



INFORME FINAL TOMO I

Convenio de Desempeño 2020

Programa de Manejo y Monitoreo de las Floraciones Algales
Nocivas y Toxinas Marinas en el Océano Pacífico del Centro Sur
de Chile (36° - 44 °S), Etapa III, 2020 – 2021.

SUBSECRETARÍA DE ECONOMÍA Y EMT / Mayo 2021



INFORME FINAL TOMO I

Convenio de Desempeño 2020
Programa de Manejo y Monitoreo de las Floraciones Algales Nocivas
y Toxinas Marinas en el Océano Pacífico del Centro Sur de Chile
(36° - 44 °S), Etapa III, 2020 – 2021.

SUBSECRETARÍA DE ECONOMÍA Y EMT / Mayo 2021

REQUIRENTE

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

Subsecretaría de Economía y
Empresas de Menor Tamaño
Julio Alberto Pertuze Salas

EJECUTOR

INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO, IFOP

Director Ejecutivo
Luis Parot Donoso

Jefe División Investigación en Acuicultura
F. Leonardo Guzmán Méndez

JEFE DE PROYECTO

Oscar Espinoza González



SUBSECRETARÍA DE ECONOMÍA Y EMT / Mayo 2021

AUTORES

Oscar Espinoza González
Leonardo Guzmán Méndez
Pablo Salgado Garrido
Pamela Carbonell Arias
Luis Norambuena Subiabre
Emma Cascales Hellman
Jorge Mardones Sánchez
Javier Paredes Mella
Gonzalo Fuenzalida del Río
Héctor Tardón Sepúlveda
Christian Espinoza Alvarado
Julia Cáceres Chamizo
Leandro Lincoqueo Saldivia
Loreto López Rivera
Gissela Labra Holzapfel
Karen Correa Sepúlveda
Bianca Olivares Olivares
Rosa González González
Carolina Soto Castillo
Verónica Muñoz Ojeda
María Fernanda Cornejo Acevedo
Lorena Ramírez Epple

COLABORADORES

Mario Retamal Mancilla
Rudi Aguilar Márquez
Darwin Retamal Caimapo
Juan Carlos Union Barria
Mauricio Palma Alarcón

TOMO I

TEXTOS



RESUMEN EJECUTIVO

El presente informe final forma parte de los compromisos del estudio “*Programa de manejo y monitoreo de las floraciones de algas nocivas y toxinas marinas en el océano Pacífico del centro sur de Chile (36° - 44°S), Etapa III, 2020 - 2021*”, que comenzó en enero de 2020 y se extendió por un periodo de 12 meses. El estudio está inserto en el Convenio de Desempeño 2020: Asesoría Integral para la Pesca y Acuicultura 2020-2021, que desarrolla el Instituto de Fomento Pesquero (IFOP) en convenio con la Subsecretaría de Economía y Empresas de Menor Tamaño.

El objetivo general del estudio es “Contar con un sistema de información, periódica y oportuna, sobre microalgas nocivas, biotoxinas marinas, fitoplancton, variables oceanográficas y meteorológicas, basado en un muestreo estandarizado, de amplia cobertura espacial y adecuado a la realidad geográfica de la costa expuesta al océano Pacífico del centro sur de Chile”. El estudio comprende un total de cuatro objetivos específicos, los cuales están orientados al monitoreo de las variables objetivo de este estudio, las cuales incluyen la identificación y cuantificación del fitoplancton cualitativo y cuantitativo con énfasis en microalgas nocivas, toxinas marinas, además de identificación y cuantificación de quistes de resistencia de dinoflagelados, nutrientes en la columna de agua (nitrato, nitrito, fosfato y amonio) e información oceanográfica y meteorológica

Para efectos del monitoreo, el área de estudio comprendió cinco regiones, con un total de 21 transectos y 67 estaciones de muestreo (**Figura A a G**). Los transectos estuvieron distribuidos en estaciones a 2, 5 y 10 millas de la costa. Con 4 transectos en la región del Biobío, 3 transectos en la región de la Araucanía, 4 transectos en la región de los Ríos, 9 transectos en la región de los Lagos y 1 transecto en la región de Aysén (**Tabla A**). La frecuencia de muestreo es mensual con un total de 12 cruceros a realizar entre los meses de enero y diciembre de 2020. Para efectos de este informe final se informarán los cruceros 1 a 12, correspondientes a los meses entre enero y diciembre 2020. Debido a la contingencia asociada al COVID-19, algunos de estos cruceros sufrieron un retraso en su ejecución finalizando durante el mes de enero de 2021, lo que es explicado en detalle en la sección de gestión del proyecto.

En este informe final se entregan los resultados ordenados para cada objetivo del proyecto, el objetivo 3.2.1 incluye los resultados asociados al análisis del fitoplancton cualitativo, la abundancia relativa de especies nocivas, análisis de biotoxinas marinas, nutrientes y datos oceanográficos, resultados del análisis interpretativo de los datos históricos del proyecto asociados a los objetivos 3.2.2, los resultados del objetivo 3.2.3 asociados a nuevas técnicas de detección de microalgas y los resultados del objetivo 3.2.4 de difusión del proyecto.

El muestreo de mariscos para la detección de toxinas, se orientó hacia especies centinelas en cada bahía, sin perjuicio de la recolección de otros mariscos según las necesidades, desde el punto de vista de la salud pública, u otras particularidades de cada región de estudio. Los mariscos muestreados en cada sector corresponden a cholga en el caso de Coliumo, Colcura y Tubul y navajuela en el caso de la bahía de Llico, choro zapato en los sectores de Nehuentué, Puerto Saavedra, Quele y Mehuín, Colun,



almejas en Niebla, Playa Brava, Carelmapu, machas en Mar Brava y Cucao y piures en Bahía Mansa.

Las muestras de mariscos para determinar las toxinas paralizantes de los mariscos (TPM), toxina diarreica de los mariscos (TDM) y toxina amnésica de los mariscos (TAM) son entregadas al laboratorio de la Secretaría Regional Ministerial de Salud de la región de Los Lagos. Los resultados que se entregan en este informe final corresponden a los obtenidos durante los 12 cruceros mencionados anteriormente, los cuáles son presentados en microgramos equivalentes de saxitoxina por 100 gramos de carne de molusco ($\mu\text{g eq. STX } 100 \text{ g}^{-1}$) en el caso del TPM, en términos cualitativos según los tiempos de muerte de los ratones en un lapso de 24 horas en el caso del TDM y en microgramos de ácido domoico por gramo de carne de marisco ($\mu\text{g g}^{-1}$) en el caso del TAM.

El muestreo de fitoplancton se realizó en todas las estaciones de cada región de estudio. En lo que respecta a este informe final, se presentan los resultados de los análisis de fitoplancton cualitativo y abundancias relativas de los cruceros 1, a 12 de 2020. Para el análisis cualitativo del fitoplancton las muestras fueron recolectadas mediante arrastres verticales desde 20 m de profundidad hasta la superficie o según la profundidad del lugar, usando una red de trama de malla de $23 \mu\text{m}$, además se estimó la abundancia relativa de *Alexandrium catenella*, *A. ostenfeldii*, *Dinophysis acuminata*, *D. acuta*, *Protoceratium reticulatum*, *Pseudo-nitzschia* cf. *australis* y *P.* cf. *pseudodelicatissima*, utilizando las escalas de abundancia relativa que se entregan en la **Tabla B**. Además, se identificaron a nivel específico todas las microalgas presentes, consignando hasta el nivel taxonómico más alto posible en los casos en que no son identificadas a nivel de especie. Mientras que, los muestreos cuantitativos se realizaron muestreando la columna de agua entre los 20 m de profundidad y superficie, utilizando una manguera de 2,5 cm de diámetro. La columna es fraccionada en dos estratos; un primer estrato de superficie a 10 m y el segundo de 10 a 20 m de profundidad (en las estaciones donde la profundidad permita el muestreo en estos dos estratos). El fitoplancton cualitativo se entrega como presencia/ausencia y en el caso de la abundancia relativa, los datos son presentados según el nivel alcanzado en las respectivas escalas definidas para cada taxón. Los resultados cuantitativos son entregados en células por litro (cél L^{-1}).

En cada sitio de muestreo, se tomaron muestras para el análisis de nutrientes (nitrato, nitrito, fosfato y silicato) además, de perfiles de temperatura, salinidad, oxígeno disuelto, clorofila (fluorescencia) y densidad de la columna de agua mediante sensores electrónicos (CTD-OF) hasta la profundidad que permita la topografía del lugar. También se registró la transparencia de agua mediante disco Secchi. En cada una de las estaciones se registró la temperatura, humedad relativa del aire, radiación solar, velocidad y dirección del viento y precipitación.

Finalmente se incluyen aspectos relativos a la gestión del proyecto haciendo referencia a las complejidades en el desarrollo de las actividades debido a la contingencia por COVID-19 y su impacto en las actividades de terreno y laboratorio que han derivado en retrasos con respecto a la carta Gantt propuesta en los términos técnicos de referencia.



ÍNDICE GENERAL

	Página
RESUMEN EJECUTIVO	i
ÍNDICE GENERAL	iii
ÍNDICE DE TABLAS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
1. INTRODUCCIÓN.....	17
2. ANTECEDENTES	20
3 OBJETIVOS	21
4 METODOLOGÍA DE TRABAJO.....	22
4.1 Metodología objetivo específico 1. Monitorear y analizar las variaciones espacio-temporales de microalgas nocivas, biotoxinas marinas, fitoplancton, quistes de dinoflagelados y variables hidrográficas y meteorológicas en la zona de estudio.....	22
4.2 Metodología objetivos específico 2 . Continuar con el análisis interpretativo de los datos obtenidos disponibles desde el año 2018, 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	30
4.3 Metodología objetivo específico 3. 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 con el conocimiento y comprensión de los eventos nocivos.	34
4.4 Metodología objetivo específico 4. Difundir los resultados del programa, realizar acciones de capacitación y fortalecer la vinculación con el medio	41
5. GESTION DEL PROYECTO.....	43
6. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	45
6.1 Objetivo específico 1. Monitorear y analizar las variaciones espacio-temporales de microalgas nocivas, biotoxinas marinas, fitoplancton, quistes de dinoflagelados y variables hidrográficas y meteorológicas en la zona de estudio	45



6.2 Objetivo específico 2.

Continuar con el análisis interpretativo de los datos obtenidos disponibles desde el año 2018, 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.78

6.3 Objetivo específico 3.

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 con el conocimiento y comprensión de los eventos nocivos...90

6.4 Objetivo específico 4.

Difundir los resultados del programa, realizar acciones de capacitación y fortalecer la vinculación con el medio97

7. CONCLUSIONES 58

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 107

Tablas

Figuras



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla A. Localidades de muestreo de agua, coordenadas y código del sitio. CTD: perfiles oceanográficos; N: nutrientes, S: disco Secchi, M: meteorológicas, para cada una de las regiones administrativas contempladas en el programa de monitoreo.

Tabla B. 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.

Tabla C. Localidades de muestreo de marisco centinela primario, coordenadas y código del sitio, para cada una de las regiones administrativas contempladas en el programa de monitoreo. Se agrega Río Colún como estación complementaria para la extracción de mariscos en la región de Los Ríos, debido a que es el punto más cercano la estación de Río Bueno (Sin recurso).

Tabla 1.1.1. Resultados de análisis de toxinas en muestras de moluscos bivalvos colectados en los cuatro sectores de la región del Biobío. (ND = No Detectado; POS = positivo; SSC xx HRS = muerte a las xx horas sin signos característicos).

Tabla 1.1.2. Resultados de análisis de toxinas en muestras de moluscos bivalvos colectados en los tres sectores de la región de La Araucanía. (ND = No Detectado).

Tabla 1.1.3. Resultados de análisis de toxinas en muestras de moluscos bivalvos colectados en los cuatro sectores de la región de Los Ríos. (ND = No Detectado; POS = positivo; SSC xx HRS = muerte a las xx horas sin signos característicos).

Tabla 1.1.4. Resultados de análisis de toxinas en muestras colectadas en los cinco sectores de la región de Los Lagos. (ND = No Detectado; S/I = Sin información; POS = positivo; SSC xx HRS = muerte a las xx horas sin signos característicos).

Tabla 1.1.5. Concentración de PTX-2, AZA2, Gym, DA, C1, GTX-2 y Sxt por HPLC MS/MS en muestras de mariscos recolectados en estaciones de la región de Biobío.

Tabla 1.1.6. Concentración de PTX-2, AZA2, Gym, DA, C1, GTX-2 y Sxt por HPLC MS/MS en muestras de mariscos recolectados de la región de La Araucanía.

Tabla 1.1.7. Concentración de PTX-2, AZA2, Gym, DA, C1, GTX-2 y Sxt por HPLC MS/MS en muestras de mariscos recolectados de la región de Los Ríos.

Tabla 1.1.8. Concentración de PTX-2, AZA2, Gym, DA, C1, GTX-2 y Sxt por HPLC MS/MS en muestras de mariscos de la región de Los Lagos.

Tabla 1.1.9. Concentración de PTX-2, AZA2, Gym, DA, C1, GTX-2 y Sxt por HPLC MS/MS en muestras de Fitoplancton recolectados en estaciones seleccionadas de las regiones del Biobío, de La Araucanía, de Los Ríos y de Los Lagos.



Tabla 1.2.1. Se presenta máximo (Max.), mínimo (Min.), promedio ($\bar{x}$), y desviación estándar (D.S) de las concentraciones de nitrito (NO₂), nitrato (NO₃), fosfato (PO₄) y silicato (Si(OH)₄), para los cruceros 1, 2 y 3 de la etapa III 2020, en las 5 regiones que comprende este estudio.

Tabla 1.2.2. Se presenta máximo (Max.), mínimo (Min.), promedio ($\bar{x}$), y desviación estándar (D.S) de las concentraciones de nitrito (NO₂), nitrato (NO₃), fosfato (PO₄) y silicato (Si(OH)₄), para los cruceros 4, 5 y 6 de la Etapa III 2020, en las 5 regiones que comprende este estudio.

Tabla 1.2.3. Se presenta máximo (Max.), mínimo (Min.), promedio ($\bar{x}$), y desviación estándar (D.S) de las concentraciones de nitrito (NO₂), nitrato (NO₃), fosfato (PO₄) y silicato (Si(OH)₄), para los cruceros 7, 8 y 9 de la Etapa III 2020, en las regiones que comprende este estudio

Tabla 1.2.4. Se presenta máximo (Max.), mínimo (Min.), promedio ($\bar{x}$), y desviación estándar (D.S) de las concentraciones de nitrito (NO₂), nitrato (NO₃), fosfato (PO₄) y silicato (Si(OH)₄), para los cruceros 10, 11 y 12 de la Etapa III 2020, en las regiones que comprende este estudio

Tabla 1.4.1. Diversidad y abundancia (quistes $\times$ cm⁻³ sh) de quistes en sedimentos superficiales de la región del Biobío, obtenidos en agosto 2020.

Tabla. 1.4.2. Diversidad y abundancia (quistes $\times$ cm⁻³ sh) de quistes en sedimentos superficiales de la región de La Araucanía, obtenidos en agosto 2020.

Tabla 1.4.3. Diversidad y abundancia (quistes $\times$ cm⁻³ sh) de quistes en sedimentos superficiales de la región de Los Ríos, obtenidos en agosto 2020.

Tabla. 1.4.4. Diversidad y abundancia (quistes $\times$ cm⁻³ sh) de quistes en sedimentos superficiales de la región de Los Lagos obtenidos, en agosto y septiembre 2020.

Tabla 1.4.5. Diversidad y abundancia (quistes $\times$ cm⁻³ sh) de quistes en sedimentos superficiales de la región del Biobío, obtenidos en diciembre 2020.

Tabla. 1.4.6. Diversidad y abundancia (quistes $\times$ cm⁻³ sh) de quistes en sedimentos superficiales de la región de La Araucanía, obtenidos en enero 2021.

Tabla.1.4.7. Diversidad y abundancia (quistes $\times$ cm⁻³ sh) de quistes en sedimentos superficiales de la región de Los Ríos, obtenidos en enero 2021.

Tabla. 1.4.8. Diversidad y abundancia (quistes $\times$ cm⁻³ sh) de quistes en sedimentos superficiales de la región de Los Lagos obtenidos, en enero 2021.

Tabla.2.3.1. Listado de dinoflagelados registrados en la columna de agua (célula planctónica) y en sedimentos (quiste bentónico) de las regiones del Biobío, La Araucanía, Los Ríos y Los Lagos, entre enero 2020 a enero 2021.

Tabla 2.3.2. Diversidad y abundancia (quistes $\times$ cm⁻³ de sh) de quistes de dinoflagelados en testigo de sedimento de 23 cm de longitud de Caleta Zorra 5 millas, obtenido en diciembre 2019.



Tabla 3.2.1. An3logos de toxinas paralizantes de cinco cultivos de *A. catenella* aislados desde la regi3n del Bío-Bío. DL=Límite detección. ND=no detectado.



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura A. Sector geográfico que abarcará el estudio, incluyendo la ubicación de los transectos de muestreo de agua en cada una de las regiones administrativas consideradas.

Figura B. Sector geográfico que abarcará el estudio, incluyendo la ubicación de las estaciones de extracción de transvectores en cada una de las regiones administrativas consideradas.

Figura C. Ubicación geográfica de las bahías consideradas en la región del Biobío, incluyendo los cuatro transectos de muestreo de agua (color azul) y las estaciones de extracción de transvectores (color verde) que se realizará en cada sitio.

Figura D. Ubicación geográfica de los lugares considerados en la región de La Araucanía, incluyendo los tres transectos de muestreo de agua (color azul) y las estaciones de extracción de transvectores (color verde) que se realizará en cada sitio.

Figura E. Ubicación geográfica de los lugares considerados en la región de Los Ríos, incluyendo los cuatro transectos de muestreo de agua (color azul) y las estaciones de extracción de transvectores (color verde) que se realizará en cada sitio.

Figura F. Ubicación geográfica de los lugares considerados en la región de Los Lagos, incluyendo los nueve transectos de muestreo de agua (color azul) y las estaciones de extracción de transvectores (color verde) que se realizará en cada sitio.

Figura G. Ubicación geográfica del transecto de muestreo de agua en la región de Aysén.

Figura 1.1.1. Densidad (Células L^{-1}) de las 12 especies que más contribuyen a la abundancia total del fitoplancton en las estaciones ubicadas a las 2 millas desde la costa.

Figura 1.1.2. Densidad (Células L^{-1}) de las 12 especies que más contribuyen a la abundancia total del fitoplancton en las estaciones ubicadas a las 5 millas desde la costa.

Figura 1.1.3. Densidad (Células L^{-1}) de las 12 especies que más contribuyen a la abundancia total del fitoplancton en las estaciones ubicadas a las 10 millas desde la costa.

Figura 1.1.4. Distribución espacio – temporal de la abundancia relativa de *A. catenella* durante los Cruceros 1 a 12.

Figura 1.1.5. Distribución espacio – temporal de la abundancia relativa de *A. ostenfeldii* durante los Cruceros 1 a 12.



Figura 1.1.6. Distribución espacio – temporal de la abundancia relativa de *D. acuminata* durante los Cruceros 1 a 12.

Figura 1.1.7. Distribución espacio – temporal de la abundancia relativa de *D. acuta* durante los Cruceros 1 a 12.

Figura 1.1.8. Distribución espacio – temporal de la abundancia relativa de *P. reticulatum* durante los Cruceros 1 a 12.

Figura 1.1.9. Distribución espacio – temporal de la abundancia relativa de *P. cf. australis* durante los Cruceros 1 a 12.

Figura 1.1.10. Distribución espacio – temporal de la abundancia relativa de *P. cf. pseudodelicatissima* durante los Cruceros 1 a 12.

Figura 1.3.1. Sección latitudinal que muestra los valores de Temperatura (°C), Salinidad (PSU), Oxígeno (ml/L) y Fluorescencia (mg/m³) registrados durante el crucero 1.

Figura 1.3.2. Sección latitudinal que muestra los valores de Temperatura (°C), Salinidad (PSU), Oxígeno (ml/L) y Fluorescencia (mg/m³) registrados durante el crucero 2.

Figura 1.3.3. Sección latitudinal que muestra los valores de Temperatura (°C), Salinidad (PSU), Oxígeno (ml/L) y Fluorescencia (mg/m³) registrados durante el crucero 3.

Figura 1.3.3. Sección latitudinal que muestra los valores de Temperatura (°C), Salinidad (PSU), Oxígeno (ml/L) y Fluorescencia (mg/m³) registrados durante el crucero 3.

Figura 1.3.4. Sección latitudinal que muestra los valores de Temperatura (°C), Salinidad (PSU), Oxígeno (ml/L) y Fluorescencia (mg/m³) registrados durante el crucero 5.

Figura 1.3.6. Sección latitudinal que muestra los valores de Temperatura (°C), Salinidad (PSU), Oxígeno (ml/L) y Fluorescencia (mg/m³) registrados durante el crucero 6.

Figura 1.3.7. Sección latitudinal que muestra los valores de Temperatura (°C), Salinidad (PSU), Oxígeno (ml/L) y Fluorescencia (mg/m³) registrados durante el crucero 7.

Figura 1.3.8. Sección latitudinal que muestra los valores de Temperatura (°C), Salinidad (PSU), Oxígeno (ml/L) y Fluorescencia (mg/m³) registrados durante el crucero 8.

Figura 1.3.9. Sección latitudinal que muestra los valores de Temperatura (°C), Salinidad (PSU), Oxígeno (ml/L) y Fluorescencia (mg/m³) registrados durante el crucero 9.

Figura 1.3.10. Sección latitudinal que muestra los valores de Temperatura (°C), Salinidad (PSU), Oxígeno (ml/L) y Fluorescencia (mg/m³) registrados durante el crucero 10.



Figura 1.3.11. Sección latitudinal que muestra los valores de Temperatura (°C), Salinidad (PSU), Oxígeno (ml/L) y Fluorescencia (mg/m³) registrados durante el crucero 11.

Figura 1.3.12. Sección latitudinal que muestra los valores de Temperatura (°C), Salinidad (PSU), Oxígeno (ml/L) y Fluorescencia (mg/m³) registrados durante el crucero 12.

Figura 1.3.13. Concentraciones de **nitrito** para las 5 regiones de muestreo en el estrato 0-10m durante los cruceros 1, 2 y 3

Figura 1.3.14. Concentraciones de **nitrito** para las 5 regiones de muestreo en el estrato 0-10m durante los cruceros 4, 5 y 6.

Figura 1.3.15. Concentraciones de **nitrito** para las regiones de muestreo en el estrato 0-10m durante los Cruceros 7, 8 y 9 del presente estudio.

Figura 1.3.16. Concentraciones de **nitrito** para las regiones de muestreo en el estrato 0-10m durante los Cruceros 10, 11 y 12 del presente estudio.

Figura 1.3.17. Concentraciones de **nitrito** para las 5 regiones de muestreo en el estrato 0-10m durante los cruceros 1, 2 y 3.

Figura 1.3.18. Concentraciones de **nitrito** para las 5 regiones de muestreo en el estrato 0-10m durante los cruceros 4, 5 y 6.

Figura 1.3.19. Concentraciones de **nitrito** para las 5 regiones de muestreo en el estrato 0-10m durante los Cruceros 7, 8 y 9 del presente estudio.

Figura 1.3.20. Concentraciones de **nitrito** para las 5 regiones de muestreo en el estrato 0-10m durante los Cruceros 10, 11 y 12 del presente estudio.

Figura 1.3.21. Concentraciones de **fosfato** para las 5 regiones de muestreo en el estrato 0-10m durante los cruceros 1, 2 y 3.

Figura 1.3.22. Concentraciones de **fosfato** para las 5 regiones de muestreo en el estrato 0-10m durante los cruceros 4, 5 y 6.

Figura 1.3.23. Concentraciones de **fosfato** para las 5 regiones de muestreo en el estrato 0-10m durante los Cruceros 7, 8 y 9.

Figura 1.3.24. Concentraciones de **fosfato** para las 5 regiones de muestreo en el estrato 0-10m durante los Cruceros 10, 11 y 12.

Figura 1.3.25. Concentraciones de **silicato** para las 5 regiones de muestreo en el estrato 0-10m durante los cruceros 1, 2 y 3.



Figura 1.3.26. Concentraciones de **silicato** para las 5 regiones de muestreo en el estrato 0-10m durante los cruceros 4, 5 y 6.

Figura 1.3.27. Concentraciones de **silicato** para las 5 regiones de muestreo en el estrato 0-10m durante los Cruceros 7, 8 y 9.

Figura 1.3.28. Concentraciones de **silicato** para las 5 regiones de muestreo en el estrato 0-10m durante los Cruceros 10, 11 y 12

Figura 1.4.1. Quistes de dinoflagelados en sedimento superficial de las regiones del Biobío, La Araucanía, Los Ríos, y Los Lagos registrados en agosto, septiembre, y diciembre 2020 y enero 2021. (A) *Alexandrium catenella*, (B) *Alexandrium catenella* vacío, (C) *Alexandrium ostenfeldii*, (D) *Protoceratium reticulatum*, (E) *Lingulodinium polyedrum*, (F) *Nematosphaeropsis labyrinthus*, (G) *Spiniferites mirabilis*, (H) *Spiniferites* cf. *pachydermus*, (I) *Spiniferites* cf. *hyperacanthus*, (J) *Spiniferites* cf. *ramosus*, (K) *Prorocentrum* cf. *tsawwassenense*, (L) *Pentaparsodinium dalei*, (M) *Scrippsiella lachrymosa*, (N) *Scrippsiella trochoidea*, (Ñ) *Scrippsiella precaria*, (O) *Scrippsiella patagonica*, (P) *Gymnodinium aureolum*, (Q) *Gyrodinium undulans*, (R) *Trinovantedinium variabile*, (S) *Echinidinium aculeatum*. Escala de barras: 10 µm.

Figura 1.4.2. Quistes de dinoflagelados en sedimento superficial de las regiones del Biobío, La Araucanía, Los Ríos, y Los Lagos registrados en agosto, septiembre, y diciembre 2020 y enero 2021. (A) *Selenopemphix tholus*, (B) *Selenopemphix* cf. *undulata*, (C) *Archaeoperidinium minutum*, (D) *Archaeoperidinium constrictum*, (E) *Protoperidinium americanum*, (F) *Protoperidinium avellana*, (G) *Protoperidinium claudicans*, (H) *Protoperidinium conicoides*, (I) *Protoperidinium conicum*, (J) *Protoperidinium nudum*, (K) *Protoperidinium denticulatum*, (L) *Protoperidinium excentricum*, (M) *Protoperidinium leonis*, (N) *Protoperidinium oblongum*, (Ñ) *Protoperidinium pentagonum*, (O) *Protoperidinium sinuosum*, (P) *Protoperidinium sibinerme*, (Q) *Protoperidinium thorianum*, (R) *Protoperidinium* spp., (S) *Protoperidinium* sp.3. Escala de barras: 10 µm.

Figura 1.4.3. Quistes de dinoflagelados en sedimento superficial de las regiones del Biobío, La Araucanía, Los Ríos, y Los Lagos registrados en agosto, septiembre, y diciembre 2020 y enero 2021. (A) *Protoperidinium* sp. 4, (B) *Protoperidinium* sp. 5, (C) *Polykrikos schwartzii*, (D) *Polykrikos kofoidii*, (E) *Polykrikos* sp.1, (F) *Preperidinium meunieri*, (G) *Dubridinium ulsterum*, (H) *Diplopsalopsis ovata*, (I) cf. *Ensiculifera carinata*, (J) *Niea acanthocysta*, (K) No identificado 1, (L) No identificado 2, (M) No identificado 4, (N) No identificado 9, (Ñ) No identificado 10, (O) No identificado 12, (P) No identificado 13, (Q) No identificado 14, (R) No identificado 27, (S) No identificado 34. Escala de barras: 10 µm.

Figura 1.4.4. Abundancia total de quistes en sedimentos superficiales de las regiones del Biobío, La Araucanía, Los Ríos, y Los Lagos obtenidos en los meses de agosto y septiembre 2020

Figura 1.4.5. Abundancia total de quistes en sedimentos superficiales de la región del Biobío obtenidos en los meses de agosto y septiembre 2020.

Figura 1.4.6. Abundancia total de quistes en sedimentos superficiales de la región de la Araucanía obtenidos en los meses de agosto y septiembre 2020.



Figura 1.4.7. Abundancia total de quistes en sedimentos superficiales de la región de Los Ríos obtenidos en los meses de agosto y septiembre 2020.

Figura 1.4.8. Abundancia total de quistes en sedimentos superficiales de la región de Los Lagos obtenidos en los meses de agosto y septiembre 2020.

Figura 1.4.9. Abundancia de quistes de *A. catenella* en sedimentos superficiales de las regiones de La Araucanía, Los Ríos y Los Lagos obtenidos en los meses de agosto y septiembre 2020.

Figura 1.4.10. Abundancia de quistes de *A. ostenfeldii* en sedimentos superficiales de la región del Biobío, obtenidos en los meses de agosto y septiembre 2020.

Figura 1.4.11. Abundancia de quistes de *A. ostenfeldii* en sedimentos superficiales de la región de Los Ríos, obtenidos en los meses de agosto y septiembre 2020.

Figura 1.4.12. Abundancia de quistes de *P. reticulatum* en sedimentos superficiales de la región de Los Lagos, obtenidos en los meses de agosto y septiembre 2020.

Figura 1.4.13. Abundancia total de quistes en sedimentos superficiales de las regiones del Biobío, La Araucanía, Los Ríos, y Los Lagos obtenidos en los meses de diciembre 2020 y enero 2021.

Figura 1.4.14. Abundancia total de quistes en sedimentos superficiales de la región del Biobío, obtenidos en los meses de diciembre 2020 y enero 2021.

Figura 1.4.15. Abundancia total de quistes en sedimentos superficiales de la región de La Araucanía, obtenidos en los meses de diciembre 2020 y enero 2021.

