 2021, se asistió vía telemática, a distintos congresos nacionales e internacionales relacionados con las Ciencias del Mar y las Floraciones de Algas Nocivas. De esta manera, se presentaron, de forma oral, los siguientes trabajos:

12th International Phycological Congress, 22-26 March 2021, Chile.

1. "Phytoplankton composition and Harmful Algal Blooms dynamics in coastal waters of central-southern Chile (36° - 44°S)". Oscar Espinoza-González¹; Leonardo Guzmán¹; Emma Cascales¹; Héctor Tardón¹; Loreto López¹ and Karen Correa¹.



2. "Spatial and temporal patterns of harmful species of *Alexandrium*, *Dinophysis* and *Protoceratium* throughout Chilean fjords in a 12-years period". Leonardo Guzmán, Oscar Espinoza-González, Javier Paredes & Pablo Salgado.

XL versión del Congreso de Ciencias del Mar, 24-28 de mayo 2021, Punta Arenas, Chile.

3. "Aproximaciones y desafíos del estudio de las Floraciones Algales Nocivas y toxinas marinas en el centro-sur de Chile: Explorando nuevos ambientes".
4. Patrones espaciales y temporales en fiordos chilenos de los dinoflagelados *Alexandrium catenella*, *A. ostenfeldii*, *Dinophysis acuminata*, *D. acuta* y *Protoceratium reticulatum* entre 2007 y 2019.
5. Caracterización morfológica, filogenética, perfil de toxinas y distribución de quistes de resistencia del dinoflagelado nocivo *Alexandrium ostenfeldii* de la región del Biobío, Chile.
6. Variabilidad espacio-temporal de la comunidad fitoplanctónica en el sistema estuarino de Reloncaví, Patagonia Chilena.
7. Desarrollo de una herramienta molecular para la detección y cuantificación de *Alexandrium ostenfeldii* y *Protoceratium reticulatum*.

International Conference Harmful Algae (ICHA), 10th to the 15th of October 2021, México.

8. Harmful Algal Blooms in a changing environment: *Alexandrium catenella* and Paralytic Shellfish Toxin for the past 50 years in Chile. Leonardo Guzmán; Gemita Pizarro, Oscar Espinoza-González, Javier Paredes-Mella, Pamela Carbonell, Cristina Hernández, María Angélica Tocornal, María Isabel Banciella.
9. Physiological, genetic and toxicological variabilities in *Alexandrium catenella* strains from southern Chile (41°– 55°S). Pamela Carbonell, Leonardo Guzmán, Marcela Astorga, Jaime Vargas, Gonzalo Fuenzalida, Luis Norambuena, Pablo Salgado.
10. Dinoflagellate cyst assemblages in the south central coast of Chile (~36° – 43° S). Pablo Salgado, Héctor Tardón, Oscar Espinoza.



11. Blooms of *Pseudo-nitzschia* and outbreaks of domoic acid in the inner sea of Chiloe island, Southern Chile, 2020 – 2021. Oscar Espinoza-González.
12. First culture of *Dinophysis acuminata* from southern Chile: Ecophysiology, toxin production and phylogeny. Javier Paredes-Mella, Jorge I. Mardones, Luis Norambuena, Gonzalo Fuenzalida and Satoshi Nagai.

Los resúmenes presentados en el International Phycological Congress, Congreso de Ciencias del Mar e International Conference Harmful Algae pueden ser revisados en el **Anexo 4**.

Seminario-Taller

A través de un Seminario – Taller, se realizó la difusión de los principales resultados del Monitoreo de Marea Roja Fiordos, en conjunto con el Programa de Monitoreo por las costas del Pacífico. Este seminario, se realizó en lunes 31 de mayo 2021, entre las 09:00 a 12:00h (**Fig. 5.2.1**), de forma remota a través de la Plataforma Meet, y, además, se realizó la transmisión en vivo por el canal de YouTube de nuestro centro (CREAN IFOP). A través de siete presentaciones, se abordaron temas transversales para ambos programas de monitoreo, tales como distribución de quistes, biología molecular y difusión. En la segunda parte de este taller, se trataron temas más específicos, tales como el rol de la salinidad y temperatura sobre algunos géneros de especies FAN, y sobre las últimas floraciones de *Pseudo-nitzschia* en el mar interior de Chiloé, y de *Heterosigma akashiwo* en el fiordo Comau. El seminario presentó una convocatoria de investigadores nacionales e internacionales, instituciones públicas y privadas y estudiantes de pre y post – grado, alcanzando un total de 160 personas. (**Fig. 5.2.2**).

Capacitación orientada al sector público.

Durante el mes de junio 2021, se realizó un ciclo de conferencias sobre Floraciones de Algas Nocivas orientadas al sector público, participando profesionales de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura (SUBPESCA), y de la Subsecretaría Regional Ministerial de Salud (SEREMI de Salud). Las conferencias fueron realizadas por cuatro investigadores de nuestro centro, y abordaron las temáticas de distribución espacio-temporal de los principales taxones nocivos, quistes de resistencia, genética, y especies emergentes.

Conferencia 1.

“Patrones espacio temporales en fiordos chilenos de los dinoflagelados *Alexandrium catenella*, *A. ostenfeldii*, *Dinophysis acuminata*, *D. acuta* y *Protoceratium reticulatum*, entre 2007 y 2019”

Expositor: Dr. Leonardo Guzmán M.

Fecha: 04 de junio 2021.



Conferencia 2.

"Formación de quistes de resistencia en el ciclo de vida de dinoflagelados y su relevancia en el estudio de las Floraciones Algales Nocivas (FAN) en la costa chilena"

Expositor: Dr. Pablo Salgado M.

Fecha: 11 de junio 2021.

Conferencia 3.

"Aproximaciones moleculares en la identificación y cuantificación de microalgas"

Dr. Gonzalo Fuenzalida del Río.

Fecha: 18 de junio 2021.

Conferencia 4.

"Ecología y toxicología de Floraciones Algales Ictiotóxicas en la Patagonia"

Dr. Jorge Mardones S.

Fecha: 25 de junio 2021.

Actividad 3. Vinculación con el Medio.

Charlas

Sin duda, la forma de comunicarnos ha cambiado, y es así, cuando las charlas (u otra actividad) *on-line* han tomado un protagonismo que ha permitido continuar con una constante vinculación con diferentes públicos e instituciones. De esta manera, se han presentado diversos resultados pertinentes a las regiones monitoreadas, y también, se han presentado diversos temas relacionados con las FAN, tales como distribución de fitoplancton, toxinas marinas, quistes de resistencia, genética, difusión, etc. De esta forma, la vinculación con el medio ha sido posible. Así, se han realizado conexiones con distintos representantes, considerando alianzas nacionales, tales como la Universidad de Concepción (UDEC), Instituto Tecnológico de la Miticultura (INTEMIT), Seremi de Ciencias, Programa Explora, Universidad de Magallanes y alianzas internacionales como CSIRO. Las temáticas abordadas fueron:

Abril 2020

1. Eventos excepcionales de FAN en los últimos 5 años en el centro sur de Chile. Comité Inter Institucional de Contingencias Ambientales Nacional. Invitación SERNAPESCA. 13 de abril 2020. (Leonardo Guzmán M; Oscar Espinoza González).



Septiembre 2020

1. “Estrategias del ciclo de vida de dinoflagelados: formación de quistes de resistencia”, presentado para alumnos de la carrera de Biología Marina, Universidad de Magallanes, 08 de septiembre 2020 (Dr. Pablo Salgado M.)
2. “Estado actual de *Alexandrium catenella* en el sureste de Chiloé y sectores adyacentes”. Mesa Marea Roja Quellón. 11 septiembre 2020. Solicitado por SERNAPESCA Valparaíso (Dr. Leonardo Guzmán M.)
3. “Experiencias sobre uso de tecnologías, monitoreo y mitigación de mareas rojas en el ámbito marino”. 11 de septiembre 2020. Solicitado por la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura. Acuerdo en Pesca y Acuicultura con Gobierno de Perú. (Dr. Leonardo Guzmán M.)
4. “Desarrollo de nuevas técnicas de detección de microalgas y biotoxinas marinas para el conocimiento y comprensión de los eventos de Floraciones Algales Nocivas”, organizado por el Laboratorio de biotoxinas marinas, Universidad de Concepción, 25 de septiembre de 2020 (Dr. Oscar Espinoza G.)
5. “Detección molecular de algas nocivas”. organizado por el Laboratorio de biotoxinas marinas, Universidad de Concepción, 25 de septiembre de 2020 (Dr. Gonzalo Fuenzalida D.)

Noviembre 2020

6. “Quistes de resistencia de dinoflagelados del centro-sur de Chile (36-55°S), presentado en el Webinar: Mejorando el uso de datos satelitales en Chile: detección de marea roja. CSIRO Chile, 04 de noviembre 2020 (Dr. Pablo Salgado M.)
7. “Acciones operacionales y de investigación en el estudio de las FAN en el centro-sur de Chile: Estado actual y desafíos VI Seminario de la Investigación Aplicada a la Miticultura, SIAM 2020”, organizado por Intemit, 19 de noviembre de 2020 (Dr. Oscar Espinoza G.)

Diciembre 2020

8. “Mareas rojas y dinoquistes en la costa centro-sur de Chile”, presentada para público del Programa Explora Magallanes, 16 de diciembre 2020 (Dr. Pablo Salgado M.)
9. Comparación de estimaciones de abundancia relativa en *Alexandrium catenella* en sitios selectos según datos de SERNAPESCA e IFOP. 19 de diciembre 2020. Solicitado por SERNAPESCA Valparaíso (Dr. Leonardo Guzmán M.)



10. *Alexandrium catenella* en el sureste de Chiloé y sectores adyacentes 2006-2020. 28 de diciembre 2020. Comité Inter Institucional de Contingencias ambientales (CIICA), región de Los Lagos. (Dr. Leonardo Guzmán M.)

Marzo 2021

11. “Desarrollo y evolución de eventos TAM - *Pseudo-nitzschia* y *Alexandrium catenella*”, presentado en el Seminario de Herramientas Moleculares en el Estudio de las Floraciones Algas Nocivas, organizado por Intemit, 16 de marzo de 2021 (Dr. Oscar Espinoza G.)
12. “Desafío Floraciones Algas Nocivas en la región de Aysén Conversatorio: Desafío Floraciones Algas Nocivas en la región de Aysén”, organizado por la Secretaria Regional Ministerial de Ciencia, Tecnología, Conocimiento e Innovación. Macrozona Austral, 19 de marzo de 2021 (Dr. Oscar Espinoza G.)

Abril 2021

13. Floraciones excepcionales en el centro sur de Chile *Pseudochattonella* cf. *verruculosa*; *Alexandrium catenella*. 13 de abril 2021. Invita Comisión de Pesca del Senado. (Dr. Leonardo Guzmán M.).
14. Floraciones de Algas Nocivas. Presentando en Comunidades autóctonas de la región de Los Lagos, organizado por la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, 26 de abril 2021 (Pamela Carbonell A.).

Junio 2021

15. Resultados de la XV reunión telemática del IPHAB 23 25 de marzo 2021. Presentada ante la asamblea del Comité Oceanográfico Nacional (CONA). 02 de junio 2021. (Dr. Leonardo Guzmán M.).
16. Detección molecular de algas nocivas en el sur de Chile. Presentada en el Taller “Desarrollo de una herramienta a nivel molecular para la identificación y cuantificación de microalgas tóxicas”, 15 de junio 2021 (Dr. Gonzalo Fuenzalida D.)

Conversatorios y actividades colaborativas

En conversatorios educativos, orientados a alumnos de enseñanza básica (5to y 8vo básico) y media (II° y IV° medio) en colegios de sectores urbanos y rurales de la región de Los Lagos, y con un total de



250 alumnos (cuadro), se realiz3 una encuesta sobre la percepci3n de los alumnos con respecto a Floraciones de Algas Nocivas, aplicando respuestas simples (s, no y no sabe).

Cuadro. Se indica el n3mero de alumnos (n) para colegios de zonas urbanas, y colegios ubicados en zonas rurales.

Curso	Zona urbana (n)	Zona rural (n)
5to b3sico	36	39
8vo b3sico	32	29
II° medio	40	25
IV° medio	32	27

Las preguntas fueron:

1. ¿Has escuchado hablar de la Marea Roja?

Cuando se pregunt3 a alumnos, de ense±anza b3sica y media, si han escuchado a hablar de las mareas rojas, se observ3 que aquellos alumnos de colegios rurales, cercanos a zonas afectadas por este fen3meno, habían escuchado en un mayor porcentaje que sus compa±eros de colegios en zonas urbanas de la regi3n de Los Lagos. De esta forma, 26 alumnos de 5to b3sico (11-12 a±os) de colegios rurales (67%) manifestaron conocer que era una marea roja, versus 16 alumnos de colegios urbanos (46%), con nociones sobre el cambio de color en el agua (color rojo), y de forma general, las zonas afectadas de la regi3n (sectores cercanos a sus casas). Para alumnos de 8vo b3sico (13-14 a±os), se observ3 nuevamente, un mayor conocimiento en alumnos de colegios rurales versus urbanos. As, 23 alumnos de colegios rurales (79%), conocen la terminolog, versus 19 alumnos de colegios urbanos (58%). En este nivel, existe un conocimiento de que las mareas rojas pueden ser muy peligrosas para las personas al consumir mariscos contaminados. Para alumnos de ense±anza media, se trabaj3 con dos niveles, correspondientes a II° y IV° medio. Tal como se present3 en alumnos de ense±anza b3sica, quienes cursan en colegios rurales, respondieron afirmativamente con un mayor porcentaje que alumnos de ense±anza media. As, 23 alumnos de II° medio de colegios rurales (92%), manifest3 conocer sobre las mareas rojas, versus 23 alumnos de colegios urbanos (57%). Sin embargo, el conocimiento se bas3 en problemas sociales Finalmente, la percepci3n de alumnos de IV° medio, donde 24 alumnos de colegios rurales (96%), indican conocer sobre mareas rojas, versus 27 alumnos de colegios urbanos (67%). El conocimiento lo aplican a las complejidades sociales, mortalidad de salmones, y da±o ambiental (**Fig. 5.3.1**).



2. ¿Crees que este fenómeno se presenta en nuestro país?

Continuando con las preguntas de percepción, los alumnos de colegios rurales, tanto de enseñanza básica y media, mostraron un mayor acercamiento sobre el estado de las FAN en nuestro país. Esta diferencia fue más pronunciada en alumnos de enseñanza media (II° y IV° medio), por sobre alumnos de enseñanza básica (5to y 8vo básico). De esta forma, 26 alumnos de 5to básico de colegios rurales (67%) versus 12 alumnos de colegios urbanos (30,8%), señalaron conocer que la marea roja está presente en nuestro país. Para alumnos de 8vo básico, se observó nuevamente, un mayor conocimiento en alumnos de colegios rurales versus colegios localizados en sectores urbanos. Así, 23 alumnos de colegios rurales (79%), conocen la terminología, versus 19 alumnos de colegios urbanos (58%). En este nivel, existe un conocimiento medio, ya que indican la presencia de marea roja en la región de Los Lagos, y un universo muy pequeño (cerca de 10 estudiantes), extendieron este fenómeno a la región de Aysén. Tal como se presentó anteriormente, alumnos de enseñanza media que cursan en colegios rurales, afirmaron conocer eventos de Marea Roja en Chile, con un 90% de respuestas afirmativas para cada nivel (II y IV° medio) (**Fig.5.3.2**)

3. ¿La Marea Roja lo asocian a algo positivo?

Para estimar y evaluar la comprensión de los alumnos sobre los impactos de las mareas rojas que pueden causar, los alumnos de colegios rurales (tanto de enseñanza básica y media), presentaron una mayor percepción sobre las problemáticas que pueden presentar las mareas rojas, en relación a alumnos de colegios en zonas urbanas de la región de Los Lagos. Un porcentaje muy bajo (<15%), manifestó una relación positiva con estos eventos, desconociendo cualquier situación negativa a causa de las mareas rojas (salud pública, ambiental y/o económica) (**Fig.5.3.3**).

4. ¿Crees que las personas pueden morir por Marea Roja?

En alumnos de 5to básico, se observó una pequeña diferencia porcentual entre alumnos de colegios rurales (43,6%) versus alumnos de colegios en zonas urbanas (36,1%), asocio un verdadero peligro para la salud pública. Para alumnos de 8vo básico, II° y IV° medio de colegios de zonas rurales, se observó un porcentaje mayor (75,9%, 71,4% y 77,8% respectivamente) sobre los efectos nocivos de las mareas rojas sobre la salud pública. Sin embargo, este tema se ve más lejano en aquellos alumnos de zonas que no son afectadas por un evento de marea roja, no relacionando la gravedad que puede tener sobre la salud (**Fig.5.3.4**)



6. DISCUSIÓN

6.1. Objetivo Específico 1

Monitorear y analizar las variaciones espacio-temporales de microalgas nocivas, biotoxinas marinas, fitoplancton, quistes de dinoflagelados y de variables hidrográficas y meteorológicas en la zona de estudio.

Actividad 1: Realizar los muestreos y analizar el fitoplancton cualitativo, cuantitativo y estimar abundancia relativa de siete taxones nocivos, en todas las estaciones de la red de monitoreo.