Figura 1.4.16 Abundancia total de quistes en sedimentos superficiales de la región de Los Ríos, obtenidos en los meses de diciembre 2020 y enero 2021.

Figura 1.4.17 Abundancia total de quistes en sedimentos superficiales de la región de Los Lagos, obtenidos en los meses de diciembre 2020 y enero 2021.

Figura 1.4.18. Abundancia de quistes de *A. catenella* en sedimentos superficiales de la región de Los Lagos, obtenidos en los meses de diciembre 2020 y enero 2021.

Figura 1.4.19. Abundancia de quistes de *A. ostenfeldii* en sedimentos superficiales de la región de Los Lagos, obtenidos en los meses de diciembre 2020 y enero 2021.

Figura 1.4.20. Abundancia de quistes de *P. reticulatum* en sedimentos superficiales de la región de Los Lagos, obtenidos en los meses de diciembre 2020 y enero 2021.

Figura 2.1.1 Distribución temporal de las abundancias celulares (células/Litro) de las especies que contribuyen en >90% de la abundancia total del fitoplancton (barras), además de la contribución en densidad (células/Litro) de los grupos de diatomeas, dinoflagelados, silicoflagelados y otros (líneas) para la región del Biobío.



Figura 2.1.2 Distribución temporal de las abundancias celulares (células/Litro) de las especies que contribuyen en >90% de la abundancia total del fitoplancton (barras), además de la contribución en densidad (células/Litro) de los grupos de diatomeas, dinoflagelados, silicoflagelados y otros (líneas) para la región de la Araucanía.

Figura 2.1.3 Distribución temporal de las abundancias celulares (células/Litro) de las especies que contribuyen en >90% de la abundancia total del fitoplancton (barras), además de la contribución en densidad (células/Litro) de los grupos de diatomeas, dinoflagelados, silicoflagelados y otros (líneas) para la región de los Ríos.

Figura 2.1.4 Distribución temporal de las abundancias celulares (células/Litro) de las especies que contribuyen en >90% de la abundancia total del fitoplancton (barras), además de la contribución en densidad (células/Litro) de los grupos de diatomeas, dinoflagelados, silicoflagelados y otros (líneas) para la región de los Lagos.

Figura 2.1.5 Distribución temporal de las abundancias celulares (células/Litro) de las especies que contribuyen en >90% de la abundancia total del fitoplancton (barras), además de la contribución en densidad (células/Litro) de los grupos de diatomeas, dinoflagelados, silicoflagelados y otros (líneas) para la región de Aysén.

Figura 2.1.6 Promedio anual de clorofila-a [mg m^{-3}] para cada estación del año.

Figura 2.1.7 Serie de tiempo (2018 a 2020) de las variables Índice de Afloramiento ($\text{m}^{-3} \text{s}^{-1}$), Temperatura ($^{\circ}\text{C}$), Salinidad (PSU) y Fluorescencia (mg/m^3), para las tres estaciones de Coliumo (4, 5 y 10 millas náuticas de la costa)

Figura 2.1.8 Serie de tiempo (2018 a 2020) de las variables Índice de Afloramiento ($\text{m}^{-3} \text{s}^{-1}$), Temperatura ($^{\circ}\text{C}$), Salinidad (PSU) y Fluorescencia (mg/m^3), para las tres estaciones de Nehuentué (4, 5 y 10 millas náuticas de la costa)

Figura 2.1.9 Serie de tiempo (2018 a 2020) de las variables Índice de Afloramiento ($\text{m}^{-3} \text{s}^{-1}$), Temperatura ($^{\circ}\text{C}$), Salinidad (PSU) y Fluorescencia (mg/m^3), para las tres estaciones de Estaquilla (4, 5 y 10 millas náuticas de la costa)

Figura 2.1.10. Sección latitudinal que muestra los valores de Temperatura ($^{\circ}\text{C}$), Salinidad (PSU), Oxígeno (ml/L) y Fluorescencia (mg/m^3) registrados durante febrero de 2018

Figura 2.1.11. Sección latitudinal que muestra los valores de Temperatura ($^{\circ}\text{C}$), Salinidad (PSU), Oxígeno (ml/L) y Fluorescencia (mg/m^3) registrados durante febrero de 2019.

Figura 2.1.12. Sección latitudinal que muestra los valores de Temperatura ($^{\circ}\text{C}$), Salinidad (PSU), Oxígeno (ml/L) y Fluorescencia (mg/m^3) registrados durante febrero de 2020

Figura 2.1.13. Composición fitoplanctónica de las 20 especies que más contribuyen a la abundancia del fitoplancton, para cada una de las estaciones de muestreo durante febrero de 2018.

Figura 2.1.14. Ordenamiento multidimensional no dimensional (nMDS) de los grupos resultante del análisis de conglomerados aplicado a la composición fitoplanctónica total, para cada uno de los cruceros y estaciones de monitoreo durante febrero de 2018.



Figura 2.1.15. Composición fitoplanctonica de las 20 especies que más contribuyen a la abundancia del fitoplancton, para cada una de las estaciones de muestreo durante febrero de 2019.

Figura 2.1.16. Ordenamiento multidimensional no dimensional (nMDS) de los grupos resultante del análisis de conglomerados aplicado a la composición fitoplanctónica total, para cada uno de los cruceros y estaciones de monitoreo durante febrero de 2019.

Figura 2.1.17. Composición fitoplanctonica de las 20 especies que más contribuyen a la abundancia del fitoplancton, para cada una de las estaciones de muestreo durante febrero de 2020.

Figura 2.1.18. Ordenamiento multidimensional no dimensional (nMDS) de los grupos resultante del análisis de conglomerados aplicado a la composición fitoplanctónica total, para cada uno de los cruceros y estaciones de monitoreo durante febrero de 2020.

Figura 2.1.19. Análisis canónico de componentes principales aplicado a las variables ambientales en cada estación de monitoreo.

Figura 2.1.21. Análisis canónico de componentes principales aplicado a la composición fitoplanctónica en cada estación de monitoreo

Figura 2.2.1. Batimetría [m] del área de estudio.

Figura 2.2.2. Campo promedio de clorofila-a [mg m^{-3}] entre enero 2017 hasta junio 2019 (2.5 años = 910 imágenes)

Figura 2.2.3 Promedio anual de clorofila-a [mg m^{-3}].

Figura 2.2.4. Promedio estacional de clorofila-a [mg m^{-3}], para el año 2017

Figura 2.2.5. Promedio estacional de clorofila-a [mg m^{-3}], para el año 2018

Figura 2.2.6. Promedio estacional de clorofila-a [mg m^{-3}], para el año 2019.

Figura 2.2.7. Climatología de los campos de clorofila-a. La línea negra representa la isolínea de 1 mg m^{-3} .

Figura 2.2.7 (continuación) Climatología de los campos de clorofila-a. La línea negra representa la isolínea de 1 mg m^{-3} .

Figura 2.3.1. Perfiles de abundancia de quistes totales, *A. catenella* y *P. reticulatum* en testigo de sedimento de la estación Caleta Zorra 5 millas en la región de Los Lagos.

Figura 2.3.2. Perfil de abundancia de quistes llenos y vacíos de *A. catenella* en testigo de sedimento de la estación Caleta Zorra 5 millas en la región de Los Lagos.



Figura 2.3.3. Abundancia relativa acumulada (%) de quistes de dinoflagelados más abundantes y abundancia total de quistes (línea blanca) en testigo de sedimento de Caleta Zorra 5 millas en la región de Los Lagos.

Figura 3.1.1 Detección de *A. catenella* mediante PCR tiempo real (qPCR) para las estaciones ubicadas en las 5 millas para cada uno de los cruceros de la Etapa III. Barras de color azul representan las abundancias relativas obtenidas mediante microscopia, mientras que las barras naranjas representan el número de copias del gene ribosomal para cada estación analizada.

Figura 3.1.2. Detección de *A. ostenfeldii* mediante PCR tiempo real (qPCR) para las estaciones ubicadas en las 5 millas para cada uno de los cruceros de la Etapa III. Barras de color azul representan las abundancias relativas obtenidas mediante microscopia, mientras que las barras naranjas representan el número de copias del gene ribosomal para cada estación analizada.

Figura 3.1.3. Detección de *P. reticulatum* mediante PCR tiempo real (qPCR) para las estaciones ubicadas en las 5 millas para cada uno de los cruceros de la Etapa III. Barras de color azul representan las abundancias relativas obtenidas mediante microscopia, mientras que las barras naranjas representan el número de copias del gene ribosomal para cada estación analizada.

Figura 3.1.4. Detección de *Dinophysis* sp. mediante PCR tiempo real (qPCR) para las estaciones ubicadas en las 5 millas para cada uno de los cruceros de la Etapa III. Barras de color azul representan las abundancias relativas obtenidas mediante microscopia, mientras que las barras naranjas representan el número de copias del gene ribosomal para cada estación analizada.

Figura 3.1.5. Abundancia relativa (N° de lecturas) a nivel taxonómico de división por región geográfica y por estación de muestreo.

Figura 3.1.6. Número de especies detectadas para las clases *Dinophyceae* y *Bacillariophyta*.

Figura 3.1.7. Abundancia relativa (N° de lecturas) a nivel taxonómico de familia para la clase *Dinophyceae*.

Figura 3.1.8. Abundancia relativa (N° de lecturas) a nivel taxonómico de genero para la clase *Dinophyceae*.

Figura 3.1.9. Abundancia relativa (N° de lecturas) a nivel taxonómico de familia para la clase *Bacillariophyta*.

Figura 3.1.10. Abundancia relativa (N° de lecturas) a nivel taxonómico de genero para la clase *Bacillariophyta*.

Figura 3.4.1. Mapa muestra el rango de distribución geográfica de *A. catenella* entre 1972 y 2015 en el sur de Chile (área roja). La detección mas reciente entre el 2016 and 2019 (área verde). Coliumo (*), origen de las células aisladas. **BB**=Bío-Bío, **LA**=La Araucanía, **LR**= Los Rios, **LL**=Los Lagos, **AY**=Aysén, **MG**=Magallanes.

Figura 3.4.2. Árbol que muestra las relaciones filogenéticas entre las especies del complejo “tamarense”. Cepas aisladas desde la costa del Biobío identificadas como CREAN_AC01 hasta CREAN_AC08. Todas las cepas del Biobío se agregan en el “Grupo 1”, correspondiente a la especie *A. catenella*.

Figura 3.4.3. Composición relativa de toxinas paralizantes en 5 cepas de *A. catenella* aisladas desde la región de Bío-Bío.



Figura 4.1.1.- Vista principal del WebMap “03.-Situación Marea Roja Costa-Pacífico 2020”.

Figura 4.1.2.- Ejemplo de consulta directa a reportes por el Área de Muestreo en el link que aparece al dar click sobre la entidad.

Figura 4.1.4.- Ejemplo de consulta directa a Estaciones de Monitoreo e información que contiene la entidad.

Figura 4.1.4.- Ejemplo de consulta dinámica en el panel del WebMap y grafico asociado a esta. En el ejemplo se aprecia situación de Abundancia Relativa para *Dinophysis acuminata*, crucero 3 en la región de Los Lagos.



1. INTRODUCCIÓN

Durante las últimas cinco décadas se ha apreciado, a escala mundial, un aparente incremento en la frecuencia, duración, intensidad y distribución geográfica de los eventos que técnicamente han sido denominados Floraciones de Algas Nocivas (FAN). En general, las microalgas nocivas son catalogadas como productoras de altas biomásas y toxinas. Las primeras, provocan daño principalmente al agotar el oxígeno y los nutrientes del agua ([Smayda, 1997](#); [Reguera, 2012](#)), y las segundas, al contaminar los mariscos filtradores con toxinas al incorporarlos mediante la ingesta de dinoflagelados tóxicos ([Bricelj & Shumway, 1998](#)). Dentro de los dinoflagelados tóxicos, el género *Alexandrium* es su principal agente al presentar el mayor número de especies tóxicas ([Figueroa et al., 2005](#)) y al ser considerado como el mayor productor de saxitoxinas (STX) asociado a zonas subantárticas, templadas, y tropicales. Este género presenta aproximadamente 31 especies, 11 de las cuales son productoras de STX y sus derivados, que son toxinas hidrosolubles y termoestables que conforman las toxinas paralizantes de los mariscos (TPM). En dosis elevadas, el TPM puede llevar a producir debilidad muscular, parálisis respiratoria, coma, y eventualmente la muerte en humanos. También pueden causar mortandad en mamíferos acuáticos, aves y peces, y afectar directamente la producción de cultivos marinos.

Otro complejo tóxico que también ha generado innumerables problemas en distintas regiones costeras del mundo son las toxinas diarreicas de los mariscos (TDM), producido principalmente por dinoflagelados del género *Dinophysis* Ehrenberg y *Prorocentrum* Ehrenberg. Las que se caracterizan por provocar severos trastornos gastrointestinales en consumidores de mariscos contaminados y por amenazar fuertemente la actividad económica de recursos marinos de importancia comercial dado que están asociadas a la producción de toxinas como el ácido okadaico (AO), pero existen otras toxinas lipofílicas que pueden estar asociadas a falsos positivos cuando se evalúan mediante el bioensayo ratón, es el caso de pectenotoxinas (PTXs), yesotoxinas (YTXs), espirólidos (SPXs), azaspirácidos (AZPs) y gimnodiminas. Las toxinas diarreicas corresponden sólo a OA y derivados, puesto que las PTXs y las YTXs actualmente son excluidas del complejo TDM, pues estas dos últimas no producen efectos diarreogénicos, por lo que, requieren métodos analíticos específicos para su determinación.

Un tercer complejo ampliamente reconocido por alterar la salud pública y la industria acuicultora en diversos sectores costeros del planeta son las toxinas amnésicas de mariscos (TAM), y aunque no es producido por dinoflagelados sino por algunas diatomeas del género *Pseudo-nitzschia* Peragallo & Peragallo, igualmente conlleva a la prohibición de cosechas de mariscos bivalvos y genera problemas neurotóxicos en humanos consumidores de moluscos. El gran problema de este género de diatomeas es su difícil identificación mediante microscopía fotónica ([Quijano-Scheggia et al., 2008](#)), la cual requiere el



uso de microscopía electrónica para separarlas a nivel de especie (Quijano-Scheggia et al., 2008) o métodos moleculares. Además, se dificulta su identificación debido a que generalmente coexisten varias especies en una misma proliferación (Cho et al., 2002), requiriéndose demostrar la presencia de toxinas en ciertas especies mediante cultivos o el aislamiento de células (Álvarez et al., 2009).

En Chile, gran parte de las toxinas mencionadas anteriormente y las especies de fitoplancton productoras de ellas, han sido identificadas preferentemente en las regiones sur - australes, desde la región del Biobío hasta la región de Magallanes (Guzmán et al., 2010; Espinoza-González et al., 2017). En estas regiones *Alexandrium catenella*, Whedon & Kofoid, ha sido identificada como la fuente primaria de la TPM, sin embargo, también se ha registrado mediante análisis de fitoplancton la especie *A. ostenfeldii* (Paulsen Balech et Tangen, 1985, reconocido productor de toxinas paralizantes en cepas de Nueva Zelanda, Escocia y Finlandia (Kremp et al., 2009), y de espiróridos en cepas de Estados Unidos, Canadá, Dinamarca y Noruega (Cembella et al., 2002). En la etapa II de este proyecto se avanzó en el conocimiento del perfil toxicológico de esta especie, confirmando que *A. ostenfeldii* produce TPM (Espinoza-González et al., 2020), lo que implica que durante las etapas siguientes de este estudio, se debe reforzar el monitoreo y continuar con la investigación en torno al perfil de toxinas y distribución geográfica de esta especie. En cuanto a la TDM, se ha asociado principalmente a las especies *Dinophysis acuta*, Ehrenberg, y en menor parte a *D. acuminata*, Claparède et Lachmann. Para la TAM, la producción de ácido domoico ha sido vinculada a nivel local a los complejos tóxicos de diatomeas del género *Pseudonitzschia* (*P. australis* y *P. pseudodelicatissima*). Lo mismo ocurre para los potenciales productores de YTXs, los dinoflagelados *P. reticulatum* y *G. spinifera*, que han sido identificados mediante células vegetativas, y para *L. polyedrum* que ha sido identificado recientemente mediante quistes de resistencia en muestras de sedimento de la Región de Los Lagos (Salgado et al., 2011).

Los últimos eventos de floración de *Alexandrium catenella*, durante el año 2016 y febrero de 2018, asociada a TPM, han provocado un impacto considerable a la economía y entorno social de la región de Los Lagos, manifestándose en la costa expuesta al océano Pacífico, lo cual constituye un cambio radical al paradigma sobre la distribución de esta microalga en el litoral nacional. Las evidencias recogidas durante las etapas previas de este estudio, muestran que la presencia de la microalga, durante el evento de febrero de 2018, se extendió desde Nehuentué en la región de La Araucanía hasta el Canal Tuamapu en el extremo noroccidental de la región de Aysén, además, durante la segunda etapa de este proyecto, se ha confirmado la presencia, en condición de rara, de la microalga en bahía Colcura en la región del Biobío. En cuanto a las TPM, evaluadas a partir de bioensayo de ratón, estas fueron detectadas desde playa Brava hasta Cucao en la isla de Chiloé, sin embargo, durante el evento del 2016 la toxina paralizante fue detectada hasta caleta Los Molinos en la región de Los Ríos, mientras que, en la región de Biobío no se han registrado TPM en mariscos por medio de bioensayos de ratón.



Estas evidencias han determinado que se deba orientar una mayor preocupación a las microalgas nocivas y toxinas marinas y hace necesario que se deba contar con un sistema de detección oportuno y confiable con la finalidad de disponer de una alerta temprana, debido fundamentalmente al impacto de los eventos FAN y toxinas marinas, sus implicancias ambientales y el impacto sobre la salud pública y el entorno social y actividades productivas como la pesca, la acuicultura y el turismo

Este programa de manejo y monitoreo se realiza anualmente desde enero de 2018, como una actividad de carácter permanente. A partir de enero de 2020 se ejecutó la tercera Etapa de este programa, la cual se desarrolló que de manera independiente pero sincronizada con el estudio “Programa Manejo y Monitoreo de las Mareas Rojas en las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes”, que durante los años 2020–21 se encontró en su etapa XIV. El programa incluyó en su diseño a localidades selectas en el litoral de las regiones del Biobío, La Araucanía, Los Ríos, Los Lagos y en el extremo norte de la región de Aysén. En esta tercera Etapa el estudio se estructuró sobre la base de un muestreo mensual, con un total de 12 cruceros (enero a diciembre de 2020) en un lapso anual.

En lo fundamental este programa permitió disponer de la composición cualitativa del fitoplancton y estimadores de abundancia relativa de siete taxones nocivos en una red fija de sitios de muestreo, la composición total y abundancia cuantitativa del ensamble de fitoplancton, determinación de nutrientes en la columna de agua, además del registro de variables oceanográficas y meteorológicas en cada uno de los puntos de muestreo que considera este estudio. También se recolectaron muestras de sedimentos finos para la identificación de quistes de resistencia de dinoflagelados y muestras de mariscos en cada una de las regiones administrativas involucradas, a fin de detectar la presencia de las toxinas paralizante, diarreica y amnésica, cuyos análisis serán efectuados en el laboratorio de la Secretaría Regional Ministerial de Salud de la región de Los Lagos. El detalle y características de la metodología se entregan más adelante por objetivo específico.

Además, al finalizar cada etapa, se efectuó un análisis comprensivo de la información recolectada, así como los datos de la etapa previa, de manera de apreciar particularidades en la distribución y abundancia espacio – temporal de los taxones nocivos y su relación con las variables ambientales. Además, se continuó con el formato para difundir la información derivada del estudio, de tal forma que esté disponible para todo público, usando distintos formatos de las redes sociales.



2. ANTECEDENTES

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

En Chile se han detectado distintas toxinas asociadas a Toxina Paralizante (TPM), Toxina diarreica (TDM), y Toxina Amnésica de Moluscos (TAM), las cuales afectan directamente a seres humanos además de una serie de otras toxinas lipofílicas. Bajo este escenario, y considerando la inexistencia de antidotos para estas toxinas, la falta de tecnologías para controlar las floraciones en el ambiente o su eliminación de los mariscos, las perturbaciones que provocan en los sistemas social y económico, y la carencia de modelos que permitan predecir la aparición, duración y lugar de ocurrencia de estas floraciones, obligan a fortalecer la prevención una de cuyas fuentes de información son los programas de monitoreo.

La entrada en vigencia del reglamento sobre Plagas Hidrobiológicas, D. S. (MINECON) N°345/2005 y sus modificaciones, entrega a la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura la responsabilidad de velar sobre la oportuna detección de plagas hidrobiológicas para aislar su presencia y evitar su propagación, entre otras medidas. Es en este sentido y con motivo de vigilar el área FAN declarada en el 2009 bajo R. Ext. N° 177, la cual fue renovada por la R. Ex. N° 1128 de 2018, ambas de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, es que desde el 2006 se mantiene un programa de Monitoreo de las Mareas Rojas en las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes. Además, desde el año 2018 se está desarrollando el programa de Manejo y Monitoreo de las Floraciones de Algas Nocivas y Toxinas Marinas en el océano Pacífico desde Biobío a Aysén, siendo ambos programas ejecutados por el Instituto de Fomento Pesquero (IFOP). Estos monitoreos proveen la información necesaria para la toma de decisiones por parte de la autoridad usando antecedentes confiables y oportunos que permitan proteger la salud pública y reducir los trastornos sobre las actividades productivas (i.e. pesca, acuicultura, turismo). Además, permiten generar un sistema de información sobre la dinámica de la distribución y abundancia de las especies de microalgas nocivas que se encuentran en las citadas regiones. Por este motivo es relevante contar con un registro continuo de las variables citadas a fin de analizar no sólo espacialmente los antecedentes sino también desde una perspectiva temporal.



3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

- 3.1.1. Contar con un sistema de información, periódica y oportuna, sobre microalgas nocivas, biotoxinas marinas, fitoplancton, variables oceanográficas y meteorológicas, basado en un muestreo estandarizado, de amplia cobertura espacial y adecuado a la realidad geográfica de la costa expuesta al océano Pacífico del centro 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 variables hidrográficas y meteorológicas en la zona de estudio.
- 3.2.2. Continuar con el análisis interpretativo de los datos obtenidos disponibles desde el año 2018, 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.
- 3.2.3. 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.
- 3.2.4. Difundir los resultados del programa, realizar acciones de capacitación y fortalecer la vinculación con el medio.



4. METODOLOGÍA DE TRABAJO

A continuación se describe la metodología del estudio y los conceptos e ideas que la fundamentan. La presentación está organizada por objetivo específico.

4.1 Metodología Objetivo Específico 1:

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

Estaciones y frecuencia de muestreo

El área de trabajo comprendió las regiones del Biobío, La Araucanía, Los Ríos, Los Lagos y el extremo norte de la región de Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo, abarcando desde Bahía Coliumo en la primera de estas regiones, hasta Canal Tuamapu en la última de ellas. Las estaciones de muestreo se dispusieron en transectos perpendiculares a la línea de costa y con una separación entre ellas por una distancia de 2, 5 y 10 millas náuticas. Cada transecto pertenece a una red fija, dispuesto de manera representativa y establecido según las particularidades de cada sector geográfico (**Tabla A**; Figuras **A, C, D, E, F y G**).

En la región del Biobío se muestrearon 4 transectas de 4 estaciones cada una, ubicadas en las bahías de Colcura, Tubul, Llico y Coliumo; en la región de La Araucanía, 3 transectas de 3 estaciones cada una, ubicadas en las localidades de Nehuentúe, Puerto Saavedra y Queule; en la región de Los Ríos, 4 transectas de 3 estaciones cada una, ubicadas en las localidades de Mehuín, Niebla, Chaihuín y Río Bueno; en la región de Los Lagos, 9 transectas con 3 estaciones cada una, ubicadas en las localidades de bahía Mansa, Estaquilla, Playa Brava, Carelmapu, Faro Corona, Mar Brava, Chepu, Cucao y Caleta Zorra; y en el extremo norte de la región de Aysén, 1 transecto con tres estaciones, ubicadas en la localidad de Canal Tuamapu (**Tabla A**).

El área de estudio fue dividida por región administrativa, usando distintos puertos de zarpe en cada región. En la región del Biobío, el zarpe se realizó desde el puerto de Talcahuano. Para las regiones de La Araucanía y de Los Ríos, el zarpe se realizó desde el puerto de Corral. En la región de Los Lagos, el zarpe se realizó desde el puerto de Dalcahue. Mientras que, para la región de Aysén, el muestreo se llevó a cabo utilizando la misma embarcación que realiza el monitoreo regular del Programa de marea roja en fiordos y canales del sur de Chile, en el sector de Aysén norte. Se debe tener presente que el acceso a los lugares de muestreo, estuvieron determinados por las condiciones oceanográficas y meteorológicas al momento de realizar el trabajo de terreno.



El monitoreo regular abarcó el muestreo de 21 transectas perpendiculares a la línea de costa, con un total de 67 estaciones, ubicadas desde Coliumo en la región del Biobío hasta canal Tuamapu en el extremo noroccidental de la región de Aysén. Las estaciones costeras de cada transecta de monitoreo estuvieron localizadas en sectores de extracción de recursos hidrobiológicos. La frecuencia de muestreo fue mensual y se realizaron 12 cruceros durante el periodo de estudio, comenzando el primer muestreo en el mes de enero de 2020 y finalizando el último de ellos en enero de 2021.

El muestreo de mariscos por su parte fue realizado en 16 de las 21 localidades consideradas en el estudio, pues solo en ellas se desarrolla la actividad de extracción de recurso y además poseen la cantidad suficiente de estos para asegurar la recolección durante todo el proyecto. La extracción de mariscos se hizo en solo una estación por localidad, en puntos cercanos a la costa y próximas a alguna de las estaciones de la transecta del muestreo de agua correspondiente. La recolección de mariscos se llevó a cabo de manera independiente a las actividades del muestreo de agua, sin embargo, siempre se mantuvo la coordinación con el propósito de hacer ambas labores lo más simultáneamente posible en las respectivas localidades y regiones, por lo que la frecuencia de muestreo también fue mensual y se desarrolló durante los mismos rangos de fechas.

4.1.1 Actividad 1: Conocer la abundancia, composición y distribución espacio-temporal de las especies nocivas: *Alexandrium catenella*, *A. ostenfeldii*, *Dinophysis acuta*, *D. acuminata*, *Protoceratium reticulatum*, *Pseudo-nitzschia cf. australis* y *P. cf. pseudodelicatissima*, además de las especies que componen el fitoplancton total en la red de estaciones de estudio.

Muestreo de fitoplancton

El muestreo de fitoplancton se realizó en todas las transectas y estaciones de las cinco regiones donde se ejecuta el estudio. Se hicieron análisis cualitativos y cuantitativos de fitoplancton según la siguiente metodología:

Muestreo cualitativo: 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 μ m. Los arrastres fueron realizados en triplicado (3 réplicas), en dos lugares en cada punto de muestreo, separados entre sí por aproximadamente 300 - 500 metros, conformado una sola muestra (i.e. una muestra integrada de seis arrastres). Las muestras fueron fijadas con formalina neutralizada al 2-3%.

Muestreo cuantitativo: la recolección del fitoplancton 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 estrato de 10 a 20 m de



profundidad, esto gracias a que la manguera está dividida en 2 partes, y conectadas entre sí por una unión americana, cada sección posee una llave de paso, las cuales al cerrarlas impiden la caída del agua contenida en su interior. El agua obtenida de la manguera fue traspasada a bidones limpios, uno para cada estrato, donde se homogenizó el contenido para obtener muestras representativas que fueron guardadas en frascos de 125 mL (una muestra por estrato), las cuales fueron fijadas con Lugol para su posterior análisis en laboratorio.

Tanto la red de fitoplancton utilizada en el muestreo cualitativo, como la manguera del muestreo cuantitativo, poseen un plomo o peso de 2 Kg en el extremo que se introduce primero al cuerpo de agua, con eso ayuda a que el ingreso sea lo más vertical posible.

Análisis de fitoplancton

Análisis cualitativo: se utilizaron microscopios ópticos de campo luminoso, a 100x y 400x, dotados con condensador de contraste de fase y equipo de epifluorescencia. Se estimó la abundancia relativa para las siguientes especies: *Alexandrium catenella*, *A. ostenfeldii*, *Dinophysis acuta*, *D. acuminata*, *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 tomada desde una muestra sedimentada por un periodo de 24 horas, bajo un cubre-objeto de 18 x 18 mm (3 réplicas). La dilución de las muestras de abundancia relativa se determinó de acuerdo a los siguientes criterios: 1) cuando la abundancia de especies nocivas es alta y hace que su recuento sea más lento (Ej. Especies del género *Pseudo-nitzschia* por sobre 500 células por campo con un aumento de 100X) y 2) cuando la abundancia fitoplanctónica total de la muestra es muy alta resultando que las especies se superpongan dificultando la observación. Sin perjuicio de lo anterior, se identificarán todas las microalgas contenidas en la muestra al nivel de especie, y en los casos que no fue posible hasta el menor nivel taxonómico.

Preparación de la dilución:

Para realizar la dilución se tomó una alícuota de la muestra decantada y se depositó en un tubo eppendorf, posteriormente se agregaron más alícuotas del sobrenadante de la misma muestra. Si la dilución fue a 1/2 se tomó 0,2mL de muestra decantada y 0,2mL de sobrenadante, si la dilución fue a 1/4 se tomó 0,1mL de muestra decantada y 0,3mL de sobrenadante. Una vez realizada la dilución se homogenizó la muestra en el tubo eppendorf y se depositó en el portaobjeto para su posterior recuento y clasificación según niveles entregados en la **Tabla B**.

Análisis cuantitativo: las muestras fueron contabilizadas a nivel específico en cámaras de sedimentación, cuyo volumen fue seleccionado de acuerdo a 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 y de epifluorescencia.

Análisis en taxones emergentes: Tanto en las muestras cualitativas como en las cuantitativas se puso especial atención a taxones de los géneros *Karenia*, *Pseudochattonella* u otras especies nocivas, las primeras sólo pueden ser detectadas en sectores con mayor influencia del océano Pacífico, y las segundas, con muchas limitaciones dado que la mayoría de las muestras que se observaron estaban preservadas con formalina o lugol. No obstante, en muchas oportunidades se trabajó con muestras frescas, sin fijadores para este objetivo, las que fueron revisadas con prontitud para evaluar los taxones presentes.

Los resultados cualitativos y cuantitativos, tanto de las especies nocivas como de las demás que componen el fitoplancton, son entregados con las unidades de medición correspondientes, indicando su presencia y/o escalas de abundancia relativa para el primer análisis, y en unidades de densidad (células/Litro) para resultados del análisis cuantitativo. Estos resultados son entregados por estación, crucero y región de muestreo.

4.1.2. Actividad 2: Muestreo transvectores y detección toxinas

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

La recolección de cada uno de estos recursos por cada región estuvo dada según lo indicado en la **Tabla C**, **Figuras B a G**, y se condicionó a si la ubicación de la estación de monitoreo permite la extracción de estos recursos, ya sea por la profundidad donde se encuentra ubicada o por la disponibilidad de recursos en el sector.

Se recolectaron especímenes de talla comercial mediante buceo semiautónomo (e.g. cholga, ameja, navajuela, entre otros) o recolección de orilla (e.g. machas). Cada muestra fue de aproximadamente 5 kilogramos de marisco con concha, obteniendo una cantidad total de 20 kilogramos por estación. Para las muestras destinadas a la detección de TPM, se recolectaron muestras con réplica, la cual se extrajo en un mismo sector con 500 m de distancia.

Luego de recolectar las muestras de mariscos, estas se etiquetaron y almacenaron en bolsas plásticas de cierre hermético, las que fueron conservadas en coolers con hielo o refrigeradas hasta llegar al CREAN de Puerto Montt, donde se congelaron a -20°C hasta el momento de enviarlas a analizar. Las muestras de transvectores para determinar la toxicidad por TPM, TDM y TAM fueron entregadas para su análisis al



laboratorio de la Secretaría Regional Ministerial de Salud de la región de Los Lagos. Se mantuvo un registro de las entregas y recepciones mediante un formulario establecido para el efecto.

La metodología para la detección de TPM es 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 se entregaron 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 términos cualitativos 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 mediante cromatografía líquida de alta eficacia según la metodología descrita por [Quilliam & Wright \(1995\)](#). Los resultados se presentan en microgramos de ácido domoico por gramos de carne de marisco ($\mu\text{g g}^{-1}$).

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

4.1.3 Actividad 3: Recolectar información hidrográfica (temperatura, salinidad, fluorescencia, oxígeno, nutrientes) y meteorológica (temperatura, presión atmosférica, nubosidad, viento) en cada una de las estaciones de monitoreo de las 5 regiones.

Recolección de datos oceanográficos

En la gran mayoría (90%) de los sitios de muestreo, se realizaron mediciones a través de sensores electrónicos (CTD-OF) de temperatura, salinidad, oxígeno disuelto, fluorescencia (como proxy de clorofila-a) y densidad de la columna de agua hasta la máxima profundidad que permitió la batimetría de cada estación, tomando como resguardo lanzar los equipos a un máximo de 10 ó 5 metros antes de llegar al fondo oceánico, a fin de evitar o reducir el riesgo de dañarlos. En las regiones de La Araucanía, Los Ríos, Los Lagos y Aysén, se realizaron mediciones con CTD-OF en todas sus estaciones, la única excepción sucede en la región del Biobío, donde solamente se hicieron lances de CTD-OF en 9 de sus 16 puntos de muestreo, debido a la baja profundidad (somero) en siete de ellos. Cada equipo cuenta con un certificado de calibración que resguarda la calidad de la información recopilada.



Además se registró la transparencia del agua mediante disco Secchi, en las 67 estaciones de este programa de monitoreo.

Recolección de muestras y análisis para nutrientes

Las muestras para estimar la concentración de nitrito (NO_2^-), nitrato (NO_3^-), fosfato (PO_4^{3-}) y silicato ($\text{Si}(\text{OH})_4$) en la columna de agua fueron recolectadas en las estaciones de muestreo de cada una de las transectas de las regiones consideradas en este estudio (**Tabla A**). En cada sitio de muestreo, se recolectaron 10 muestras, 5 correspondientes al estrato superficial 0– 10 m de profundidad y otras 5, referidas al estrato 10 - 20 m de profundidad. Las muestras fueron recolectadas de la misma forma que se utiliza para la toma de muestras para el fitoplancton cuantitativo (muestreo integrado por estrato mediante manguera). Las muestras fueron filtradas ($0,45\mu\text{m}$) y conservadas en 5 viales de 2ml de polipropileno de alta densidad y congeladas (-20°C) hasta su posterior análisis en el laboratorio. Una vez en el laboratorio, fueron insertadas en el autoanizador de nutrientes discretos AQ-400 (Seal Analytical, Mequon, WI, EE. UU.) utilizando métodos estándar. (USEPA 600/R 93/100, August 1993: Method 353.2, Revision 2.0, method 4500 NO_3^- -F, 2000, USEPA 600/R 93/100, August 1993: Method 365.1, Rev. 2.0.method 4500-P-F (1999 forward). USEPA 600/4-79-020, 1983: Method 370.1. Method 4500 SiO_2 - D (2000 forward))

Determinación analítica de nutrientes

Nitrito (NO_2^-) se determina mediante la formación de un colorante azo rojo púrpura producido a un pH de 2.0 a 2.5 mediante el acoplamiento de sulfanilamida diazotada con diclorhidrato de N-(1-naftil)-etilendiamina (NEDD). La absorbancia de este complejo se mide espectrofotométricamente a 520 nm.

Para la determinación de nitrato+nitrito ($\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$), la muestra de agua se mezcló con tampón de pH y luego fue transferido a una bobina de cobre y cadmio, donde el nitrato se encuentra químicamente reducido a nitrito. La muestra químicamente reducida se mezcló con reactivo de color, preparado en ácido fosfórico diluido. El nitrito original más nitrito de la reducción química reacciona con sulfanilamida para formar un compuesto de diazonio, esta especie se combina con diclorhidrato de N-(1-naftil) etilendiamina para formar un colorante azo rojo púrpura que es medido espectrofotométricamente a 520 nm.

La determinación de fosfato (PO_4^{3-}) se llevó a cabo a través de la reacción con molibdato ácido en presencia de antimonio, forma un complejo de fosfo-molibdato de antimonio. Este complejo se reduce químicamente por el ácido ascórbico a un complejo intensamente azul: azul de fosfomolibdeno. La absorbancia de este complejo se mide espectrofotométricamente a 880 nm.

La determinación de silicato ($\text{Si}(\text{OH})_4$) se basa en condiciones ácidas, la sílice reactiva al molibdato se combina con el molibdato de amonio para formar un complejo amarillo de molibdo-ácido silícico. Este complejo se reduce químicamente mediante la adición de ácido 4-amino-3-hidroxi-1 naftalenosulfónico



tamponado a un complejo de azul de molibdeno silico. La absorbancia del producto final se mide espectrofotométricamente a 660 nm.

Estándares y curva de calibrado

Para los análisis de nitrito (NO_2^-), se preparó una solución estándar de nitrito de sodio (secada a 105°C), de 500 mg N/L- NO_2^- , y el autoanalizador de nutrientes discretos AQ-400 realiza una autocalibración estándar de 7 puntos (0.001 mg N/L- NO_2^- a 0.2 mg N/L- NO_2^-), para una cuantificación de regresión lineal, $r > 0.9985$, rango aplicado entre 0.0009-0.2 mg N/L, estimación del límite de reporte 0.002 mg N/L, límite del método de detección por procedimiento EPA MDL = 0.0001 mg N/L.

Para los análisis de nitrato-nitrito ($\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$ -N) se preparó una solución estándar de nitrito de sodio (secada a 105°C) hasta 7 ml de ácido sulfúrico, 5 normal, se agrega para su conservación, 500 mg de N/L- NO_3^- y AQ-400 Autoanalizador de nutrientes discretos realiza una autocalibración estándar de 8 puntos (0.01 mg N/L- NO_3^- a 2.0 mg N/L- NO_3^-), para una cuantificación de regresión lineal, $r > 0.9985$, rango aplicado entre 0.012-2.0 mg N/L, detección Límite del método por el procedimiento USEPA MDL = 0.003 mg N/L.

Para los análisis de fosfato (PO_4^{3-}), se preparó una solución estándar de ortofosfato de dihidrógeno de potasio, anhidro (secado a 105°C), de 1000 mg P/L- PO_4^{3-} y AQ-400. El autoanalizador de nutrientes discretos realiza una autocalibración estándar de 7 puntos, (0.003 mg P / L- PO_4^{3-} a 0.3 mg P L- PO_4^{3-}), para una cuantificación de regresión lineal, $r > 0.9985$, rango aplicado entre 0.003-0.3 mg P/L, estimación del límite de informe 0.003 mg P/L, límite del método de detección por USEPA procedimiento MDL = 0.0006 mg P/L.

Para los análisis de silicato ($\text{Si}(\text{OH})_4$) se preparó una solución estándar de metasilicato de sodio monoahidratado 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 por el procedimiento USEPA MDL = 0.018 mg de sílice/L.

Recolección de información meteorológica

El registro de variables climáticas se realizó mediante cinco estaciones meteorológicas de registro automático: región del Biobío: Carriel sur a 12 m.s.n.m. en $36^\circ 46' 45,12''\text{S}$; $73^\circ 03' 43,92''\text{W}$; región de La Araucanía: Maquehue a 92 m.s.n.m. en $38^\circ 46' 12''\text{S}$; $72^\circ 38' 12,84''\text{W}$; región de Los Ríos: Pichoy a 18 m.s.n.m. en $39^\circ 39' 3,96''\text{S}$; $73^\circ 04' 54,12''\text{W}$; en la región de Los Lagos: provincia de Osorno, Cañal Bajo a 61 m.s.n.m. en $40^\circ 36' 18''\text{S}$; $73^\circ 03' 38,88''\text{W}$; y en la región de Aysén: Aeródromo de Melinka a 11 m.s.n.m en $43^\circ 53' 43,67''\text{S}$ y $73^\circ 44' 20,59''\text{O}$. Las estaciones se componen de un registrador de datos electrónico ("datalogger") y sus respectivos sensores de temperatura y humedad relativa del aire, radiación solar, velocidad y dirección del viento y precipitación. La energía para su funcionamiento es provista por una batería



de 12 V, que es recargada en forma automática con un panel solar. Las estaciones antes nombradas pertenecen a la Dirección General de Aeronáutica Civil y para efecto de este proyecto se descargó cada mes la información desde la página web (www.meteochile.cl).

En todos los puntos de la red de estaciones de este estudio, se registraron además las condiciones meteorológicas al momento de efectuar el muestreo. Esto contempló la medición de la temperatura del aire y la 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; la nubosidad, mediante la división de la bóveda celeste en octavos. La posición de cada estación fue referenciada geográficamente utilizando equipos GPS bajo el Datum WGS84.

4.1.4 Actividad 4: Realizar los muestreos y análisis necesarios para la detección, identificación y cuantificación de quistes de dinoflagelados.

En la región del Biobío, el estudio de quistes se realizó en los mismos sectores muestreados con ocasión de los proyectos desarrollados por IFOP durante los años 2015 a 2017 y por las etapas I y II de este estudio, teniendo en consideración tanto la cercanía a áreas de manejo de recursos bentónicos, como el tipo de sedimento existente en el lugar. Para las otras regiones, los sitios de muestreo fueron identificados a partir de estudios de zonas donde se hayan registrado floraciones y que, por lo tanto, constituyen zonas potenciales de sedimentación de quistes. Para ello se utilizaron los análisis históricos de la abundancia relativa de las especies nocivas, con mayor énfasis en *Alexandrium catenella*, además de información acerca de la batimetría y caracterización de los sedimentos para identificar los posibles puntos donde realizar la prospección de quistes.

Es importante mencionar que los sitios escogidos para la extracción de sedimentos dentro de una misma área geográfica, no necesariamente pudo corresponder con los del muestreo de agua, pues dependió de la profundidad y del tipo de sedimentos que presentó cada sector.

Frecuencia de muestreo

Se realizaron dos campañas para la obtención de sedimento superficial para el estudio de quistes de dinoflagelados. Dada la actual condición de pandemia del país que se ha extendido por más de un año, en 2020 ocurrieron algunos retrasos en el normal desarrollo del estudio. El muestreo de sedimento fijado inicialmente para época de otoño fue realizado en invierno (entre agosto y septiembre), mientras que el fijado para primavera fue ejecutado durante primavera (diciembre) y verano (enero). En invierno se obtuvo un total



de 59 muestras y en primavera-verano 56 muestras, dando un total de 115 muestras que proporcionarán una visión general del área de estudio comprendida entre las regiones del Biobío y Los Lagos (36-43 °S).

Muestreo de sedimentos

Los muestreos se llevaron a cabo buscando idealmente la presencia de sedimentos finos, es decir, desde arenas medias hasta limos y arcillas, sin embargo, otros tipos de sedimento también fueron considerados (i.e. arenas medias y gruesas) cuando no fue posible obtener los más idóneos. En lugares poco profundos (menores a 20 metros) los muestreos se realizaron mediante buceo autónomo, mientras que en lugares donde la profundidad era mayor se utilizó una draga tipo Van Veen y/o un muestreador de fondo (KC Haps Corer). La recolección de sedimento se realizó mediante un frasco cilíndrico de 3 cm de boca, procurando recoger cuidadosamente sólo los primeros tres centímetros de sedimento de cada estación. Para evitar la germinación de los quistes, los frascos fueron enrasados con agua de mar del lugar de muestreo evitando dejar aire en su interior, se cerraron con tapa y contratapa, y posteriormente se cubrieron con papel de aluminio para evitar la entrada de luz. Todas las muestras fueron conservadas en oscuridad y a baja temperatura (~4° C). Ninguna muestra recolectada fue fijada.

Análisis de quistes

Para el tratamiento de las muestras se utilizó el método biológico de limpieza y concentración de quistes propuesto por [Matsuoka & Fukuyo \(2000\)](#) sin la utilización de compuestos químicos. Este método consiste básicamente en mezclar una cantidad conocida de sedimento con agua de mar filtrada, luego se limpia la muestra mediante ultrasonido y posteriormente se tamiza por mallas de 250, 100 y 20 µm. Los quistes de resistencia retenidos en el tamiz de 20 µm son identificados de acuerdo a sus características morfológicas (forma, color, tipo de pared y procesos, y arqueopilo) referidas en publicaciones especializadas (e.g. [Gu et al. 2015](#), [Liu et al., 2015](#), [Mertens et al., 2019](#)). Se usó además material de referencia recolectado en las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes. La identificación de quistes se realizó a nivel de género y cuando fue posible a nivel de especies, con particular atención con quistes del género *Alexandrium* (e.g. *A. catenella* y *A. ostenfeldii*). Para el análisis se utilizó un microscopio con objetivos entre 10x y 40x de aumento y cámaras de conteo Sedgewick Rafter de 1 mL. Los resultados son entregados como abundancia de quistes (quistes cm⁻³ sedimento húmedo (sh)) de dinoflagelados.

4.2 Metodología Objetivo Específico 2

Continuar con el análisis interpretativo de los datos obtenidos disponibles desde el año 2018, 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.

En este objetivo se integrará la información obtenida desde los resultados de las estimaciones de abundancia relativa, fitoplancton cualitativo y cuantitativo, quistes de dinoflagelados, biotoxinas marinas y los registros



hidrográficos y meteorológicos (ver sección 4.1), en busca de patrones de distribución espacio-temporal y su posible relación con variables ambientales. Se considerarán las diferencias entre las regiones originadas por latitud, ríos y aspectos ambientales propios de cada sector de estudio. Además, se realizará un análisis de esta información comparando los datos obtenidos durante las etapas previas de este proyecto, como una forma de evaluar la variabilidad interanual de los datos registrados.

4.2.1 Actividad 1: Caracterizar a nivel espacial y temporal la distribución y abundancia de las especies nocivas, incluyendo la dinámica del fitoplancton total

Para el desarrollo de esta actividad, se realizaron análisis completos de los datos disponibles, tendiente a identificar características y patrones respecto a la distribución espacial y temporal del fitoplancton considerando en forma independiente, así como también de las especies de microalgas nocivas monitoreadas. Tanto el fitoplancton total como el correspondiente a las especies nocivas fue contrastado con las distintas variables ambientales (meteorológicas e hidrográficas) registradas por el programa. Para ello, se realizaron análisis exploratorios de la información disponible (análisis de conglomerados, análisis canónicos de componentes principales, entre otros), como forma de evaluar las relaciones entre las variables medidas, considerando toda el área de estudio, las regiones administrativas y sectores geográficos particulares dentro de cada región.

Para la validación de la base de datos, la información fue organizada en archivos correspondiente a cada una de las etapas del Programa (Etapa I, desde enero a octubre de 2018, Etapa II, desde noviembre de 2018 a diciembre de 2019 y Etapa III desde enero a diciembre de 2020), ordenando de forma separada la información de las cinco regiones administrativas y separando cada una de las variables consideradas en el programa.

Para confeccionar la base de datos, se comenzó por ordenar las estaciones de muestreo para cada región de modo de obtener una plantilla única de estaciones por región (**Anexo 1, Base de Datos**).

Con esta plantilla, común para cada etapa de monitoreo por región y corrección de códigos y topónimos de los lugares de muestreo, se añadió la información en las columnas siguientes con respecto a: fitoplancton (cualitativo y cuantitativo), variables oceanográficas y meteorológicas, nutrientes, toxicidad por toxina paralizante, toxina amnésica y toxina diarreica (lipofílicas) con la finalidad de responder la pregunta asociada a este objetivo.

Con el objetivo de continuar con el análisis de la base de datos y en base a los resultados obtenidos en las Etapas I y II de este programa de monitoreo, referente a la existencia de configuraciones espacio-temporales del fitoplancton total (esto en términos de densidad: $\text{cél} \times \text{L}^{-1}$), el cual informó el periodo comprendido entre enero 2018 hasta diciembre de 2019, se realizaron nuevos análisis exploratorios multivariantes incluyendo los datos generados durante la presente etapa de monitoreo, comprendida entre enero de 2020 y diciembre



de 2020. El objetivo de estos análisis exploratorios, en los que se considera la ordenación y clasificación de las distintas variables de estudio, fue visualizar los patrones de distribución del conjunto de datos biológicos y ambientales y las posibles relaciones entre estos conjuntos de datos.

Para ello, se realizó un análisis completo de los datos disponibles, tendiente a identificar características y patrones respecto a la distribución espacial y temporal de los ensambles fitoplanctónicos considerando en forma independiente también a las especies de microalgas nocivas monitoreadas. Posteriormente, estos patrones generales, fueron contrastados con las distintas variables ambientales (meteorológicas e hidrográficas) y biológicas (abundancia relativa y fitoplancton total) registradas por el programa. Para ello, se realizaron análisis exploratorios integrados de la información disponible (análisis de componentes principales, análisis de conglomerados, análisis de escalamiento multidimensional (MDS), relaciones entre variables biológicas y ambientales, entre otros) tendientes a evaluar las relaciones entre las variables de la base de datos, considerando toda el área de estudio, las regiones administrativas y sectores dentro de cada región. Estos análisis se realizaron con el programa PRIMER ("Plymouth Routines in Multivariate Ecological Research"). Los conglomerados representados en los dendrogramas significativamente diferentes, fueron identificados mediante el análisis SIMPROF ("SIMilarity PROFile" o perfiles de similaridad) (cf. [Clarke y Gorley 2006](#), [Clarke et al., 2008](#)), el cual calcula rangos de los "perfiles de similaridad" entre muestras y determina la significancia estadística de cada conglomerado individual del dendrograma usando técnicas de permutaciones. El nivel de significancia empleado fue de 5%.

Para evaluar la relación entre las variables ambientales y el fitoplancton total y el fitoplancton nocivo, los datos fueron analizados en cuatro fases sucesivas

Los datos oceanográficos utilizados fueron la transparencia del agua (metros) y la temperatura (°C), salinidad (psu), densidad (kg/m³), fluorescencia (µg/L) y oxígeno (mg/L) a la profundidad de 5 metros, coincidiendo con el promedio del estrato superficial de muestreo de las variables biológicas (0 – 10 metros), las variables meteorológicas seleccionadas fueron temperatura del aire (°C), nubosidad (8vos), presión barométrica (mba), dirección (grados), velocidad del viento (m/seg) y luz (lux), además de las concentraciones de nutrientes, nitrato (µM), nitrito (µM), fosfato (µM) y silicato (µM), obtenidos desde el estrato entre 0 y 10 metros. Estos datos ambientales fueron dispuestos en una matriz para cada una de las estaciones y fechas de muestreo.

4.2.2 Actividad 2: Exploración de imágenes satelitales

En esta etapa se inició la exploración de información disponible de clorofila_a satelital para complementar la interpretación de la información *in situ* obtenida por IFOP desde las etapas anteriores (Etapas I y II), identificando patrones de distribución espacio-temporal entre las regiones del Bío-Bío y Aysén (36° - 44°S). Se propone utilizar 3 años (2017 - 2019) de datos diarios de concentración superficial de clorofila-a con una resolución espacial de 4



km, los que fueron 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). Como primera aproximación, a través de análisis en los dominios del tiempo, el espacio y la frecuencia, se identificarán y caracterizarán las principales escalas de variabilidad (estacional, anual e interanual) a lo largo de la región de estudio

4.2.3 Actividad 3: Estudio comparativo entre quistes de resistencia bentónicos y células planctónicas de dinoflagelados

En esta etapa se realizó un estudio comparativo entre los distintos quistes de resistencia registrados en sedimentos obtenidos en épocas de invierno y primavera-verano versus los distintos dinoflagelados identificados en la columna de agua mediante análisis cualitativos durante los 12 cruceros de estudio. Esta comparación tiene por objetivo robustecer la base de datos de especies fitoplanctónicas debido a que, frecuentemente, es más fácil identificar una especie de dinoflagelado en su fase bentónica (quiste) que en su fase planctónica (célula móvil).

Adicionalmente, se realizó un estudio de quistes de resistencia en un testigo de sedimento obtenido durante la campaña de invierno en Caleta Zorra (estación a 10 millas náuticas), localidad que ha mostrado en etapas anteriores la presencia de quistes de *A. catenella* en sus sedimentos. Para la obtención del testigo se utilizó el muestreador de fondos Haps Corer, el cual tiene por característica principal la obtención de columnas sedimentarias imperturbadas en toda su longitud. El testigo fue seccionado cada 1 cm en toda su longitud, guardando las muestras en bolsas herméticas sin aire en su interior, en oscuridad y a baja temperatura ($\sim 4^{\circ}\text{C}$) para evitar la germinación de los quistes. El tratamiento de las muestras y la identificación de los quistes se llevó a cabo de acuerdo a las metodologías mencionadas en la actividad 4 del objetivo específico 1. Adicionalmente, debido a la pandemia, el testigo no pudo ser datado con la técnica de Plomo 210 en el laboratorio de Oceanografía Química de la Universidad de Concepción.

4.2.4 Actividad 4: Distribución y variabilidad de Nutrientes

Se integró la información obtenida desde los resultados de las especies químicas inorgánicas disueltas de nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2^-), fosfato (PO_4^{3-}) y silicato ($\text{Si}(\text{OH})_4$) con los registros oceanográficos y meteorológicos. Esto se llevó a cabo para buscar patrones de distribución y su posible relación con variables ambientales, considerando las diferencias geográficas y temporales.

4.3 Metodología Objetivo Específico 3:

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 con el conocimiento y comprensión de los eventos nocivos.



Este objetivo es compartido con el estudio PROGRAMA DE MANEJO Y MONITOREO DE LAS MAREAS ROJAS EN EL SISTEMA DE FIORDOS Y CANALES DE CHILE (XIV ETAPA) 2020-2021, ya que ambos proyectos pretenden alcanzar los mismos logros, aunque existen diferencias dadas por la geografía que abarcan estos estudios, la historia de ambos y las estrategias usadas para recolectar la información y muestras de terreno, y que finalmente determinan las diferencias, énfasis y los aspectos considerados en cada proyecto.

4.3.1 Actividad 1: Identificación molecular en especies de microalgas nocivas.

Existen numerosas formas para monitorear ecosistemas costeros con la finalidad de una detección oportuna de la presencia de especies de microalgas nocivas (imágenes satelitales, microscopia, modelación biológica, análisis de toxinas etc.) sin embargo, las especies que componen el fitoplancton representan un desafío para la taxonomía clásica debido a las similitudes morfológicas entre especies, existencia de especies tóxicas y no tóxicas, ciclos de vida complejos, entre otros aspectos. En la actualidad la aplicación de un marcador genético como criterio para identificar y cuantificar especies nocivas ha sido descrita para varias especies, incluyendo los géneros *Alexandrium* y *Dinophysis*, principales grupos responsables FAN en las costas chilenas.

Entre estas metodologías se encuentran:

a) PCR cuantitativa (qPCR), que se caracteriza por su especificidad, la cual está asociada a la identificación de regiones en el ADN especie-específicas para el diseño de primers que permitan la identificación precisa de la especie de interés. Este método resulta atractivo desde el punto de vista de la especificidad y su rapidez en el tiempo de análisis, lo cual permite detectar rápidamente un número limitado de organismos eucarióticos y/o procariotas específicos dentro de un escenario ecológico mixto. Los riesgos ecológicos y económicos que se asocian a un FAN han sido uno de los principales factores que han gatillado la utilización de la qPCR como un método rápido y rentable que detecte especies potencialmente dañinas y productoras de toxinas en áreas geográficas donde se produce la pesca y acuicultura, sin embargo, el diseño de marcadores para la detección de especies pertenecientes al género *Alexandrium* no ha sido desarrollada para las costas chilenas, lo que representa un desafío importante, ya que la información generada puede ser rápidamente entregada a las autoridades correspondientes para la toma de decisiones, sin embargo, es necesaria una correcta calibración de la técnica, para asegurar que la abundancia de células/ml sea reflejada a nivel molecular.

b) Metabarcoding, se caracteriza por la identificación de múltiples especies de manera simultánea mediante secuenciación masiva de genes ribosomales. Esta metodología ha demostrado ser una herramienta útil en términos de la cantidad de información generada y la utilización de estos datos para la descripción de



procesos en sistemas complejos. Particularmente en ecosistemas acuáticos, el metabarcoding ha sido útil en la descripción de los patrones de diversidad taxonómica y ecológica en diferentes escenarios y que podría ser utilizada en el monitoreo de microalgas nocivas y que eventualmente podría complementar el monitoreo realizado actualmente por CREAN-IFOP, sin embargo, el desarrollo de la técnica desde el punto de vista molecular requiere una estandarización de acuerdo al tipo de muestra que se quiere analizar. Esta estandarización requiere la validación de etapas críticas como el diseño de partidores, especificidad de los partidores por las especies objetivo, cobertura en términos de número de especies por sitio, de tal forma que se asegure que la información obtenida representa fielmente la identificación de especies presentes en una muestra de ambiente. Lo anterior hace necesario la realización de diferentes ensayos antes de llegar al protocolo final el cual es una de las principales ventajas de esta técnica.

Sitios de muestreo

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: BCC5; BCL5; BLL5; MPAT1-5; MPAT3-5; MPRT2-5; MPRT4-5; MPLT2-5; MPLT4-5; MPLT6-5; MPLT7-5; MPLT8-5; MPLT9-5; MPAYT1-5.

Secuenciación

Para caracterizar la diversidad de taxa fitoplanctónicos se usó un par de partidores que amplifican la región V4 del gen ribosomal 18S (Forward: CCAGCASCYGCGGTAATTCC – Reverse: ACTTTCGTTCTTGATYRA). Esta región entrega información taxonómica y filogenética del conjunto de taxa que están presentes en una determinada muestra. 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/indraniel/fqgprep>). 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/>).

Para la utilización de marcadores moleculares especie-específicos basados en PCR en tiempo real (qPCR) las estaciones analizadas fueron todas las ubicadas en el transecta de 5 millas.

Diseño de marcadores moleculares

qPCR

Se descargaron 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 probaron 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

Para las muestras de cultivo la extracción de ADN se realizó a partir de un volumen de 10ml, el cual se filtró usando papel de microfibras de 47mm de diámetro (Whatman™) y apertura de poro de 1.2µm. La extracción de ADN se llevó a cabo 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.

PCR con partidores especie-específicos.

La PCR usando los partidores diseñados anteriormente se hizo en un volumen de reacción de 25ul. El producto de PCR obtenido fue purificado usando el kit EZNA, el producto se envió 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 usaron diluciones seriadas para determinar la eficiencia de estos, usando PCR tiempo real (qPCR). Con la eficiencia establecida anteriormente los primers fueron testeados en muestras de monocultivo en una batería de concentraciones desde 25 a 3000 células/ml con la finalidad de detectar los límites de detección. De forma paralela los partidores se probaron 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 diseñaron sondas Taqman para incrementar la especificidad de los marcadores diseñados anteriormente.

4.3.2 Actividad 2: Distribución anual de toxinas mediante LC-Masas 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*, *Pseudonitzschia spp*).

A partir de muestras de aproximadamente 4 L de agua obtenida con manguera del estrato superficial de 10 metros, se prepararon dos extractos de toxinas que fueron analizadas por espectrometría de masas acoplados a un cromatógrafo líquido. Un extracto (100% metanol) fue utilizado para analizar la presencia de okadaatos, 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 debe diluir 1:4 con acetonitrilo, para posteriormente analizar la presencia de toxinas marinas paralizantes utilizando cromatografía HILIC, basados en la siguiente metodología:

“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.”