Abundancia relativa de *Alexandrium catenella*, *A. ostenfeldii*, *Dinophysis acuminata*, *D. acuta*, *Protoceratium reticulatum*, *Pseudo-nitzschia* cf. *australis* y *P. cf. pseduodelicatissima*

Las variaciones espacio temporales de las abundancias relativas de los siete taxones considerados están mostrando que durante el período marzo 2020- febrero 2021 que se apreciaron varias floraciones de cada de estos taxones. Sobre el particular, pareciera que este lapso está mostrando una mayor diversidad de floraciones que en años previos, pero esta es una interrogante importante de abordar con las series de tiempo disponibles, y de ser ello efectivo, abordar los probables factores ambientales que estarían dando cuenta de esta situación. Por otro lado, estos antecedentes están mostrando la necesidad de abordar con criterios objetivos, cuando se debe tratar una determinada estimación de abundancia relativa como floración; es evidente que estimaciones con niveles entre 8 y 10 son definitivamente floraciones, como también no lo son aquellas que están entre los niveles de 1 y 3, pero entre las estimaciones de 4 y 7 existe un rango de estimaciones que hasta ahora no pueden ser catalogadas con un criterio objetivo, si corresponden o no a una floración. Este es un aspecto que debe ser abordado en futuros informes. Por otro lado, las floraciones observadas durante este lapso, las más frecuentes, al parecer, dado que es el taxón más abundante de los dinoflagelados, que aquellas de *Dinophysis acuminata*, mostrando una situación muy distinta a su congénere *D. acuta*, no obstante que este taxón tiene una relevancia particular en el canal Jacaf y fiordo Puyuhuapi en la región de Aysén. Pero también por el contrario en este lapso y desde 2019 hasta la fecha, *Alexandrium catenella* no ha experimentado ninguna floración, siendo la más importante durante los últimos años aquella registrada en 2018.

Asimismo, cabe destacar la floración detectada en la región de Aysén de *A. ostenfeldii*, pues corresponde a la primera floración de esta especie que se observa en los fiordos sur australes, y con estimadores de abundancia tan altos, pues estuvieron en el nivel superior de la escala. Desafortunadamente las muestras son analizadas varios días luego de tomadas las muestras, lo cual, determina que estas estimaciones sean conocidas a posteriori, lo cual establece una dificultad importante para enfrentando este tipo de floraciones desde la perspectiva de su conocimiento.



Asimismo, las floraciones de *Protoceratium reticulatum* requieren un estudio particular, el cuál a través del trabajo de monitoreo, es muy difícil abordar, pero está planteando interrogantes que son necesarias abordar.

Finalmente, durante este lapso, también se detectaron floraciones de dos especies de *Pseudo-nitzschia* sobre la cual se entregan unos párrafos especiales.

Floración de *Pseudo-nitzschia* spp en la región de Los Lagos

La literatura muestra que diferentes especies de diatomeas del género *Pseudo-nitzschia* son productoras de ácido domoico ([Bates et al., 2018](#), [Pitcher et al., 2020](#), [Zablago et al., 2016](#)) habiéndose citado para Chile tres de ellas, *P. australis*, *P. pseudodelicatissima* y *P. calliantha* ([Alvarez et al., 2009](#)). En este estudio las diatomeas *P. cf. australis* y *P. cf. pseudodelicatissima* mostraron una distribución que abarcó todas las estaciones del fiordo de Reloncaví, mostrando abundancias altas, tanto en densidad celular (células L⁻¹), como en términos de su abundancia relativa, alcanzando niveles de hiper abundantes (nivel 7) y extremadamente abundante (nivel 8). Las máximas densidades celulares se registraron bajo la picnolina, asociada a una temperatura entre 12 y 13 °C y una salinidad mayor a 30 PSU. A pesar de estas altas densidades, las concentraciones de toxina amnésica de los mariscos (TAM) en las muestras de choritos recolectadas no superaron el límite máximo regulatorio, mientras que, el análisis de ácido domoico (AD) particulado en la columna de agua registró valores máximos de 10.683 ng L⁻¹ asociados a una alta densidad celular (1,1 x10⁶ Células L⁻¹) de *P. cf. pseudodelicatissima*, en Caleta la Arena, concentraciones de AD particulado similares a los valores recopilados por [Bates et al. \(2018\)](#) durante la floración de especies de *Pseudo-nitzschia* en el suroeste de Florida durante octubre de 2009; estos registros son considerados inusuales por la alta concentración de AD e indica la habilidad de estas especies, que en estado de floración, pueden producir este tipo de toxinas afectando la trama trófica del sistema donde ocurren, aspecto que nos debe mantener atentos a su temporalidad y distribución. Sin embargo, se conoce que la extensión temporal de estas floraciones y la producción de toxinas que pueden afectar a los recursos, es de aproximadamente 1 a 2 semanas ([Díaz et al., 2019](#)). Esta floración no estuvo asociada a intoxicaciones en humanos, como tampoco hubo registros de mortandad en fauna marina o vida silvestre. Para el mar interior de Chiloé existen referencias de detección de TAM, pero hasta ahora han sido situaciones localizadas, y al parecer el trabajo realizado a fines de diciembre correspondería a la fase inicial de esta floración, puesto que posteriormente se expandió hacia el sur llegando hasta el sector de Dalcahue, y en varios sectores localizados la autoridad debió aplicar vedas dado que los niveles de AD en mariscos superaban la norma.

En cuanto a los registros de toxinas lipofílicas, la pectenotoxina2 (PTX2) presente en todas las estaciones de muestreo, debería estar relacionada con *Dinophysis acuminata*, especie que presentó niveles altos de abundancia relativa (nivel 7) en la mayoría de sitios de muestreo. Sobre el particular [Fux et al., \(2011\)](#) mostraron que esta especie recolectada en el estuario de Reloncaví y en condiciones de laboratorio sólo produce PTX, y que los ejemplares recolectados en esta área no serían diarregénicos, es decir no producen ácido ocaídoico y dinofisistoxinas. En cuanto a las yesotoxinas



(YTX) su origen estaría asociado a *Protoceratium reticulatum*, las cual registro niveles de abundancia relativa en una condición entre rara y abundante (niveles entre 1 y 4).

Las altas concentraciones celulares de *Chaetoceros debilis*, *Ch. socialis* y especialmente de *Skeletonema* spp., la cual alcanzó un registro máximo de $26,4 \times 10^6$ (céls L^{-1}), estuvieron asociadas con una capa de agua estuarina de baja salinidad y alto contenido de silicatos, a diferencia de las especies de *Pseudo-nitzschia* que se desarrollaron en una capa más profunda ubicada a los 15 metros de profundidad con una salinidad > 30 PSU. Ello es relevante cuando se aplica el uso de imágenes satelitales para el seguimiento y detección de floraciones nocivas, dado que, en este caso, las especies de *Pseudo-nitzschia* estaban bajo una muy densa floración de *Skeletonema* sp. De hecho, se presenta una imagen de fluorescencia satelital, con niveles importantes de clorofila, pero esta es explicada por otros taxones de diatomeas.

Floración de *Leptocylindrus* spp. en la región de Aysén.

De las especies que comprende el género *Leptocylindrus*, *L. danicus* es la única que ha sido reiteradamente recolectada y citada por diferentes autores a lo largo de toda la costa chilena ([Rivera et al., 1990](#)). Por otra parte, durante la década del 80, se comienza a detectar en aguas australes de nuestro país, una segunda especie: *L. minimus* ([Lembeye, 1981](#)), la cual, fue aumentando sus concentraciones en la zona central y sur del Archipiélago de Chiloé, asociando su presencia con la muerte de salmones en cultivo ([Clément, 1994](#)).

Durante el mes de marzo 2020, se comienzan a detectar concentraciones de *L. danicus*, entre las 800 céls L^{-1} en seno Ventisqueros 1 (A19N1) hasta las 17900 céls L^{-1} en isla Toto (A13). Estas concentraciones fueron aumentando en el mes de abril, en el sector de canal Moraleda, alcanzando las 82800 céls L^{-1} , aumentando en extensión, e intensidad en el mes de mayo, donde se observaron altas concentraciones en los canales Puyuhuapi, Jacaf y Moraleda, llegando a concentraciones mayores a $1,0 \times 10^6$ céls L^{-1} en isla Gama Zañartu (A16). Durante los siguientes cinco meses (junio – octubre 2020), las concentraciones bajaron a 0 céls L^{-1} casi en la totalidad de las estaciones, con un leve aumento en el mes de noviembre y diciembre 2020 en algunas estaciones de canal Puyuhuapi y Moraleda.

Paralelamente, en el mismo periodo y sector, las concentraciones de *L. minimus* empezaron a incrementar en el mismo sector (canal Puyuhuapi, Jacaf y Moraleda). En el mes de marzo 2020, se observaron concentraciones hasta las 77200 céls L^{-1} en isla Toto (A13), incrementando en el mes de abril 2020, alcanzando concentraciones de 173900 céls L^{-1} en canal Moraleda (A35N1). En el mes de mayo, hubo una mayor cobertura espacial (Puyuhuapi, Jacaf y Moraleda), pero las concentraciones fluctuaron entre las 200 céls L^{-1} en seno Miller (A14) hasta las 18000 céls L^{-1} en isla Toto (A13). Desde julio a diciembre 2020, las máximas concentraciones se presentaron en los tres canales, con máximos en los meses de octubre 2020 en isla Gama-Zañartu (A16) con 544200 céls L^{-1} , y en el mes de diciembre 2020 en isla Ventisqueros 1 (A19N1) con 568200 céls L^{-1} . Durante los meses de enero y febrero, las concentraciones disminuyeron, al igual que su cobertura geográfica.



Actividad 2. Muestreo de transvectores y detección toxinas.

De manera general, se observó una baja concentración de toxinas paralizantes en la región de Los Lagos, Aysén y Magallanes durante el periodo entre los meses de marzo 2020 a febrero 2021, con respecto al periodo informado en la etapa anterior. Para la región de Los Lagos, entre el 90 al 100% de las estaciones, distribuidas entre el sector norte, centro y sur (N=37), esta toxina no fue detectada en mariscos transvectores, y sólo un bajo porcentaje (entre el 2,7 a 5,4%) presentó niveles subtóxicos ($<80 \mu\text{g SXT } 100\text{g}^{-1}$ mariscos) entre los meses de marzo y abril 2020. En la región de Aysén, las estaciones en las cuales no fue detectada esta toxina, fue menor ($<45\%$ de las estaciones), presentando una mayor frecuencia estaciones con niveles de toxinas $<80 \mu\text{g SXT } 100\text{g}^{-1}$ mariscos, distribuidas en la zona norte, sur y Tortel. Sin embargo, aquellas estaciones con toxicidades $>80 \mu\text{g SXT } 100\text{g}^{-1}$ mariscos, fue baja, en comparación con el periodo anterior, donde más del 50% de las estaciones presentaban toxicidades sobre el límite de consumo permitido, con niveles de toxicidades hasta los $6000 \mu\text{g SXT } 100\text{g}^{-1}$ mariscos en determinadas localidades, muy por el contrario, a las bajas toxicidades de este periodo, alcanzando sólo los $400 \mu\text{g SXT } 100\text{g}^{-1}$ mariscos en isla Francisco (A35N3; Aysén sur). Esta estación presentó durante gran parte del año, toxicidades sobre el límite de consumo permitido, en conjunto a isla Filomena (A35N2; Aysén sur). La región de Magallanes, presentó un patrón similar a la región de Los Lagos, con gran parte de sus estaciones con toxicidades no detectadas en este periodo (entre el 94 al 100% de sus estaciones).

Las Toxinas Diarreicas de los Mariscos (TDM), por el contrario, presentaron una mayor cobertura espacial en la región de Los Lagos, Aysén y Magallanes, en comparación con la etapa anterior (Etapa XIII; febrero 2019 – marzo 2020), y una mayor frecuencia temporal en ambas regiones. Así, en la etapa anterior, la detección de TDM se localizaba en estaciones en el sector norte de la región de Los Lagos, por ejemplo, estaciones del estuario y seno de Reloncaví. Sin embargo, en este periodo, la toxina fue detectada en estaciones del sector norte, centro y sur de la región.

En general, la Toxina Amnésica de los Mariscos (TAM), no es frecuente en el sur de nuestro país. Sin embargo, durante este periodo, se detectaron niveles subtóxicos ($<20 \mu\text{g}$) en estaciones de la región de Los Lagos y Aysén.

Es importante dejar constancia que la frecuencia de muestreo de este programa, es muy poco eficiente para detectar y seguir floraciones de ácido domoico como consecuencia de floraciones de especies de *Pseudo-nitzschia*, y en esta oportunidad si bien se detectó ácido domoico, en ninguno de los casos los niveles apreciados estuvieron por sobre la norma que regula el consumo de mariscos ligado a esta toxina, y las medidas adoptadas por la autoridad, estuvo sustentada en muestras que no fueron recogidas por este programa.



Actividad 3. Recolectar información hidrográfica y meteorológica, incluyendo nutrientes, en la red de estaciones definida.

Las concentraciones de nitrato en la región de Los Lagos, se observan que en el estrato 0-10 y 10-20 metros son bajas durante los meses de otoño e invierno, presentando un leve aumento en el estrato superior, las bajas concentraciones se presentan en forma casi homogénea en la región durante los meses de lluvia menores a $0.05 \mu\text{M}$. Las mayores concentraciones se presentan en los meses de primavera y verano ($>0.75 \mu\text{M}$), manteniendo una homogeneidad en el estrato 10-20 metros durante estos meses. De forma inversa en la distribución del compuesto nitrogenado, se observan las mayores concentraciones durante los meses de otoño e invierno en ambos estratos ($>17 \mu\text{M}$), y en los meses de primavera y verano se presenta una disminución observándose las concentraciones más bajas ($<15 \mu\text{M}$) en la parte norte de la región de Los Lagos. Las mayores concentraciones de fosfato sobre $2.22 \mu\text{M}$, se observan durante los meses de otoño y luego una disminución para el resto de los meses de muestreo, existiendo menores concentraciones en el estrato superior 0-10m, para la región de Los Lagos. 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, homogénea para ambos estratos, 0-10m y 10-20m, y su distribución horizontal es descendente latitudinalmente de norte a sur, las mayores concentraciones se observan en ambos estratos sobre los $30 \mu\text{M}$ en el área norte de la región de Los Lagos y una marcada disminución de las concentraciones hacia el sur con concentraciones cercanas a $15 \mu\text{M}$.

Actividad 4. Realizar los muestreos y análisis para la detección y cuantificación de quistes de dinoflagelados.

En ambientes altamente cambiantes, como lo es el sistema de fiordos y canales del sur de Chile (41° - 55°S), el estudio de quistes de resistencia de dinoflagelados es altamente importante debido a que los dinoflagelados al verse enfrentados a grandes cambios ambientales (i.e, temperatura, salinidad, concentración de nutrientes, fotoperiodo) que ocurren en el transcurso del año y que afecta directamente el crecimiento de las especies, producen quistes de resistencia de origen sexual que les permiten sobrevivir prolongados períodos desfavorables y eventualmente germinar cuando las condiciones mejoran (Fischer *et al.*, 2018). Entre los dinoflagelados que forman quistes, muchos de ellos son conocidos por formar floraciones nocivas y además por producir toxinas que eventualmente ocasionan variados efectos negativos a la salud humana y al sector productivo. Entre los dinoflagelados productores de toxinas registrados en el área de estudio durante esta etapa XIV, se menciona la presencia de *Alexandrium catenella*, productor de toxinas hidrofílicas de tipo paralizante (Krock *et al.*, 2007; Aguilera *et al.*, 2011), a *Alexandrium ostenfeldii*, que al igual que el anterior también produce toxinas paralizantes en Chile (Pizarro *et al.*, 2012; Salgado *et al.*, 2015), aunque también estaría asociado a la producción de espiróridos registrados en caracoles y choritos de Magallanes (Pizarro *et al.*, 2014a,b), y a *Protoceratium reticulatum* que produce toxinas lipofílicas de tipo yesotoxina (Paz *et*



al., 2004; Pizarro *et al.*, 2012). En fiordos y canales chilenos el estudio de estas especies ha estado vinculado principalmente a sus floraciones y a la producción de toxinas que han desencadenado devastadoras pérdidas para la industria de la acuicultura (Díaz *et al.*, 2019). Entre estas tres especies, en general, los quistes de *A. ostenfeldii* son los menos conocidos en el área, siendo registrados, hasta la fecha, en un número reducido de sitios. Esto podría deberse a una baja capacidad de formar quistes de resistencia que podría tener la especie, lo cual ya se ha evidenciado en un estudio de laboratorio (Ostergaard & Moestrup, 1997). Adicionalmente, la falta de registros en estudios de quistes de diversas partes del mundo podría corroborar esto. En Chile el primer registro de sus quistes se realizó en muestras obtenidas del área del Archipiélago de Islas Huichas en Aysén (Pizarro *et al.*, 2012) comprobándose la presencia de toxinas paralizantes, y siendo ratificado posteriormente con mayor número de cepas (Salgado *et al.*, 2015). Posteriormente sus registros en las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes han sido escasos, estando vinculados exclusivamente a estudios llevados a cabo por IFOP (Guzmán *et al.*, 2011, 2013, 2018, 2019, 2020). A diferencia de *A. ostenfeldii*, los quistes de *A. catenella* y *P. reticulatum* son registrados de forma más frecuente, con una distribución más amplia y más abundantes que la primera especie. En Los Lagos los resultados mostraron la presencia de quistes de *A. catenella* y *P. reticulatum*, en Aysén los de *A. catenella*, *ostenfeldii* y *P. reticulatum* y en Magallanes los de *A. ostenfeldii* y *P. reticulatum*. La presencia conjunta de *A. catenella* y *P. reticulatum* es frecuente en todo el sur de Chile y ha sido mencionado que ambas especies co-ocurren comúnmente en la columna de agua y en los sedimentos (Díaz *et al.*, 2014). En Salgado (2011) se registra la presencia de quistes de ambas especies a lo largo de columnas sedimentarias de hasta 40 cm de profundidad extraídas en la bahía de Quellón y sus alrededores, Guzmán *et al.* (2021) mencionan que las abundancias de ambas especies han mostrado un claro cambio en la cobertura geográfica, con un período de menor abundancia entre 2007-2011 y uno de mayor abundancia entre 2012 y 2018. Estos cambios que se han evidenciado en la columna de agua podrían reflejarse también en los sedimentos mediante quistes, siendo corroborado mediante estudios de columnas sedimentarias en áreas donde se haya evidenciado significativamente este cambio. Por otro lado, la frecuente aparición de quistes daría cuenta de la alta capacidad para formar quistes que tienen las poblaciones móviles de ambas especies, lo cual indicaría un éxito en sus estrategias de vida y una adaptación o aclimatación a sus regímenes ambientales (Levandowsky & Kaneta, 1987).