Así mismo, a partir de las mismas muestras de agua, se realizaron preparaciones para identificar morfológicamente las microalgas asociadas a su producción, mediante microscopía electrónica.

4.3.3 Actividad 3: Estudio de biotoxinas en tejidos de mariscos

Las biotoxinas marinas son contaminantes naturales del medio ambiente marino producidas como metabolitos secundarios de las microalgas y que afectan a la mayoría a los moluscos bivalvos. El consumo de alimentos contaminados con estas toxinas puede provocar distintos cuadros de intoxicación, suponiendo un riesgo para la salud pública. Además, la presencia de toxinas lipofílicas puede interferir en los análisis de TDM realizadas por bioensayos de ratón, ocasionando que las muestras analizadas por esta metodología arrojen falsos positivos. Debido a esto, se evaluarán situaciones puntuales en todo el espacio geográfico que cubre el estudio, tendiente a identificar y cuantificar las toxinas presentes. Como forma de conocer el perfil de toxinas lipofílicas de las muestras obtenidas durante el proyecto, se realizó un procedimiento para la detección y cuantificación de las toxinas marinas lipofílicas por medio de análisis de HPLC MS/MS, según la siguiente metodología:

Para cada uno de los puntos de extracción de mariscos contemplados en la Tabla 3 de esta propuesta, se recolectaron mensualmente muestras extras de mariscos, mediante buceo semiautónomo y recolección de orilla. Cada muestra fue de aproximadamente 200 gramos de marisco sin concha. Luego de recolectadas, las muestras fueron etiquetadas y almacenadas en bolsas plásticas para conservarlas en recipientes con hielo o refrigeradas y transportadas a bordo de embarcaciones, las que, una vez llegadas a puerto, fueron congeladas a -20° C hasta el momento del análisis, el cual fue realizado en el Laboratorio del Centro de Estudios de Algas Nocivas (CREAN) de IFOP en Puerto Montt.

El objetivo de este procedimiento es determinar biotoxinas marinas lipofílicas de los grupos de ácido okadaico (AO), Pectenotoxina (PTX), Azaspiracido (AZA), Espirólido (SPX1), Gymnodimina (GYM) y Yessotoxina (YTX) utilizando metodología basada en el uso de HPLC MS/MS. Además, con este procedimiento se determinará Ácido Domoico (DA).



Este método se aplica a la determinación de biotoxinas marinas lipofílicas en diferentes matrices de 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, YTX es utilizada para la cuantificación indirecta de 45-OH YTX y homoYTX es usada para la cuantificación de 45OH homoYTX.

El método se basa en la extracción de las toxinas de los tejidos previamente homogeneizado con 100% metanol (MeOH). Los extractos son analizados por HPLC-MS/MS para determinar AO libre, DTX1 libre, DTX2 libre, PTX1, PTX2, AZA1, AZA2, AZA3, YTX, Homo YTX, 45 OH YTX, 45 OH Homo YTX, Gym, 12 metil Gym, SPX1 y DA. Para determinar el contenido total del grupo de las toxinas AO, se realiza una hidrólisis alcalina del extracto para convertir todos los esteres acetilados de estas toxinas a sus formas libres, para ser luego ser analizados en HPLC MS/MS.

Adicionalmente, con las mismas muestras se procederá a determinar biotoxinas marinas paralizantes utilizando la metodología descrita por Turner y colaboradores el año 2019 (cita en punto 4.3.2).

Toda la información referente a resultados de toxicidad de TML y toxinas paralizantes en mariscos, se entregan tabulados por estación y crucero, distribuidos por cada región administrativa.

4.3.4 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.

El éxito de este objetivo depende completamente de la aislación de microalgas nocivas desde muestras frescas, lo cual permitirá el subsecuente desarrollo de todos los otros compromisos que se describen a continuación.

Aislación de microalgas tóxicas desde muestras de terreno

Aislación de microalgas

Las muestras de terreno fueron mantenidas en incubación con medio de cultivo hasta que la aislación fue realizada. Esta se llevó a cabo mediante micro manipulación desde la muestra de campo. Las células aisladas fueron dispuestas en placas de cultivo de 96 pocillos. Estas placas se incubaron hasta que se detectó división celular y el cultivo se estableció definitivamente con una biomasa celular a definida según la especie aislada.



Mantenimiento de cultivos

Los cultivos monoclonales de las microalgas aisladas desde los fiordos del sur de Chile se mantendrán en el Centro de Estudios de Microalgas Nocivas (CREAN) del Instituto de Fomento Pesquero (IFOP). Las cepas se cultivarán en condiciones controladas de luz, temperatura y salinidad.

Identificación taxonómica mediante microscopía óptica (M.O)

Basado en literatura taxonómica nacional e internacional, las especies aisladas desde las campañas de muestreo en terreno se analizarán en microscopios de luz ópticos convencionales con el fin de clasificar al organismo aislado.

Identificación genética

Se realizarán análisis moleculares de las especies de microalgas aisladas y mantenidas en cultivo con el fin de confirmar los resultados de identificación obtenidos previamente mediante microscopía óptica.

Exploración de biotoxinas en microalgas de cultivo

Detección de citotoxinas desconocidas mediante línea celular RTgill-W1

El CREAN ha implementado una novedosa técnica para explorar sustancias citotóxicas que generan grandes mortalidades masivas de organismos marinos, tanto de cultivados como silvestres. Esta técnica se basa en la detección de citotoxinas mediante la línea celular RTgill-W1 (CRL-2523, ATCC). Esta línea celular permite explorar la potencia citotóxica de especies que aparecen emergentes en los sistemas de fiordos del sur de Chile. Esta capacidad analítica del CREAN se encuentra en pocos laboratorios en el mundo.

Ficotoxinas conocidas - lipofílicas e hidrofílicas mediante HPLC MS/MS

Para mayores detalles sobre las metodologías ligadas a la detección y cuantificación de toxinas marinas ver objetivo 3, actividad 3.

Toxinas Marinas Lipofílicas: El método se basa en la extracción de las toxinas de las muestras con 100% metanol (MeOH). Los extractos son analizados por HPLC-MS/MS para determinar AO, DTX, DTX2, PTX1 (PTX11), PTX2, AZA1, AZA2, AZA3, YTX, Homo YTX, Gym, 12-metil Gym, SPX1 y DA. La separación cromatográfica se realiza utilizando una columna en fase reversa C-18 en condiciones ácidas, basados en las metodologías indicadas en el punto 4.3.2.

Toxinas Marinas Paralizantes: El método se basa en la extracción de las toxinas de las muestras con 0.05 M ácido acético (HAc). Los extractos son analizados por HPLC-MS/MS para determinar STX, dcSTX, NeoSTX, dcNeoSTX, GTX1, GTX2, GTX3, GTX4, GTX5, GTX6, C1, C2, dcGTX2 y dcGTX3. La separación cromatográfica se realiza utilizando una columna Hilic amide, , basados en la metodología indicada en el punto 4.3.2.



4.4 Metodología Objetivo Específico 4:

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

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

En la distribución de los estimadores de abundancia relativa de los taxones nocivos, se han mantenido los dos públicos objetivo, i) la autoridad de Salud y Pesca-Acuicultura, en el que se incluye también a los especialistas y profesionales con entrenamiento superior interesados en las floraciones de algas nocivas y toxinas marinas, y ii) el Público en general.

Respecto del primero, interesa que los estimadores de abundancia relativa sean de conocimiento rápido, simple e instructivo, tan pronto los resultados estén disponibles.

En esta etapa, se incorporó la distribución de los estimadores de abundancia relativa de *Alexandrium catenella* a través de la aplicación móvil i-FAN, la cual puede ser descargada para sistemas Android e i-Os. Esta información, es replicada en las redes sociales del Centro de Estudios de Algas Nocivas (CREAN), vale decir, Twitter (@crean_ifop), Facebook (CREAN) e Instagram (crean_ifop). Para el público más especializado, los estimadores de abundancia relativa de los cinco taxones nocivos (*A. catenella*, *A. ostensfeldii*, *Protoceratium reticulatum*, *Dinophysis acuminata*, *D. acuta*), son distribuidos tan pronto como los resultados están disponibles en el laboratorio, a través de la página WEB institucional (<https://www.ifop.cl/marearoja/reportes/>), y Sistema de Información Geográfica (SIG) on-line.

Para el público general, la información es distribuida en un formato más resumido, con el fin de llegar transversalmente con información sobre estos taxones nocivos, entregando la distribución y abundancia relativa por sectores geográficos del Monitoreo.

4.4.2. Actividad 2: Difusión de resultados y capacitación

Seminario-taller de difusión. Su objetivo es la difusión y discusión de los temas centrales y resultados del Programa durante sus años de realización entre 2018-2020, con la participación de todos los investigadores y técnicos integrantes del grupo de investigación. La actividad está orientada a integrar y compartir los conocimientos obtenidos, bajo una comprensión multidimensional (oceanográfica-biológica-meteorológica), que ayude a explicar y comprender la dinámica y desarrollo de las Floraciones Algales Nocivas (FAN) en el sector costero entre las regiones del Biobío hasta Aysén y, además, que se traduzca en la construcción de un marco referencial para su seguimiento, prevención y mitigación de estos eventos.

Taller de capacitación. Su objetivo es la presentación de resultados (enero 2018 – diciembre 2020), tanto de los resultados obtenidos durante la etapa III como de los avances del conocimiento en materias FAN, de tal



manera de realizar una transferencia de información y conocimiento hacia los funcionarios públicos de las diferentes instituciones relacionadas.

La actividad estará orientada a integrar y compartir los conocimientos obtenidos durante 3 años de estudio, en una comprensión multidimensional (oceanográfica-biológica-meteorológica), la cual ayude a explicar y comprender la dinámica y desarrollo de las Floraciones de Algas Nocivas (FAN) en la costa del océano Pacífico, y que además permita construir un marco referencial conceptual que facilite la comprensión, seguimiento, prevención y mitigación de estos eventos.

Elaboración de manuscritos científicos. En consideración a la necesidad creciente que las medidas del Estado estén basadas en información científica de calidad, se ha trabajado en la elaboración de manuscritos para ser presentados a revistas especializadas, de modo que la información generada se encuentre ampliamente disponible y validada.

Otras actividades de difusión relevantes. Como parte de las actividades de difusión, y con el fin de presentar y exponer los trabajos derivados del análisis e interpretación de los datos generados en el programa, es que parte de los resultados fueron presentados en congresos y reuniones científico/técnicas a nivel nacional e internacional.

4.3.3 Actividad 3: Fortalecer la vinculación con el medio.

Charlas. Vinculación con colegios en zonas afectadas por Floraciones de Algas Nocivas (FAN) para transmitir conocimientos respecto al estado del arte de las FAN y toxinas marinas en Chile, además de entregar un mensaje de responsabilidad frente al consumo de mariscos (desde su compra hasta su consumo). Actualmente, las charlas se han realizado de manera telemática, enfocando los trabajos para alumnos de 2do ciclo de educación general básica (3ro a 6to), e incorporando términos más específicos para alumnos del tercer ciclo (7mo básico a IV medio).

Ferias y Fiestas Científicas. No fueron posibles durante esta etapa, las actividades presenciales, participando sólo en un recorrido virtual de los laboratorios del CREAN.



5. GESTION DEL PROYECTO

Desarrollo de las actividades durante el periodo de contingencia por COVID-19:

Debido a la contingencia por COVID-19 las actividades de terreno y laboratorio presentaron un desarrollo heterogéneo en su finalización, mientras las actividades asociadas a las regiones del Biobío, Los Lagos y Aysén finalizaron en la fecha comprometida, esto es diciembre de 2020, las actividades de monitoreo en las regiones de la Araucanía y Los Ríos finalizaron durante la segunda semana del mes de enero de 2021. El grado de desarrollo dependió de las distintas complejidades de cada región administrativa en cuanto a las medidas adoptadas por la autoridad sanitaria y el tránsito por cordones/barreras sanitarias y zonas de cuarentena, las cuales requirieron de permisos especiales (salvoconductos) o resoluciones para el traslado de nuestro personal y abordar el muestreo y transporte de muestras de agua y mariscos, estos permisos dificultaron la programación y desarrollo de las actividades en aquellos lugares que se encontraban con zonas de barrera sanitaria en San Pedro de la Paz y Hualpén en la región del Biobío, Provincias de Chiloé y Palena en la región de los Lagos y zona de cuarentena en la provincia de Osorno.

Debido a protocolos COVID-19 institucionales y de la autoridad de salud, las actividades de laboratorio disminuyeron, aplicando un sistema de turnos diarios de trabajo presencial a partir del mes de abril para los analistas de fitoplancton, nutrientes y toxinas; este sistema de turnos se ha prologado hasta la entrega de este informe, debido a la extensa cuarentena que se mantuvo por ocho meses (agosto – diciembre de 2020, enero – marzo de 2021) en la ciudad de Puerto Montt. Los atrasos derivados de esta situación y que afectan a las actividades de terreno fueron en promedio de un mes, este atraso correspondió a los meses entre abril a julio. En cuanto a los análisis de fitoplancton, el retraso final fue cercano a los dos meses. Las actividades de terreno en los sectores de la región del Biobío y región de los Lagos, se lograron finalizar, realizando los 12 cruceros en el tiempo comprometido. Sin embargo, en el sector de las regiones de la Araucanía y los Ríos el atraso acumulado fue de un mes. Finalmente, este retraso en las actividades de terreno tuvo un impacto en el análisis de laboratorio y el posterior análisis de resultados, interpretación y redacción del informe final que debió ser entregado el 31 de marzo de 2021. Por lo que, se solicitó una prórroga de dos meses en la entrega del mismo, quedando como nueva fecha el día 31 de mayo de 2021.

Otro efecto de la contingencia asociada al COVID-19 y que tuvo un impacto en el desarrollo del proyecto, es que, a comienzos del mes de mayo, hubo un investigador del CREAN que resultó positivo a SARS-CoV2 mediante PCR. Ello afectó a otras 5 personas por contacto cercano, no estrecho, dos de las cuales habían iniciado actividades de terreno con fecha 15 de mayo en el sector de Chiloé. El trabajo de terreno debió ser suspendido a solicitud de la autoridad de Salud, y las personas realizar cuarentena. Uno de ellos lo hizo en la ciudad de Quellón y el otro en Puerto Montt. Este caso positivo generó un cierre temporal de las



instalaciones y las actividades que se desarrollaban hasta antes de este caso. El cierre temporal del CREAN impactó tanto a las actividades de terreno como a las actividades de laboratorio, asociado al análisis de fitoplancton, nutrientes y toxinas. El cierre del centro se prolongó durante dos semanas en donde las actividades se vieron suspendidas. Todas las demás personas evaluadas por PCR, un total de 16 personas, tuvieron resultados negativos, y las actividades paulatinamente comenzaron a ser retomadas con fecha 25 de mayo. Por tanto en la región de Los Lagos, el trabajo se retrasó, y no sólo por esta circunstancia, sino que además la autoridad ha fortalecido las barreras sanitarias, haciendo muy difícil lograr salvoconductos y cumplir con el trabajo comprometido en las oportunidades planificadas.

En cuanto al trabajo de laboratorio, análisis e interpretación de la información, durante la elaboración de este informe, se mantiene el trabajo por turnos, respetando el aforo máximo permitido para cada oficina y laboratorio en el CREAN, abordando el análisis de las muestras que se han recolectado hasta ahora; una proporción importante de personas está trabajando a distancia, manteniéndose en un porcentaje bajo las actividades presenciales (~35%).



6. RESULTADOS Y DISCUSIONES

A continuación, se presentan los resultados preliminares por objetivo específico:

6.1 Resultados Objetivo específico 1.

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

6.1.1 Actividad 1: Conocer la abundancia, composición y distribución espacio-temporal de las especies nocivas: *Alexandrium catenella*, *A. ostenfeldii*, *Dinophysis acuta*, *D. acuminata*, *Protoceratium reticulatum*, *Pseudo-nitzschia* cf. *australis* y *P.* cf. *pseudodelicatissima*, además de las especies que componen el fitoplancton total en la red de estaciones de estudio.

Los resultados que se presentan a continuación corresponden a los 8 cruceros efectuados en las cinco regiones de estudio entre los meses de enero y octubre de 2020. Los datos resultantes del monitoreo en la red de estaciones: análisis del fitoplancton cuantitativo, cualitativo y abundancia relativa de las especies nocivas se encuentran en Anexo 1 Base de datos.

Fitoplancton Cuantitativo: La composición fitoplanctónica, en las estaciones de muestreo asociadas a las 2 millas desde la costa, estuvo compuesta por un total de 180 especies, de las cuales 114 son diatomeas, 57 son dinoflagelados, 2 silicoflagelados, 1 zoomastigoforo, 2 ciliados, 1 euglenofícea, 2 prasinofíceas y 1 prymnesiales. La **Figura 1.1.1**, muestra la distribución espacial y temporal de las 12 especies que más contribuyen a la abundancia total del fitoplancton (>90%). Entre estas especies se encuentran: *Ceratulina pelágica*, *Chaetoceros debilis*, *Chaetoceros* spp., *Leptocylindrus danicus*, *Leptocylindrus minimus*, *Paralia sulcata*, *P.* cf. *australis*, *P.* cf. *pseudodelicatissima*, *Skeletonema* spp., *Thalassiosira* cf. *minúscula*, *Thalassiosira* spp. y *Mesodinium rubrum*. Durante el periodo estival, se observó la dominancia de las diatomeas tóxicas *P.* cf. *australis* y *P.* cf. *pseudodelicatissima*, especialmente en las estaciones ubicadas en la región de los Lagos. Durante el invierno las densidades del fitoplancton disminuyó drásticamente hasta comienzos de primavera cuando se observaron alta de densidades de *Skeletonema* spp. ($> 0.6 \times 10^7$ células L⁻¹) en las estaciones de la región del Biobío. La composición fitoplanctónica, en las estaciones de muestreo asociadas a las 5 millas desde la costa, estuvo compuesta por un total de 171 especies, de las cuales 100 son diatomeas, 63 son dinoflagelados, 3 silicoflagelados, 1 zoomastigoforo, 2 ciliados, 1 euglenofícea, 1 prymnesiales. La **Figura 1.1.2**, muestra la distribución espacial y temporal de las 12 especies que más contribuyen a la abundancia total del fitoplancton (>90%). Entre estas especies se encuentran: *Chaetoceros radicans*, *Chaetoceros* spp., *Detonula pumila*, *Leptocylindrus danicus*, *Leptocylindrus minimus*, *P.* cf. *australis*, *P.* cf. *pseudodelicatissima*, *Skeletonema* spp., *Thalassiosira nitzschioides*, *Thalassiosira* cf. *minúscula*, *Scrippsiella trochoidea* y Dinoflagelados atecados. Durante



el periodo estival, se observó la dominancia de las diatomeas entre la que destaca *Chaetoceros radicans*, la cual alcanzó una densidad el mayor registro de densidad ($> 1.8 \times 10^7$ células L^{-1}) asociada a la estación de Faro Corona en la región de los Lagos. Durante el invierno las densidad del fitoplancton disminuyó drásticamente hasta comienzos de primavera cuando a 5 millas se registraron las altas densidades de *Skeletonema* spp. ($> 0.4 \times 10^7$ células L^{-1}) en las estación de Coliumo en la región del Biobío. La composición fitoplanctónica, en las estaciones de muestreo asociadas a las 10 millas desde la costa, estuvo compuesta por un total de 174 especies, de las cuales 101 son diatomeas, 63 son dinoflagelados, 3 silicoflagelados, 1 zoomastigoforo, 2 ciliados, 1 euglenofícea, 2 prasinofíceas y 1 prymnesiales. La **Figura 1.1.3**, muestra la distribución espacial y temporal de las 12 especies que más contribuyen a la abundancia total del fitoplancton ($>90\%$). Entre estas especies se encuentran: *Aulacoseira pseudogranulata*, *Chaetoceros* spp., *Cylindrotheca closterium*, *Leptocylindrus danicus*, *P. cf. australis*, *P. cf. pseudodelicatissima*, *Skeletonema* spp., *Thalassiosira nitzschoides*, *Thalassiosira nitzschoides subtilis*, *Thalassiosira cf. minúscula*, *Thalassiosira* spp. y Dinoflagelados atecados. Durante el periodo estival, se observó la dominancia de las diatomeas tóxicas *P. cf. australis* y *P. cf. pseudodelicatissima*, especialmente en las estaciones ubicadas en la región de los Ríos y Lagos y de *Leptocylindrus danicus* la cual alcanzó una alta densidad ($> 0.2 \times 10^7$ células L^{-1}) asociada a la estaciones ubicadas en la región del Biobío. Durante el invierno las densidad del fitoplancton disminuyó drásticamente hasta comienzos de primavera cuando a 10 millas se registraron las altas densidades de *Skeletonema* spp. ($> 0.4 \times 10^7$ células L^{-1}) en las estaciones del Biobío y la Araucanía. Las altas densidades de *Skeletonema* spp. durante la primavera se registraron a lo largo de toda la costa del Biobío y la Araucana y en todas las distancias desde la costa (2, 5 y 10 millas).

Abundancia relativa especies nocivas: Los resultados de abundancia relativa en cada una de las regiones estudiadas se presentan en las **Figuras 1.1.4 a 1.1.10**, éstas figuras incorporan toda la información generada en las tres etapas de desarrollo del estudio. Para los 12 cruceros considerados se identificaron cinco especies nocivas de dinoflagelados (*Alexandrium catenella*, *A. ostenfeldii*, *D. acuminata*, *D. acuta* y *P. reticulatum*) y dos especies de diatomeas (*Pseudo-nitzschia cf. australis* y *P. cf. pseudodelicatissima*).

El análisis descriptivo de la Abundancia Relativa de las especies nocivas se describe para cada región de estudio.

Nota: Entiéndase para los comentarios de Abundancia relativa de las especies nocivas, que cuando nos referimos a cobertura espacial, queremos explicar la relación en porcentaje del: **N° de estaciones con presencia de la especie / N° total de estaciones muestreadas**.

***Alexandrium catenella* (Figura 1.1.4):**

1_ Región del Biobío, se observó que la distribución temporal de esta microalga tuvo presencia solamente en 2 de las 12 campañas realizadas durante el periodo de estudio, detectándose en los cruceros N°6 (julio



2020) y crucero N°7 (agosto 2020), mostrando bajos niveles de abundancia relativa que se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 2 (Escaso). En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que dos de las cuatro transectas de la región, ambas ubicadas en la parte sur del Golfo de Arauco, tuvieron presencia de este dinoflagelado en al menos una de sus estaciones en algún momento del proyecto, y que el Nivel 2 de abundancia relativa sólo se presentó durante el crucero N°7 en las estaciones costa y 2 millas de la transecta de Tubul.

La cobertura espacial de *A. catenella* fue del 2,1% en la región durante el proyecto.

2_ Región de La Araucanía, se observó que la distribución temporal de esta microalga tuvo presencia en 4 de las 12 campañas realizadas durante el periodo de estudio, detectándose en entre los meses de julio de 2020 y octubre de 2020, mostrando bajos niveles de abundancia relativa que van desde el Nivel 1 (Raro) al Nivel 3 (Regular). En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que las tres transectas de la región tuvieron presencia de este dinoflagelado en al menos una de sus estaciones en algún momento del proyecto, y que el Nivel 3 de abundancia relativa sólo se presentó durante el crucero N°7 (inicios de octubre de 2020) en la estación de 10 millas de la transecta de Nehuentúe.

La cobertura espacial de *A. catenella* fue del 13,0% en la región durante el proyecto.

3_ Región de Los Ríos, se observó que la distribución temporal de esta microalga tuvo presencia en 5 de las 12 campañas realizadas durante el periodo de estudio, detectándose en los cruceros N°6 (agosto 2020), N°7 (inicios de octubre de 2020), N°8 (fines de octubre de 2020), N°9 (noviembre 2020) y N°12 (enero 2021), mostrando bajos niveles de abundancia relativa que van desde el Nivel 1 (Raro) al Nivel 3 (Regular). En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que tres de las cuatro transectas de la región, Niebla, Chaihuín y Río Bueno, tuvieron presencia de este dinoflagelado en al menos una de sus estaciones en algún momento del proyecto, y que Nivel 3 de abundancia relativa sólo se presentó durante el crucero N°7 (inicios de octubre de 2020) en la estación de 10 millas de la transecta de Río Bueno. Es preciso mencionar que el Nivel 2 (Escaso) también se observó solamente durante el crucero N°7, en las estaciones de 5 y 10 millas de la transecta de Chaihuín y en la estación de 5 millas de la transecta de Río Bueno.

La cobertura espacial de *A. catenella* fue del 11,8% en la región durante el proyecto.

4_ Región de Los Lagos, se observó que la distribución temporal de esta microalga tuvo presencia en 11 de las 12 campañas realizadas durante el periodo de estudio, estando solo ausente en el crucero N°3 (marzo 2020). Los niveles de abundancia relativa se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y Nivel 5 (Muy Abundante). En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que las nueve transectas de la región tuvieron presencia de este dinoflagelado en al menos una de sus estaciones en algún momento del proyecto, y que Nivel 5 de abundancia relativa sólo se presentó durante el crucero N°8 (septiembre 2020) en la estación de 10 millas de la transecta de Mar Brava. También es preciso señalar que el Nivel 4 (Abundante) se detectó en 5 ocasiones en esta región durante el transcurso del proyecto, estando 3 de ellas en el crucero 8,



específicamente en las estaciones de 2 y 10 millas de la transecta de Faro Corona y en la estación de 5 millas de la transecta de Cucao.

La cobertura espacial de *A. catenella* fue del 38,3% en la región durante el proyecto.

5_ Región de Aysén, se observó que la distribución temporal de esta microalga tuvo presencia en 7 de las 12 campañas realizadas durante el periodo de estudio, detectándose en los cruceros N°1 (enero 2020), N°2 (febrero 2020), N°3 (marzo 2020), N°5 (junio 2020), N°8 (septiembre 2020), N°11 (diciembre 2020) y N°12 (enero 2021), mostrando bajos niveles de abundancia relativa que van desde el Nivel 1 (Raro) al Nivel 2 (Escaso). En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que las tres estaciones de la transecta de esta región tuvieron presencia de este dinoflagelado en algún momento del proyecto, y que Nivel 2 de abundancia relativa se presentó en la estación de 2 millas de Canal Tuamapu durante el crucero N°3 y en la estación de 10 millas en los cruceros N°8 y N°11.

La cobertura espacial de *A. catenella* fue del 36,1% en la región durante el proyecto.

***Alexandrium ostenfeldii* (Figura 1.1.5):**

1_ Región del Biobío, se observó una importante distribución temporal de esta microalga, con presencia en las 12 campañas realizadas durante el periodo de estudio, desde enero 2020 (crucero N°1) hasta diciembre de 2020 (crucero N°12), mostrando niveles de abundancia relativa que se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 5 (Muy Abundante). En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que las cuatro transectas de la región tuvieron presencia de este dinoflagelado en la mayoría de sus estaciones durante gran parte del proyecto, sin embargo, el Nivel 5 de abundancia relativa sólo se presentó durante el crucero N°4 (abril 2020) en la estación costa de la transecta de Coliumo.

La cobertura espacial de *A. ostenfeldii* fue del 60,4% en la región durante el proyecto.

2_ Región de La Araucanía, se observó una importante distribución temporal de esta microalga, con presencia en las 12 campañas realizadas durante el periodo de estudio, desde enero 2020 (crucero N°1) hasta enero de 2021 (crucero N°12), mostrando niveles de abundancia relativa que se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 6 (Extremadamente Abundante). En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que las tres transectas de la región tuvieron presencia de este dinoflagelado en la mayoría de sus estaciones durante gran parte del proyecto, sin embargo, el Nivel 6 de abundancia relativa sólo se presentó durante el crucero N°7 (inicios de octubre de 2020) en la estación de 10 millas de la transecta de Puerto Saavedra. Es preciso mencionar que el Nivel 5 (Muy Abundante) se observó solamente durante los cruceros N°2 (febrero 2020, en las estaciones de 2 y 5 millas de la transecta de Puerto Saavedra) y crucero N°7 (en la estación de 2 millas de Nehuentúe y estaciones de 2 y 5 millas de Puerto Saavedra).

La cobertura espacial de *A. ostenfeldii* fue del 63,9% en la región durante el proyecto.



3_ Región de Los Ríos, se observó que la distribución temporal de esta microalga tuvo presencia en 11 de las 12 campañas realizadas durante el periodo de estudio, estando solo ausente en el crucero N°1 (enero 2020). Los niveles de abundancia relativa se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 6 (Extremadamente Abundante). En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que las cuatro transectas de la región tuvieron presencia de este dinoflagelado en la mayoría de sus estaciones durante gran parte del proyecto, sin embargo, el Nivel 6 de abundancia relativa sólo se presentó durante el crucero N°5 (fines de julio de 2020) en la estación de 10 millas de la transecta de Niebla. Es preciso mencionar que el Nivel 5 (Muy Abundante) se observó solamente en los cruceros N°5 (en las estaciones de 5 millas de las transectas de Niebla y Río Bueno) y crucero N°8 (fines de octubre de 2020, en la estación de 2 millas de la transecta de Mehuín).

La cobertura espacial de *A. ostenfeldii* fue del 59,7% en la región durante el proyecto.

4_ Región de Los Lagos, se observó una importante distribución temporal de esta microalga, con presencia en las 12 campañas realizadas durante el periodo de estudio, desde enero 2020 (crucero N°1) hasta diciembre de 2020 (crucero N°12), mostrando niveles de abundancia relativa que se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 7 (Hiper Abundante). En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que las nueve transectas de la región tuvieron presencia de este dinoflagelado en la mayoría de sus estaciones durante gran parte del proyecto, sin embargo, el Nivel 7 de abundancia relativa sólo se presentó durante el crucero N°3 (marzo 2020) en la estación de 10 millas de la transecta de Estaquilla. También es preciso mencionar que el Nivel 6 (Extremadamente Abundante) se observó solamente durante los cruceros N°3 (en la estación de Cucao 10 millas) y crucero N°8 (septiembre 2020, en la estación de Cucao 5 millas). Por su parte el Nivel 5 (Muy Abundante) se detectó durante los cruceros N°7 (agosto 2020, en las estaciones de Playa Brava 2 millas y Faro Corona 5 millas) y crucero N°8 (en la estación Mar Brava 10 millas).

La cobertura espacial de *A. ostenfeldii* fue del 56,4% en la región durante el proyecto.

5_ Región de Aysén, se observó que la distribución temporal de esta microalga tuvo presencia en 8 de las 12 campañas realizadas durante el periodo de estudio, detectándose en los cruceros N°1 (enero 2020), N°2 (febrero 2020), N°3 (marzo 2020), N°5 (junio 2020), N°6 (julio 2020), N°8 (septiembre 2020), N°9 (octubre 2020) y N°12 (enero 2021), mostrando niveles de abundancia relativa que van desde el Nivel 1 (Raro) al Nivel 4 (Abundante). En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que las tres estaciones de la transecta de esta región tuvieron presencia de este dinoflagelado en algún momento del proyecto, y que el Nivel 4 de abundancia relativa sólo se presentó durante el crucero N°1 en la estación de 10 millas de Canal Tuamapu. También es preciso señalar que en todas las otras ocasiones en que esta microalga fue detectada, el nivel de abundancia relativa solo fue 1 (Raro).

La cobertura espacial de *A. ostenfeldii* fue del 38,9% en la región durante el proyecto.



***Dinophysis acuminata* (Figura 1.1.6):**

1_ **Región del Biobío**, se observó una importante distribución temporal de esta microalga, con presencia en las 12 campañas realizadas durante el periodo de estudio, desde enero 2020 (crucero N°1) hasta diciembre de 2020 (crucero N°12), mostrando niveles de abundancia relativa que se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 5 (Muy Abundante). En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que las cuatro transectas de la región tuvieron presencia de este dinoflagelado en la mayoría de sus estaciones durante gran parte del proyecto, sin embargo, el Nivel 5 de abundancia relativa sólo se presentó durante el crucero N°1, en las estaciones costa, 2 millas y 5 millas de la transecta de Colcura, y en la estación costera de la transecta de Llico.

La cobertura espacial de *D. acuminata* fue del 71,4% en la región durante el proyecto.

2_ **Región de La Araucanía**, se observó que la distribución temporal de esta microalga tuvo presencia en 11 de las 12 campañas realizadas durante el periodo de estudio, estando solo ausente en el crucero N°1 (enero 2020). Los niveles de abundancia relativa se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 7 (Hiper Abundante). En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que las tres transectas de la región tuvieron presencia de este dinoflagelado en la mayoría de sus estaciones durante gran parte del proyecto, sin embargo, el Nivel 7 de abundancia relativa se presentó solamente en octubre de 2020 en los cruceros N°7 (inicios de octubre de 2020, en la estación de 10 millas de la transecta de Puerto Saavedra) y crucero N°8 (fines de octubre de 2020, en la estación de 5 millas de la transecta de Nehuentúe). Es preciso mencionar también que el Nivel 6 (Extremadamente Abundante) se observó solamente en los cruceros N°2 (febrero 2020, en las estaciones de 2 y 5 millas de la transecta de Puerto Saavedra), crucero N°7 (en la estación Queule 5 millas y en las estaciones de 2 y 5 millas de las transectas de Nehuentúe y Puerto Saavedra) y crucero N°8 (en las estaciones de Nehuentúe 2 millas y Puerto Saavedra 5 millas).

La cobertura espacial de *D. acuminata* fue del 80,6% en la región durante el proyecto.

3_ **Región de Los Ríos**, se observó una importante distribución temporal de esta microalga, con presencia en las 12 campañas realizadas durante el periodo de estudio, desde enero 2020 (crucero N°1) hasta enero de 2021 (crucero N°12), mostrando niveles de abundancia relativa que se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 7 (Hiper Abundante). En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que las cuatro transectas de la región tuvieron presencia de este dinoflagelado en la mayoría de sus estaciones durante gran parte del proyecto, sin embargo, el Nivel 7 de abundancia relativa sólo se presentó durante el crucero N°11 (enero 2021) en las estaciones de Niebla 5 millas y Chaihuín 2 millas. Es preciso mencionar que el Nivel 6 (Extremadamente Abundante) se observó solamente durante los cruceros N°9 (noviembre 2020, en las estaciones de 2 y 5 millas de la transecta de Niebla), y crucero N°12 (enero 2021, en la estación de 10 millas de la transecta de Chaihuín).

La cobertura espacial de *D. acuminata* fue del 86,1% en la región durante el proyecto.



4_ Región de Los Lagos, se observó una importante distribución temporal de esta microalga, con presencia en las 12 campañas realizadas durante el periodo de estudio, desde enero 2020 (crucero N°1) hasta diciembre de 2020 (crucero N°12), mostrando niveles de abundancia relativa que se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 9 (Mega Abundante). En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que las nueve transectas de la región tuvieron presencia de este dinoflagelado en la mayoría de sus estaciones durante gran parte del proyecto, sin embargo, el Nivel 9 de abundancia relativa solamente se presentó en los cruceros N°2 (febrero 2020, en las estaciones de Playa Brava 2 millas, Faro Corona 10 millas, Caleta Zorra 2 millas y Caleta Zorra 5 millas), crucero N°11 (inicios de diciembre de 2020, en la estación de Cucao 5 millas) y crucero N°12 (mediados de diciembre 2020, en la estación de Cucao 5 millas). También es preciso señalar que el Nivel 8 (Ultra Abundante), el Nivel 7 (Hiper Abundante), el Nivel 6 (Extremadamente Abundante) y el Nivel 5 (Muy Abundante), se detectaron en 9, 13, 32 y 37 ocasiones respectivamente en esta región durante el transcurso del proyecto, en las demás oportunidades, que fueron la mayoría, la presencia de esta especie solo estuvo entre los niveles de abundancia relativa 1 (Raro) y 4 (Abundante). La cobertura espacial de *D. acuminata* fue del 96,9% en la región durante el proyecto.

5_ Región de Aysén, se observó una importante distribución temporal de esta microalga, con presencia en las 12 campañas realizadas durante el periodo de estudio, desde enero 2020 (crucero N°1) hasta enero de 2021 (crucero N°12), mostrando niveles de abundancia relativa que se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 8 (Ultra Abundante), pero sin tener representatividad en los niveles 4 (Abundante) y 7 (Hiper Abundante). En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que las tres estaciones de la transecta de esta región tuvieron presencia de este dinoflagelado durante todo el proyecto, sin embargo, el Nivel 8 de abundancia relativa sólo se presentó durante el crucero N°1 en la estación de 10 millas de Canal Tuamapu. Es preciso mencionar que los niveles de abundancia relativa 6 (Extremadamente Abundante) y 5 (Muy Abundante), también fueron observados solamente en el crucero N°1, en las estaciones de 2 millas y 5 millas de la transecta de Tuamapu respectivamente. La cobertura espacial de *D. acuminata* fue del 100% en la región durante el proyecto.

***Dinophysis acuta* (Figura 1.1.7):**

1_ Región del Biobío, esta microalga estuvo ausente en las 12 campañas realizadas durante el periodo de estudio, por lo que la distribución temporal y espacial de *D. acuta* fue del 0% en la región.

2_ Región de La Araucanía, esta microalga estuvo ausente en las 12 campañas realizadas durante el periodo de estudio, por lo que la distribución temporal y espacial de *D. acuta* fue del 0% en la región.



3_ **Región de Los Ríos**, esta microalga estuvo ausente en las 12 campañas realizadas durante el periodo de estudio, por lo que la distribución temporal y espacial de *D. acuta* fue del 0% en la región.

4_ **Región de Los Lagos**, se observó que la distribución temporal de esta microalga tuvo presencia en 5 de las 12 campañas realizadas durante el periodo de estudio, detectándose en los cruceros N°2 (febrero 2020), N°7 (agosto 2020), N°8 (septiembre 2020), N°9 (octubre 2020) y N°11 (inicios de diciembre de 2020), mostrando en todos ellos solamente el Nivel 1 (Raro) de abundancia relativa. En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que cuatro de las nueve transectas tuvieron presencia de este dinoflagelado en al menos una de sus estaciones en algún momento del proyecto, detectándose específicamente en los cruceros N°2 en la estación Cucao 10 millas, crucero N°7 en las estaciones de 2 y 5 millas de la transecta de Estaquilla, crucero N°8 en la estación Caleta Zorra 2 millas, crucero N°9 en la estación Caleta Zorra 5 millas y el crucero N°11 en la estación Chepu 10 millas, obteniendo apenas un total de 6 ocasiones en que fue observada esta especie.

La cobertura espacial de *D. acuta* fue del 1,9% en la región durante el proyecto.

5_ **Región de Aysén**, se observó que la distribución temporal de esta microalga tuvo presencia en 6 de las 12 campañas realizadas durante el periodo de estudio, detectándose en los cruceros N°1(enero 2020), N°2 (febrero 2020), N°4 (mayo 2020), N°6 (julio 2020), N°7 (agosto 2020) y N°8 (septiembre 2020), mostrando bajos niveles de abundancia relativa que van desde el Nivel 1 (Raro) al Nivel 2 (Escaso). En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que las tres estaciones de la transecta de esta región tuvieron presencia de este dinoflagelado en algún momento del proyecto, y que Nivel 2 de abundancia relativa se presentó solamente durante el crucero N°1 en la estación de 10 millas de Canal Tuamapu. También es preciso señalar que en todas las otras ocasiones en que esta microalga fue detectada, el nivel de abundancia relativa sólo fue 1 (Raro).

La cobertura espacial de *D. acuta* fue del 19,4% en la región durante el proyecto.

***Protoceratium reticulatum* (Figura 1.1.8):**

1_ **Región del Biobío**, se observó que la distribución temporal de esta microalga tuvo presencia solamente en 2 de las 12 campañas realizadas durante el periodo de estudio, detectándose en los cruceros N°3 (marzo 2020) y crucero N°9 (octubre 2020), mostrando bajos niveles de abundancia relativa que se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 2 (Escaso). En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que dos de las cuatro transectas de la región, una ubicada en la parte norte y la otra en la parte sur, tuvieron presencia de este dinoflagelado en al menos una de sus estaciones en algún momento del proyecto, detectándose solamente con Nivel 1 de abundancia relativa en el crucero N°3 en las estaciones de 2 y 5 millas de la



transecta de Coliumo, y con Nivel 2 durante el crucero N°9 en la estación de 2 millas de la transecta de Tubul.

La cobertura espacial de *P. reticulatum* fue del 1,6% en la región durante el proyecto.

2_ Región de La Araucanía, se observó que la distribución temporal de esta microalga tuvo presencia en 2 de las 12 campañas realizadas durante el periodo de estudio, detectándose en los cruceros N°5 (fines de julio de 2020) y crucero N°8 (fines de octubre de 2020), mostrando en ambos cruceros sólo el Nivel 1 (Raro) de abundancia relativa. En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que dos de las tres transectas de la región, una ubicada en la parte norte y la otra en la parte sur, tuvieron presencia de este dinoflagelado en al menos una de sus estaciones en algún momento del proyecto, detectándose solamente en la estación Nehuentúe 5 millas durante el crucero N°5, y en la estación Queule 2 millas en el crucero N°8.

La cobertura espacial de *P. reticulatum* fue del 1,9% en la región durante el proyecto.

3_ Región de Los Ríos, se observó que la distribución temporal de esta microalga tuvo presencia en 3 de las 12 campañas realizadas durante el periodo de estudio, detectándose en los cruceros N°6 (agosto 2020), N°8 (fines de octubre de 2020) y N°9 (noviembre 2020), mostrando sólo los niveles de abundancia relativa 1 (Raro) y 5 (Muy Abundante). En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que dos de las cuatro transectas de la región, una ubicada en la parte norte y la otra en la parte sur, tuvieron presencia de este dinoflagelado en al menos una de sus estaciones en algún momento del proyecto, detectándose el Nivel 5 de abundancia relativa solamente durante el crucero N°9 en la estación de 2 millas de la transecta de Mehuín, y el Nivel 1 en los cruceros N°6 (en las estaciones de 5 y 10 millas de la transecta de Mehuín) y crucero N°8 (en la estación Río Bueno 10 millas).

La cobertura espacial de *P. reticulatum* fue del 2,8% en la región durante el proyecto.

4_ Región de Los Lagos, se observó que la distribución temporal de esta microalga tuvo presencia en 7 de las 12 campañas realizadas durante el periodo de estudio, detectándose en los cruceros N°2 (febrero 2020), N°3 (marzo 2020), N°6 (julio 2020), N°7 (agosto 2020), N°9 (octubre 2020), N°11 (inicios de diciembre de 2020) y N°12 (mediados de diciembre de 2020), mostrando bajos niveles de abundancia relativa que van desde el Nivel 1 (Raro) al Nivel 3 (Regular). En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que ocho de las nueve transectas de la región tuvieron presencia de este dinoflagelado en al menos una de sus estaciones en algún momento del proyecto, estando ausente únicamente la transecta de Bahía Mansa. El Nivel 3 de abundancia relativa sólo se presentó durante el crucero N°2 en la estación de 2 millas de la transecta de Caleta Zorra. También es preciso mencionar que el Nivel 2 (Escaso) se detectó en 11 ocasiones en esta región durante el transcurso del proyecto, estando 8 de ellas en el crucero N°2.

La cobertura espacial de *P. reticulatum* fue del 8,4% en la región durante el proyecto.



5_ **Región de Aysén**, se observó que la distribución temporal de esta microalga tuvo presencia en 11 de las 12 campañas realizadas durante el periodo de estudio, estando sólo ausente en el crucero N°9 (octubre 2020). Los niveles de abundancia relativa fueron bajos, moviéndose entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 3 (Regular). En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que las tres estaciones de la transecta de esta región tuvieron presencia de este dinoflagelado en algún momento del proyecto, y que Nivel 3 de abundancia relativa sólo se presentó durante el crucero N°12 (enero 2021) en las estaciones de 2 y 5 millas de Canal Tuamapu.

La cobertura espacial de *P. reticulatum* fue del 55,6% en la región durante el proyecto.

***Pseudo-nitzschia cf. australis* (Figura 1.1.9):**

1_ **Región del Biobío**, se observó una importante distribución temporal de esta microalga, con presencia en las 12 campañas realizadas durante el periodo de estudio, desde enero 2020 (crucero N°1) hasta diciembre de 2020 (crucero N°12), mostrando niveles de abundancia relativa que se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 7 (Hiper Abundante). En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que las cuatro transectas de la región tuvieron presencia de esta diatomea en la mayoría de sus estaciones durante gran parte del proyecto, sin embargo, el Nivel 7 de abundancia relativa sólo se presentó durante el crucero N°2 (febrero 2020) en las estaciones de 5 millas y 10 millas de la transecta de Coliumo. Es preciso mencionar que el Nivel 6 (Extremadamente Abundante) también se observó solamente en la transecta de Coliumo, pero durante los cruceros N°4 (abril 2020) en la estación costa, y crucero N°8 (septiembre 2020) en las estaciones de 5 y 10 millas. Otro dato importante, es que durante el crucero N°6 (julio 2020), la especie sólo fue detectada en la transecta de Coliumo (en tres de sus cuatro estaciones, pero todas estas mostrando sólo el Nivel 1).

La cobertura espacial de *Pseudo-nitzschia cf. australis* fue del 84,4% en la región durante el proyecto.

2_ **Región de La Araucanía**, se observó que la distribución temporal de esta microalga tuvo presencia en 11 de las 12 campañas realizadas durante el periodo de estudio, estando solo ausente en el crucero N°4 (inicios de julio de 2020). Los niveles de abundancia relativa se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 7 (Hiper Abundante). En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que las tres transectas de la región tuvieron presencia de esta diatomea en la mayoría de sus estaciones durante gran parte del proyecto, sin embargo, el Nivel 7 de abundancia relativa sólo se presentó durante el crucero N°7 (inicios de octubre de 2020) en la estación de 2 millas de la transecta de Puerto Saavedra. Es preciso mencionar que el Nivel 6 (Extremadamente Abundante) también se observó solamente durante el crucero N°7, pero en las estaciones Nehuentúe 5 millas y Puerto Saavedra 5 millas.

La cobertura espacial de *Pseudo-nitzschia cf. australis* fue del 83,3% en la región durante el proyecto.



3_ Región de Los Ríos, se observó una importante distribución temporal de esta microalga, con presencia en las 12 campañas realizadas durante el periodo de estudio, desde enero 2020 (crucero N°1) hasta enero de 2021 (crucero N°12), mostrando niveles de abundancia relativa que se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 7 (Hiper Abundante). En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que las cuatro transectas de la región tuvieron presencia de esta diatomea en la mayoría de sus estaciones durante gran parte del proyecto, sin embargo, el Nivel 7 de abundancia relativa sólo se presentó durante el crucero N°7 (inicios de octubre de 2020) en la estación de Niebla 2 millas. Es preciso mencionar también que el Nivel 6 (Extremadamente Abundante) se observó solamente en los cruceros N°3 (marzo 2020, en la estación Río Bueno 10 millas), crucero N°7 (inicios de octubre de 2020, en las estaciones de Mehuín 2 millas, Mehuín 5 millas, Niebla 5 millas, Chaihuín 2 millas y Chaihuín 5 millas), crucero N°8 (fines de octubre de 2020, en la estación Chaihuín 2 millas y las estaciones de 2, 5 y 10 millas de la transecta de Mehuín), y crucero N°9 (noviembre 2020, en la estación Mehuín 5 millas).

La cobertura espacial de *Pseudo-nitzschia cf. australis* fue del 64,6% en la región durante el proyecto.

4_ Región de Los Lagos, se observó una importante distribución temporal de esta microalga, con presencia en las 12 campañas realizadas durante el periodo de estudio, desde enero 2020 (crucero N°1) hasta diciembre de 2020 (crucero N°12), mostrando niveles de abundancia relativa que se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 10 (>Mega Abundante). En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que las nueve transectas de la región tuvieron presencia de esta diatomea en la mayoría de sus estaciones durante gran parte del proyecto, sin embargo, el Nivel 10 de abundancia relativa sólo se presentó durante el crucero N°1 (enero 2020), en la estación de 2 millas de la transecta de Estaquilla. También es preciso mencionar que el Nivel 9 (Mega Abundante), el Nivel 8 (Ultra Abundante), el Nivel 7 (Hiper Abundante), el Nivel 6 (Extremadamente Abundante) y el Nivel 5 (Muy Abundante), se detectaron en 19, 12, 8, 7 y 37 ocasiones respectivamente en esta región durante el transcurso del proyecto, en las demás oportunidades, que fueron la mayoría, la presencia de esta especie solo estuvo entre los niveles de abundancia relativa 1 (Raro) y 4 (Abundante). Los mayores valores de abundancia relativa, desde el Nivel 7 al Nivel 10, sólo fueron detectados entre los meses de enero a marzo, verano, de 2020.

La cobertura espacial de *Pseudo-nitzschia cf. australis* fue del 74,5% en la región durante el proyecto.

5_ Región de Aysén, se observó una importante distribución temporal de esta microalga, con presencia en las 12 campañas realizadas durante el periodo de estudio, desde enero 2020 (crucero N°1) hasta enero de 2021 (crucero N°12), mostrando niveles de abundancia relativa que se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 8 (Ultra Abundante), pero sin tener representatividad en los niveles 5 (Muy Abundante), 6 (Extremadamente Abundante) y 7 (Hiper Abundante). En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que las tres estaciones de la transecta de esta región tuvieron presencia de esta diatomea durante gran parte del proyecto, sin embargo, el Nivel 8 de abundancia relativa sólo se presentó durante el crucero N°1 en la estación de 10 millas de Canal Tuamapu.



La cobertura espacial de *Pseudo-nitzschia cf. australis* fue del 86,1% en la región durante el proyecto.

***Pseudo-nitzschia cf. pseudodelicatissima* (Figura 1.1.10):**

1_ **Región del Biobío**, se observó una importante distribución temporal de esta microalga, con presencia en las 12 campañas realizadas durante el periodo de estudio, desde enero 2020 (crucero N°1) hasta diciembre de 2020 (crucero N°12), mostrando niveles de abundancia relativa que se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 7 (Hiper Abundante). En cuanto a la distribución espacial, se puede observar la presencia de esta diatomea en la mayoría de sus estaciones durante gran parte del proyecto, sin embargo, el Nivel 7 de abundancia relativa sólo se presentó durante el crucero N°8 (septiembre 2020), en las estaciones asociadas a la región de los Lagos. Otro dato importante, es que la especie estuvo ausente durante el crucero N° 5 y 6 correspondiente al periodo de invierno (mayo y junio 2020). Los mayores valores de abundancia relativa, desde el Nivel 5 (Muy Abundante) al Nivel 7 (Hiper Abundante), sólo fueron detectados entre los meses de septiembre a noviembre, primavera, de 2020.

La cobertura espacial de *Pseudo-nitzschia cf. pseudodelicatissima* fue del 71,4% en la región durante el proyecto.

2_ **Región de La Araucanía**, se observó una importante distribución temporal de esta microalga, con presencia en las 12 campañas realizadas durante el periodo de estudio, desde enero 2020 (crucero N°1) hasta enero 2021 (crucero N°12), mostrando niveles de abundancia relativa que se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 8 (Ultra Abundante). En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que las tres transectas de la región tuvieron presencia de esta diatomea en la mayoría de sus estaciones durante gran parte del proyecto, sin embargo, el Nivel 8 de abundancia relativa solamente se presentó en los cruceros N°8 (fines de octubre de 2020, en las estaciones de Nehuentúe 2 millas, Nehuentúe 5 millas y Puerto Saavedra 5 millas) y crucero N°9 (noviembre 2020, en la estación Nehuentúe 5 millas). Es preciso mencionar también que el Nivel 7 (Hiper Abundante) se observó solamente en los cruceros N°7 (inicios de octubre de 2020, en las estaciones de 2 millas de las transectas de Nehuentúe y Puerto Saavedra), crucero N°8 (fines de octubre de 2020, en las estaciones de 2, 5 y 10 millas de la transecta de Queule, y en las estaciones de Nehuentúe 10 millas y Puerto Saavedra 2 millas) y crucero N°9 (noviembre 2020, en las estaciones de 2 millas de las transectas de Nehuentúe y Puerto Saavedra). Los mayores valores de abundancia relativa, desde el Nivel 5 (Muy Abundante) al Nivel 8 (Ultra Abundante), sólo fueron detectados en los meses de octubre y noviembre, primavera, de 2020.

La cobertura espacial de *Pseudo-nitzschia cf. pseudodelicatissima* fue del 81,5% en la región durante el proyecto.



3_ Región de Los Ríos, se observó una importante distribución temporal de esta microalga, con presencia en las 12 campañas realizadas durante el periodo de estudio, desde enero 2020 (cruce N°1) hasta enero de 2021 (cruce N°12), mostrando niveles de abundancia relativa que se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 9 (Mega Abundante). En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que las cuatro transectas de la región tuvieron presencia de esta diatomea en la mayoría de sus estaciones durante gran parte del proyecto, sin embargo, el Nivel 9 de abundancia relativa sólo se presentó durante el cruce N°1 (enero 2020) en las estaciones de Chaihuín 10 millas y Río Bueno 10 millas. Es preciso mencionar también que el Nivel 8 (Ultra Abundante) se observó solamente en el cruce N°8 (fines de octubre de 2020), en las estaciones de Mehuín 5 millas, Mehuín 10 millas y Chaihuín 2 millas. Los mayores valores de abundancia relativa, desde el Nivel 5 (Muy Abundante) al Nivel 9 (Mega Abundante), sólo fueron detectados en los periodos de primavera y verano.

La cobertura espacial de *Pseudo-nitzschia cf. pseudodelicatissima* fue del 72,2% en la región durante el proyecto.

4_ Región de Los Lagos, se observó una importante distribución temporal de esta microalga, con presencia en las 12 campañas realizadas durante el periodo de estudio, desde enero 2020 (cruce N°1) hasta diciembre de 2020 (cruce N°12), mostrando niveles de abundancia relativa que se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 10 (>Mega Abundante). En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que las nueve transectas de la región tuvieron presencia de esta diatomea en la mayoría de sus estaciones durante gran parte del proyecto, sin embargo, el Nivel 10 de abundancia relativa solamente se presentó en los cruces N°1 (enero 2020, en las estaciones Estaquilla 10 millas, Playa Brava 2 millas, Faro Corona 10 millas, Mar Brava 2 millas y Mar Brava 5 millas) y cruce N°2 (febrero 2020, en la estación Chepu 10 millas). También es preciso mencionar que el Nivel 9 (Mega Abundante), el Nivel 8 (Ultra Abundante), el Nivel 7 (Hiper Abundante), el Nivel 6 (Extremadamente Abundante) y el Nivel 5 (Muy Abundante), se detectaron en 18, 7, 5, 28 y 21 ocasiones respectivamente en esta región durante el transcurso del proyecto, en las demás oportunidades, que fueron la mayoría, la presencia de esta especie solo estuvo entre los niveles de abundancia relativa 1 (Raro) y 4 (Abundante). Los mayores valores de abundancia relativa, desde el Nivel 7 al Nivel 10, fueron detectados casi en su totalidad en los meses de enero y febrero, verano, de 2020.

La cobertura espacial de *Pseudo-nitzschia cf. pseudodelicatissima* fue del 82,9% en la región durante el proyecto.

5_ Región de Aysén, se observó una importante distribución temporal de esta microalga, con presencia en las 12 campañas realizadas durante el periodo de estudio, desde enero 2020 (cruce N°1) hasta enero de 2021 (cruce N°12), mostrando niveles de abundancia relativa que se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 8 (Ultra Abundante), pero sin tener representatividad en los niveles 5 (Muy Abundante), 6 (Extremadamente Abundante) y 7 (Hiper Abundante). En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que las tres estaciones de la transecta de esta región tuvieron presencia de esta diatomea durante todo el



proyecto, sin embargo, el Nivel 8 de abundancia relativa sólo se presentó durante el crucero N°1 en la estación de 10 millas de Canal Tuamapu.

La cobertura espacial de *Pseudo-nitzschia cf. pseudodelicatissima* fue del 100% en la región durante el proyecto.

6.1.2. Actividad 2: Muestreo transvectores y detección toxinas

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

Toxinas Paralizantes

Para todas las estaciones distribuidas desde las regiones del Biobío hasta Los Lagos, no se detectan toxinas paralizantes a través del Bioensayo de Ratón (**Tablas 1.1.1 a 1.1.4**). En estas mismas estaciones se realizó la detección de Toxinas paralizantes por HPLC-MS en el Laboratorio del CREAN (**Tablas 1.1.5 a 1.1.9**). En la región del Biobío (**Tabla 1.1.5**), se detectó la presencia de GTX-2 en gran parte de los cruceros, en algunos casos en todas las estaciones, pero en todas las ocasiones con niveles de $< LC$ ($LC = 26 \text{ nanomol L}^{-1}$, que equivale a $52 \text{ } \mu\text{g SXT eq di HCl eq Kg}^{-1}$). En los 11 primeros cruceros de la región de la Araucanía (Tabla 9), los resultados fueron concordantes con el Bioensayo del Ratón (ND). En el crucero 12, se detecta la presencia de GTX-2 en todas las estaciones, y de Stx en Nehuentúe, todos los casos con niveles muy bajos de toxina ($< LC$, en el caso de Sxt, el LC es de 20 nmol L^{-1} , que equivale a $99 \text{ } \mu\text{g de SXT eq di HCl eq Kg}^{-1}$). Casi todos los resultados de toxinas paralizantes son ND en la región de Los Ríos (Tabla 10), solamente se detectó GTX-2 en Mehuín en los cruceros 11 y 12 ($< LC$). En la región de Los Lagos (**Tabla 1.1.8**), se detecta C1 en los cruceros 7 y 8 en la estación de Cucao ($< LC = 30 \text{ nanomol L}^{-1}$, que equivale a $1.5 \text{ } \mu\text{g SXT eq di HCl eq Kg}^{-1}$). En la misma región se detecta GTX-2 en los cruceros 5 (Playa Brava y Carelmapu), crucero 7 (Playa Brava, Carelmapu y Cucao), crucero 8 (Playa Brava y Cucao), crucero 9 (Playa Brava, Carelmapu y Cucao), crucero 10 (Playa Brava) crucero 11 (Playa Brava) y en el crucero 12 (Cucao), todos los casos con niveles de $< LC$. SXT fue detectada en algunas ocasiones con niveles de $< LC$. En las tablas se incluyen sólo los análogos que fueron positivos en alguna muestra.

Las muestras positivas a toxinas paralizantes por HPLC-Ms (GTX2, C1 y Sxt), a pesar de dar negativas a los análisis del bioensayo del Ratón, se explican debido a la alta sensibilidad de este análisis. Los niveles encontrados son muy bajos, lo que no representa un riesgo para la salud humana. La presencia de las toxinas paralizantes detectadas se puede deber a la presencia de los dinoflagelados *A. catenella* y *A. ostensfeldii*, que han sido señalados como productores de estas toxinas (Krock et al., 2007; Salgado et al, 2015). En las muestras de agua que se analizaron, no fue posible detectar Toxinas Paralizantes, lo que



puede deberse a que la cantidad de dinoflagelados presentes no es suficiente para que puedan ser detectados en este tipo de muestras, pero en algunos casos si es posible detectarlos en los mariscos, porque estos son capaces de concentrar las toxinas.