La distribución espacial de las abundancias de estas especies fue heterogénea en ambos períodos estudiados (períodos de otoño-invierno y verano). Esto puede ser atribuido a que, en el proceso de sedimentación de partículas finas, entre ellos los quistes, y en la interfaz sedimento-agua interfieren muchos procesos. La ocurrencia de floraciones y cómo estas floraciones son transportadas por procesos hidrodinámicos pueden determinar dónde los quistes son depositados (Anderson *et al.*, 2005; Keafer *et al.*, 2005). Condiciones ambientales pueden afectar tanto el exquistamiento (Stock *et al.*, 2005) como el enquistamiento (Anderson *et al.*, 1984; Blanco 1995) impactando en la abundancia de quistes en los sedimentos. La distribución de los quistes ya sedimentados puede ser también alterada por resuspensión y transportarlos horizontalmente a otras áreas mediante procesos físicos tales como fuertes corrientes de fondo (Nehering 1996; Kirn *et al.*, 2005) como también ser transportados verticalmente mediante bioperturbación (Keafer *et al.*, 1992).



La importancia del estudio de quistes también radica que en ocasiones es más fácil identificar la fase bentónica (quistes) que la fase móvil de las especies (Lewis 1991). Aquí se menciona la presencia de quistes de *Protoperidinium* cf. *abei* y *Trinovantedinium variabile* por primera vez para el sur de Chile lo cual genera un incremento en el conocimiento de este grupo. Se conoció además la fase bentónica del dinoflagelado *Gymnodinium aureolum* el cual probablemente se agrupa con otras especies de este género en monitoreos de fitoplancton. Los quistes de esta especie se caracterizan por presentar una pared interna lisa y una pared externa más suelta en la cual suelen adherirse partículas (Hansen *et al.*, 2000).

En último lugar, dentro del grupo de dinoflagelados identificados los de mayor diversidad, abundancia y cobertura geográfica son especies inocuas del género *Protoperidinium*. En esta etapa se reportaron 16 especies distintas y 3 formas atribuidas al género por su morfología lo cual supera a las 12 especies identificadas en la etapa anterior (Guzmán *et al.*, 2020). El género *Protoperidinium* además de ser reportado como el más numeroso dentro del grupo de los dinoflagelados (Gómez 2005) se caracteriza por su alta diversidad en los sedimentos y su amplia distribución geográfica por su naturaleza cosmopolita dada su alta tolerancia a un amplio rango de salinidades y temperaturas (Marret & Zonneveld, 2003).

6.2. Objetivo Específico 2:

Continuar el desarrollo del modelo físico-biológico para estimar la distribución y abundancia de *Alexandrium catenella*, en sitios selectos del sistema de fiordos y canales.

Las mayores abundancias relativas promedio de *A. catenella* para Aysén coincidieron con la tendencia descrita por Molinet *et al.* (2003), quien describió una recurrencia bianual de las floraciones concentrándose en los meses de enero y marzo y disminuyendo en abril. Sin embargo, durante los meses de junio a septiembre del 2018 las floraciones de *A. catenella* al sur de la latitud 45° (Canal Puyuhuapi) fueron 'anómalas' ya que se registraron en promedio valores de abundancia relativa sobre 2, condición bastante superior a la condición promedio donde se indica que, para esos meses, donde la condición normal es que no se encuentren células de esta microalga en este periodo. Por su parte, las condiciones atmosféricas mostraron la presencia de una alta presión y mayor radiación solar a la observada en el mismo periodo del 2017, además de un bajo caudal de río.

Actualmente, existen varios estudios que relacionan la disminución de agua dulce con el desarrollo de floraciones algales nocivas, uno de ellos es el trabajo de Díaz *et al.* (2020). En este estudio se propone como mecanismo de altas abundancia de *Dinophysis acuta*, la estratificación termal debido a las altas temperaturas y bajo aporte de agua dulce proveniente de caudales y precipitaciones. En el estudio, estos cambios hidroclimáticos son atribuidos a la presencia de la fase positiva del modo anular del sur (SAM) y condiciones de La Niña moderada, los que favorecerían las bajas precipitaciones y altas temperaturas ambientales. Este mecanismo ya ha sido descrito antes por León-Muñoz *et al.* (2018) para la floración de *A. catenella* del 2016, sin embargo, la sequía fue asociada a la fase positiva del SAM y



la presencia de las condiciones de El Niño fuerte, además en este trabajo se menciona que la reducción de entradas de agua dulce, aparentemente aumento la intrusión de agua subantártica superficial en aguas costeras y cercanas a la superficie. Recordemos que esta masa de agua de origen oceánico, se transforma en zonas costeras a agua subantártica modificada a través de la mezcla con agua dulce. En este sentido las variaciones de la masa de agua subantártica modificada, según [Crawford et al. \(2020\)](#) modificarían los ensambles fitoplanctónicos al mejorar potencialmente las condiciones para el desarrollo de *A. catenella* a través de la baja concentración de silicato y alta concentración de nitrato y fosfato, además de su relación con metales traza disueltos.

Modelación

El uso de modelos hidrodinámicos de la alta resolución en zonas estuarinas a lo largo del mundo y en particular, aquellos que integran características biológicas, por ejemplo, de especies causantes de floraciones algales nocivas se ha incrementado en los últimos años como una forma de dilucidar los mecanismos presentes en su dinámica y la necesidad de tener herramientas predictivas. A lo largo de este estudio, en la región de Aysén en Patagonia norte de Chile, se han presentado resultados y análisis sobre observaciones oceanográficas y biológicas y su vez la implementación de un sistema de modelación acoplada físico-biológico, centrada en la especie *A. catenella*.

Las características hidrodinámicas para Aysén, en específico en canal Moraleda, muestran un importante efecto del viento sobre las corrientes, especialmente durante el invierno. En este lugar, tanto el modelo, como las observaciones realizadas mediante un perfilador acústico de corrientes, mostraron que el esfuerzo del viento sobre la superficie, en episodios transitorios, puede llegar a mover la columna de agua hasta 40 m de profundidad hacia el interior del canal, actuando en oposición al gradiente de presión y cambiando el balance dinámico durante estos eventos, generando una intensa mezcla turbulenta durante estos periodos. En primavera, en cambio, la estratificación se fortaleció, al generarse cambios en la dirección del viento (hacia el norte) y aumentar el caudal de los ríos, generando una capa superficial (~20 m) con flujos residuales ocasionales del orden de 20 cm s⁻¹.

La circulación media superficial (0-50 m) en Aysén derivada del modelo, muestra diferencias en la intensidad del flujo de salida desde los fiordos, siendo en estero Elefantes y fiordo Aysén los que presentan mayor velocidad (~10 cm s⁻¹) y los fiordos Puyuhuapi y Quintralco los menores, esto probablemente asociado a que estos presentan ríos con caudales menores. En tanto, desde el canal Costa y conectando con el canal Moraleda se presentó una corriente hacia el norte que recorre el lado oeste del Moraleda hasta conectar con borde norte de las islas Guaitecas continuando su recorrido hasta el borde más oceánico de estas islas. Por otra parte, una corriente hacia el sur, originada en la zona costera del golfo Corcovado y cercana a la desembocadura del río Palena, ocupa el borde este del canal Moraleda, y sería capaz de transportar parte de la pluma del río Palena hacia el sur. La aparición de un giro ciclónico en la parte central del canal Moraleda requiere de una especial atención por su eventual importancia en procesos biológicos.

La distribución de *A. catenella*, en específico las abundancias relativas modeladas obtenidas a lo largo del Canal Moraleda mostraron un mes de diferencia entre el término de la floración para el 2017 y 2018, al parecer esta diferencia tiene que ver con las distintas condiciones iniciales que se utilizaron y no con



las variaciones de radiaci3n solar entre los distintos a1os. Si bien el modelo fue capaz de responder a las distintas condiciones de temperatura, salinidad y radiaci3n a trav3s de las distintas tasas de crecimiento, las diferencias debido a la radiaci3n solar no generaron diferencia en las concentraciones de *A. catenella* simuladas.

Por otra parte, en general las concentraciones de *A. catenella* simuladas para el 2017 y 2018 tendieron a decaer en todo el periodo de simulaci3n, esto se debi3 en gran parte al valor de la tasa de respiraci3n basal, ya que en el experimento 1 se observ3 c3mo a menores valores de tasa de respiraci3n basal, mayor era la tasa de crecimiento y las concentraciones de *A. catenella*. Si bien en la simulaci3n de para los a1os 2017 y 2018, se utiliz3 la menor tasa de respiraci3n basal recomendada por [Stock et al. \(2005\)](#), la tasa de crecimiento simulada siempre fue negativa, lo que indicaría que el modelo de *A. catenella* de [Stock et al. \(2005\)](#) depende fundamentalmente de los quistes, para mantener e iniciar la floraci3n. En cuanto al valor de tasa m3xima de crecimiento bajo condiciones 3ptimas de temperatura y salinidad utilizado en el modelo, este no gener3 cambios en las concentraciones de *A. catenella* simulada a excepci3n solo si se utiliza una tasa de respiraci3n basal igual 0, de esta manera las concentraciones tendr3n mayor dependencia a las variables f3sicas e.g temperatura, salinidad y radiaci3n. Sin embargo, conceptualmente la tasa de respiraci3n basal hace referencia a la respiraci3n mitocondrial o fase oscura, es por ello que se utiliza para estimar los requisitos de energ3a asociado con el mantenimiento del metabolismo y la bios3ntesis durante la oscuridad. [Geider and Osborne \(1989\)](#), reportaron una alta tasa de respiraci3n basal (0.30 d^{-1}) para *A. tamarensis* en comparaci3n con diatomeas como *Thalassiosira weissflogii* (0.04 d^{-1}) o cianobacterias ($<0.1 \text{ d}^{-1}$), en este sentido [Jauzein et al. \(2011\)](#) sugiere que la alta tasa de respiraci3n se debe en parte a la s3ntesis de prote3nas, ya que se estima que *A. tamarensis* tiene un alto contenido de prote3nas ($90 - 130 \text{ g prot. L}^{-1} \text{ volumen c3lula}$).

En cuanto a la tasa de mortalidad del modelo, esta dependi3 solo de la temperatura y su funci3n hace referencia principalmente al termino de predaci3n, sin embargo, los valores obtenidos estuvieron dentro del rango de tasa de mortalidad utilizados por [Stock et al. \(2005\)](#), quien utiliza un rango de 0 a 0.3 dia^{-1} y refiere estos valores como tasas por mortalidad celular, predaci3n y encistamiento.

En este experimento se supuso como despreciable la concentraci3n de quistes, por ende, el modelo no fue capaz de mantener las floraciones solo por crecimiento vegetativo, debido al crecimiento negativo que se simul3 gatillado por la tasa de respiraci3n basal.

Debido a la gran extensi3n de la regi3n de Ays3n, no existen registros de quistes en sedimentos como los descritos en Maine o bah3a de Fundy, sin embargo, el programa de marea roja ha incluido un objetivo tendiente a abordar esta brecha de conocimiento. Por otro lado, seg3n un estudio de [D3az et al. \(2014\)](#), sugiere que la abundancia de quistes en reposo es un reflejo de la producci3n de la floraci3n, ya que los m3ximos de quistes en sedimentos se encontraron despu3s de 3 meses de la m3xima floraci3n. Por otro lado, [Mardones et al. \(2016\)](#) propone que los quistes bent3nicos se almacenan en 3reas oce3nicas adyacentes, los que son resuspendidos y transportados a los fiordos. En relaci3n a esta hip3tesis, [Rodr3guez-Villegas et al. \(2021\)](#) encuentra quistes en el 3rea oce3nica de Ays3n que podr3an soportar esta hip3tesis, sin embargo, el n3mero de quistes encontrados fue de m3ximo $32 \text{ quistes cm}^{-3}$. En este sentido es importante incluir los quistes como fuente de iniciaci3n y mantenci3n de la floraci3n al modelo,



sin embargo, por un lado, se deberá recopilar esta información y realizar algunos ejercicios bajo distintas hipótesis la finalidad de estimar por una parte los quistes y otra las floraciones e.g, fuentes cercanas a los puntos de floración o sectores con baja velocidad de circulación.

En la región de Aysén, la especie *A. catenella* es el principal generador de recurrentes floraciones algales nocivas, donde la recurrencia y la magnitud de los eventos de floración es distinta cada año. Sin embargo, es importante notar que a menudo es un componente menor de la comunidad fitoplanctónica, es por ello que, a pesar de los esfuerzos por muestrear las floraciones algales nocivas, estas siempre seguirán estando submuestreados, por otro lado, las múltiples escalas espaciales y temporales involucradas en estos fenómenos oceanográficos, hacen más complejo el problema. Es por ello que una herramienta útil para comprender estos eventos y su relación con factores oceanográficos es la modelación, además de ser una herramienta particularmente esencial para la predicción.

A grandes rasgos los modelos pueden clasificarse en modelos estadísticos y modelos de procesos o mecanicistas. Los modelos estadísticos, utilizan observaciones para desarrollar robustas relaciones entre variables forzantes (eg. temperatura, concentración de nutrientes, índice de surgencia, etc) y respuesta de las floraciones algales nocivas. Sin embargo, la idea de utilizar una determinada variable como forzante de las floraciones algales nocivas, es a menudo guiada por el entendimiento teórico o empírico de los procesos físicos y biológicos, por ende, los modelos estadísticos no representan un proceso directamente sino el efecto de los procesos sobre las FAN. Una amplia variedad de aproximaciones estadísticas ha sido utilizada para estos modelos desde una simple regresión lineal a más complejos como redes neuronales artificiales, lógica difusa o inferencia Bayesiana.

Los modelos estadísticos son típicamente usados como hindcast, sin embargo, estos se pueden acoplar a modelos físicos operacionales pudiendo pronosticar, en el corto plazo. Si bien existen diversos trabajos sobre modelos estadísticos, en la actualidad solo el modelo de [Moore et al. \(2009\)](#), es utilizado con la finalidad de pronosticar la probabilidad de eventos de ácido domoico producidos por *Pseudo-nitzschia*.

Los modelos basados en procesos o mecanicistas por otro lado utilizan ecuaciones matemáticas para simular los procesos biológicos que gobiernan las floraciones de algas nocivas. Su desarrollo requiere del conocimiento de las características críticas del ciclo de vida y los factores que las modulan, así como el transporte. Este tipo de modelo está limitado por la necesidad de requerir de datos para iniciar la simulación y representar algunos procesos y por otro lado podría estar limitado por la parametrización, ya que la mayoría de los valores utilizados como parámetros provienen de experimentos en laboratorio los que fueron realizados bajo condiciones controladas que no representan las condiciones que existen en el ambiente natural. Sin embargo, los modelos basados en procesos son más completos y se entienden más que los modelos estadísticos ya que se especifican procesos, es por ello también que suelen ser más transferibles entre regiones. Por otro lado, es importante notar que si bien, *A. catenella* es uno de los productores de FAN más estudiados aún los procesos biológicos que contribuyen a su desarrollo son pobremente definidos y presentan una de las mayores fuentes de incertezas en este tipo de modelos.



Es por ello que la mayoría de los modelos biológicos se utilizan bajo alguna hipótesis, por ejemplo en lugares donde la advección de las floraciones no son importantes y dominan los procesos biológicos fue que [Ralston et al. \(2014\)](#) simuló la variabilidad interanual de la floración de *A. catenella* utilizando un modelo simple basado en tasas de crecimiento dependientes de la temperatura en una pequeña bahía de Massachussets caracterizada por presentar largos tiempo de residencia y muy poco intercambio. A diferencia de lo realizado por [Velo-Suarez et al. \(2010\)](#), quien simuló las acumulaciones de *Dinophysis acuminata* representadas por partículas pasivas en Bahía de Biscay, las que consideran solamente los procesos de advección forzados por procesos físicos. Sin embargo, comúnmente los procesos físicos y biológicos juegan un importante rol en el desarrollo de las FAN y no pueden tratarse independientemente, en este sentido [Gillibrand et al. \(2016\)](#) simuló la fuerte dependencia del bloom de *Karenia mikimotoi* a las condiciones locales de la costas de Escocia a través de la utilización de modelo basado en individuo, este tipo de modelo se caracteriza por utilizar partículas que son capaces de interactuar con las condiciones físicas del medio a través del modelo biológico. Otro modelo es el de [Stock et al., \(2005\)](#), modelo que considera todo el ciclo de vida de *A. catenella* desde quistes a fase vegetativa y que actualmente se utiliza para pronosticar floraciones de *A. catenella* en los Golfos de México, Florida y Maine (<https://coastalscience.noaa.gov/research/stressor-impacts-mitigation/hab-forecasts/>).