Toxina Amnésica

Todas las muestras analizadas por HPLC mediante Cromatografía Líquida de Alta Eficacia (HPLC) según la metodología descrita por [Quilliam et al. \(1995\)](#), dan como resultado no detectado para ácido domoico (**Tablas 1.1.5 a 1.1.8**). Las muestras fueron analizadas con la metodología de HPLC Ms por el laboratorio del Crean en Puerto Montt, con resultados similares en la región de La Araucanía (**Tabla 1.1.6**). En la región del Biobío (**Tabla 1.1.5**), a partir del crucero 9 se detectó la presencia de AD en la mayoría de las estaciones, pero con niveles desde $< LC$ a 80 ng g^{-1} . En la región de Los Ríos (**Tabla 1.1.7**), se detectó DA en Niebla (cruceros 8 y 12, $< LC$). En la Región de Los Lagos (**Tabla 1.1.8**) se detectó la presencia de DA en los cruceros 1 y 2 en la mayoría de las estaciones, en el crucero 9 (Bahía Mansa), crucero 11 (Carelmapu, Mar Brava) y crucero 12 (Playa Brava, Carelmapu y Mar Brava), con niveles desde $< LC$ a 341 ng/g , niveles que son muy bajos, pero se obtienen debido a que la metodología de detección por espectrometría de masas es muy sensible.

Al igual que las toxinas paralizantes solamente hay resultados positivos en algunas muestras con HPLC-Ms, debido a la mayor sensibilidad de la técnica por sobre el HPLC-FI. La presencia de esta toxina está asociada a la presencia de las Diatomeas *Pseudo-nitzschia* spp. ([Bates et al., 2018](#), [Trainer et al., 2012](#)). Las especies *P. cf australis* y *P. cf pseudodelicatissima*, están presentes en las zonas estudiadas. No siempre son concordantes los resultados positivos de esta toxina en las muestras de mariscos, y las pocas muestras de agua analizadas, lo que se explica a que los niveles de toxina son muy bajos, por lo que en muchos casos bordean al límite de cuantificación.

Toxinas Lipofílicas.

Se presentan los resultados de TDM obtenidos por el servicio de salud utilizando la técnica del bioensayo del ratón (**Tablas 1.1.1 a 1.1.4**), y los resultados de TML obtenidos por HPLC Ms (**Tablas 1.1.5 a 1.1.8**). En este último caso solo se tabulan las toxinas que en alguna muestra tengan resultados positivos. Todas las otras toxinas que fueron analizadas, pero tienen resultados de no detectado (ND), no se incluyen en estas tablas. En la región de Biobío los resultados de TDM (**Tabla 1.1.5**) obtienen algunos resultados positivos en los cruceros 1, 2, 4 y 8. En cuanto a las TML (**Tabla 8**), sólo se obtiene un resultado positivo a PTX-2 en el crucero 1 en Bahía Llico, pero con un nivel extremadamente bajo, menor al límite de cuantificación ($< LC$, que es 15 ng g^{-1}). Cabe destacar que en Bahía Llico el resultado de TDM es negativo. En la región de La Araucanía (**Tabla 1.1.6**) en casi todas las muestras se detectó la presencia de GYM, pero con niveles $< LC$ ($LC = 15 \text{ ng g}^{-1}$). Todas las muestras son negativas a TDM en el ensayo de ratón (**Tabla 1.1.1**). En la región



de Los Ríos (**Tabla 1.1.7**), al igual que en la región de La Araucanía, de todas las TML analizadas, la única ficotoxina detectada en la mayoría de las muestras fue Gym, todas con niveles de <LC. En cambio en cuanto a los resultados de TDM (Tabla 6), solamente las muestras de niebla en los cruceros 1, 2 y 12 dan resultados positivos, pero con muerte a las 20 hrs en los dos primeros casos y 21 hr en el tercero, todos sin signología clínica. Por último en la región de los Lagos (**Tabla 1.1.8**) en algunas las estaciones se detecta Gym <LC. Adicionalmente en el crucero 2, en la estación de Cucao, se detecta PTX-2 (<LC). En los cruceros 1 (Playa Brava y Carelmapu), 2 (Bahía Mansa, P. Brava y Carelmapu), 3 (P. Brava), 8 (P. Brava y Carelmapu), 10 (P.Brava y Carelmapu), 11 (B. Mansa y P. Rbava) y 12 (P. Brava y Carelmapu) se detectó la presencia de AZA2, también con bajos niveles (<LC, 15 ng g-1). En cuanto a los resultados de TDM (**Tabla 1.1.8**), solamente en el crucero 1 (estaciones de Carelmapu y Mar Brava) y en el crucero 12 (Cucao) son positivos a TDM, pero con muerte a las 20, 4 y 6 hrs, respectivamente, todos los casos sin signología clínica.

Las pocas muestras positivas a TDM, en general no guardan relación con las muestras positivas a Gym, PTX2 y AZA2 (únicas toxinas lipofílicas positivas en algunas muestras), por lo que probablemente se debe a falsos positivos. Es posible que PTX2 sea producido por *D acuminata*, la que ya ha sido asociada a la producción de PTX2 en la Bahía de Tubul. Los resultados positivos a PTX2 en las muestras de agua no son concordantes a las muestras positivas en mariscos, lo que puede deberse a la baja concentración de la toxina. La gran cantidad de muestras positivas de Gym, es probable que sea debido a la presencia de *A. ostensfeldii*. La positividad de muestras de mariscos a Gym es muy similar a los resultados de los proyectos anteriores. El hecho que las muestras de agua hayan salido negativas a Gym, puede deberse a la baja concentración de la toxina. Las muestras positivas a AZA 2 en la región de Los Lagos puede deberse a la presencia de dinoflagelados del género *Azadinium* (Tillmann et al, 2009), lo que, de momento, no ha podido ser confirmado y por lo tanto, representa un desafío para las siguientes etapas del proyecto.

6.1.3 Actividad 3: Recolectar información hidrográfica (temperatura, salinidad, fluorescencia, oxígeno, nutrientes) y meteorológica (temperatura, presión atmosférica, nubosidad, viento) en cada una de las estaciones de monitoreo de las 5 regiones.

Recolección de datos oceanográficos

En términos generales, las secciones verticales durante el periodo estudiado muestran una mayor estratificación de la columna de agua al norte de los ~40°S, más específicamente en la región del Biobío y mayor mezcla de las propiedades físicas-químicas-biológicas para la región de Aysén. Durante, Además, es posible observar la presencia de masas de agua del tipo AESS en particular norte de los ~40°S, a las cuales, en el tiempo, específicamente desde diciembre a enero; a partir del mes de febrero la presencia de AESS, las cuales se mantienen durante los meses de enero y febrero (Cruceros 1 y 2).



En el Crucero 1, se observa la máxima extensión latitudinal de AEES abarcando casi toda la macro-región de estudio (entre 36° hasta ~43°S) (**Figura 1.3.1**). Es posible observar importantes núcleos con altos valores de fluorescencia en las regiones del Bío-Bío y Los Lagos. Estos núcleos de fluorescencia se presentan en superficie (Bío-Bío) y subsuperficie (La Araucanía y Los Lagos). Por otro lado, durante este crucero es importante destacar la presencia de dos “focos” de oxígeno ubicados sobre los incrementos de fluorescencia, asociados a una disminución de la salinidad, especialmente en la zona del canal de Chacao en la región de los Lagos, el cual puede incorporar agua de menor salinidad al sistema marino, generando la estratificación de la columna de agua y generando con ello, los máximos subsuperficiales observados. Esas aguas de menor salinidad pueden ser responsables de que el AEES no alcance la superficie, y que los máximos de fluorescencia se localicen en subsuperficie. Por otra parte, en la región de Aysén la columna de agua se presenta bien mezclada, con los menores valores de salinidad de todo el periodo estudiado, sugiriendo para este mes una dirección predominante de las corrientes hacia el océano abierto. Durante el Crucero 2, si bien el AEES sigue estando presente en la región del Biobío, generando un núcleo de fluorescencia superficial, que se profundiza hasta los 30 metros de profundidad con valores cercanos a los 10 mg/m³. La temperatura asociada a las capas superficiales de la columna de agua, en las estaciones ubicadas al sur de los 41°S, alcanzaron temperaturas sobre los 13°C, asociado principalmente a aguas de baja salinidad (<32 UPS). Durante este crucero los máximos de fluorescencia se comienzan a observar menos intensos (**Figura 1.3.2**).

En el Crucero 3, la temperatura asociada a las capas superficiales de la columna de agua, se desplazan hacia el norte, entre los 38 y 43°S, alcanzando valores sobre los 14°C. Se observan distintas fuentes de agua dulce que entran al sistema, proveniente de aportes fluviales en la región de los Ríos y canal de Chacao en la región de los Lagos, que son los responsables del aumento de la temperatura superficial y del oxígeno disponible en la superficie, especialmente en la región de la Araucanía, donde la concentración alcanza valores superficiales por sobre de los 8 ml/L. Asociado a estas condiciones se registraron aumentos superficiales de la fluorescencia en esta área. (**Figura 1.3.3**). En el Crucero 4, se observó en la región de los Lagos un hundimiento de una masa de agua de temperaturas sobre los 15°C. El comienzo del invierno se observa en los aportes de agua dulce en la región de los Ríos y en los bajos valores de la fluorescencia producto del comienzo de la mezcla invernal que homogeniza la columna de agua (**Figura 1.3.4**).

Durante los cruceros 5, 6 y 7, la condición invernal se hace más evidente, con una columna de agua muy mezclada y bajos niveles de fluorescencia en toda la zona de estudio (**Figuras 1.3.5, 1.3.6 y 1.3.7**).

Durante el crucero 8, se evidencia un cambio en la estructura de las condiciones de la columna de agua, especialmente en la región del Biobío, donde se aprecia un aumento del oxígeno disuelto y la fluorescencia (**Figura 1.3.8**).



Para la regi3n del Biob3o durante el crucero 9 (**Figuras 1.3.9**) se observa un aumento de la temperatura superficial entre los 12.4 a 14°C que se observa hasta la regi3n de Los R3os, hacia el sur, la columna de agua se mantiene entre los 9 a 10 °C. Las salinidades son mayores a lo largo de la comuna vertical para la regi3n de Biob3o, manteniendo esa estructura hasta la regi3n de Los R3os. Para el ox3geno disuelto, las concentraciones son mayores en superficie para las regiones ubicadas al sur de Biob3o, en esta 3ltima se observa una oxiclina m3s somera que se va profundizando al sur. La fluorescencia tiene dos n3cleos importantes que se observan, en Biob3o a los 10 metros de profundidad y en la regi3n de Los R3os a los 20 metros.

Para el crucero 10 (**Figuras 1.3.10**) las condiciones son muy similares al del mes anterior, donde tambi3n se observa temperaturas altas en superficie y una estructura salina m3s amplia en la secci3n. Los n3cleos de fluorescencia se observan en la regi3n del Biob3o con mayor intensidad que en crucero anterior.

Para el crucero 11 (**Figuras 1.3.11**), la estructura de la columna de agua en la secci3n, se observa con concentraciones salinas m3s marcadas superiores a los 34 UPS y temperaturas m3s fr3as bajo los 20 metros, esta estructura termohalina se observa hasta casi los 42°S donde se profundiza.

Para el crucero 12 (**Figuras 1.3.12**) las temperaturas en superficie son mal altas, por lo que la termoclina es m3s somera para la regi3n del Biob3o, al sur de esta, se observa una profundizaci3n de la clina pero con una marcada columna de agua m3s fr3a hasta los 44°S. Los n3cleos de fluorescencia se destacan entre la regi3n de Biob3o a Los R3os, con concentraciones de hasta 20 mg/m³, para el sur de la secci3n los valores son menores cercanos a cero.

Recolecci3n de muestras y an3lisis para nutrientes

Caracterizaci3n de nitrito, nitrato, fosfato y silicatos, desde el Crucero 1 al 12 de la Etapa III 2020 (**Tablas 1.2.1, 1.2.2, 1.2.3 y 1.2.4**).

Nitrito

Se describen las concentraciones de nitrito para las 5 regiones de muestreo en el estrato 0-10m durante los cruceros 1 al 12 de la Etapa III 2020. (**Figuras 1.3.13, 1.3.14, 1.3.15 y 1.3.16**)

Regi3n del Biob3o

Las concentraciones de nitrito para la regi3n durante el crucero 1, oscilaron entre 0.13 uM a 0.25 uM con un m3ximo en la estaci3n ubicada en Coliumo a 0-10m, el promedio para la regi3n fue de 0.15 uM. Para el crucero 2 el rango fue entre 0.05 uM a 0.65 uM, donde la concentraci3n m3s baja se ubic3 en la estaci3n de Llico a 2 millas, el promedio de la regi3n fue de 0.25 uM. En el crucero 3-2020, se registraron valores entre



0.18 μM a 0.34 μM , donde la concentración de nitrito más alta fue en Tubul a las 5 millas de costa, el promedio de la región fue de 0.26 μM . Las concentraciones de nitrito para la región durante el crucero 4, oscilaron entre 0.16 μM a 0.29 μM con un máximo en la estación ubicada en Llico 2 millas a 0-10m, el promedio para la región fue de 0.22 μM . En el crucero 5, se registraron valores entre 0.18 μM a 0.34 μM , donde la concentración de nitrito más alta fue en Tubul a las 4 millas de costa, y la más baja en la estación de Colcura 1 milla, el promedio de la región fue de 0.32 μM . En el crucero 6 tuvo como promedio 0.45 μM y las concentraciones más altas fueron en Tubul 1 milla de 0.57 μM y las más bajas en Llico a las 5 millas de 0.34 μM . En el crucero 7, se registraron valores entre 0.14 μM a 1.64 μM , donde la concentración de nitrito más baja fue en Coliumo 10 millas de costa, el promedio de la región fue de 0.59 μM . Las concentraciones de nitrito para la región durante el crucero 8, oscilaron entre 0.10 μM a 1.24 μM con un máximo en la estación ubicada en Bahía Coliumo 5 millas a 0-10m, el promedio para la región fue de 0.38 μM . Para la región durante el crucero 9, oscilaron entre 0.04 μM a 0.90 μM con un máximo en la estación ubicada en Bahía Coliumo 4 millas 0-10m, el promedio para la región fue de 0.31 μM . En el crucero 10, se registraron valores entre 0.06 μM a 1.77 μM , donde la concentración de nitrito más alta fue en Bahía Colcura 3 millas de costa, y la más baja en la estación de Bahía Llico 5 milla, el promedio de la región fue de 0.76 μM . En el crucero 11 tuvo como promedio 0.29 μM y las concentraciones más altas fueron en Bahía Tubul 1 milla de 0.55 μM y las más bajas en Bahía Coliumo 1 millas de 0.12 μM . En el crucero 12, se registraron valores entre 0.04 μM a 1.31 μM , donde la concentración de nitrito más baja fue en Bahía Tubul 4 millas de costa, el promedio de la región fue de 0.74 μM .

Región La Araucanía

En el crucero 1, se registraron valores entre 0.17 μM a 0.49 μM , donde la concentración de nitrito más alta fue en Puerto Saavedra a las 2 millas de costa, el promedio de la región fue de 0.27 μM . Para el crucero 2, el rango de concentraciones de nitrito fue 0.15 μM a 0.36 μM y el promedio para la región fue de 0.21 μM . En el crucero 3, se registraron valores entre 0.09 μM a 0.28 μM , donde la concentración de nitrito más alta fue en Nehuentué a las 2 millas de costa, el promedio de la región fue de 0.16 μM . Para el crucero 4 el promedio de la región fue de 0.75 μM , donde las concentraciones altas se registraron en la estación de Nehuentué 2. Para el crucero 5, el rango fue entre 0.09 μM a 1.02 μM , el promedio de la región para el crucero 5 fue de 0.43 μM . Las concentraciones de nitrito para el crucero 6, oscilaron entre 0.10 μM a 0.56 μM con un máximo en la estación ubicada en Puerto Saavedra 2 millas a la profundidad integrada de estrato 0-10m, el promedio para la región fue de 0.30 μM . Para el crucero 7, el rango de concentraciones de nitrito fue 0.13 μM a 0.31 μM y el promedio para la región fue de 0.24 μM . En el crucero 8, se registraron valores entre 0.34 μM a 0.53 μM , donde la concentración de nitrito más alta fue en Queule 10 millas de costa, el promedio de la región fue de 0.41 μM . Para el crucero 9 el promedio de la región fue de 0.31 μM , donde las concentraciones altas se registraron en la estación de Nehuentué 10. Para el crucero 10, el rango fue entre 0.16 μM a 0.47 μM , el promedio de la región para el crucero fue de 0.39 μM . Las concentraciones de nitrito



para el crucero 11, oscilaron entre 0.16 μM a 0.69 μM con un m3ximo en la estaci3n ubicada en Puerto Saavedra 2 millas a la profundidad integrada de estrato 0-10m, el promedio para la regi3n fue de 0.32 μM . Para el crucero 12, el rango de concentraciones de nitrito fue 0.08. μM a 0.76 μM y el promedio para la regi3n fue de 0.32 μM .

Regi3n Los R3os

En el mes de enero 2020 correspondiente al crucero 1 de la etapa III, se registraron valores entre 0.14 μM a 0.0.22 μM , donde la concentraci3n de nitrito m3s alta fue en Niebla a las 2 millas de costa, el promedio de la regi3n fue de 0.17 μM . Para el mes de febrero, crucero 2, el rango fue entre 0.14 μM a 0.24 μM , donde la concentraci3n m3s baja se ubic3 en la estaci3n de Queule a las 2 millas, el promedio de la regi3n para febrero fue de 0.17 μM . En el crucero 3, se registraron valores entre 0,04 μM a 0.18 μM , donde la concentraci3n de nitrito m3s alta fue en Mehu3n a las 2 millas de costa, el promedio de la regi3n fue de 0.05 μM . Para el crucero 4 el promedio de las concentraciones de nitrito fue de 0.54 μM , donde los valores m3s altos fueron registrados en Mehu3n a las 10 millas y los menores en Niebla a las 5 millas. En el crucero 5 tuvo como promedio 0.91 μM y las concentraciones m3s altas fueron en Chaihuin 5 millas de 1.14 μM y las m3s baja en Mehu3n 5 millas de 0.45 μM . Para el Crucero 6 las concentraciones oscilaron entre 0.27 μM a 0.53 μM , donde los valores m3s bajos se registraron en la estaci3n de Niebla 10 millas y las m3s altas en R3o Bueno 2 millas. . En el crucero 7, se registraron valores entre 0.11 μM a 1.69 μM , donde la concentraci3n de nitrito m3s alta fue en Chaihuin 2 millas de costa, el promedio de la regi3n fue de 0.62 μM . Para el crucero 8 el promedio de las concentraciones de nitrito fue de 0.31 μM , donde los valores m3s altos fueron registrados en Chaihuin 10 millas y los menores en Chaihuin 2 millas. En el crucero 9 tuvo como promedio 0.31 μM y las concentraciones m3s altas fueron en R3o Bueno 10 millas de 1.19 μM y las m3s baja en R3o Bueno 2 millas de 0.02 μM . Para el Crucero 10 las concentraciones oscilaron entre 0.24 μM a 0.71 μM , donde los valores m3s bajos se registraron en la estaci3n de R3o Bueno 5 millas y las m3s altas en Mehu3n 2 millas. Para el crucero 11, el rango de concentraciones de nitrito fue 0.24. μM a 0.71 μM y el promedio para la regi3n fue de 0.44 μM . . Para el crucero 12, el rango de concentraciones de nitrito fue 0.04 μM a 0.51 μM y el promedio para la regi3n fue de 0.17 μM .

Regi3n Los Lagos

Las concentraciones de nitrito para el crucero 1, oscilaron entre 0.13 μM a 0.22 μM con un m3ximo en la estaci3n ubicada en Carelmapu a las 2 millas, el promedio para la regi3n fue de 0.13 μM . Para el crucero 2 el rango fue entre 0.01 μM a 0.22 μM , donde la concentraci3n m3s baja se ubic3 en la estaci3n de Mar Brava en las 2 millas, el promedio de la regi3n fue de 0.14 μM . En el crucero 3, se registraron valores entre 0.13 μM a 0.23 μM , donde la concentraci3n de nitrito m3s alta fue en Playa Brava a las 5 millas de costa, el promedio de la regi3n fue de 0.17 μM . Para el crucero 4 el promedio de la regi3n fue de 0.19 μM , donde las concentraciones altas se registraron en la estaci3n de Caleta Zorra 2 millas. Para el crucero 5, el rango fue



entre 0.49 μM a 0.89 μM , el promedio de la región para el crucero 5 fue de 0.67 μM . Las menores concentraciones se registraron en Estaquilla 2 millas de 0.37 μM y las altas con una concentración de 1.43 μM en Playa brava 2 millas. Para el crucero 7, el rango de concentraciones de nitrito fue 0.05 μM a 0.31 μM y el promedio para la región fue de 0.19 μM . . Para el crucero 8, el rango de concentraciones de nitrito fue 0.30 μM a 0.49 μM y el promedio para la región fue de 0.42 μM . Para el crucero 9 el rango fue entre 0.03 μM a 2.08 μM , donde la concentración más baja se ubicó en la estación de Cucao 10 millas, el promedio de la región fue de 0.27 μM . En el crucero 10, se registraron valores entre 0.01 μM a 0.56 μM , donde la concentración de nitrito más alta fue en Faro Corona 10 millas de costa, el promedio de la región fue de 0.35 μM . Para el crucero 11, el rango de concentraciones de nitrito fue 0.03 μM a 0.41 μM y el promedio para la región fue de 0.12 μM . . Para el crucero 12, el rango de concentraciones de nitrito fue 0.09 μM a 0.40 μM y el promedio para la región fue de 0.20 μM .

Región de Aysén

En el crucero 1 del mes de enero 2020, se registraron valores entre 0.15 μM a las 2 millas y 0.19 μM a las 10 millas en el Canal Tuamapu, La información de los cruceros restantes aún está en análisis.

Nitrato

Se describen las concentraciones de nitrato para las 5 regiones de muestreo en el estrato 0-10m durante los cruceros 1 al 6 de la Etapa III 2020. (**Figuras 1.3.17, 1.3.18, 1.3.19 y 1.3.20**)

Región del Biobío

Las concentraciones de nitrato para la región de enero 2020, oscilaron entre 0.08 μM a 21.87 μM con un máximo en la estación ubicada en Bahía Coliumo a las 4 millas a 0-10m, el promedio para la región fue de 7.33 μM . Para el crucero 2, el rango fue entre 0.09 μM a 14.56 μM , el promedio de la región para diciembre fue de 3.93 μM . En el crucero 3, se registraron valores entre 3.86 μM a 10.91 μM , el promedio de la región fue de 7.14 μM . Para el crucero 4 el promedio de las concentraciones de nitrato fue de 12.61 μM , donde los valores más altos fueron registrados en Tubul a las 10 millas y los menores en Bahía Coliumo a las 10 millas. En el crucero 5 tuvo como promedio 21.58 μM y las concentraciones altas fueron en Tubul de 29.05 μM y las bajas en Llico a las 10 millas de 14.73 μM . Para el Crucero 6 las concentraciones oscilaron entre 8.23 μM a 19.19 μM , donde los valores más bajos se registraron en la estación de Bahía Coliumo 10 millas y las más altas en Bahía Colcura a la milla de costa. Para el crucero 7, el rango de concentraciones de nitrato fue 2.81 μM a 26.21 μM y el promedio para la región fue de 12.36 μM . . Para el crucero 8, el rango de concentraciones de nitrato fue 0.40 μM a 26.50 μM y el promedio para la región fue de 6.92 μM . Para el crucero 9 el rango fue entre 1.13 μM a 28.49 μM , donde la concentración más baja se ubicó en la estación de Bahía Colcura 10 millas, el promedio de la región fue de 11.98 μM . En el crucero 10, se registraron valores entre 0.53 μM a



25.58 μM , donde la concentración de nitrato más alta fue en Bahía Coliumo 1 millas de costa, el promedio de la región fue de 0.35 μM . Para el crucero 11, el rango de concentraciones de nitrato fue 0.36 μM a 29.84 μM y el promedio para la región fue de 7.41 μM . Para el crucero 12, el rango de concentraciones de nitrato fue 2.10 μM a 9.97 μM y el promedio para la región fue de 6.03 μM .

Región La Araucanía

En el crucero 1, se registraron valores entre 1.53 μM a 10.93 μM , donde la concentración de nitrato más alta fue en Queule a las 2 millas de costa, el promedio de la región fue de 5.35 μM . Para el crucero 2, el rango de concentraciones de nitrato fue entre 2.88 μM a 6.65 μM y el promedio para la región fue de 4.78 μM . En el crucero 3, se registraron valores entre 0.41 μM a 10.35 μM , donde la concentración de nitrato más alta fue en Queule a las 2 millas de costa, el promedio de la región fue de 3.53 μM . Para el crucero 4 el promedio de la región fue de 11.82 μM , donde las concentraciones altas se registraron en la estación de Puerto Saavedra 2. Para el crucero 5, el rango fue entre 11.63 μM a 34.58 μM , el promedio de la región para el crucero 5 fue de 16.80 μM . Las concentraciones de nitrato para el crucero 6, oscilaron entre 3.26 μM a 10.59 μM con un máximo en la estación ubicada en Nehuentue 10 millas y estrato 0-10m, el promedio para la región fue de 7.08 μM . Para el crucero 7, el rango de concentraciones de nitrato fue 0.25 μM a 3.40 μM y el promedio para la región fue de 1.62 μM . Para el crucero 8, el rango de concentraciones de nitrato fue 4.34 μM a 20.68 μM y el promedio para la región fue de 10.93 μM . Para el crucero 9 el rango fue entre 1.67 μM a 13.01 μM , donde la concentración más baja se ubicó en la estación de Puerto Saavedra 2 millas, el promedio de la región fue de 8.61 μM . En el crucero 10, se registraron valores entre 8.16 μM a 20.80 μM , donde la concentración de nitrato más alta fue en Puerto Saavedra 10 millas de costa, el promedio de la región fue de 13.42 μM . Para el crucero 11, el rango de concentraciones de nitrato fue 3.20 μM a 18.53 μM y el promedio para la región fue de 9.67 μM . Para el crucero 12, el rango de concentraciones de nitrato fue 5.08 μM a 27.91 μM y el promedio para la región fue de 16.39 μM .

Región Los Ríos

En el crucero 1, se registraron valores entre 10.39 μM a 27.20 μM , el promedio de la región fue de 19.82 μM . Para el crucero 2 el rango fue entre 0.17 μM a 25.53 μM , donde la concentración más baja se ubicó en la estación de Río Bueno a las 10 millas, el promedio de la región para el crucero 2 fue de 12.44 μM . En el crucero 3, se registraron valores entre 0.13 μM a 18.46 μM , donde la concentración de nitrato más alta fue en bahía Mansa a las 10 millas de costa, el promedio de la región fue de 7.90 μM . Para el crucero 4 el promedio de la región fue de 8.28 μM , donde las concentraciones altas se registraron en la estación de Mehuín 5 millas. Para el crucero 5, el rango fue entre 7.00 μM a 22.32 μM , el promedio de la región para el crucero 5 fue de 13.33 μM . Las concentraciones de nitrato para el crucero 6, oscilaron entre 5.23 μM a 17.94 μM con un máximo en la estación ubicada en Niebla 2 millas del estrato 0-10m, el promedio para la región fue de 4.72 μM . Para el crucero 7, el rango de concentraciones de nitrato fue 0.53 μM a 6.88 μM y el promedio



para la regi3n fue de 3.09 uM. Para el crucero 8, el rango de concentraciones de nitrato fue 1.05 uM a 23.81 uM y el promedio para la regi3n fue de 11.45 uM. Para el crucero 9 el rango fue entre 3.29 uM a 26.91 uM, donde la concentraci3n m1s baja se ubic3 en la estaci3n de R3o Bueno 2 millas, el promedio de la regi3n fue de 11.98 uM. En el crucero 10, se registraron valores entre 12.32 uM a 34.72 uM, donde la concentraci3n de nitrato m1s alta fue en Chaihuin 2 millas de costa, el promedio de la regi3n fue de 22.17 uM. Para el crucero 11, el rango de concentraciones de nitrato fue 3.08 uM a 39.99 uM y el promedio para la regi3n fue de 23.57 uM. Para el crucero 12, el rango de concentraciones de nitrato fue 11.59 uM a 36.27 uM y el promedio para la regi3n fue de 25.45 uM.

Regi3n Los Lagos

Las concentraciones de nitrato para la regi3n en enero 2020, crucero 1, oscilaron entre 3.96 uM a 29.74 uM, el promedio para la regi3n fue de 15.89 uM. Para el crucero 2 rango fue entre 0.06 uM a 15.77 uM, el promedio de la regi3n para febrero fue de 4.54 uM. En el crucero 3, se registraron valores entre 0.04 uM a 17.08 uM, el promedio de la regi3n fue de 7.71 uM. Para el crucero 4 el promedio de las concentraciones de nitrato fue de 9.24 uM, donde los valores m1s altos fueron registrados en Carelmapu a las 2 millas y los menores en Playa brava a las 10 millas. En el crucero 5 tuvo como promedio 11.42 uM y las concentraciones m1s altas fueron en Cucao 10 millas con un valor de 73.24 uM y las m1s baja en Estaquilla 5 millas de 6.09 uM. Para el Crucero 6 las concentraciones oscilaron entre 6.27 uM a 18.39 uM, donde los valores m1s bajos se registraron en la estaci3n de Mar Brava 10 millas y las m1s altas en Faro Corona 5 millas. Para el crucero 7, el rango de concentraciones de nitrato fue 2.18 uM a 18.88 uM y el promedio para la regi3n fue de 9.57 uM. Para el crucero 8, el rango de concentraciones de nitrato fue 3.12 uM a 23.94 uM y el promedio para la regi3n fue de 11.36 uM. Para el crucero 9 el rango fue entre 0.39 uM a 26.14 uM, donde la concentraci3n m1s baja se ubic3 en la estaci3n de Chepu 5 millas, el promedio de la regi3n fue de 10.89 uM. En el crucero 10, se registraron valores entre 0.84 uM a 35.93 uM, donde la concentraci3n de nitrato m1s alta fue en Mar Brava 2 millas de costa, el promedio de la regi3n fue de 22.17 uM. Para el crucero 11, el rango de concentraciones de nitrato fue 4.57 uM a 27.61 uM y el promedio para la regi3n fue de 14.18 uM. Para el crucero 12, el rango de concentraciones de nitrato fue 4.31 uM a 29.18 uM y el promedio para la regi3n fue de 16.22 uM.