A pesar de los distintos esfuerzos por simular las FAN, esta materia aún no está del todo resuelta y los modelos biológicos existentes todavía requieren mejoras, es por ello que aún están en continuo desarrollo, a través de mejoras en las parametrizaciones o muestreos de mayor resolución. Y es en este sentido que este objetivo además de continuar con la implementar del modelo de *A. catenella* a través de la incorporación de quistes, en paralelo presenta actividades tendientes a mejorar las parametrizaciones mediante experimentos de laboratorio de tasa de crecimiento y germinación con cepas chilenas o muestreos de mayor resolución, como han sido los anclajes y muestreos mensuales.

6.3. Objetivo Específico 3

Continuar con el análisis interpretativo de la serie de datos histórica, para lograr una mejor comprensión de la variabilidad espacio-temporal del fitoplancton y de los taxones nocivos, incluyendo niveles de toxicidad y su relación con variables ambientales.

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

Los análisis de conglomerados considerando la macroregión sur austral, y posterior representación gráfica en nMDS de los tres grupos de ensamble fitoplanctónico (**Figs. 3.1.2-3.1.4**), confirman el patrón geográfico de las estaciones de monitoreo descritos en el informe anterior (Etapa 13), y está acorde con el concepto de límites geográficos basados en barreras físicas características de cada región (e.g. Seno Reloncaví, 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.

En efecto, los conglomerados estuvieron conformados por estaciones de una misma región, incluso en sectores adyacentes o colindantes a los límites administrativos de cada región. Solo en el grupo de los dinoflagelados (**Fig. 3.1.4**), hubo un caso de conglomerado conformado por una estación del norte de la región de Los Lagos, y dos estaciones del norte de la región de Aysén. El caso amerita un análisis más profundo para conocer las causas e interpretar adecuadamente este resultado en particular.

Los resultados corroboran que el fitoplancton está muy bien representado por el grupo de diatomeas total. En promedio, la mayor abundancia de los dinoflagelados es dos magnitudes menos, en relación a la mayor abundancia de los grupos de fitoplancton total y diatomeas (**Figs. 3.1.21 - 3.1.23**).

Se confirma, que la sensibilidad del análisis de similitud en base a las abundancias de las microalgas, mediante el análisis de CLUSTER y nMDS, evidencian la existencia de otras barreras de menor escala geográfica, pero también subyacen efectos temporales como el estacional (**Figs. 3.1.24 - 3.1.26**) y el efecto de gradiente latitudinal (**Figs. 3.1.21-3.1.23**), para los tres ensamblajes fitoplanctónicos.

Existe una clara estacionalidad de los grupos de fitoplancton total, diatomeas y dinoflagelados, considerando el gradiente latitudinal natural de las macroregión sur-austral. La importancia de este factor temporal, se refleja en el patrón anual de sucesión estacional, que ocurre entre los grupos diatomeas, en primavera, y dinoflagelados, en verano, principalmente en las regiones de Los Lagos y Aysén. En la región de Magallanes estos patrones de sucesión tienden a estar acoplados (estación de primavera). Este resultado es consistente con la alta y significativa correlación entre las abundancias del fitoplancton total y diatomeas, en términos de similitud de Bray-Curtis, ($Rho=0.988$, $p<0.0001$), comparado con la correlación entre fitoplancton (o diatomeas) y los dinoflagelados, en que Rho disminuyó hasta alrededor de la mitad del valor máximo recién indicado.

También es posible observar que, dentro de cada región, existen sectores localizados que presentan las mayores abundancias de dinoflagelados: sectores del fiordo y seno Reloncaví en Los Lagos, sector de Melinka y Raúl Marín Balmaceda en Aysén, y sectores del área norte en Magallanes (**Figs. 3.1.21-3.1.23**) así como estaciones similares en densidad celular distantes geográficamente (**Figs. 3.1.13-3.1.16**).

La definición de los conglomerados, por ensamble fitoplanctónico, focaliza los análisis exploratorios y la búsqueda de patrones espaciales locales y temporales de estos mismos macro conglomerados, y facilita el análisis de las especies de microalgas que los conforman, dentro de los cuales se encuentran las especies nocivas. Dentro de la metodología de análisis, luego se proseguirá con el análisis del estrato de profundidad 10-20 m, y la búsqueda de relaciones entre los patrones resultantes y las variables ambientales y oceanográficas, sus efectos en el acoplamiento y desacoplamiento en procesos de sucesión y dominio de las especies de interés.

Cabe hacer notar que el porcentaje de estaciones de muestreo no posible de agrupar en conglomerados, fue cercano al 40 % del total de estaciones, motivo que amerita seguir indagando en relación a las características particulares de éstas, como posición geográfica, influencia de glaciares y



ríos, topografía, condiciones oceanográficas y meteorológicas, efecto de corrientes y mareas, tránsito de centros de presión y otras que surjan tras los mismos análisis exploratorios, que producen inestabilidad de ciertos sectores.

Es de interés explorar, cómo se relacionan los sitios inestables, con los patrones estables de abundancia observados en las estaciones o conglomerados de áreas adyacentes a éstas, con la hipótesis que pudiesen constituir estaciones indicadoras. Al menos desde el punto de vista de los grandes grupos aquí analizados, estas estaciones de muestreo constituyen estaciones singulares, únicas, en el lapso de estudio, y se hipotetiza una mayor inestabilidad ambiental de estos sitios, en relación al resto de los sitios de muestreo.

Actividad 3. En búsqueda de índices como alerta temprana.

Efecto de la salinidad y temperatura en la probabilidad de presencia de los géneros *Alexandrium*, *Protoceratium* y *Dinophysis*.

La descripción de los gráficos reveló que la mayor abundancia y presencia de las especies tóxicas se encuentra en el estrato de 0-10 m en comparación de 10-20 m. La mayor presencia de estas especies puede estar relacionada con la mayor disponibilidad de luz que se encuentra en el primer estrato (Huovinen and Gomez, 2011; Iriarte *et al.*, 2014), recurso necesario para realizar los procesos de fotosíntesis y en consecuencia la reproducción o crecimiento celular (Figuras 5,3,1-5,3,6). Adicionalmente, cada vez existen más antecedentes que la estratificación, generación de picnoclinas y las capas delgadas “thin layers” son factores que favorecen la agregación celular y su crecimiento (e.g, Alves-de-souza *et al.*, 2014; Díaz *et al.*, 2011; Molinet *et al.*, 2003). Así, el estudio del fitoplancton ha revelado que la formación de picnoclinas o thin layer puede ocurrir preferentemente en profundidades sobre los 10 m (e.g, Alves-de-souza *et al.*, 2014; Díaz *et al.*, 2011; Molinet *et al.*, 2003).

La comparación de las abundancias históricas de los taxones tóxicos reveló que *A. catenella* fue la especie que mostró la mayor abundancia y *A. ostenfeldii* la menor. La segunda especie que mostró valores altos fue *P. reticulatum*, y tanto *D. acuta* como *D. acuminata* mostraron valores intermedios. Los altos de *A. catenella* son consistentes con las severas floraciones generadas por esta especie particularmente en el 2016 y 2018. Por el contrario, los bajos valores de *A. ostenfeldii* (máximo 400 células/L) podrían deberse a que esta especie no tiene las condiciones ambientales adecuadas para crecer. Por ejemplo, en el hemisferio norte en el Mar Báltico esta especie puede alcanzar densidades de 1,000,000 células/L en una floración (Kremp *et al.*, 2009).

La salinidad y temperatura afectó de manera diferente la probabilidad de presencia de las especies tóxicas tal como lo reveló las regresiones logísticas y los distintivos rangos salinidad-temperatura en que estas estuvieron presentes (Figura 5,3,7). La descripción de las abundancias en distinta salinidad-temperatura, zonas y profundidad (gráficos de burbuja) mostró que ciertas especies están preferentemente asociadas a ciertas zonas y factores ambientales. En el área de monitoreo que considera este estudio (monitoreo Vigilancia y Raúl Marín Balmaceda) se puede observar un gradiente



de salinidad longitudinal, Esto se debe a la mezcla que se produce entre el agua más salada que se encuentra en costa expuesta al Océano Pacífico la que progresivamente entra al sistema de Fiordos Patagónicos, lugar en que se encuentra con el agua dulce proveniente de los fiordos y estuarios ([Silva y Guzmán, 2006](#); [Crawforde 2021](#)). Este hecho genera una alta variabilidad ambiental en un área geográfica relativamente pequeña, por ejemplo, las zonas estudiadas están separadas entre ellas por aproximadamente 100 kilómetros. En este escenario, *A. catenella* se distribuye en aguas con una alta salinidad y una menor temperatura que *P. reticulatum*. Esta última especie prefiere salinidades más bajas y mayor temperatura. Por el contrario, las especies de *Dinophysis* prefieren zonas con salinidades más bajas. Por su parte *A. ostenfeldii* prefiere zonas con baja salinidad, no obstante la temperatura no la afecta. Aunque la salinidad y temperatura son factores que estarían explicando la segregación espacial de los taxones, es importante considerar que las características químicas del agua también podrían influenciarla (e.g [Crawforde 2021](#)).

Determinación de la abundancia celular (células / Litro) correspondiente a los niveles de AR para los géneros *Alexandrium*, *Protoceratium* y *Dinophysis*.

Los altos coeficientes de correlación observado para *A. catenella* y *D. acuminata* podrían ser explicados por el mayor número de muestras en que se registraron valores de abundancia (células/Litro) mayores a cero, a largo de la serie temporal (2013-2019), en comparación con *D. acuta*, *P. reticulatum* y *A. ostenfeldii*. La base de datos de abundancia utilizada para estos análisis (2013-2019) muestra consistentemente la presencia de *D. acuminata* en la columna de agua, incluso más que *A. catenella*, especie que muestra la segunda mayor presencia. Por el contrario, *A. ostenfeldii* muestra una baja abundancia a lo largo del año. De hecho, hasta el momento esta especie no ha generado una floración, Un mayor número de eventos en que se registra la abundancia de una especie tóxica contribuye a disminuir la incerteza de los parámetros poblacionales, como, por ejemplo, la media observada para *A. catenella* y *D. acuminata*. Por el contrario, un menor número de eventos en que se registra la abundancia de una especie, como en *A. ostenfeldii*, *A. acuta* y *P. reticulatum*, genera mayor incerteza en la estimación de parámetros poblacionales, y en consecuencia bajos valores de coeficientes de determinación.

Adicionalmente, la estimación de la densidad que corresponde a cada nivel de abundancia relativa nos ayuda a comprender e interpretar de mejor manera estos valores que se utilizan en el monitoreo. No obstante, los valores de abundancia celular correspondiente a cada valor de AR deben ser interpretados con precaución, debido a que en otras localidades podrían existir mayor o menores de abundancia celular. En consecuencia, estas relaciones deberían utilizarse principalmente para las zonas analizadas, y si es que se utilizan como parámetros de densidad para otras localidades, se debe considerar que las densidades podrían estar sub o sobreestimadas.



Comparación de bases de datos cualitativa y cuantitativa (2013-2019) de los monitoreos de vigilancia y Raúl Marín Balmaceda: Efectos de la zona, año y meses.

La base de datos cuantitativa transformada mostró probabilidades de presencia de especie menores que la base de datos cualitativa. La causa más plausible para explicar las diferencias de probabilidades entre las bases de datos es la metodología con que se construyen cada una, i.e., la base de datos cuantitativa corresponde a una muestra integrada expresada en células/Litro que luego fue transformada a presencia/ausencia; la base de datos cualitativa corresponde a la integración de 6 muestras, cada una tomada mediante el arrastre de una red desde los 20 m hasta la superficie, y luego se utiliza para determinar si están o no presentes los taxones nocivos. Estas diferencias metodológicas dan como resultado que exista una mayor probabilidad de encontrar a la especie en una base de datos cualitativa. No obstante lo anterior, hay coincidencias entre las bases de datos en relación a las zonas, años y meses en que las especies tienen una mayor probabilidad de estar presentes. La explicación de la preferencia de las especies por determinadas zonas es abordada en la sección que analiza el efecto de salinidad-temperatura. Similarmente, la explicación del efecto de la profundidad, años y meses se discutirá en otras secciones y/o fue abordada en el informe de la etapa XIII.

Sorpresivamente la comparación de las bases de datos revela que, aunque existan especies que tienen una baja abundancia, estas pueden ser detectadas consistentemente en columna de agua a lo largo del año. *A. catenella* y *D. acuminata* son las especies que muestran una mayor probabilidad de presencia cuando se analiza la base de datos cuantitativa transformada. Esa misma base de datos muestra que *A. ostenfeldii* tiene la más baja probabilidad de presencia y abundancia llegando a valores máximos de aproximadamente 400 células/L. Sin embargo, cuando se analiza la base de datos cualitativa la probabilidad de presencia de esta especie es alta, incluso mayor que *A. catenella* y *P. reticulatum*, evidenciando una persistencia en la columna de agua. A pesar de que *A. ostenfeldii* no ha generado floraciones en la zona estudiada, la alta presencia de ella en la columna de agua la convierte en una potencial especie que podría generar un evento si es que las condiciones ambientales son adecuadas, lo que podría ser preocupante, por ejemplo, en un contexto de cambio climático.

El análisis comparativo de las bases de datos reveló que ambas pueden entregar información relevante y distintiva para comprender la dinámica de las especies tóxicas. Por ejemplo, la base de datos transformada es útil para conocer la dinámica de especies que consistentemente muestran una mayor abundancia y presencia. Por el contrario, la base de datos cualitativa puede ser útil para conocer la dinámica de especies que muestran baja densidad, pero tienen una alta presencia en la columna de agua.

Análisis de la abundancia relativa (AR) de *Alexandrium catenella*.

Los resultados presentados corresponden al primer intento de usar los antecedentes de abundancia relativa, entre localidades y entre fechas de muestreo, para desarrollar una herramienta de alerta temprana de una floración de *Alexandrium catenella* que afecte el sur y sur este de la isla de Chiloé y



sectores adyacentes. Los datos disponibles indican para las floraciones, por ejemplo, de 2009 y 2016, que el incremento de las densidades o de los estimadores de abundancia relativa en el sector sur de Chiloé (e.g. Guapikilán, Asasao, San Pedro) incrementan más rápidamente de lo que podría ocurrir por simple división binaria de la fase vegetativa de esta microalga; por tanto el transporte pasivo está desempeñando un rol importante en el transporte de la microalga, lo cual puede ser explicado por el efecto de vientos no intensos pero persistentes del S o SE, y que explicarían el transporte pasivo desde el extremo norte de Aysén (e.g. Melinka), cuando está ocurriendo una floración en ese sector de la región de Aysén. Estas condiciones, no ocurren en todas las primavera-verano, pero se dispone de antecedentes que así lo muestran, y que incluso han permitido realizar ejercicios de dispersión de partículas que se ajustan a la distribución observada de la fase móvil de este dinoflagelado. Por esta razón, en una primera etapa, la intención es lograr resultados que permitan a partir de estimadores de abundancia relativa, obtenidas en algunas localidades ubicadas en el extremo norte de la región de Aysén (sitios centinela), activar una alerta temprana de lo que podría ocurrir en el sur y sureste de la isla de Chiloé, dado que se podrían adoptar medidas anticipadas, pero ello supone también que estas medidas pueden ser adoptadas a partir de señales acerca de la distribución y abundancia de la microalga, y no sustentadas en los niveles de toxina paralizante en los mariscos. El estado del arte, aún está muy distante, de lograr esas habilidades, pero los análisis mostrados en esta oportunidad, están sugiriendo, que al menos, las variaciones espacio temporales de esta microalga, pueden ser usados como una alerta temprana de una floración de *A. catenella* en el extremo sur de Chiloé. Los resultados son orientadores, en el sentido que las localidades que pretendían ser usadas como centinelas en el extremo norte de la región de Aysén, como Isla Ovalada (A05) e Isla Concoto (A33), las series de tiempo de los niveles de abundancia relativa según la escala definida, aún es insuficiente, dado que aún no muestra una tendencia de declinación nítida, y ello es consecuencia que la serie es aún muy corta; ello en parte se revierte cuando se incorporan más antecedentes a la representación gráfica de las sumatorias de abundancia relativas (por ejemplo el primer decil). Por otro lado, está pendiente establecer la relación entre los niveles y las frecuencias de las abundancias relativa de *A. catenella* registradas en isla Canquenes (A26) y Puerto Bonito (A29), dado que estas localidades están ubicadas en sectores en que las floraciones de esta especie son más intensas, pero los sitios están ubicados en el extremo sur del archipiélago de Los Chonos. Al trabajar en conjunto la información de estos cuatro sectores, tampoco permitió mejorar la nitidez de la tendencia de declinación, pero debe evaluarse la relación existente entre sectores centinela ubicados en el extremo norte y sur de la región de Aysén.

Por otro lado, los resultados también están mostrando que existen variaciones interanuales, y que estas variaciones se expresan no sólo en la presencia de floraciones, sino que también en su mes de inicio y en su extensión. Los resultados presentados permiten sustentar esta variabilidad. Y también se muestra que Magallanes, si bien es afectada por la toxina de esta microalga, actualmente los riesgos mayores se presentan en la región de Aysén, particularmente en la parte sur del archipiélago de las Guaitecas y la totalidad del archipiélago de Los Chonos. Magallanes norte es el sector de mayor riesgo en esta región, y en menor medida, pero también de riesgo, el extremo sur de Magallanes, en el sector de canal Beagle.



Actividad 4. Explorando las relaciones entre *Alexandrium*, *Dinophysis* y *Protoceratium*.

En esta oportunidad se ha continuado con la interpretación de estas relaciones, iniciada en la etapa previa (XIII etapa), usando los resultados de un análisis de conglomerados aplicado a los datos de abundancia relativa de los cinco taxones seleccionados, *A. catenella*, *A. ostenfeldii*, *D. acuminata*, *D. acuta* y *P. reticulatum*, para el período octubre de 2007 hasta diciembre de 2018 para los antecedentes distribuidos por períodos estacionales del año, y hasta febrero de 2019, cuando fueron ordenados entre localidades.

Los análisis e interpretación de estos resultados están mostrando en ambos casos (entre localidades y entre periodos estacionales), que las diferencias observadas entre los distintos grupos segregados, obedecen a variaciones en la abundancia de estos taxones, por tanto, es posible distinguir sectores y períodos del año con abundancias más altas. Se confirma que estas variaciones y tendencias son nítidas en cuatro de estos taxones, mostrando un mismo comportamiento, pero se excluye *A. ostenfeldii*. Estos resultados son relevantes dado que cuando se analizan los ensambles de fitoplancton de los fiordos integrados solamente por diatomeas y dinoflagelados (informes previos), estos muestran que los dominantes numéricos son diatomeas, y que los taxones estudiados, representan <3% del fitoplancton total, exceptuando cuando se presentan floraciones de estos taxones. Por tanto, independientemente de la importancia numérica de los taxones, en este caso se está mostrando que estas especies nocivas, siguen patrones espacio temporales, y que aún resta evaluar si éstos, son concordantes con aquellos de las especies dominantes de los ensambles de fitoplancton. Y también está pendiente investigar los factores causales de estos patrones.

Los resultados de los análisis entre localidades y entre estaciones del año, están mostrando que las diferencias entre los distintos grupos, se explican fundamentalmente por las abundancias de *D. acuminata*, *A. catenella* y *P. reticulatum*, siendo la primera la más abundante y la que mostró presencia en todos los grupos segregados. Pero hubo casos también en que *A. catenella* fue la especie dominante, como fue observado en el sector de Aysén sur, por ejemplo. Los estudios que es necesario desarrollar para desenmarañar estos patrones están más allá de las acciones operacionales de un programa de monitoreo, pero es un aspecto de la ecología fitoplanctónica de los fiordos que debe ser abordada, más allá de los compromisos que representa mantener un programa de monitoreo.

Los resultados del análisis entre localidades están mostrando que la distribución y abundancia de los cinco taxones estudiados, reflejó las particularidades de la geografía de los fiordos, mostrando tres grandes agrupaciones, con sus respectivos grupos significativos dentro de cada uno de estos conjuntos, y concordantes con el ordenamiento administrativo que se distingue en los fiordos sur australes, vale decir, las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes. Esta segregación está determinada por condiciones ambientales, que, en el caso de las dos regiones más australes, Aysén y Magallanes, podría ser el Golfo de Penas, que es un hito importante en los fiordos, que segregaría los factores oceanográficos que caracterizan los sectores meridionales y septentrionales de ambas regiones, respectivamente; en tanto que entre los Lagos y Aysén sería el golfo Corcovado, sin embargo, por ahora,



no se dispone de los antecedentes que permitan explicar la segregación en estos tres grandes grupos. Se debe descartar que estas diferencias obedezcan a temas metodológicos, ya sea de muestreo o de análisis en el laboratorio, por cuanto existen protocolos estandarizados para la toma de muestras, los taxones son identificados con certidumbre y consecuentemente los análisis de abundancia relativa son confiables. Además, la abundancia relativa es un buen indicador de la densidad, dado que son estimadores que están correlacionado y existe una función a partir de la cual es factible estimar la densidad, pero con un error estándar importante. En otras palabras, los resultados acerca de la distribución y abundancia de los cinco taxones estudiados, están mostrando que, en el vasto sector de los fiordos chilenos, existen condiciones climático oceanográficas, que son determinantes en el ordenamiento espacio temporal de la distribución y abundancia de estas especies. De hecho, en muy pocos casos, más bien la excepción, se apreciaron grupos que segregaron incluyendo sitios de muestreo de otra región. Hubo un par de grupos que compartieron sitios de muestreo entre Los Lagos y Aysén, pero en general los grupos estuvieron circunscritos a espacios delimitables dentro de la geografía de cada región. Y cuando ello no fue así, surge la interrogante respecto de los factores causales que determinan esas diferencias. Un comentario especial merece *D. acuta*, pues esta especie tuvo sólo importancia en un grupo característico del canal Yacaf y fiordo Puyuhuapi, cuerpos de agua que tienen una fuerte influencia del aporte de agua dulce, por lo que su carácter estuarino les confiere particularidades ambientales distintivas que favorecen a este dinoflagelado. Y además el trabajo del grupo de oceanografía del IFOP (Putemún) ha mostrado que es un sector con cuerpos de agua con tiempos de residencia de una escala del orden de 200 días, para lograr la renovación total del cuerpo de agua. Este aspecto relativo a las floraciones de algas nocivas en fiordos nacionales ha sido relevado por [Mardones et al. \(2021\)](#). Y, por otro lado, recientemente también se ha publicado acerca de una floración provocada por *D. acuminata* y *D. acuta*, en el fiordo Puyuhuapi, en que estos taxones usan de manera diferencial el hábitat ([Balrich et al., 2021](#)).

Los resultados, en un caso, permiten mostrar grupos de sitios de muestreo en sectores geográficos acotados de los fiordos, reflejando una distribución diferencial. Por ejemplo, los sitios de muestreo ubicados en el canal Beagle, en el extremo sur de Magallanes, están mostrando una distribución y abundancia de estos taxones dominados por *A. catenella*, al igual, aunque con una abundancia más alta, en el extremo norte de la región de Magallanes (provincia de Última Esperanza) y el sur del archipiélago de los Chonos en la región de Aysén, como isla Canquenes (A26) y Puerto Bonito (A29). En el sector señalado de la región de Magallanes, se agrega además *A. ostenfeldii*, especie que en general no presenta una relevancia mayor en el área estudiada. Las condicionantes ambientales que determinan esta mayor importancia relativa de *A. catenella*, en todos estos sectores, es un asunto pendiente, pero al parecer en el sector de Canal Beagle, ello sería consecuencia de condiciones oceanográficas particulares, en tanto que en sector de isla Piazzzi y sitios adyacentes en la provincia de Última Esperanza, no puede descartarse además que haya factores físicos que explicarían la mayor abundancia de este taxón en sectores geográficos específicos; en el caso de Aysén, no se dispone de una hipótesis orientada a explicar la mayor relevancia de este dinoflagelado en este sector. Y cuando se trató de los resultados relativos a los periodos estacionales del año, se apreció que durante el lapso considerado hubo dos periodos caracterizados, uno por bajas (2007-2011) y otro, por altas abundancias



(2013-2018), siendo los períodos de verano entre 2014 – 2018, los que mostraron las abundancias más altas, particularmente de *D. acuminata*. Una serie de un poco más de 11 años, no es suficiente para sustentar si estas tendencias de incremento en la abundancia reflejan un proceso regional, propio de la variabilidad climática oceanográfica o están insertos en los cambios derivados del cambio climático, siendo estos resultados las primeras señales en ese sentido, que ya se estarían percibiendo desde la década pasada.

Por otro lado, las relaciones mostradas por las variaciones de las abundancias de los 5 taxones estudiados, particularmente con la temperatura, en especial para *D. acuminata*, están mostrando, dado el alto valor tomado por el coeficiente de correlación de Pearson, que la temperatura es una variable clave asociada a la distribución y abundancia de este taxon en el sistema de fiordos. No se ha analizado, si esta relación está indicando que en las zonas en que las temperaturas son más altas, este taxón tiene una mayor abundancia, o si solamente refleja la respuesta de esta especie a los periodos más cálidos del año, como primavera verano, en especial este último. Sin embargo, los datos están mostrando, que este taxon no sólo tiene una amplia distribución en el área de estudio, sino que, además, en los últimos cinco veranos del período estudiado, las abundancias son notoriamente más altas, lo cual estaría mostrando una tendencia de cambio que podría estar asociada a un ciclo de incremento de las temperaturas del agua. No es posible indicar si respuestas reflejan variabilidad climática oceanográfica o están en el contexto del cambio climático. Datos indirectos existen, como, por ejemplo, que con la excepción del glaciar Pio XI en la región de Magallanes, todos los otros están en retroceso, asociado a una menor precipitación y temperaturas más altas que determinan la fusión del hielo glaciar. De ser correcta esta hipótesis, entonces *D. acuminata* debería tender a incrementar su distribución y abundancia hacia el sur, desde Los Lagos y Aysén, hacia la región de Magallanes, que corresponde al sector más frío de los fiordos en correspondencia con la latitud.

Actividad 5. Comparación de la densidad celular entre el estrato superior (0-10 metros) y el profundo (10-20 metros) a escala temporal y espacial.

La producción primaria y estructura de ensambles 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 y entre los distintos sectores y regiones. En este sentido hay que destacar dos cosas: Lo primero, la diferencia en cuanto a la abundancia entre las dos capas de diatomeas y dinoflagelados y lo segundo, la baja variación de especies. Según los resultados obtenidos la mayor parte de las correlaciones altas que obtuvimos entre las dos capas están asociados a sectores geográficos que tienen más influencia de agua “marina” o dicho de otra forma, sectores que se alejan de la influencia directa de ríos y glaciares. Esto puede deberse a que el modelo típico de dos capas en



estos sectores puede verse modificado, como, por ejemplo, profundizando la haloclina. Esto podría hacer que la distribución de diatomeas sea más homogénea entre los primeros 20 metros. 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.

Otra 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 las capas superficiales 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. Sin embargo, esos patrones antes mencionados para diatomeas no existen en el caso de los dinoflagelados, y su distribución vertical parece no estar dada por estas razones. Una de las explicaciones que podríamos hipotetizar es la mayor movilidad que tienen los dinoflagelados con respecto a las diatomeas por la presencia de flagelos los cuales le permiten desplazarse con mayor facilidad. Si bien este tipo de movilidad sigue siendo reducida, hay muchos estudios que demuestran una gran variedad de patrones de migración vertical de dinoflagelados, los cuales le pueden otorgar una ventaja competitiva cuando los nutrientes se agotan en la capa superficial de aguas estratificadas (Ji & Franks, 2007).

El segundo punto que es interesante destacar tiene que ver con la alta 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. Si bien en las diatomeas esta diferencia no es tan marcada, podríamos decir que en un espacio geográfico tan amplio como es el caso de estudio hay solo 6 especies que dominan por completo el ensamble fitoplanctónico, donde especies como *Skeletonema* spp. o *Pseudo-nitzschia* cf. *pseudodelicatissima*, *Pseudo-nitzschia* spp., *Amphora* sp.2 y algunos géneros de *Chaetoceros* y *Thalassiosira*, concentran más del 50% de las abundancias del fitoplancton total (esto tomando en cuenta un universo de más de 300 especies descritas). Si nos vamos al caso de los dinoflagelados los resultados se vuelven aún más extremos, donde en ambas capas hay una especie la cual domina fuertemente con abundancias que van entre el 60 y el 80% del total de dinoflagelados. Dentro de este grupo podemos destacar grupos de dinoflagelados atecados en la región de Los Lagos, o *Heterocapsa triquetra* en la parte norte de Magallanes, pero el denominador común entre las tres regiones está dado por la especie *Tripos pentagonus*, la cual está presente en todas las regiones en porcentajes muy altos, sobre todo en la región de Aysén. Sin duda es un punto a seguir en futuros estudios para poder entender mejor esta alta dominancia de esta especie en las tres regiones. Dentro de los dinoflagelados también es interesante mencionar la aparición de *Alexandrium catenella*, que si bien sus porcentajes de contribución son bastante bajos (en la mayoría de los casos



menor al 2 %). En análisis anteriores, hechos con una menor cantidad de datos, ya habíamos detectado la presencia de *A. catenella* dentro las 5 especies dominantes en algunos sectores de la región de Aysén (Guzmán *et al.* 2020), pero en este análisis esta presencia dentro de las especies dominantes se extendió también a la región de Magallanes. Llama bastante la atención la importante presencia en las zonas norte y sur de Aysén donde representa entre el 8 y 20 % del total de dinoflagelados y es aún más interesante observar su presencia dentro de las 5 especies dominantes en la región de Magallanes, sobre todo en la parte sur (estrecho de Magallanes) donde alcanza hasta un 17 % del total.

Sin embargo, hay 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 de Mareas Rojas y por lo tanto comenzamos nuestro análisis desde la forma más general posible. Dentro de esta generalidad, para estos análisis se utilizaron las abundancias totales tanto de diatomeas como de dinoflagelados por cada estación de muestreo, para luego ser agrupada además por cada una de las zonas administrativas mencionadas en los métodos, por lo que mucha de la variabilidad que existe entre especies (tanto espacial como temporal) puede estar siendo enmascarada dentro del análisis. Debido a estas razones, no podemos sacar conclusiones anticipadas sin realizar otros tipos de análisis más finos. A pesar de esto, los análisis exploratorios nos sirven para poder tener una primera impresión de lo que puede estar sucediendo entre estos dos estratos con respecto a los ensambles fitoplanctónicos en los fiordos y canales del sur de Chile y la variación regional en cuanto a su abundancia y composición de especies, permitiéndonos abrir nuevos focos de investigación en las series temporales para una mejor comprensión de la dinámica, distribución y procesos asociados a la aparición de diatomeas como dinoflagelados.

Actividad 6. Exploración de datos satelitales.

La clorofila-a tiene patrones espaciales y temporales complejos, y es el resultado de factores biológicos, físicos y químicos. Estas diferencias pueden ser resultado del crecimiento diferencial del fitoplancton, que surge en base a gradientes de nutrientes, como también a procesos de pequeña escala, relacionados con condiciones oceanográficas, específicas de las zonas de estudio (temperatura, vientos, geomorfología). Los monitoreos que consideran la toma de muestras *in-situ* de clorofila-a, entregan datos con una cierta precisión, sin embargo, presentan un alto valor y son limitados en términos de cobertura espacial. Sin embargo, un sistema efectivo de monitoreo podría ser facilitado por el uso de técnicas de percepción remota, debido a sus características de alta resolución y disponibilidad, las cuales pueden llegar a ser un complemento para el desarrollo y mejoramiento de nuevos protocolos de monitoreo. Sin embargo, las aguas costeras de canales y fiordos chilenos, presentan una señal de reflectancia compleja, la que es frecuentemente co-dominada por Materia Orgánica Disuelta Coloreada, o por sedimentos en suspensión (distinto origen), así como por la composición de especies fitoplanctónicas. Por lo tanto, la capacidad de detección de los algoritmos numéricos que utilizan datos de radiometría satelital puede ser complementado con datos que consideren la composición de fitoplancton y las características bio-ópticas de las especies presentes, tales como: pigmentos fotosintéticos (clorofila y carotenoides), centro de reacción (abierto y cerrado), coeficientes de absorción (material disuelto y fitoplancton), eficiencia fotosintética del fotosistema II (F_v/F_m), etc.



El uso de nuevos algoritmos basados en las características bio-ópticas de los ensambles fitoplanctónicos debería mejorar la precisión de las estimaciones de las propiedades ópticas del agua. Sin embargo, estos datos aún son escasos para las regiones del sur de nuestro país.

6.4. Objetivo Específico 4

Incorporar el desarrollo, implementación y utilización de nuevas técnicas de detección de microalgas y de biotoxinas, así como mantener en cultivo especies nocivas chilenas que permitan avanzar el conocimiento y comprensión de los eventos nocivos.

Actividad 1: Identificación molecular en especies de microalgas nocivas.

Las herramientas moleculares han demostrado una complementariedad en programas de monitoreo de microalgas nocivas (Kon *et al.*, 2015), debido a su simplicidad, especificidad, eficiencia y bajo costo, posicionándolos sobre otros métodos de detección como imágenes satelitales y modelaciones de dispersión de partículas (Hosoi & Sako 2005; Kon *et al.*, 2015; Vandersea *et al.*, 2017; Ruvindey *et al.*, 2018; Hatfield *et al.*, 2019). Hasta el momento se han diseñado marcadores moleculares para la identificación y cuantificación mediante PCR cuantitativa (qPCR) en tres especies de microalgas *A. catenella*, *A. ostenfeldii* y *P. reticulatum*, los cuales fueron testeados en muestras de monocultivo y en muestras provenientes de ambiente. Los resultados obtenidos soportan la hipótesis de la especificidad de los marcadores diseñados en muestra de cultivo, sin embargo, la eficiencia obtenida en muestras de terreno debe ser complementada con el diseño de sondas taqman, de manera que se logre incrementar la detección en este tipo de muestras. El uso de marcadores ribosomales se ha utilizado ampliamente para la identificación de especies fitoplanctónicas (Galluzi *et al.*, 2010, Kavanagh *et al.*, 2010, Ebenezer *et al.*, 2012), usando diferentes regiones ribosomales como la subunidad mayor (LSU o 28s), la subunidad menor (SSU o 18s) y la región 5,8s, sin embargo, la variabilidad en la detección se asocia a las diferentes tasas de evolución entre las distintas regiones (Murray *et al.*, 2019), En particular, el gen LSU ha sido utilizado en diversos estudios de microalgas, Vandersea *et al.*, 2017 identifica una región hipervariable D1-D2 de este gen, la cual permite la identificación de diferentes especies de dinoflagelados basándose en sitios polimórficos específicos, los cuales permitieron el diseño de marcadores específicos para la identificación de *A. catenella* y *A. ostenfeldii* en este estudio. La validación en muestras de ambientes se detecta la presencia de falsos positivos o falsos negativos al momento de comparar lo detectado por microscopia óptica, esto ha sido asociado a la calidad de la extracción de la muestra ambiental y la presencia de sustancias que puedan inhibir la PCR, y consecuentemente afectar los niveles de detección de las especies objetivos (Rose *et al.* 2001; Savela *et al.*, 2016). Estas diferencias pueden deberse a la complejidad del entorno natural, pudiendo distorsionar las correlaciones entre los números de copias de genes y otras características celulares de dinoflagelados (Savela *et al.*, 2016), un ejemplo de esta complejidad lo presentan especies crípticas con genomas similares que podrían generar superposiciones entre secuencias genéticas, lo que podría resultar en falsos positivos, dificultando el análisis por qPCR (Ruvindey *et al.*, 2018).