Regi3n de Ays3n

En el mes de enero, crucero 1, se registraron valores de nitrato entre 8.88 uM a las 5 millas y 13.49 uM a las 2 millas en el Canal Tuamapu, La informaci3n de los cruceros restantes a3n est1 en an1lisis.

Fosfato



Se describen las concentraciones de fosfato para las 5 regiones de muestreo en el estrato 0-10m durante los cruceros 1 al 12 de la Etapa III 2020. (**Figuras 1.3.21, 1.3.22, 1.3.23 y 1.3.24**).

Región del Biobío

Las concentraciones de fosfato para la región de enero 2020, crucero 1, oscilaron entre 0.93 μM a 3.45 μM con un máximo en la estación ubicada en Coliumo a la milla y estrato 0-10m, el promedio para la región fue de 1.83 μM . Para el mes de febrero, segundo crucero, el rango fue entre 0.14 μM a 4.67 μM , el promedio de la región fue de 1.75 μM . En el mes de marzo, se registraron valores entre 1.63 μM a 4.84 μM , donde la concentración de fosfato más alta fue en Bahía Coliumo a las 4 millas de costa, el promedio de la región fue de 3.68 μM . Para el crucero 4 el promedio de la región fue de 3.56 μM , donde las concentraciones altas se registraron en la estación de Coliumo a las 10 millas. Para el crucero 5, el rango fue entre 1.65 μM a 2.19 μM , el promedio de la región para el crucero 5 fue de 1.90 μM . Las concentraciones de fosfato para el crucero 6, oscilaron entre 0.34 μM a 0.57 μM con un máximo en la estación ubicada en Coliumo a la milla y estrato 0-10m, el promedio para la región fue de 0.45 μM . Para el crucero 7, el rango de concentraciones de fosfato fue 0.12 μM a 2.65 μM y el promedio para la región fue de 1.17 μM . Para el crucero 8, el rango de concentraciones de fosfato fue 0.03 μM a 1.85 μM y el promedio para la región fue de 0.63 μM . Para el crucero 9 el rango fue entre 0.78 μM a 3.42 μM , donde la concentración más baja se ubicó en la estación de Bahía Coliumo 5 millas, el promedio de la región fue de 1.78 μM . En el crucero 10, se registraron valores entre 0.43 μM a 2.46 μM , donde la concentración de fosfato más alta fue en Bahía Coliumo 4 millas de costa, el promedio de la región fue de 1.23 μM . Para el crucero 11, el rango de concentraciones de fosfato fue 0.36 μM a 3.20 μM y el promedio para la región fue de 1.39 μM . Para el crucero 12, el rango de concentraciones de fosfato fue 0.34 μM a 1.91 μM y el promedio para la región fue de 0.89 μM .

Región La Araucanía

En el crucero 1, se registraron valores entre 0.27 μM a 2.43 μM , el promedio de la región fue de 1.19 μM . Para el mes de febrero 2020, el rango de concentraciones de fosfato fue entre 0.68 μM a 2.66 μM y el promedio para la región fue de 1.33 μM . En el mes marzo, crucero 3, se registraron valores entre 0.01 μM a 3.03 μM , donde la concentración de fosfato más alta fue en Nehuentué a las 2 millas de costa, el promedio de la región fue de 0.76 μM . Para el crucero 4, las concentraciones oscilaron entre 0.39 μM y 1.42 μM , donde los valores bajos se registraron en la estación de Puerto Saavedra 10 millas y los valores altos en la estación de Queule 2 millas, el promedio para la región fue de 0.86 μM . En el crucero 5 el promedio de la región fue de 1.22 μM , donde las menores concentraciones se registraron en la estación de Puerto Saavedra 5 millas y las concentraciones altas en la estación de Puerto Saavedra 2 millas. Para el crucero 6 las menores concentraciones se registraron en las estaciones de Queule 5 millas a 0.10 μM y las concentraciones altas en la estación de Queule 2 millas a 1.10 μM . Para el crucero 7, el rango de concentraciones de fosfato fue 0.05 μM a 0.18 μM y el promedio para la región fue de 0.09 μM . Para el crucero 8, el rango de concentraciones



de fosfato fue 0.29 μM a 1.78 μM y el promedio para la región fue de 0.81 μM . Para el crucero 9 el rango fue entre 0.24 μM a 1.57 μM , donde la concentración más baja se ubicó en la estación Queule 10, el promedio de la región fue de 0.82 μM . En el crucero 10, se registraron valores entre 0.58 μM a 1.56 μM , donde la concentración de fosfato más alta fue en Queule 2 millas de costa, el promedio de la región fue de 1.06 μM . Para el crucero 11, el rango de concentraciones de fosfato fue 0.62 μM a 1.88 μM y el promedio para la región fue de 1.17 μM . Para el crucero 12, el rango de concentraciones de fosfato fue 0.74 μM a 2.39 μM y el promedio para la región fue de 1.47 μM .

Región Los Ríos

En el crucero 1, se registraron valores entre 0.67 μM a 3.77 μM , donde la concentración de fosfato más alta fue en Mehuín a las 2 millas de costa, el promedio de la región fue de 1.95 μM . Para el crucero 2 el rango fue entre 0.39 μM a 3.62 μM , el promedio de la región para febrero fue de 1.83 μM . En el crucero 3, se registraron valores entre 0.01 μM a 2.48 μM , donde la concentración de fosfato más alta fue en Bahía Mansa a las 10 millas de costa, el promedio de la región fue de 0.90 μM . Las concentraciones de fosfato para la región en el crucero 4, oscilaron entre 0.54 μM a 4.03 μM con un máximo en la estación ubicada en Río Bueno 5 millas, el promedio para la región fue de 1.20 μM . Para el crucero 5 el rango fue entre 0.34 μM a 1.70 μM , el promedio de la región fue de 1.18 μM . En el crucero 6, se registraron valores entre 0.34 μM a 1.42 μM , donde la concentración de fosfato más alta fue en Río Bueno 2 millas de costa, el promedio de la región fue de 0.90 μM . Para el crucero 7, el rango de concentraciones de fosfato fue 0.01 μM a 0.63 μM y el promedio para la región fue de 0.23 μM . Para el crucero 8, el rango de concentraciones de fosfato fue 0.17 μM a 1.91 μM y el promedio para la región fue de 0.80 μM . Para el crucero 9 el rango fue entre 0.31 μM a 1.99 μM , donde la concentración más baja se ubicó en la estación Chaihuin 10, el promedio de la región fue de 0.99 μM . En el crucero 10, se registraron valores entre 0.89 μM a 2.72 μM , donde la concentración de fosfato más alta fue en Chaihuin 2 millas de costa, el promedio de la región fue de 1.06 μM . Para el crucero 11, el rango de concentraciones de fosfato fue 0.73 μM a 3.91 μM y el promedio para la región fue de 1.78 μM . Para el crucero 12, el rango de concentraciones de fosfato fue 0.77 μM a 2.96 μM y el promedio para la región fue de 2.00 μM .

Región Los Lagos

Las concentraciones de fosfato para la región en enero, oscilaron entre 0.29 μM a 3.10 μM con un máximo en la estación ubicada en Chepu a las 2 millas, el promedio para la región fue de 1.28 μM . Para el crucero 2, el rango fue entre 0.03 μM a 1.54 μM , el promedio de la región fue de 0.55 μM . En el mes de marzo, crucero 3, se registraron valores entre 0.07 μM a 2.57 μM , donde la concentración de fosfato alta fue en Chepu a las 10 millas de costa, el promedio de la región fue de 1.53 μM . Para el crucero 4, las concentraciones oscilaron entre 0.15 μM y 2.15 μM , donde los valores bajos se registraron en la estación de Cucao 10 millas y los valores altos en la estación de Carelmapu 2 millas, el promedio para la región fue de



1.08 μM . En el crucero 5 el promedio de la región fue de 0.76 μM , donde las menores concentraciones se registraron en la estación de Faro Corona 10 millas y las concentraciones altas en la estación de Carelmapu 10 millas. Para el crucero 6 las menores concentraciones se registraron en las estaciones de Estaquilla 2 millas a 0.37 μM y las concentraciones altas en la estación de Playa Brava 2 millas a 1.10 μM . Para el crucero 7, el rango de concentraciones de fosfato fue 0.14 μM a 1.35 μM y el promedio para la región fue de 0.71 μM . Para el crucero 8, el rango de concentraciones de fosfato fue 0.14 μM a 1.26 μM y el promedio para la región fue de 0.51 μM . Para el crucero 9 el rango fue entre 0.39 μM a 2.19 μM , donde la concentración más baja se ubicó en la estación Chepu 5, el promedio de la región fue de 1.03 μM . En el crucero 10, se registraron valores entre 0.61 μM a 2.49 μM , donde la concentración de fosfato más alta fue en Carelmapu 10 millas de costa, el promedio de la región fue de 1.52 μM . Para el crucero 11, el rango de concentraciones de fosfato fue 0.23 μM a 1.66 μM y el promedio para la región fue de 0.89 μM . Para el crucero 12, el rango de concentraciones de fosfato fue 0.38 μM a 2.25 μM y el promedio para la región fue de 1.34 μM .

Región de Aysén

En el mes de enero, se registraron valores de fosfato entre 0.67 μM a las 2 millas y 1.44 μM a las 5 millas en el Canal Tuamapu. La información de los cruceros restantes aún está en análisis.

Silicato

Se describen las concentraciones de silicato para las 5 regiones de muestreo en el estrato 0-10m durante los cruceros 1 al 12 de la Etapa III 2020. (**Figuras 1.3.25, 1.3.26, 1.3.27 y 1.3.28**).

Región del Biobío

Las concentraciones de silicato para el crucero 1 fueron bajas para la región, sólo la estación de Bahía Coliumo a la milla presentó una concentración de 0.77 μM , para el resto de las estaciones en la región del Biobío los valores estuvieron bajo el límite de detección (BLD). Para el Crucero 2, el rango de concentraciones de silicato fue entre 1.46 μM a 45.19 μM y el promedio para la región fue de 21.99 μM , Para el crucero 3, las concentraciones registraron valores no detectables, bajo el límite de detección (BLD). Para el crucero 4, las concentraciones oscilaron entre 1.58 μM y 41.76 μM , donde los valores bajos se registraron en la estación de tubul a las 5 millas y los valores altos en la estación de Colcura 1 milla, el promedio para la región fue de 23.41 μM . En el crucero 5 el promedio de la región fue de 41.27 μM , donde las menores concentraciones se registraron en la estación de Coliumo a las 10 millas y las concentraciones altas en la estación de Tubul 4 millas. Para el crucero 6 las menores concentraciones se registraron en las estaciones de Coliumo a las 10 millas y las concentraciones altas en la estación de Tubul 1 milla. Para el crucero 7, el rango de concentraciones fue 3.86 μM a 35.50 μM y el promedio para la región fue de 14.98 μM . Para el crucero 8, el rango de concentraciones fue 0.33 μM a 32.90 μM y el promedio para la región fue de 13.02



uM. Para el crucero 9 el rango fue entre 1.20 uM a 25.93 uM, donde la concentración más baja se ubicó en la estación Bahía Colcura 5, el promedio de la región fue de 11.57 uM. En el crucero 10, se registraron valores entre 0.05 uM a 39.48 uM, donde la concentración más alta fue en Bahía Columo 4 millas de costa, el promedio de la región fue de 12.19 uM. Para el crucero 11, el rango de concentraciones fue 0.37 uM a 32.33 uM y el promedio para la región fue de 10.04 uM. Para el crucero 12, el rango de concentraciones de silicato fue 0.82 uM a 26.20 uM y el promedio para la región fue de 10.49 uM.

Región La Araucanía

En el crucero 1, se registraron valores 0.40 uM a 10.22 uM, el promedio de la región fue de 5.16 uM. Para el crucero 2, el rango de concentraciones de silicato fue entre 0.42 uM a 11.58 uM y el promedio para la región fue de 4.92 uM. Para el crucero 3, las concentraciones registraron valores no detectables, bajo el límite de detección (BLD). Para el crucero 4 las menores concentraciones se registraron en la estación de Nehuentue 10 millas de 0.58 uM y las concentraciones altas en la estación de Queule 2 milla, 15.26 uM. En el crucero 5, se registraron valores entre 0.05 uM a 14.36 uM, el promedio de la región fue de 9.22 uM. Las concentraciones de silicato para la región en el crucero 6, oscilaron entre 6.41 uM a 32.27 uM con un máximo en la estación ubicada en Nehuentue 5 millas, el promedio para la región fue de 17.47 uM. Para el crucero 7, el rango de concentraciones de silicato fue 0.68 uM a 5.34 uM y el promedio para la región fue de 2.62 uM. Para el crucero 8, el rango de concentraciones de silicato fue 2.55 uM a 20.79 uM y el promedio para la región fue de 6.98 uM. Para el crucero 9 el rango fue entre 1.26 uM a 11.15 uM, donde la concentración más baja se ubicó en la estación Nehuentué 2, el promedio de la región fue de 5.71 uM. En el crucero 10, se registraron valores entre 1.83 uM a 14.06 uM, donde la concentración de silicato más alta fue en Queule 5 millas de costa, el promedio de la región fue de 9.05 uM. Para el crucero 11, el rango de concentraciones de silicato fue 1.88 uM a 4.66 uM y el promedio para la región fue de 3.17 uM. Para el crucero 12, el rango de concentraciones de silicato fue 2.30 uM a 15.05 uM y el promedio para la región fue de 9.08 uM.

Región Los Ríos

En el crucero 1, se registraron valores entre 2.45 uM a 17.91 uM, donde la concentración de silicato más alta fue en Niebla a las 2 millas de costa, el promedio de la región fue de 8.58 uM. Para el crucero 2 el rango fue entre 1.55 uM a 22.32 uM, donde la concentración más baja se ubicó en la estación de Niebla a las 2 millas, el promedio fue de 7.99 uM. En el crucero 3, se registraron valores entre 2.56 uM a 11.10 uM, el promedio de la región fue de 6.91 uM. Para el crucero 4, las concentraciones oscilaron entre 4.14 uM y 57.29 uM, donde los valores bajos se registraron en la estación de Niebla a las 10 millas y los valores altos en la estación de Chaihuin 2 millas, el promedio para la región fue de 26.44 uM. En el crucero 5 el promedio de la región fue de 25.47 uM, donde las menores concentraciones se registraron en la estación de Chaihuin 10 millas y las concentraciones altas en la estación de Rio Bueno 2 millas con un valor de 50.38 uM. Para el crucero 7, el rango de concentraciones de silicato fue 0.03 uM a 29.14 uM y el promedio para la región fue de 9.37 uM.



Para el crucero 8, el rango de concentraciones de silicato fue 0.35 μM a 25.35 μM y el promedio para la región fue de 9.00 μM . Para el crucero 9 el rango fue entre 5.03 μM a 22.14 μM , donde la concentración más baja se ubicó en la estación Chaihuin 10, el promedio de la región fue de 1.03 μM . En el crucero 10, se registraron valores entre 4.39 μM a 26.90 μM , donde la concentración de silicato más alta fue en Niebla 5 millas de costa, el promedio de la región fue de 13.82 μM . Para el crucero 11, el rango de concentraciones de silicato fue 4.33 μM a 31.34 μM y el promedio para la región fue de 13.27 μM . Para el crucero 12, el rango de concentraciones de silicato fue 1.21 μM a 18.59 μM y el promedio para la región fue de 11.83 μM .

Región Los Lagos

Las concentraciones de silicato para la región en enero, oscilaron entre 0.37 μM a 11.57 μM con un máximo en la estación ubicada en Chepu a las 2 millas, el promedio para la región fue de 2.82 μM . Para el crucero 2 fueron bajas para la región, sólo la estación de Carelmapu 2 millas presentó una concentración de 0.27 μM , para el resto de las estaciones en la región de Los Lagos, las concentraciones registraron valores no detectables, bajo el límite de detección (BLD). En el crucero 3 se registraron valores entre 2.41 μM a 10.88 μM , el promedio de la región fue de 7.03 μM . Para el crucero 4 el promedio de las concentraciones de silicato fue de 4.84 μM , donde los valores más altos fueron registrados en Cucao a las 2 millas y los menores en Playa Brava a las 5 millas. En el crucero 5 tuvo como promedio 8.24 μM y las concentraciones altas fueron en Playa Brava 5 millas con un valor de 15.73 μM y la más baja en Caleta Zorra 5 millas de 1.07 μM . Para el crucero 7, el rango de concentraciones de silicato fue 1.03 μM a 11.42 μM y el promedio para la región fue de 6.14 μM . Para el crucero 8, el rango de concentraciones de silicato fue 0.13 μM a 13.35 μM y el promedio para la región fue de 6.63 μM . Para el crucero 9 el rango fue entre 0.07 μM a 14.90 μM , donde la concentración más baja se ubicó en la estación Cucao 10, el promedio de la región fue de 5.57 μM . En el crucero 10, se registraron valores entre 1.12 μM a 20.47 μM , donde la concentración de silicato más alta fue en Bahía Mansa 2 millas de costa, el promedio de la región fue de 9.42 μM . Para el crucero 11, el rango de concentraciones de silicato fue 0.67 μM a 20.24 μM y el promedio para la región fue de 7.67 μM . Para el crucero 12, el rango de concentraciones de silicato fue 1.17 μM a 13.31 μM y el promedio para la región fue de 7.52 μM .

Región de Aysén

Para el mes de enero, las concentraciones registraron valores no detectables, bajo el límite de detección (BLD). La información de los cruceros restantes aún está en análisis.

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



En esta etapa se informan los resultados del an3lisis de un total de 115 muestras de sedimento superficial destinadas para el estudio de quistes de dinoflagelados. Las muestras fueron obtenidas en las campa1as de invierno (cruceros 6 y 7) y primavera-verano (cruceros 11, 12 y complementario) realizadas en las regiones del Biob3o, La Araucan3a, Los R3os y Los Lagos (**Tablas 1.4.1-1.4.8**). El n3mero de muestras analizadas correspondientes a la primera campa1a fue 59 y en la segunda campa1a 56 muestras.

Desde el punto de vista taxon3mico, el an3lisis del total de muestras (ambas campa1as) permiti3 registrar 61 tipos de quistes de dinoflagelados distintos (**Figs. 1.4.1-1.4.3**), entre los cuales se identific3 especies de quistes de los g3neros *Alexandrium*, *Protoceratium*, *Lingulodinium*, *Nematosphaeropsis*, *Spiniferites*, *Prorocentrum*, *Pentaparsodinium*, *Scrippsiella*, *Gymnodinium*, *Gyrodinium*, *Trinovantedinium*, *Echinidinium*, *Selenopemphix*, *Archaeoperidinium*, *Protooperidinium*, *Polykrikos*, *Preperidinium*, *Dubridinium*, *Diplopsalopsis*, *Enciculifera* y *Niea*. Diez tipos de quistes que por sus caracter3sticas morfol3gicas no fueron asignados a alg3n g3nero de dinoflagelado y se registraron como No identificados (**Tablas 1.4.1 y 1.4.5**).

En t3rminos cualitativos, el g3nero de dinoflagelado identificado con una mayor cantidad de especies en esta etapa correspondi3 a *Protooperidinium* con 14 especies (*P. americanum*, *P. avellana*, *P. claudicans*, *P. conicoides*, *P. conicum*, *P. nudum*, *P. denticulatum*, *P. excentricum*, *P. leonis*, *P. oblongum*, *P. pentagonum*, *P. sinuosum*, *P. subinermis*, *P. thorianum*), adem3s de 5 miembros identificados solo a nivel de g3nero (*Protooperidinium* sp. 3, *Protooperidinium* sp. 4, *Protooperidinium* sp. 5, *Protooperidinium* sp. 6 y *Protooperidinium* sp. 8). Los quistes registrados como *Protooperidinium* spp. correspondieron a quistes con forma esf3rica de color caf3 sin procesos ornamentales, y que al estar sin germinar, es decir sin presentar arqueopilo (estructura por donde sale la c3lula germinada) que permitiera su identificaci3n, fue imposible agruparlos dentro de alguna especie. Las especies que presentan este tipo de quistes y que fueron identificadas aqu3 son *P. avellana*, *P. denticulatum* y *P. thorianum*.

En t3rminos cuantitativos, en el 3rea de estudio la especie m3s abundante correspondi3 a *Scrippsiella precaria* (Total ambas campa1as: 20807 quistes), present3ndose especialmente abundante en sedimentos de la regi3n del Biob3o (Total: 20696 quistes; 99,4%) (**Tablas 1.4.1 y 1.4.5**). Otras especies que tambi3n presentaron las m3s altas abundancias en esta etapa fueron *Protooperidinium conicum* (8022 quistes), *Protooperidinium americanum* (6448 quistes), *Protooperidinium excentricum* (5744 quistes), *Preperidinium meunieri* (4961) y *Protooperidinium leonis* (4797), las cuales junto con *S. precaria* representaron el 62,5% de la abundancia total cuantificada en esta etapa (**Tablas 1.4.1 y 1.4.5**).

Campa1a de Invierno

El muestreo de invierno se realiz3 entre los meses de agosto y principio de septiembre recolectando un total de 59 muestras. Las abundancias totales por estaci3n variaron entre 4 y 5387 quistes $\times$ cm⁻³ de sedimento (**Tablas 1.4.1-1.4.4; Fig. 1.4.4**), con un promedio ($\pm$ D.S.) de 607 ± 1376 quistes $\times$ cm⁻³ de sedimento



húmedo (sh). Al comparar las abundancias promedio de cada región, la abundancia más alta correspondió a la del Biobío (2135 ± 2123 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh), seguida por Los Lagos (243 ± 406 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh), Los Ríos (191 ± 225 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh) y La Araucanía (93 ± 181 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh). En la región del Biobío las abundancias variaron entre 28 y 5387 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh, con el registro más alto en la estación Bahía Colcura 5 millas (5387 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh) y la más baja en Bahía Llico 5 millas (28 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh) (**Fig. 1.4.5**). En La Araucanía las abundancias variaron entre 8 y 501 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh, con el registro más alto en la estación Nehuentué 10 millas (501 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh) y la más baja en Nehuentué 2 millas (8 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh) (**Fig. 1.4.6**). En Los Ríos las abundancias variaron entre 9 y 702 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh, siendo Chaihuín 10 millas (702 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh) la estación con el registro más alto y Mehuín 10 millas (9 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh) con el más bajo (**Fig. 1.4.7**). Finalmente, en Los Lagos las abundancias variaron entre 0 y 1585 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh, con el registro más alto en la estación Cucao 10 millas (1585 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh) y la nula presencia en Faro Corona 2 millas (0 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh) (**Fig. 1.4.8**). Cabe mencionar que Faro Corona fue la única estación en toda el área de estudio en que no fue posible detectar quistes de dinoflagelados durante esta campaña.

Especies nocivas

Durante la campaña de invierno en el área de estudio se registraron quistes de las especies productoras de toxinas *Alexandrium catenella*, *A. ostenfeldii* y *Protoceratium reticulatum* (**Fig. 1.4.1A-D**). Quistes de *A. catenella* fueron registrados en las regiones de La Araucanía, Los Ríos y Los Lagos. En La Araucanía se registraron sus quistes en Queule 10 millas (3 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh), en Los Ríos en la estación Mehuín 5 millas (3 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh) (**Fig. X**), y en Los Lagos en las estaciones Estaquilla 10 millas (11 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh), Playa Brava 2 y 5 millas (2 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh en cada estación), Carelmapu 10 millas (4 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh), Faro Corona 10 millas (17 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh), Mar Brava 5 millas (3 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh), Chepu 10 millas (9 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh), Cucao 10 millas (19 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh), Caleta Zorra 10 millas (18 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh), Asasao y Guapivilán (8 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh en cada estación) (**Fig. 1.4.9**).

Los quistes de *A. ostenfeldii* fueron registrados en sedimentos de las regiones del Biobío y Los Ríos. En el Biobío las estaciones positivas a la presencia de sus quistes fueron Bahía Coliumo 2 y 10 millas (54 y 18 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh cada estación) y Bahía Colcura 10 millas (19 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh) (**Fig. 1.4.10**). En Los Ríos los quistes fueron registrados en estación Mehuín 10 millas (5 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh) (**Fig. 1.4.11**).

Por su parte los quistes de *P. reticulatum* fueron encontrados sólo en sedimentos de Los Lagos. Las estaciones positivas fueron Bahía Mansa 5 millas (9 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh), Estaquilla 10 millas (11 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh), Cucao 10 millas (38 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh), Caleta Zorra 10 millas (3 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh), Asasao y Guaquilán (4 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh en cada estación) (**Fig. 1.4.12**).

Campaña de Primavera-Verano

El segundo muestreo de sedimentos fue realizado entre los meses de diciembre y enero y se recolectó un total de 56 muestras entre las cuatro regiones. En esta campaña las abundancias totales por estación variaron entre 0 y 10951 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ de sedimento (**Tablas 1.4.5-1.4.8; Fig. 1.4.13**), con un promedio ($\pm$ D.S.) de 718 ± 1720 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh. Si comparamos las abundancias promedio por región, la más alta abundancia fue la del Biobío (2070 ± 2943 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh), seguida por Los Lagos (271 ± 348 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh), Los Ríos (239 ± 321 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh) y La Araucanía (45 ± 61 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh). Los valores de abundancia mínimos y máximos en las estaciones de la región del Biobío variaron entre 3 y 10951 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh, con el registro más alto en Bahía Colcura 5 millas (10951 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh) y el más bajo en Bahía Llico 5 millas (3 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh) (**Fig. 1.4.14**). En La Araucanía los valores de abundancia variaron entre 4 y 148 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh, con el valor más alto registrado en Queule 10 millas (148 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh) y el más bajo en las estaciones Nehuentué 5 millas y Queule 5 millas (4 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh en cada estación) (**Fig. 1.4.15**). En la región de Los Ríos las abundancias variaron entre 3 y 889 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh, destacando con el valor más alto la estación Río Bueno 10 millas (889 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh) y el más bajo en la estación Mehuín 5 millas (3 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh) (**Fig. 1.4.16**). En la región de Los Lagos las abundancias variaron entre 0 y 927 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh, con el registro más alto en Estaquilla 10 millas (927 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh) y el más bajo en Faro Corona 2 millas (0 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh) (**Fig. 1.4.17**).

Especies nocivas

En la campaña realizada entre los meses de diciembre 2020 y enero 2021 se registraron quistes de las especies productoras de toxinas *Alexandrium catenella*, *A. ostenfeldii* y *Protoceratium reticulatum* (**Fig. 1.4.1A-D**). Los quistes de las tres especies solo se registraron en la región de Los Lagos. Las estaciones con presencia de quistes de *A. catenella* fueron Estaquilla 2 y 5 millas (6 y 12 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh, respectivamente), Faro Corona 10 millas (6 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh), Mar Brava 10 millas (6 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh), Chepu 5 y 10 millas (3 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh cada estación), Cucao 10 millas (20 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh), Caleta Zorra 2, 5 y 10 millas (4, 9 y 2 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh, respectivamente), y Asasao (6 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh cada una) (**Fig. 1.4.18**). Los quistes de *A. ostenfeldii* se registraron en Estaquilla 5 millas (12 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh) y Cucao 10 millas (5 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh) (**Fig. 1.4.19**). Los quistes de *P. reticulatum* fueron encontrados sólo en sedimentos de Los Lagos, particularmente frente a la Isla de Chiloé. Las estaciones con presencia de sus quistes fueron Mar Brava 5 y 10 millas (6 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh en cada estación), Chepu 10 millas (3 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh), Cucao 10 millas (5 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh), Caleta Zorra 10 millas (6 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh), y Asasao (90 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh) (**Fig. 1.4.20**).

Los dinoflagelados, tanto planctónicos como bentónicos, utilizan diversas estrategias de sobrevivencia durante sus historias de vida, y entre ellas, una muy importante para aproximadamente el 10% de las especies de este grupo es la formación de los quistes de resistencia. Los quistes de resistencia de dinoflagelados pueden sobrevivir extensos períodos de tiempo en condiciones ambientales desfavorables, y



eventualmente germinar y entrar a la fase reproductiva planctónica de su ciclo de vida cuando las condiciones mejoran (Dale 1983; Wall, 1971). A medida que las floraciones se desarrollan y llegan a su término, nuevos quistes son formados, permaneciendo así en los sedimentos hasta que nuevamente germinan y proporciona el inóculo para subsecuentes floraciones (Brosnahan et al., 2017).

En esta etapa III de estudio, el número de muestras obtenidas entre ambas campañas (invierno y primavera-verano) destinadas a la detección y cuantificación de quistes de dinoflagelados, aumentó respecto a la de las dos etapas pasadas. En una primera ocasión (etapa I) se realizó el estudio en base al análisis de 26 muestras de sedimento, registrándose un total de 30 tipos de quistes distintos, mientras que en la etapa II se estudió la presencia de quistes en 82 muestras, obteniendo 64 tipos de quistes distintos. En el actual estudio, el análisis de 115 muestras arrojó la presencia de 61 tipos de quistes distintos, lo cual, al igual que lo ocurrido en la etapa anterior, los resultados superan largamente el registro de quistes en estudios realizados en el sistema de fiordos y canales del sur de Chile (e.g. Alves de Sousa et al., 2008; Seguel et al., 2011; Díaz et al., 2014; Rodríguez-Villegas et al., 2021), zona que ha sido particularmente estudiada por la ocurrencia de floraciones de especies nocivas (Guzmán et al., 2002; Molinet et al., 2003). Similar situación ocurre al comparar estos resultados con registro de quistes de altas latitudes del hemisferio norte (Nehring 1994; Persson et al., 2000; Orlova et al., 2004) donde el número de especies también es menor que el aquí registrado.