El metabarcoding es otra de las técnicas implementadas debido a los avances en los sistemas de secuenciación masivos, lo cual ha permitido ampliar nuestro conocimiento en la diversidad de organismos que se encuentran en 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 (Gutierrez *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 número de especies detectadas molecularmente versus lo identificado por microscopía (Zimmermann *et al.*, 2015) y recientemente se ha discutido sobre la aplicabilidad al monitoreo de FAN (Sildever *et al.*, 2019).

En esta etapa se describe la diversidad molecular del fitoplancton a lo largo de la Costa Pacífico entre las regiones del Bio-Bio y Aysén usando el metabarcoding como herramienta molecular con el objetivo de profundizar en la diversidad de las especies fitoplanctónicas en esta área. Los resultados muestran la detección de especies previamente descritas por identificación morfológica en etapas anteriores del proyecto validando el uso de estos métodos como herramienta complementaria a la identificación visual. Por otro lado, el metabarcoding incrementa los niveles de detección molecular en complejos taxonómicos difíciles de identificar de forma visual y potencialmente especies no descritas hasta ahora en ninguna otra costa oceánica y que eventualmente podría generar un evento nocivo en el futuro. Se logró identificar seis de los nueve órdenes de dinoflagelados que agrupan principalmente a los flagelados planctónicos marinos de vida libre Gonyaulacales, Peridinales, Gymnodinales, Suessiales, Prorocentrales y Dinophysiales y también el principal orden que agrupa a las diatomeas, Bacillariophyta. A nivel molecular se logró identificar especies pertenecientes a estos géneros, las cuales ya han sido identificadas morfológicamente en etapas anteriores del proyecto, donde varias de estas ya han generado floraciones en Chile y otras partes del mundo con consecuencias negativas para la biodiversidad y pérdidas económicas para el sector acuícola por lo cual la complementariedad de las herramientas moleculares debe continuar implementándose de manera más frecuente y con un mayor número de sitios para lograr obtener la cobertura necesaria que nos permita identificar la biodiversidad global fitoplanctónica con potencial nocivo a lo largo de la costa chilena.

Actividad 2. Distribución anual de toxinas mediante LC-Masas y LC-FL y su asociación con microalgas que las producen identificadas mediante microscopía electrónica.

Toxina Amnésica

Se comenzó el estudio de toxinas en muestras de agua, se obtuvieron algunos resultados positivos, pero en niveles bajos. La presencia de ácido domoico está asociado a la presencia de las diatomeas *Pseudo-nitzschia* spp, (Bates *et al.*, 2018; Trainer *et al.*, 2012). En las zonas de estudio, se ha detectado



la presencia de las especies *P. cf. australis* y *P. cf. pseudodelicatissima*, que podrían ser las responsables de la presencia de ácido domoico en estas muestras, pero no hemos comprobado este hecho. En general al comparar con las muestras de mariscos, también se detecta la presencia de AD en éstos, lo que es esperable, pero en todos los casos la concentración es muy baja, el nivel más alto encontrado fue de 306 ng/g, muy por debajo del límite regulatorio que es 20,000 ng/g. En la región de Magallanes solamente fue posible detectar AD en dos muestras de filtros, con niveles muy bajos, lo que explicaría que en mariscos no fuera detectado. Cabe hacer notar que los resultados de TAM son negativos para todas las muestras de mariscos, lo que sería debido a que la técnica utilizada es menos sensible al HPLC Ms.

Toxinas Lipofílicas

En general los casos positivos de PTX2 fueron mayores en las muestras de agua que en las muestras de mariscos, pero la posible explicación de esto es a los bajos niveles encontrados. Es posible que la presencia de PTX sea debido a la presencia de *D. acuminata*, como ya ha sido asociada a la producción de esta toxina en la Bahía de Tubul ([Díaz et al., 2020](#)).

En las muestras de agua, YTX fue detectada en la región de los Lagos y de Aysén, pero con niveles bajos. La presencia de esta toxina puede ser producto de *P. reticulatum* ([Miles et al., 2005](#)) que ha sido detectado habitualmente en la zona de estudio. En todos los casos analizados, los niveles de YTX son bajos.

La presencia de AZA2 (solamente en algunas muestras de mariscos) puede deberse a la presencia de dinoflagelados del género *Azadinium* ([Tillmann et al., 2009](#)), pero las bajas concentraciones encontradas en los mariscos puede ser la causa de los resultados negativos en las muestras de agua.

La única muestra positiva a TDM fue en la región de Magallanes, muestra que además fue positiva por HPLC Ms YTX y AO (pero con niveles bajos), es posible que el resultado positivo sea producto de la suma de toxinas de YTX y AO.

Las otras toxinas detectadas (solamente en mariscos de la región de Magallanes), fueron el espirólido SPX1, y de un posible espirólido que presentó las mismas transiciones que SPX1. La identidad de este posible espirólido no ha podido ser determinada aún, pero cabe hacer notar que [Almandoz et al., \(2014\)](#), en el canal de Beagle detectaron un posible espirólido, que al igual que este, tiene un tiempo de retención un poco superior a SPX1. Otra posibilidad es que este espirólido sea SPX-G ([Tillmann et al., 2014](#)). La presencia de estos espirólidos puede ser debido a *A. ostenfeldii* ([Tillmann et al., 2014](#), [Almandoz et al., 2014](#); [Salgado et al., 2015](#)), que ha sido habitualmente detectado en la zona.

Toxinas Paralizantes



En las muestras de los filtros de todas las muestras analizadas, solamente fue posible detectar toxinas paralizantes en dos muestras de la región de Magallanes en el cruce 11, seno Ventisquero (GTX2) y Puerto Eugenia (GTX1, 2 y 3). En cuanto a los resultados de los mariscos, tanto los resultados de TPM y de toxinas paralizantes por HPLC Ms son bastante concordantes. Solamente hay un caso en que los resultados de TDM son superiores a 80 μg STX eq/100 g de tejido, en cambio con HPLC/Ms dió una concentración de 68 μg STX eq/100 g de tejido, diferencia que no es muy elevada. Cabe hacer notar que con HPLC/Ms se pueden ver los diferentes análogos de toxinas paralizantes presentes, principalmente GTX2 y SXT. Hubo casos en que solo fue posible obtener resultados positivos con HPLC Ms, lo que es producto de la sensibilidad de la metodología. Una posible explicación de que muchas muestras sean positivas en mariscos, pero no en las muestras de agua es que *A. catenella* y *A. ostenfeldii*, que han sido reportados como productores de estas toxinas (Krock *et al.*, 2007; Salgado *et al.*, 2015), no sea lo suficientemente altas.

Para sacar mayores conclusiones de esta actividad hay que esperar al próximo año, cuando se cuente con una mayor cantidad de datos. Se seguirá trabajando con las muestras positivas al espirólido no determinado.

Actividad 3. Estudio de biotoxinas en tejido de mariscos.

Los resultados del estudio de biotoxinas en mariscos ya fueron discutidos en el punto anterior.

Actividad 4. Implementación de nuevas herramientas analíticas in vitro con el fin de ampliar conocimiento de la taxonomía, distribución biogeográfica, sus biotoxinas y su respuesta ecofisiológica frente a variables ambientales, de las principales especies de microalgas tóxicas,

Nuevos antecedentes acerca de la rafidoficea icitiotóxica *Heterosigma akashiwo*

Las floraciones de *Heterosigma akashiwo* son episódicas, a menudo aparecen sin previo aviso, permanecen durante un período de tiempo y desaparecen con la misma rapidez. Las células no se conservan bien y el seguimiento debe basarse en observaciones de células vivas o en la ayuda de sondas moleculares diseñadas específicamente para el organismo. La decoloración del agua en forma de agua "marrón" permanece cuando las concentraciones de células están por encima de 10,000 células/L. Dado que este organismo posee fototropismo positivo y se acumula en las aguas superficiales, o tiene distribuciones muy irregulares, las estimaciones de estas floraciones a menudo pueden estar sobreestimadas (por ejemplo, los más de 300 millones de células/L registrados para algunas floraciones) (Shumway *et al.*, 2018). En relación con la toxicidad y la mortalidad de los peces, las evidencias son confusas. Al carecer de una toxina fuertemente dominante, los modos de mortalidad a menudo toman un escenario de agentes sinérgicos como una combinación de ROS, PUFA y



glicolípidos hemolíticos (Shumway *et al.*, 2018), Esto sin mencionar el efecto de las floraciones densas en el agotamiento del oxígeno, El hecho de que estas floraciones se conozcan como 'floraciones molestas' en inglés, se debe a la incertidumbre de un agente tóxico central.

La floración de *H. akashiwo* ocurrida recientemente en otoño del 2021 en el fiordo Comau, región de los Lagos, no corresponde a un hecho inédito ni mucho menos propio de las aguas del sur de Chile. Esta rafidoficea ha sido identificada como agente causante de mortalidad de peces en Noruega, Inglaterra, Francia, España, Portugal, Italia, Croacia, Grecia, Turquía, Japón, China, Siria, Tailandia, Singapur, Arabia Saudita, Corea del Sur, Namibia, Egipto, Sudáfrica, Nueva Zelanda, Australia, Rusia, México, Bermudas, Brasil, Perú, Uruguay, Argentina y Chile (Shumway *et al.*, 2018). El presente estudio muestra por primera vez la confirmación mediante herramientas moleculares de la identidad de *H. akashiwo* para aguas de la Patagonia Chilena.

Las floraciones de esta especie producen una discoloración café, por lo cual ha sido localmente llamada 'mareas café'. Los resultados presentados en este informe muestran por primera vez un perfil de pigmentos fotosintéticos para esta especie en el sur de Chile. La cepa CREAN_HA03 posee más del 40% de su contenido de pigmentación atribuido al carotenoide fucoxantina el cual otorga a esta especie el particular color café observado durante el reciente evento 2021 en el fiordo Comau. Estos resultados contrastan con algunos perfiles de pigmentos descritos para otras cepas de esta especie en otros lugares del mundo, donde se destaca una mayor dominancia de clorofila-a en su composición (Shumway *et al.*, 2018). Esta observación es fundamental para realizar futuros algoritmos satelitales basados en los espectros de absorción de esta especie, considerando la discrepancia de las características bio ópticas entre estos dos pigmentos fotosintéticos.

En relación a su toxicidad, se han identificado o implicado varias toxinas en la acción de *Heterosigma* en peces, camarones y otros animales de prueba. Originalmente, se observó que *Heterosigma* (como *Olithodiscus luteus*) producía compuestos fenólicos similares a las macroalgas pardas. Más tarde, esta especie se identificó como directamente involucrada en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS; por ejemplo, radicales hidróxidos, superóxido y peróxido). Además, se ha identificado que las rafidoficeas en general producen ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) (Shumway *et al.*, 2018), Además, se ha detectado actividad hemolítica utilizando glóbulos rojos humanos en cultivos de *Heterosigma*, posiblemente relacionada con la presencia de PUFAS o glicolípidos. Otras indicaciones incluyen la interferencia con la regulación del calcio en las células y potencialmente las neurotoxinas, aunque no se han definido químicamente (Astuya *et al.*, 2018). Los resultados de este estudio muestran por primera vez un perfil lipídico de una cepa de *Heterosigma akashiwo* para aguas chilenas. La alta concentración de los lípidos ácido palmítico y EPA sugiere su participación como agente ictiotóxico en el fiordo Comau considerando las altas concentraciones celulares alcanzadas durante el evento 2021 (max. 70,000 cel/mL).

6.5 Objetivo Específico 5:



Difundir los resultados del programa, realizar acciones de capacitación y fortalecer la vinculación con el medio

Actividad 1. Difusión de los estimadores de abundancia relativa de los taxones nocivos.

La difusión de los estimadores de abundancia relativa, ha continuado a través de las diversas plataformas del CREA-IFOP. Una de las principales herramientas, es la aplicación móvil, disponible para Android e iOS, permitiendo una entrega inmediata del estado de abundancia relativas de los principales géneros de dinoflagelados, que han sido descritos como especies productoras de toxinas en nuestro país. Si bien, los reportes periódicos, han sido con una mayor distancia de entrega debido a los retrasos presentados en el monitoreo, se ha tratado de difundir la información lo más oportunamente.

Actividad 2. Difusión de resultados y capacitación.

Hace poco más de un año, ya es cotidiano, que las diversas reuniones y/o actividades que se realizaban de manera presencial, tomaron un formato de conexión en línea a través de diversas plataformas (Meet, Zoom, etc), las cuales han permitido la continuidad de múltiples actividades de difusión. Este tipo de conexión, ha permitido, además, una oportunidad de conectar con investigadores de múltiples puntos, a nivel nacional e internacional, con alta concurrencia, que, sin duda, era muy complejo lograr este grado de participación en actividades presenciales por el alto costo que demandaba el trasladarse a diversos puntos. Así, investigadores de nuestro centro, participaron de actividades (i.e. Congresos), relacionadas con las ciencias del mar, a través de presentaciones con los principales resultados del monitoreo de fiordos, líneas de investigación, simposios de mareas rojas, etc.

Otra de las alternativas que se realiza para dar a conocer los principales resultados del Monitoreo, es el Taller de Difusión, que, por segundo año consecutivo, se realizó de forma on-line. Sin embargo, este año, se presentó en conjunto con el Programa de Monitoreo por el Pacífico, entregando información transversal para ambos monitoreos (quistes, genética y difusión), y posteriormente, principales resultados obtenidos en el monitoreo de fiordos. En el taller, participo una alta cantidad de personas vinculadas a las mareas rojas, tanto a nivel nacional como internacional.

En esta etapa, se realizó por primera vez, una ronda de capacitaciones para profesionales vinculados a las FAN. Parte de nuestros investigadores, entregaron a través de sus presentaciones, diversos contenidos que son fundamentales para comprender la complejidad de este tema.

Actividad 3. Vinculación con el Medio.

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 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, donde 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 ser tratada 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.



7. CONCLUSIONES

7.1. Objetivo Específico 1:

Monitorear y analizar las variaciones espacio-temporales de microalgas nocivas, biotoxinas marinas, fitoplancton, quistes de dinoflagelados y de variables hidrográficas y meteorológicas en la zona de estudio.

Actividad 1: Realizar los muestreos y analizar el fitoplancton cualitativo, cuantitativo y estimar abundancia relativa de siete taxones nocivos, en todas las estaciones de la red de monitoreo.

61. Las abundancias relativas de los siete taxones nocivos, presentaron variaciones distintas según la especie, lugar geográfico, y periodo del año. Todas presentaron sus menores abundancias durante los meses de invierno. *Alexandrium catenella*, no presentó floraciones y en general bajas estimaciones de abundancia relativa. *Dinophysis acuminata*, estuvo presente durante todo el periodo de estudio, con altas estimaciones en Los Lagos, Aysén y Magallanes norte, siendo el dinoflagelado nocivo más importante desde el punto de vista cuantitativo y frecuencia. *Pseudo-nitzschia* cf. *australis*, y *P. cf. pseudodelicatissima*, presentaron altas estimaciones en toda el área y periodo de estudio.
62. Durante el período de estudio, las condiciones ambientales favorecieron la existencia de distintas floraciones en distintos sectores geográficos de los fiordos, e.g, *Pseudonitzschia* spp., *Leptocyndrus* spp., *Heterosigma* sp. *Lepidodinium* sp. (no nociva), entre otras, constituyendo un año atípico en este sentido.
63. La extensión espacial y temporal anómala de las floraciones de *P.cf. australis* y *P. cf. pseudodelicatissima* y brote de ácido domoico, estarían relacionadas con procesos advectivos del norte de la isla de Chiloé, siguiendo los principales patrones de circulación, y condiciones climáticas favorables asociadas a la fase positiva de Modo Anular Sur (SAM), asociados a anomalías de temperatura y radiación fotosintética active positivas, y menor precipitación durante fines de la primavera de 2020 y el verano de 2021 en el extremo norte de la region de Los Lagos..

Actividad 2: Muestreo de transvectores y detección toxinas.

64. Para la gran mayoría de las estaciones en las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes, las toxinas paralizantes no fueron detectadas o niveles bajos en Aysén localmente, a lo largo del periodo (marzo 2020 – febrero (2021).
65. Se presento una baja toxicidad en la región de Aysén, alcanzado un máximo de 400 µg SXT 100g⁻¹ de mariscos en sólo una de sus estaciones en la zona de Aysén sur.
66. La distribución espacial y temporal de toxinas lipofílicas, se presentaron en Los Lagos (centro y sur), y Aysén.



67. El programa mostró fue ineficaz para detectar toxina amnésica, no obstante que hubo un brote de esta toxina en la región de Los Lagos; ello es consecuencia de la frecuencia de muestreo mensual.

Actividad 3. Recolectar información hidrográfica y meteorológica, incluyendo nutrientes, en la red de estaciones definidas.

68. Las temperaturas promedio, varían según la estación del año y con la latitud, siendo las mayores en Los Lagos, y las menores en Magallanes. No se observaron diferencias significativas entre los estratos 0-10 y 10-20.

Actividad 4. Realizar los muestreos y análisis para la detección y cuantificación de quistes de dinoflagelados.

69. Un total de 52 tipos de quistes distintos son identificados en muestreos de otoño-invierno y primavera en áreas de Los Lagos, Aysén y Magallanes.
70. En Los Lagos se identificaron quistes de *A. catenella* y *P. reticulatum*, en Aysén de *A. catenella*, *A. ostenfeldii* y *P. reticulatum*, y en Magallanes de *A. ostenfeldii* y *P. reticulatum*.
71. Se identificaron por primera vez los quistes de *Protoperdinium* cf. *abei*, *Trinovantedinium variable* y *Gymnodinium aureolum* en el sur de Chile.
72. La distribución de abundancias de quistes de especies productoras de toxinas se presentó de forma heterogénea y en baja abundancia en las áreas de estudios durante los periodos muestreados.

7.2 Objetivo Específico 2:

Continuar el desarrollo del modelo físico-biológico para estimar la distribución y abundancia de *Alexandrium catenella*, en sitios selectos del sistema de fiordos y canales.

73. El modelo de *A. catenella*, no fue capaz de simular la distribución y abundancia en las floraciones de 2017 y 2018, debido principalmente a la tasa de respiración basal, y a que no se han incorporado los quistes al modelo (tasas de germinación y formación de quistes), y es parcial la respuesta de la fase vegetativa de *A. catenella* a las condiciones de temperatura, salinidad y radiación.
74. Pero, es importante notar que las funciones de tasa máxima de crecimiento bajo condiciones óptimas de temperatura y salinidad, presentaron un comportamiento esperado con máximas



tasas en periodos de primavera y verano y bajas en invierno, es por ello que se les otorgará más importancia a estas variables en el modelo.

7.3 Objetivo Específico 3:

Continuar con el análisis interpretativo de la serie de datos histórica, para lograr una mejor comprensión de la variabilidad espacio-temporal del fitoplancton y de los taxones nocivos, incluyendo niveles de toxicidad y su relación con variables ambientales.

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

75. Los conglomerados espaciales de estaciones en términos de similitud de Bray-Curtis de la densidad celular de los grupos fitoplancton y diatomeas, reduce la información de las 146 estaciones de muestreo consideradas, a cerca del 50% (71 y 69 conglomerados, respectivamente), mientras que el grupo de los dinoflagelados reduce la información a un 30% (45 conglomerados).
76. Existe una alta y significativa correlación entre las abundancias, en términos de similitud de Bray-Curtis, del fitoplancton total y diatomeas ($Rho=0.988$, $p<0.0001$), consistente con la distribución espacio-temporal de las densidades promediadas por estación del año por sitio de muestreo.
77. Los resultados obtenidos hasta ahora, siguen siendo consistentes con la hipótesis de formación de micro-hábitats y micro-nichos geográficos que afectan, positiva o negativamente, la proliferación de distintos grupos de microalgas.
78. La distribución geográfica de los conglomerados de estaciones resultantes, son reflejo del gradiente latitudinal, estacional y de condiciones ambientales locales que ameritan seguir explorando en el análisis de la base de datos.
79. 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, dependiendo de la estación del año y sitio de muestreo.
80. Estaciones de muestreo sin agrupar en los conglomerados, (40 % app del total de estaciones consideradas en el estudio), ameritan análisis más exhaustivo de las características físicas, biológicas, oceanográficas, topográficas, ambientales y otras particulares de éstas, dentro del ejercicio de análisis exploratorio de la base de datos.



Actividad 3. En búsqueda de índices como alerta temprana.

Determinación de la abundancia celular (células / Litro) correspondiente a los niveles de AR para los géneros *Alexandrium*, *Protoceratium* y *Dinophysis*.

81. Los altos coeficientes de correlación entre AR y abundancia celular (células/L) observados en *A. catenella* y *D. acuminata* pueden deberse al mayor número de veces en que estas especies fueron detectadas en el monitoreo, además de su mayor abundancia. Así, un mayor número de muestras disminuye la incerteza al momento de estimar parámetros de correlación. Por el contrario, especies como *D. acuta*, *P. reticulatum* y *A. ostenfeldii* fueron detectadas menos veces y mostraron bajas abundancias lo que incrementa la incerteza al momento de estimar parámetros.

Comparación de bases de datos cualitativa y cuantitativa (2013-2019) de los monitoreos de vigilancia y Raúl Marín Balmaceda: Efectos de la zona, año y meses.

82. La comparación entre bases de datos reveló que pueden entregar información relevante y distinta para comprender la dinámica de las especies tóxicas. Por una parte, la base de datos transformada es útil para conocer la dinámica de especies que consistentemente muestran una mayor abundancia y presencia. Por el contrario, la base de datos cualitativa puede ser útil para conocer la dinámica de especies que muestran baja abundancia, pero tienen una alta presencia en la columna de agua.

Efecto de la salinidad y temperatura en la probabilidad de presencia de los géneros *Alexandrium*, *Protoceratium* y *Dinophysis*.

83. La salinidad y temperatura afectan de manera diferente la probabilidad de presencia de las especies tóxicas, tal como lo revelaron las regresiones logísticas y los distintivos rangos salinidad-temperatura en que estas estuvieron presentes. A pesar de esto, es importante considerar que otras características físico-químicas de la columna de agua también pueden influenciar la distribución.

Estimaciones de abundancia relativa de *Alexandrium catenella*.

84. El trabajo desarrollado aún no muestra evidencias que las estimaciones de abundancia relativa de *Alexandrium catenella*, puedan ser usadas como herramienta de alerta temprana, sin embargo, los antecedentes presentados, entregan orientaciones que deben ser exploradas para evaluar la potencialidad de estas estimaciones, junto con otras variables, como puede ser el viento (para el sector norte de Aysén).



85. El uso de la información de abundancia relativa de una o dos localidades como centinelas de una floración de *A. catenella*, para la interconectividad entre el extremo norte de Aysén y el sur de Chiloé, aún es insuficiente, dado que las series aún son muy cortas y estas presentan aún un nivel de incertidumbre muy alto, pero al usar estimadores de varias localidades, se estabilizan las tendencias de declinación de los estimadores según la escala de la abundancia relativa; este es un asunto que debe ser trabajado con mayor profundidad.

Actividad 4. Explorando las relaciones entre *Alexandrium*, *Dinophysis* y *Protoceratium*.

86. El análisis de una serie de tiempo de 11 años con datos mensuales entre octubre de 2007 y febrero de 2019, recogidos desde 146 sitios de muestreo distribuidos en toda la extensión de los fiordos, muestra que, de los cinco taxones estudiados, *Dinophysis acuminata*, *Alexandrium catenella* y *Protoceratium reticulatum*, son los más relevantes, en ese orden, según estimaciones de su abundancia, estimada a partir de la abundancia relativa.
87. De las dos microalgas menos importantes, *Alexandrium ostenfeldii* y *Dinophysis acuta*, por su abundancia y su contribución a los grupos segregados según un análisis de conglomerados, la primera de ellas, mostró una mayor relevancia, en el sector sur del archipiélago de Los Chonos y el extremo norte de la región de Magallanes, dado que *D. acuta* sólo tuvo relevancia en el canal Jacaf y fiordo Puyuhuapi.
88. De los taxones nocivos estudiados, la más abundante y la única que integró todos los grupos definidos mediante un análisis de conglomerados, entre localidades y entre periodos del año, fue *Dinophysis acuminata*.
89. *Alexandrium catenella* fue el taxón más relevante en el sector sur del archipiélago de Los Chonos, el extremo norte de la región de Magallanes (provincia de Última Esperanza) y en el sector de canal Beagle.
90. La correlación positiva entre abundancia relativa y temperatura del agua de mar observada en *Dinophysis acuminata*, muestran que es una variable importante para la distribución y abundancia de esta microalga en los fiordos, como también sugieren que la distribución y abundancia de esta microalga debería tender a incrementar hacia el sur (i.e. hacia Magallanes).

Actividad 5. Análisis exploratorio del fitoplancton cuantitativo en la capa superficial (0-10m), y subsuperficial (10-20m).

91. Con respecto a las abundancias totales de diatomeas, no se encontraron diferencias significativas entre la capa superficial y subsuperficial en la mayoría de los sectores, salvo en Los Lagos Norte y Aysén Norte, donde las correlaciones entre las dos capas fueron más bajas, siendo siempre más abundantes en la capa superficial de estos sectores.
92. En cuanto a las abundancias de dinoflagelados solo se encontraron buenas correlaciones entre las dos capas en tres sectores, Los Lagos, centro y las zonas norte de Aysén y Magallanes,



mientras que en todos los otros sectores no se observa una correlación entre las capas superficial y subsuperficial.

93. Existe un patrón de disminución norte-sur en las abundancias de diatomeas, llegando a tener diferencias de hasta dos órdenes de magnitud entre la región de Los Lagos y La región de Magallanes.
94. Los dinoflagelados presentan abundancias más altas en la región de Aysén, con valores más altos en la capa subsuperficial a diferencia de las otras dos regiones donde las abundancias fueron mayores en la capa superficial.
95. Con respecto a la composición fitoplanctónica, tanto para diatomeas como dinoflagelados, solo entre tres y cinco especies representan cerca del 60 al 80% del total del ensamble fitoplanctónico.
96. A pesar que este la composición de especies de diatomeas cambia según la región, podemos observar que hay ciertas especies que se repiten y que representan el porcentaje más alto del ensamble fitoplanctónico, tales como *Pseudo-nitzschia* cf. *pseudodelicatissima*, *Skeletonema* spp., *Chaetoceros debilis*, *Leptocylindrus minimus*, *Amphora* spp., *Chaetoceros socialis* y algunas especies del género *Thalassiosira*.

7.4 Objetivo específico 4

Incorporar el desarrollo, implementación y utilización de nuevas técnicas de detección de microalgas y de biotoxinas, así como mantener en cultivo especies nocivas chilenas que permitan avanzar el conocimiento y comprensión de los eventos nocivos.

Actividad 1. Identificación molecular en especies de microalgas nocivas.

97. Tanto con qPCR como con metabarcoding los resultados logrados muestran potencialidades para que estas técnicas puedan ser usadas como técnicas rutinarias en las acciones de monitorización, pero ambas aún requieren mejorar su eficiencia en el caso del qPCR y mejorar la certidumbre respecto de los taxones identificados mediante secuenciaciones masivas.

Actividad 2. Distribución anual de toxinas mediante LC-Masas y LC-FI y su asociación con microalgas que las producen identificadas mediante microscopía electrónica.

98. Se dio inicio al muestreo de muestras de agua para la detección de toxinas lipofílicas y paralizantes mediante HPLC MS/MS.
99. Se detectó la presencia de AD en gran parte de las estaciones de Los Lagos y Aysén. En la región de Magallanes hubo dos muestras positivas. Los niveles detectados son bajos, siendo una muestra de Los Lagos, donde se obtuvo el valor máximo de 735 ng/L de agua filtrada.
100. En las tres regiones se detecta la presencia de PTX-2, pero con niveles muy bajos, obteniéndose un nivel máximo de 9 ng/L de agua filtrada.



101. YTX se detecta solo en las regiones de Los Lagos y Aysén.
102. El espirólido SPX1 se detecta en la región de Magallanes, con niveles bajo el límite de cuantificación.
103. Toxinas paralizantes fueron detectadas en dos muestras de la región de Magallanes (GTX1, GTX2 y GTX3).

Actividad 3. Estudio de biotoxinas en tejido de mariscos.

104. AD se detecta en muestras de mariscos de las regiones de Los Lagos y Aysén, pero con niveles sub-tóxicos. La concentración más alta encontrada fue de 306 ng/g.
105. PTX-2 se detecta solamente en la región de Magallanes, pero todos con niveles menores al límite de cuantificación.
106. YTX se presenta principalmente en muestras provenientes de la región de Aysén, pero con niveles bajos, concentración máxima de 623 mg/g.
107. AZA 2 es detectada solamente en algunas muestras de la Región de Los Lagos y Aysén, pero bajo el límite de cuantificación.
108. AO fue detectado en una muestra de la región de Magallanes, con niveles sub-tóxicos (45 ng/g).
109. En la región de Magallanes se detecta la presencia de SPX1. En esas mismas muestras se detecta la presencia de un posible espirólido, que tiene las mismas transiciones de SPX1, pero un tiempo de retención un poco mayor.
110. Se seguirán estudiando las muestras positivas a SPX1 y al posible espirólido, para intentar dilucidar la identidad de éste, además de investigar la posible presencia de otras toxinas.
111. Los resultados de toxinas paralizantes por HPLC/Ms con los de TPM (Bioensayo del ratón) son concordantes, solamente en un caso una muestra dio resultados superiores a 80 µg STX eq/100 g de tejido, con HPLC/Ms da una concentración levemente inferior (68 µg STX eq/100 g de tejido). Hay casos positivos solamente con HPLC/Ms, producto de la sensibilidad de la técnica.



Actividad 4. Implementación de nuevas herramientas analíticas in vitro con el fin de ampliar conocimiento de la taxonomía, distribución biogeográfica, sus biotoxinas y su respuesta eco-fisiológica frente a variables ambientales, de las principales especies de microalgas tóxicas.

Heterosigma akashiwo

112. Dado que la identificación mediante microscopía de campo luminoso es difícil e incierta, la cepa aislada de la floración ocurrida en el fiordo Comau (Leptepu) muestra que, tanto con el análisis de máxima verosimilitud como con el análisis filogenético bayesiano, que la secuencia obtenida se unió a un clado monofilético que comprendía solo secuencias de *Heterosigma akashiwo*, confirmando a este taxón como el responsable de esta floración.

Efectos de estresores múltiples sobre las tasas ecofisiológicas y toxicidades del dinoflagelado nocivo *Alexandrium catenella*.

113. Las tasas de crecimiento más altas en relación con la temperatura se encontraron para la cepa M41 (Magallanes) en el tratamiento con la temperatura más baja (12 °C), mientras que las tasas más bajas también se encontraron en esta cepa, pero con el tratamiento a temperatura más alta (17 °C).
114. Con respecto a la intensidad lumínica, las tasas de crecimiento más bajas se encontraron en el tratamiento con la menor intensidad lumínica (50 μ E) con rangos que van entre 0.16 – 0.42 d⁻¹. Sin embargo, dentro de este rango la cepa M41 (Magallanes) tiene una mayor tasa de crecimiento que la cepa ACPU (Aysén), mientras que las tasas más altas fueron encontradas en el tratamiento con una mayor intensidad lumínica (150 μ E), no encontrándose diferencias entre las dos cepas.
115. A pesar que se podría esperar que una disminución drástica en los nutrientes podrían ser un factor en las tasas de crecimiento, nuestros resultados muestran que para ambas cepas no es un factor determinante, por lo que no se encontraron diferencias en las tasas de crecimiento entre cepas.
116. En cuanto a la salinidad, el análisis es similar al de nutrientes, donde no se observa una influencia mayor en las tasas de crecimiento para ambas cepas.
117. A pesar que las tasas de crecimiento fueron más altas en la cepa de Magallanes, en todos los tratamientos las abundancias celulares fueron mucho mayores en la cepa de Aysén con respecto a la de Magallanes.



7.5 Objetivo específico 5

Difundir los resultados del programa, realizar acciones de capacitación y fortalecer la vinculación con el medio.

118. Por segundo año consecutivo, las actividades de difusión de forma presencial, no han sido posibles por la pandemia COVID-19. Sin embargo, las actividades de forma remota tienen resultados positivos, debido a la cantidad de personas que muestran interés y permiten realizar las actividades programadas.
119. Los alumnos de colegios rurales, presentan un mayor conocimiento en temas asociados a Floraciones de Algas Nocivas que aquellos de colegios de zonas urbanas de la región de Los Lagos para los cuatro niveles consultados (5to y 8vo básico, II° y IV° medio).
120. El conocimiento de los alumnos de colegios y/o zonas rurales se sustentan en experiencias familiares y que son sociabilizadas en las comunidades.



8 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Al-Kandari, M.A., A.C. Highfield, M.J. Hall, P. Hayes, D.C. Schroeder. 2011. Molecular tools separate harmful algal bloom species, *Karenia mikimotoi*, from different geographical regions into distinct sub-groups, *Harmful Algae* 10, 636-643.

Aguilera-Belmonte, A., I. Inostroza, J.M. Franco, P. Riobó & P. Gómez. 2011. The growth, toxicity and genetic characterization of seven strains of *Alexandrium catenella* (Whedon and Kofoid) Balech 1985 (Dinophyceae) isolated during the 2009 summer outbreak in southern Chile, *Harmful Algae* 12: 105–112.

ALMANDOZ, G.O., N.G. MONTOYA, M.P. HERNANDO, H.R. BENAVIDES, M.O. CARIGNAN & M.E. FERRARIO. 2014. Toxic strains of the *Alexandrium ostenfeldii* complex in southern South America (Beagle Channel, Argentina), *Harmful Algae*, 37, 100-109.

Álvarez, G., Uribe, U., Quijano-Scheggia, S., López-Rivera, A., Mariño, C., Blanco, J. 2009. Domoic prouction by *Pseudo-nitzschia calliantha* isolated from North Chile. *Harmful Algae*. 8: 938-945

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

Alves de Souza, C., D. Varela, F. Navarrete, P. Fernández, P. Leal. 2008. Distribution, abundance and diversity of modern dinoflagellates cysts assemblages from southern Chile (43–548S). *Bot. Mar.* 51, 399–410.

Alves-de-Souza, C., D. Varela, J.L. Iriarte, H.E. González, L. Guillo. 2012. Infection dynamics of Amoebohyridae parasitoids on harmful dinoflagellates in a southern Chilean fjord dominated by diatoms. *Aquat. Microb. Ecol.* 66, 183–187.

Alves-de-Souza, C., D. Varela, C. Cristobal, P. de La Iglesia, P. Fernandez, B. Hippa, C. Hernández, P. Riobo, B. Reguera, J.M. Franco, J. Diogéne, C. Garcia, N. Lagos. 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., T.S. Benevides, J.B. Santos, P. Von Dassow, L. Guillou, M. Menezes. 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., D.M. Kulis, B.J. Binder.1984. Sexuality and cyst formation in the dinoflagellate *Gonyaulax tamarens*, *J. Phycol.* 20, 418–425
- Anderson, D.M., C.A. Stock, B.A. Keafer, A. Nelson Bronzino, B., McGillicuddy, M. Keller, P.A. Matrai, J. Martin. 2005. *Alexandrium fundyense* cyst dynamics in the Gulf of Maine, *Deep Sea Res. II* 52, 2522–2542.
- 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. (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-042 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.
- Astuya, A., Rivera, A., Vega-Drake, K., Aburto, C., Cruzat, F., Ulloa, V., Caprile, T., Gallardo-Rodriguez, J.J. 2018. Study of the ichthyotoxic microalga *Heterosigma akashiwo* by transcriptional activation of sublethal marker Hsp70b in transwell co-culture assays, *PLoS ONE* 13(8): e0201438.



Bates, S., Hubbard, K. A., Lundholm, N., Montresor, M. & LEAW, C.P. 2018. *Pseudo-nitzschia*, *Nitzschia*, and domoic acid: new research since 2011, *Harmful Algae*, 79, 3-43.

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.

Blanco, J. 1995b. The distribution of dinoflagellate cysts along the Galician (NW Spain) coast, *J. Plankton Res.*, 17, 283–302.

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. (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.

BRAÑA-MAGDALENA, A., LEÃO-MARTINS, J., GLAUNER, T. & GAGO-MARTÍNEZ, A. 2014, Intralaboratory Validation of a Fast and Sensitive UHPLC/MS/MS Method with Fast Polarity Switching for the Analysis of Lipophilic Shellfish Toxins, *Journal of AOAC International*, 97,

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



Carignan, MO; Montoya, NG; Carreto, JI. 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). *Continent 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., Férard, 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.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.

Díaz, P., Álvarez, G., Varela, D., Pérez-Santos, I., Díaz, M., Molinet, C., Seguel, M., Aguilera-Belmonte, A., Guzmán, L., Uribe, E., Rengel, J, Hernández, C., Segura, C., Figueroa, R.I. 2019. Impacts of harmful algal blooms on the aquaculture industry: Chile as a case study. *Perspectives in Phycology*, DOI: 10.1127/pip/2019/0081

Díaz, P.A., Álvarez, G., Seguel, M., Marín, A., Krock, B. 2019. First detection of pectenotoxin-2 in shellfish associated with an intense spring bloom of *Dinophysis acuminata* on the central Chilean coast. *Marine Pollution Bulletin*. 158: 111414.

Díaz, P.A., Álvarez, G., Seguel, M., Marín, A. & Krock, B. 2020. First detection of pectenotoxin-2 in shellfish associated with an intense spring bloom of *Dinophysis acuminata* on the central Chilean coast, *Marine Pollution Bulletin*, 158, 111414.



- 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.
- Dolédec, S., Chessel, D., Gimaret-Carpentier, C. 2000. Niche separation in community analysis: A new method. Ecology 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.
- Ebenezer V, L Medlin & JS Ki. 2012. Molecular detection, quantification, and diversity evaluation of microalgae, Marine Biotechnology 14: 129-142.
- Edvardsen, 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.
- EU-RL-MB January 2015, EU-Harmonised Standard Operating Procedure for determination of Lipophilic marine biotoxins in molluscs by LC-MS/MS, Version 5.
- Farmer, D.M., Freeland, H.J. 1983. The physical oceanography of fjords. Progress in Oceanography 12, 147-220.
- Fischer, A., Brosnahan, M.L., Anderson, D.M. 2018. Quantitative response of *Alexandrium catenella* cyst dormancy to cold exposure. Protist 169: 645-661.
- Fossat, B., Porth-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.
- Fux, E., Smith, J.L., Tong, M., Guzmán, L., Anderson, D.M. 2011. Toxin profiles of five geographical isolates of *Dinophysis* spp. from North and South America Toxicon 57 (2): 275-287.



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.

Galluzzi L, E Bertozzini, A Penna & F Perini. 2010. Análisis del contenido del gen del rRNA en el dinoflagelato mediterráneo *Alexandrium catenella* y *Alexandrium taylori*: Implicaciones para los métodos cuantitativos de monitoreo basados en PCR en tiempo real. *Diario de Fisiología Aplicada* 22(1):1-9

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. Rantos, A.L., Biard, T., Scharek, R., Vaulot, 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-042 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.

Guzmán, L., O, Espinoza, P, Carbonell, R, Martínez, G, Pizarro, P, Salgado, J, Mardones, G, Fuenzalida, V, Besoain, E, Cascales, M, Palma, C, Alarc3n, H, Pacheco, C, Toro, L, Iriarte, V, Mu3noz, M,F, Cornejo, G, Labra, L, L3pez, J, C3ceres, K, Correa, B, Olivares, R, Gonz3lez, C, Soto, L, Lincoqueo, 2020, Programa de manejo y monitoreo de las mareas rojas en las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes, etapa XIII 2019-20, Informe Final, 135 p, + Figuras, Tablas, Anexos, Subsecretaría de Economía y EMT,

Guzmán, L., Espinoza, O., Paredes, J., Salgado, P. 2021. Patrones espacio temporales en fiordos chilenos de los dinoflagelados *Alexandrium catenella*, *A. ostenfeldii*, *Dinophysis acuminata*, *D. acuta* y *Protoceratium reticulatum* entre 2007 y 2019, Libro de resúmenes XL Congreso Ciencias del Mar, 224 pp.

Hansen, G., Daugbjerg, N., Henriksen, P. 2000. Comparative study of *Gymnodinium mikimotoi* and *Gymnodinium aureolum*, comb. nov, (= *Gyrodinium aureolum*) based on morphology, pigment composition, and molecular data, J. Phycol. 36: 394–410.

Haro, D., Aguayo, A., Acevedo, J. 2013. Características oceanográficas y biológicas de las comunidades del plancton y necton del área marina costera protegida Francisco Coloane: una revisi3n, An. Inst. Patagon, 41(1): 77-90.

Hatfield R, T Bean, A Turner, D Lees, J Lowther, A Lewis, Cr Baker-Austin. 2019. Development of a TaqMan qPCR assay for detection of *Alexandrium spp* and application to harmful algal bloom monitoring, Toxicon X 2: 100011.

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

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

Huovinen, P. & I. Gomez. 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. & R. Gentleman. 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. 2012. Effects of weather-related episodic events in lakes: An analysis based on high frequency data, *Freshw. Biol.* 257, 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.

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

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,

Keafer, B.A., Buesseler, K.O., Anderson, D.M. 1992. Burial of living dinoflagellate cysts in estuarine and nearshore sediments. *Mar. Micropaleontol.* 20, 147–161.



- Keafer, B.A., Churchill, J.H., McGillicuddy Jr.D.J., Anderson, D.M. 2005. Bloom development and transport of toxic *Alexandrium fundyense* populations within a coastal plume in the Gulf of Maine. Deep Sea Res. II 52, 2674–2697.
- Kirn, S.L., Townsend, D.W., Pettigrew, N.R. 2005. Suspended *Alexandrium* spp, hypnozygote cysts in the Gulf of Maine. Deep Sea Res. II 52: 2543–2559.
- Kon N, S Teng, K Hii, L Yek, A Mujahid, H Lim, P Lim & C Leaw. 2015. Spatial distribution of toxic *Alexandrium tamiyavanichii* (Dinophyceae) in the Southeastern South China Sea-Sulu Sea: A molecular-based assessment using real-time quantitative PCR (qPCR) assay, Harmful Algae 50: 8-20.
- 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.
- Krock, B., Seguel, C.G. & Cembella, A.D. 2007. Toxin profile of *Alexandrium catenella* from the Chilean coast as determined by liquid chromatography with fluorescence detection and liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. Harmful Algae 6: 734–744.
- 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. & K.A. Steidinger. 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. & J.L. Iriarte. 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.



- Lewis, J. 1991. Cyst-theca relationships in *Scrippsiella* (Dinophyceae) and related orthoperidinioid genera. *Botanica Marina* 34: 91-106.
- 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. & K. Zonneveld. 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. & G. Hallegraeff. 2016. Role of resting cysts in Chilean *Alexandrium catenella* dinoflagellate blooms revisited, *Harmful Algae* 55: 238–249.
- McQuoid, M., Godhe, A. & K. Nordberg. 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. & B. Krock. 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. *Archaeoperidinium saanichi* sp. nov.: a new species based on morphological variation of cyst and theca within the *Archaeoperidinium 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.

Miles, C. O., I. Samdal, A. Aasen, J.A. Jensen, D.J. Quilliam, M.A. Petersen, D. Briggs, L. M. Wilkins, F. Rise & J.M. Cooney. 2005. Evidence for numerous analogs of yessotoxin in *Protoceratium reticulatum*. *Harmful Algae*, 4, 1075-1091.

Montero, P., G. Daneri, H. González, J.L. Iriarte, F. Tapia, L. Lizrraga, N. Sánchez & O. Pizarro. 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., P.D. Nichols, M.F. de Salas, G.M. Hallegraeff. 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., J.J. Dorantes-Aranda, A.R. Place & G. Hallegraeff. 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.

Murray S, R Ruvindy, G Kohli, D Anderson & M Brosnahan, 2019, Evaluation of sxtA and rDNA qPCR assays through monitoring of an inshore bloom of *Alexandrium catenella* Group 1, Scientific Reports 9:14532.

Oksanen, J.; Kindt, R.; Legendre, P.; O'Hara, B.; Henry, M.; Stevens, H. The vegan package, Commun. Ecol. Package 2007, 10, 631–637.

Pag, B., Pag, M., Nol, 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. 2006. Study of the effect of temperature, irradiance and salinity on growth and yessotoxin production by the dinoflagellate *Protoceratium reticulatum* in culture by using a kinetic and factorial approach. *Mar. Environ. Res.* 62, 286–300.
- Penna, A. & L. Galluzzi. (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.
- Nehring, S. 1996. Recruitment of planktonic dinoflagellates: importance of benthic resting stages and resuspension events. *Int. Rev. Ges. Hydrobiol.* 81, 513–527.
- Ostergaard, M. & O. Moestrup. 1997. Autecology of the toxic dinoflagellate *Alexandrium ostenfeldii*: life history and growth at different temperatures and salinities. *Eur. J. Phycol.* 32: 9-18.
- Paz, B., P. Riobó, M.L. Fernández, S. Fraga, J.M. Franco. 2004. Production and release of yessotoxins by the dinoflagellates *Protoceratium reticulatum* and *Lingulodinium polyedrum* in culture. *Toxicon* 44, 251–258.
- Pitcher, G.C., Cembella, A.D., Krock, B., Macey, B.M., Mansfield, L. 2020. Do toxic *Pseudo-nitzschia* species pose a threat to aquaculture in the southern Benguela eastern boundary upwelling system? *Harmful Algae*. 99: 101919.
- Pizarro, G., Pesse, N., Salgado, P., Alarc3n, C., Garrido, C. & L. Guzmán. 2012. Determinaci3n de la capacidad de adherencia, mecanismos de propagaci3n y métodos de destrucci3n de *Alexandrium catenella* (célula vegetativa y quiste), Informe final, 79 p, + Figuras + Tablas + Anexos, Ministerio de Economía, Fomento y Reconstrucci3n- Subsecretaría de Pesca y Acuicultura.



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

Pizarro G., Arévalo, F., Morono, A., Riobó, P., Franco, J., Zamora, C. & L. Guzmán. 2014b. Emergent lipophilic toxins in the Magellan region (47-55 °S), Chile. The 16th International Conference on Harmful Algae, 27 October-01 November 2014, Wellington, New Zealand, Abstract Book, p, 124.

Quilliam, M.A. and Wright, J.L.C. 1995. Methods for diarrhetic shellfish poisons. Ch. 6. In Manual on Harmful Marine Microalgae. G.M. Hallegraeff, D.M. Anderson, and A.D. Cembella (Eds.), p. 95-111. IOC Manuals and Guides No. 33. UNESCO, Paris.

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.; Gerdt, 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.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.

Roose A, E Garnier & M Harry. 2001. Extraction and purification of microbial DNA from soil and sediment samples. *Applied Soil Ecology* 18: 47–60.

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

Ruvindy R, C Bolch, L MacKenzie, K Smith & S Murray. 2018. qPCR assays for the detection and quantification of multiple paralytic shellfish toxin-producing species of *Alexandrium*. *Frontiers in Microbiology* 9: 3153.



- 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.
- Savelle H, K Harju, L Spoof, E Lindehoff, J Meriluoto, M Vehniäinen & A Kremp. 2016. Quantity of the dinoflagellate sxtA4 gene and cell density correlates with paralytic shellfish toxin production in *Alexandrium ostenfeldii* blooms, *Harmful Algae* 52: 1-10.
- 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. 2009. 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.* 379, 91–107.
- Scholin, C.A., Herzog, M., Anderson, D.M. 1994. Identification of group and strain specific genetic markers for globally distributed *Alexandrium* (Dinophyceae), II, Sequence analysis of a fragment of the LSU rRNA gene, *J. Phycol.* 30, 999–1011.
- Seguel, M. & A. Sfeir. 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., A. Sfeir, V. Alvornoz. 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.

Shumway, S. E., J.M. Burkholder & S.L. Morton. 2018. *Harmful algal blooms : a compendium desk reference* / Wiley Blackwell.

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.

Stock, C.A., McGillicuddy Jr., D.J., Solow, A.R., Anderson, D.M. 2005. Evaluating hypotheses for the initiation and development of *Alexandrium fundyense* blooms in the western Gulf of Maine using a coupled physical-biological model, *Deep Sea Res*, II 52, 2715–2744.

Stoeck, T., Frhe, 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.

Tillmann, U., M. Elbrchter, B. Krock, U. John & A. Cembella. 2009. *Azadinium spinosum* gen, et sp, nov. (Dinophyceae) identified as a primary producer of azaspiracid toxins. *European Journal of Phycology*, 44, 63-79,

Tillmann, U., A. Kremp, P. Tahvanainen & B. Krock. 2014. Characterization of spirolide producing *Alexandrium ostenfeldii* (Dinophyceae) from the western Arctic. *Harmful Algae*, 39: 259-270.

Trainer, V., L. Bates, N. Lundholm, A.E. Thessen, W.P. Cochlan, N.G. Adams & C.G. Trick. 2012. *Pseudo-nitzschia* physiological ecology, phylogeny, toxicity, monitoring and impacts on ecosystem health, *Harmful algae*, 14, 271-300.

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., Vsquez, M. 2011. Latitudinal transects in the southeastern Pacific Ocean reveal a diverse but patchy distribution of phycotoxins. *Toxicon* 58: 389-397.



Turner, A.D., Dhanji-Rapkova, M., Fongs, S.Y.T. Hungerford, J., McNabb, P.S., Boundy, M.J. Harwood, D.T. & Collaborators. 2020. Ultrahigh-Performance Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometry Method for the Determination of Paralytic Shellfish Toxins and Tetrodotoxin in Mussels, Oysters, Clams, Cockles, and Scallops: Collaborative Study, *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 103, 533-562.

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. 2001. First report of diarrhetic shellfish toxins in Magellanic Fjords, southern Chile, *J. Shellfish Res.* 20, 69–74.

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

Valdenegro, A., & N. Silva. 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.

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

Watras, C.J., S.W. Chisholm, D.M. Anderson. 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., T. Hirano, T. Yoshimatsu, Y. Tanimoto, T. Matsumoto, S. Suzuki, Y. Hayashi, A. Urabe, K. Miyamura, S. Sakamoto, M. Yamaguchi, Y. Tomaru. 2016. Occurrence of *Karenia papilionacea* (Dinophyceae) and its novel sister phylotype in Japanese coastal waters. *Harmful Algae* 57, 59-68.

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

Zablago, K., Chrapusta, E., Bober, B., Kamiski, A., Adamski, M., Bialczyk, J. 2016. Environmental roles and biological activity of domoic acid: A review. *Algal Research* (13) 94 – 101.



Zapata, M. 2005, Recent advances in pigment analysis as applied to picophytoplankton. *Vie Et Milieu* 55, 233–248.

Zimmermann, J., G. Glöckner, R. Jahn, N. Enke & B. Gemeinholzer. (2015). Metabarcoding vs, morphological identification to assess diatom diversity in environmental studies. *Molecular ecology resources*, 15 3, 526-42.

Zonneveld, K.A.F. & V. Pospelova. 2015. A determination key for modern dinoflagellate cysts, *Palynology* 38, 387–409.



INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO / DIVISIÓN DE INVESTIGACIÓN EN ACUICULTURA



INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO

Sección Ediciones y Producción

Blanco 839, Fono 56-32-2151500

Valparaíso, Chile

www.ifop.cl