Dentro del listado de quistes de dinoflagelados registrados en el estudio, el género *Protoperidinium* destacó por haber presentado una alta diversidad de especies (19 especies distintas). Paralelamente este género aportó con 4 de las 6 especies más abundantes del estudio (*Protoperidinium conicum*, *Protoperidinium americanum*, *Protoperidinium excentricum*, y *Protoperidinium leonis*), siendo *Scrippsiella precaria*, el número uno en abundancia del estudio. Por un lado, al igual que en la etapa II (2019-2020), la alta abundancia de quistes de *S. precaria* en sedimentos del Biobío podría ser por eventos de floraciones estacionales y a la alta capacidad que tendría la especie para formar quistes. Se ha reportado que *Scrippsiella* cf. *lachrymosa* ha alcanzado en cultivos casi un 100% de eficiencia de enquistamiento bajo condiciones enriquecidas del medio (Olli & Anderson 2002). Wang et al. (2007) mencionan por otro lado que durante una densa floración de *Scrippsiella trochoidea*, un enquistamiento en masa durante el máximo de abundancia de células vegetativas produjo una considerable pérdida de la población de la floración, lo cual daría cuenta de la alta eficiencia de enquistamiento que puede presentar este género de dinoflagelado. Por otro lado, la alta diversidad y abundancia del género *Protoperidinium* en toda el área de estudio está dada porque es un género cosmopolita que puede presentarse en un amplio rango de salinidades y temperaturas (Marret & Zonneveld 2003) y por la disponibilidad de nutrientes —incrementados frente al Biobío (35-37°S) por surgencia activa— siendo este el principal factor ambiental que controla la abundancia relativa de taxa heterótrofos en una escala regional (Verleye & Louwye 2010). Además de aumentar la abundancia de quistes en la zona de surgencia en el Biobío, en general la abundancia de quistes aumentó con el aumento de distancia desde la



costa. Muestras con mayor abundancia se registraron principalmente en las estaciones ubicadas a 10 millas de la costa, lo cual es el resultado de la mayor presencia de sedimentos finos tipos limos y arcillas (datos no mostrados). Esto es debido a que los quistes de dinoflagelados se comportan como partículas finas (Dale, 1983) depositándose en mayor cantidad en sectores donde las forzantes hidrológicas son menores y en menor cantidad en zonas de fuertes corrientes donde los procesos de sedimentación suelen acumular sedimentos más gruesos (Nehring 1993).

Especies nocivas.

Al igual que en las etapas anteriores, se evidenció la presencia de quistes de las especies productoras de toxinas *A. catenella*, *A. ostenfeldii* y *P. reticulatum*. En la costa chilena *Alexandrium catenella* y *A. ostenfeldii* han sido reportados como productores de toxinas paralizantes (Krock et al., 2007; Salgado et al., 2015) y *P. reticulatum* como productor de yesotoxinas (Álvarez et al., 2011). Las tres especies fueron registradas en ambas campañas de muestreo. En el caso de *A. catenella*, sus quistes fueron registrados desde La región de La Araucanía hasta Los Lagos, siendo Queule 10 millas (La Araucanía) la estación con el registro más septentrional del estado bentónico durante las tres etapas de monitoreo. En la etapa I el límite norte estuvo en Chaihuín en Región de Los Ríos (Espinoza-González et al., 2019) y en la etapa II en la estación Estaquilla 5 millas en la Región de Los Lagos (Espinoza-González et al., 2020). Es importante destacar que durante la actual etapa los quistes de *A. catenella* también fueron registrados en Mehuín 5 millas en la región de Los Ríos, estación cercana a Queule 10 millas, lo que podría sugerir que, en algún momento del año, en la plataforma continental ocurrió un incremento en la abundancia de células vegetativas de *A. catenella* que provocó que, durante o al finalizar este evento, ocurriera la formación de quistes los cuales sedimentaron en la zona. Esta hipótesis se basa en el hecho que, las áreas donde es más abundante y frecuentemente registrada la forma móvil, es donde mayor frecuencia de aparición y abundancia de quistes se registran, tal como ha ocurrido en estaciones de la región de Los Lagos en la actual etapa (ver Fig. 1.4.9) y en etapas pasadas (Espinoza-González et al., 2020). En el caso de *A. ostenfeldii*, en esta etapa, sus quistes tuvieron una presencia discreta siendo registrados solo en seis estaciones, cuatro estaciones del Biobío durante invierno y dos estaciones en Los Lagos durante verano (enero). La mayor cantidad de registros en sedimentos del Biobío indicaría que el área presenta condiciones favorables para el crecimiento vegetativo y subsecuente formación de quistes, los cuales pueden servir como fuente de inóculo de poblaciones móviles y floraciones bajo condiciones favorables (McQuoid et al., 2002, Ellegaard & Ribeiro 2018). Sin embargo, la confirmada producción de toxinas paralizantes en cepas del área (Norambuena et al., en prep.) instan a seguir con precaución periódica los índices de abundancia de la especie en la columna de agua y en los sedimentos. Por su parte, los quistes de *P. reticulatum* tuvieron en esta ocasión, a diferencia de lo reportado en la etapa II, una distribución geográfica más acotada cuando se compara con las otras dos especies productoras de toxinas. Solo los sedimentos de la región de Los Lagos presentaron quistes de la especie en



ambas campa1as, aunque con baja abundancia (m1ximo 38 quistes $\times \text{cm}^{-3}$ sh) indicando una baja presencia en la columna de agua.

6.2 Resultados Objetivo Espec1fico 2

Continuar con el an1lisis interpretativo de los datos obtenidos disponibles desde el a1o 2018, 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 (**Anexo 1, Base de Datos**).

6.2.1 Actividad 1: Caracterizar a nivel espacial y temporal la distribuci3n y abundancia de las especies nocivas, incluyendo la din1mica del fitoplancton total

1.- Composici3n taxon3mica y distribuci3n de especies

Para el p1odo comprendido entre febrero de 2018 y diciembre de 2020, se identificaron 242 especies de fitoplancton, las cuales correspondieron a los siguientes grupos: 140 diatomeas, 91 dinoflagelados, 3 silicoflagelados, 2 ciliados, 1 zoomastogoforo, 2 Prasinoficeas, 2 Prymnesiales y 1 especie de Chrysophyta. Del total de esta composici3n fitoplanct3nica un total de 25 especies constituyen con mas de un 90% del total de la abundancia celular, entre estas especies de encuentran: *Skeletonema* spp., *Pseudo-nitzschia* cf. *pseudodelicatissima*, *Chaetoceros* spp., *Thalassiosira* spp., *Chaetoceros debilis*, *Thalassiosira* cf. *min1scula*, *Chaetoceros radicans*, *Pseudo-nitzschia* cf. *australis*, *Asterionellopsis glacialis*, *Pseudo-nitzschia* spp., *Leptocylindrus danicus*, *Leptocylindrus minimus*, *Thalassiosira* cf. *aestivalis*, *Guinardia delicatula*, *Thalassiosira rotula*, *Detonula pumila*, *Chaetoceros socialis*, *Chaetoceros compressus*, *Chaetoceros didymus*, *Navicula* spp., especies de la familia *Kareniaceae*, *Rhizosolenia setigera*, *Thalassiosira delicatula*, *Eucampia zodiacus* y *Chaetoceros constrictus*. Para las estaciones ubicadas en la regi3n del Biob1o (Bah1as Coliumo, Colcura, Llico y Tubul; **Figura 2.1.1**), se observ3, para todo el periodo de estudio, una dominancia de las diatomeas por sobre los dinoflagelados y silicoflagelados, donde las mayores densidades acumuladas estuvieron asociadas a los periodos de verano, donde las especies que dominaron porcentualmente la composici3n fitoplanct3nica fueron *Skeletonema* spp. ($37 \pm 31\%$), *Thalassiosira* spp. ($9 \pm 8\%$) y *Leptocylindrus danicus* ($8 \pm 18\%$), para las estaciones ubicadas en la regi3n de la Araucan1a (Nehuentu3, Puerto Saavedra y Queule; **Figura 2.1.2**), se observ3 que el grupo dominante fueron las diatomeas, especialmente durante los meses de verano, donde las especies dominantes fueron *Skeletonema* spp. ($33 \pm 33\%$), *Chaetoceros* spp. ($19 \pm 23\%$) y *Pseudo-nitzschia* cf. *pseudodelicatissima* ($8 \pm 24\%$), para las estaciones ubicadas en la regi3n de Los R1os (Mehu1n, Niebla, Chaihu1n y Rio Bueno; **Figura 2.1.3**), se observ3 que el grupo dominante fueron las diatomeas especialmente asociadas a los meses de verano, s3lo durante el mes de noviembre de 2018, los dinoflagelados registraron abundancias similares a las diatomeas, las especies dominantes durante el verano fueron *Skeletonema* spp. ($29 \pm 33\%$) y *Chaetoceros* spp. ($20 \pm 24\%$), para las estaciones ubicadas en la regi3n de Los Lagos (Bah1a Mansa, Estaquilla, Playa Brava, Carelmapu, Faro Corona, Mar Brava, Chepu, Cucao y Caleta Zorra; **Figura 2.1.4**), se observ3 que para todo el periodo de estudio, una dominancia de las diatomeas por sobre los otros grupos, la excepci3n se registr3 durante el mes de abril de



2019 (otoño) cuando los dinoflagelados dominaron numéricamente, las especies dominantes durante el verano fueron *Pseudo-nitzschia cf. pseudodelicatissima*. ($13\pm 16\%$), *Thalassiosira spp.* ($14\pm 24\%$) y *Thalassiosira cf. minúscula* ($13\pm 24\%$) finalmente, para la estación de la región de Aysén (Canal Tuamapu; **Figura 2.1.5**), para todo el periodo de monitoreo se observó una dominancia de las diatomeas, con excepción en los meses de diciembre de 2018, marzo 2019 y marzo de 2020, donde los dinoflagelados tuvieron mayores registros de abundancias acumuladas, para el periodo de verano las especies dominantes fueron *Skeletonema spp.* ($23\pm 33\%$), *Pseudo-nitzschia cf. australis* ($8\pm 16\%$), *Thalassiosira spp.* ($8\pm 12\%$) y *Pseudo-nitzschia cf. pseudodelicatissima* ($7\pm 9\%$).

2.- Variación estacional de las condiciones oceanográficas

A partir de los resultados descritos en la sección anterior, donde se señala que, las máximas abundancias celulares del fitoplancton estuvieron asociadas al periodo de verano, en esta sección se evaluaron las características oceanográficas durante este periodo y su relación con los incrementos en la clorofila *a*. Como forma de conocer la variabilidad de la clorofila *a*, se utilizaron los promedios estacionales de los datos satelitales correspondiente al año 2018 (**Figura 2.1.6**). A partir de esta información, se confirma lo observado con la abundancia del fitoplancton, donde los mayores concentraciones de clorofila *a* estuvieron asociadas al periodo de verano, este análisis también mostró que espacialmente los sectores con mayores concentraciones estuvieron asociados a las estaciones del Biobío (Coliumo, Colcura, Tubul y Llico), estaciones al norte de Niebla en las regiones de la Araucanía y Los Ríos (Niebla, Mehuín, Queule, Puerto Saavedra y Nehuentué) y las estaciones a la salida del canal de Chacao e la región de Los Lagos (Mar brava, Faro Corona, Carelmapu, Playa Brava y Estaquilla). Para evaluar cada uno de estos sectores, se utilizaron datos de vientos (intensidad y dirección) para calcular índices de afloramiento, además de datos de temperatura, salinidad y fluorescencia en una profundidad de cinco metros y se graficaron las series de tiempo para una de las estaciones de cada sector donde se registró un alto valor promedio de la clorofila *a* satelital. De esta forma, para las estaciones de Coliumo a 4, 5 y 10 millas náuticas, ubicadas en la región del Biobío (**Figura 2.1.7**), se obtuvo que el índice de afloramiento mostró una clara señal estacional con valores positivos desde la primavera hasta el verano, donde la temperatura y salinidad de las tres estaciones registraron tendencias y valores similares, mientras que los mayores incrementos de la fluorescencia estuvieron asociados a los meses de enero de 2019, febrero de 2020 y agosto a octubre de 2020. Se observó que estos incrementos en la fluorescencia estuvieron antecidos por una disminución importante (> 2 PSU) en la salinidad de la columna de agua y coinciden con un repunte en la salinidad hasta valores cercanos a 34 PSU. Las estaciones que presentaron mayores fluorescencias fueron las ubicadas a 5 y 10 millas de la costa. Para las estaciones ubicadas en la región de la Araucanía (**Figura 2.1.8**) se evaluaron las estaciones de Nehuentué a 2, 5 y 10 millas náuticas de la costa. Para estas estaciones los datos de índice de afloramiento son menores a los registrados en la región del Biobío y no se observa un patrón estacional claro. Sin embargo, los mayores valores de fluorescencia se registraron en febrero y marzo de 2019, cuando se registraron valores bajos de temperatura (~ 11 °C) y salinidades cercanas a los 35 PSU. Para la región de los Lagos y las estaciones de Estaquilla a 2, 5 y 10 millas (**Figura 2.1.9**), se observó que el índice de afloramiento no mostró un patrón estacional claro, alternando entre valores positivos y negativos. Mientras que, las mayores fluorescencias fueron registradas durante febrero de 2019, cuando la temperatura de la



columna de agua fue cercana a 13°C y con una salinidad de 33 PSU. A partir de este análisis, se podría inferir que, los valores de fluorescencia tienen un marcado patrón estacional con registros máximos durante primavera verano, en particular durante el mes febrero. El marcado patrón estacional del índice de afloramiento puede ser el responsable de los máximos valores registrados en la región del Biobío donde los procesos de surgencia costera están bien documentados y son responsables de la disponibilidad de nutrientes en la columna de agua ([Anabalón et al., 2007](#)), los cuáles generan los incrementos observados en las concentraciones de clorofila. La surgencia costera favorece la presencia del agua ecuatorial susuperficial (AESS) que además, es baja en temperatura, oxígeno y alta salinidad ([Silva N, et al., 2009](#)). La expresión superficial del AESS es una clara señal de la ocurrencia de eventos de surgencia mediados por forzantes atmosféricos, donde, vientos paralelos a la costa hacia el Ecuador y Transporte de Ekman costa afuera promueven el ascenso de esta masa de agua rica en nutrientes dentro de la capa eufótica favoreciendo los incrementos de clorofila_a (i.e. floraciones de fitoplancton) en la costa continental de Chile durante los periodos de primavera y verano. Sin embargo, los procesos que sostienen las altas concentraciones de clorofila en las regiones de la Araucanía – Los Ríos y Los Lagos, no están completamente claros y podrían estar asociados a aportes de nutrientes desde los distintos ríos y canales y su aporte al sistema marino costero.

Como forma de explorar la estructura vertical de la columna de agua durante los periodos de la máxima concentración de clorofila_a, se graficaron las secciones de temperatura (°C), salinidad (PSU), oxígeno (mL/L) y fluorescencia (mg/m³) para cada una de las estaciones de monitoreo, ordenadas latitudinalmente, durante los meses de febrero de 2018, 2019 y 2020 (**Figuras 2.1.10, 2.1.11 y 2.1.12**). Para la región del Biobío (~36° - 38,48°S) se observó que la temperatura presentó valores superficiales altos (>16°C) durante el febrero de 2019, mientras que, durante los años 2018 y 2020 los valores superficiales se mantuvieron cercanos a 14°C. La salinidad se mantuvo alta, cercana a los 35 PSU, en todas las estaciones de muestreo y para cada uno de los años de estudio. Los valores de oxígeno fueron altos en superficie (> 6 mL/L) durante febrero de 2019, sin embargo, esta concentración disminuyó a valores <2 mL/L bajo los 30 metros de profundidad. Por su parte la fluorescencia, mostró un desarrollo superficial con valores cercanos a los 10 mg/m³. Para esta región y durante los meses de febrero de 2018, 2019 y 2020, se pudo observar la presencia del Agua Ecuatorial Subsuperficial (AESS) en superficie, asociada a los mayores registros de fluorescencia de todo el periodo estudiado. El AESS, es una masa de agua que se caracteriza por presentar valores de Temperatura entre 8° y 12°C, Salinidades >34.4, concentraciones de Oxígeno <2 mL/L y un alto contenido de nutrientes ([Silva et al., 2009](#)). Para las regiones de la Araucanía (~38,48° - 39,38°S) y los Ríos (~39,38° - 40,19°S), se observaron temperaturas bajas (<12°C), especialmente durante febrero de 2019 además, se observó una columna de agua bien mezclada, con salinidades superiores a 34 PSU, valores de oxígeno por sobre 4 mL/L que estuvieron asociados a un máximo subsuperficial de clorofila_a con valores >10 mg/m³ a 25 metros de profundidad. Durante los meses de febrero de 2018 y 2020, se registraron valores mayores de temperatura por sobre 14°C, salinidades menores a 33 PSU, con altos contenidos de oxígeno (>6 mL/L) y bajos valores de fluorescencia (~5 mg/m³), estos valores no parecen estar asociados a AESS, lo más probable es que



estos valores esten siendo influenciados por lo que ocurre en la región de Los Ríos y el aporte de aguas continentales al sistema costero. A diferencia de los valores registrados durante el 2019, los cuales si se acercan a los valores característicos de las AESS, esto indicaría que podría existir una variabilidad interanual en la distribución de esta masa de agua hasta la zona de los 41°S. Durante febrero de 2020, se observó alta fluorescencia ($>15 \text{ mg/m}^3$) en el sector de Quele; este incremento puede haber sido favorecido por el ingreso de nitrato y fosfato desde el océano, y de silicato desde la descarga del río en la localidad de Niebla. Para la región de Los Lagos ($\sim 40,19^\circ - 43,71^\circ\text{S}$), se observó un incremento de la fluorescencia en las zonas adyacentes al canal de Chacao, especialmente durante el año 2019 en los sectores de Estaquilla y Cucao, con valores $>15 \text{ mg/m}^3$ y $>10 \text{ mg/m}^3$, altos valores de oxígeno ($>8 \text{ mL/L}$), baja salinidad ($<32 \text{ PSU}$) y temperaturas cercanas a 14°C . Sin embargo, en la zona del canal de Chacao, se registró una columna de agua bien mezclada con temperaturas más bajas y salinidades mayores a las descritas para las zonas adyacentes, lo que se ha propuesto, es que el canal de Chacao sería una zona de transición latitudinal, influyendo sobre las propiedades de la columna de agua hacia el norte de Carelmapu y hacia el sur de Faro Corona.

Las condiciones particulares del canal Chacao podrían estar asociadas a remolinos de submesoescala, los cuales son considerados como mecanismos físicos asociados a incrementos de fitoplancton ya que pueden estar asociados al transporte horizontal de propiedades físico-químicas del agua de mar y en el transporte vertical de nutrientes (McGillicuddy et al., 1998; Chelton et al., 2007; Sangrà et al., 2009; Morales et al., 2012).

3.- Variación espacial del ensamble de fitoplancton en las distintas estaciones de muestreo

Como forma de continuar con el análisis de los periodos donde se encontraron las máximas concentraciones de clorofila_a, en esta sección se evaluaron los ensambles fitoplanctónicos para cada estación de monitoreo durante el mes de febrero de los años 2018, 2019 y 2020.

La **Figura 2.1.13** muestra la composición fitoplanctónica para cada una de las estaciones de muestreo durante febrero de 2018. Para esta gráfica se utilizaron las 20 especies que en conjunto contribuyen con más del 90% de la composición fitoplanctónica total. Se observó que, en términos de especies y abundancias celulares hay una clara diferencia latitudinal, donde las estaciones de la región del Biobío presentan una menor densidad y mayor composición de especies que las estaciones de las regiones de La Araucanía y Los Ríos, donde la dominancia es casi exclusiva de *Skeletonema* spp. que presentó los máximos densidades ($\sim 1,4 \times 10^7 \text{ Cél/L}$) asociada a las estación de Niebla a 5 millas náuticas. Esta composición y abundancia cambia drásticamente en las estaciones ubicadas en Río Bueno y Bahía Mansa, donde la densidad y número de especies es baja, marcando una diferencia regional con las estaciones de la región de los Lagos, donde las densidades y el número de especies aumentan, en este periodo se observó las floraciones de *A. catenella* y de las especies de la familia *Kareniaceae* en las estaciones de Cucao y en la mayor parte de las estaciones

de la región de Los Lagos, respectivamente. La ordenación del fitoplancton total se llevó a cabo por medio de un escalamiento no dimensional (nMDS), el análisis de nMDS mostró los resultados de la clasificación disponiendo las estaciones en sus grupos con un coeficiente de estrés de Kruskal de 0,18 (**Figura 2.1.14**). Los grupos de estaciones fueron ubicados de derecha a izquierda, donde la similitud de las estaciones están determinadas por la composición fitoplanctónica y la densidad celular de las especies que la componen. De acuerdo a esta distribución y de la similitud en la composición del fitoplancton, podemos indicar que existen patrones regionales que determinan la formación de estos grupos. Uno de ellos, es el que se genera a partir de la composición del fitoplancton en la región del Biobío, el cual mostró una mayor distancia con las estaciones de la región de los Lagos y más similar a las estaciones de la región de los Ríos, excepto por las estaciones asociadas a Río Bueno que mostraron mayor distancia, algo que queda claro al observar la composición de especies y abundancias de la **Figura 2.1.14**. En las estaciones de la región de los Lagos, llama la atención la separación entre un grupo estaciones ubicadas en las cercanías del canal de Chacao, con respecto a las que están más alejadas de este canal como Caleta Zorra, Cucao, Chepu hacia el sur del canal y Bahía Mansa, hacia el norte. Durante febrero de 2019 (**Figura 2.1.15**), se observaron densidades menores a las registradas durante el 2018, con composiciones fitoplanctónicas similares entre las estaciones de cada región y con una menor distancia entre los ensambles regionales; el análisis de nMDS mostró los resultados de la clasificación disponiendo las estaciones en sus grupos con un coeficiente de estrés de Kruskal de 0,12 (**Figura 2.1.16**) y aunque se matuvieron los ensambles regionales, estos fueron más similares. Nuevamente se pudo observar que las estaciones de Río Bueno y Niebla se alejan del ensamble de la región de los Ríos. Durante febrero de 2020 (**Figura 2.1.17**), se observaron claras diferencias latitudinales, tanto en la composición de las especies dominantes e cada región, como en las abundancias celulares, en este análisis destaca la importante floración en la región de los Lagos de las diatomeas *Chaetoceros radicans* en la estación de Faro Corona 5 millas náuticas y de *Pseudo-nitzschia cf. pseudodelicatissima* en las estaciones ubicadas entre Carelmapu y Cucao. Hacia el norte de la estación de Carelmapu y hasta las estaciones ubicadas en Niebla las densidades disminuyen significativamente. El análisis de nMDS realizado para este mes de febrero de 2020, arrojó un coeficiente de estrés de Kruskal de 0,16 (**Figura 2.1.18**), con un resultado similar a lo descrito para los meses anteriores, esto es, se mantuvieron los ensambles regionales, especialmente el asociado a las estaciones del Biobío, mientras que, las estaciones de las otras regiones mostraron una mayor dispersión en especial en la región de los Lagos que segrega dos grupos de estaciones de acuerdo a la composición fitoplanctónica, la que incorpora a las estaciones al sur y al norte de Carelmapu. Las estaciones al norte de Carelmapu influyeron a las estaciones de Río Bueno que son parte de la región de Los Ríos.

4.- Relación entre la composición del fitoplancton total y las variables ambientales:

Tanto la variabilidad regional en la composición del fitoplancton como la variabilidad ambiental fue evaluada a partir de un análisis de canónico de componentes principales (CAP) (**Figuras 2.1.19 y 2.1.20**). Este análisis reveló claras diferencias entre las estaciones de muestreo, donde las variables que más contribuyeron a la



segregación a lo largo del primer eje (CAP1) fueron la salinidad (-0,65) y la concentración de nitrato (-0,61), variables que estarían relacionadas con las estaciones del Biobío, la Araucanía y Los Ríos, mientras que, en el segundo eje (CAP2) la variable que más contribuyó a la segregación de las estaciones fue la temperatura (0,61). Para la abundancia celular del fitoplancton, las especies que más contribuyeron al primer eje (CAP1) fueron *Navícula* (0,83) y *Skeletonema spp.* (0,71) y para el segundo eje (CAP2) fueron *Asterionellopsis glacialis* (0,76) y *Eucampia zodiacus* (0,68). Estas especies estarían principalmente relacionadas con las estaciones ubicadas en la región de los Lagos. El procedimiento BEST mostró que cuatro variables ambientales, entre ellas, salinidad, dirección e intensidad del viento y fósforo son las variables que mejor explican la ordenación de la composición del fitoplancton total, presentando la mejor correlación entre las dos configuraciones. Este análisis mostró relaciones significativas ($p < 0,01$) entre las variables biológicas y las variables ambientales con un valor alto de correlación de Spearman $\rho_s = 0,70$.

En general podemos indicar que, a partir del análisis de los periodos de mayor concentración de clorofila *a*, se observó que la composición fitoplanctónica presentó una clara variabilidad espacial, donde las diferencias en la abundancia celular y composición determinaron una segregación de las estaciones del Biobío con el resto de las estaciones de las otras regiones. El análisis de las variables ambientales relaciona esta variabilidad del fitoplancton con eventos de surgencia donde la salinidad, intensidad y dirección de los vientos y fósforos determinan la composición fitoplanctónica para la región del Biobío, mientras que son los aportes de nutrientes como el silicato y el nitrato desde los ríos, especialmente el río Valdivia, las variables que determinan las diferencias de la composición fitoplanctónica en la región de Los Ríos, donde además se registraron las más intensas floraciones de *Skeletonema spp.* asociada a la estación de Niebla. Una tercera fuente de variación lo constituiría el canal de Chacao en la región de Los Lagos; anteriormente hemos señalado que, la presencia de remolinos de submesoescala podrían promover la mezcla de la columna de agua y la incorporación de los nutrientes en las capas superficiales, lo que se observó en la salida hacia el Pacífico de este canal, proceso que beneficiaría la dominancia de las diatomeas por sobre los otros grupos del fitoplancton. Además, el canal de Chacao, podría determinar composiciones fitoplanctónicas diferentes, una hacia el sur y otra distinta hacia el norte del canal. El efecto del canal de Chacao sobre la composición fitoplanctónica dependerá de factores que deben ser evaluados, como dominancia de vientos (dirección e intensidad), mareas dominantes, los cuáles jugaran un rol distintos dependiendo del periodo del año en que se evalúen. En este sentido la pregunta a contestar es ¿Qué diferencian las floraciones del *Alexandrium catenella* durante los años 2016 y 2018?. En el primero de los casos la floración de *A. catenella* entró por el canal de Chacao hasta el mar interior de Chiloé generando un importante impacto en los sectores cercanos al canal. Sin embargo, durante el año 2018, la floración, que fue muy importante en el sector de Cucao, no entró por el canal limitando su distribución hasta la estación de playa Brava. Será parte del objetivo de trabajo de la nueva etapa, continuar con la evaluación de los procesos que determinan concentraciones de clorofila *a* altas y composiciones fitoplanctónicas distintas entre las regiones de estudio. De esta variabilidad



en la composición fitoplanctónica dependerá la dinámica de las especies formadoras de floraciones algales nocivas en el sistema costero del Pacífico.

6.2.2 Actividad 2: Exploración de imágenes satelitales

La batimetría del área de estudio es mostrada en la **Figura 2.2.1**. Entre 36° - 41° S, se observa una plataforma estrecha, con profundidades <200 m con extensión menor a 100 km desde la línea de costa. En la región del BíoBío ($\sim 37^{\circ}$ S) destaca la Bahía de Concepción con profundidades <60 -70 m. Entre $\sim 38^{\circ}$ S y 40° S (Sur del Bío-Bío - Los Ríos), se observa una estructura geomorfológica costera cóncava con profundidades <50 m que se extiende entre la isla Mocha y la desembocadura del río Niebla. Entre 41° - 45° S, el mar interior de Chiloé 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 mar interior de Chiloé 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 o 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 2017 y junio 2019 (2.5 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 2.2.2**, y los campos promedio por año, son mostrados en la **Figura 2.2.3**. En términos generales, para todos los años se observa una clara concordancia entre la distribución de los campos de clo-a y la batimetría <50 m de profundidad (**Figura 2.2.4**). Igualmente, se puede observar un “quiebre” geográfico de los campos de clo-a en $\sim 38^{\circ}$ S concordante con la batimetría del sector.

El promedio estacional para cada año de estudio es presentado en la **Figuras 2.2.4, 2.2.5 y 2.2.6**. Para todos los años el ciclo anual es marcado con mayores valores en primavera – verano, y menores en otoño – invierno. En términos espaciales, se observa un gradiente latitudinal de las concentraciones de clo-a que disminuyen desde la región del BíoBío hacia Aysén. También, se observa una “pluma” noroeste en la región de La Araucanía - Los Ríos. Esta estructura también ha sido observada para otras variables (clo-a, salinidad, oxígeno), en los datos in situ obtenidos desde el monitoreo. Durante otoño 2017 y 2018, también es posible observar leves focos de clo-a en la región oceánica, concordante con la presencia de remolinos de mesoescala frente a la región de Los Ríos y el BíoBío, respectivamente.



Para determinar si la “pluma” de clo-a observada en los campos estacionales entre La Araucanía - Los Ríos, es una estructura recurrente, se amplió la base de datos hasta el año 2006, y se graficó su climatología (**Figura 2.2.7**). En términos climatológicos, durante los años 2006 a 2019, la “pluma” de clo-a se observa durante los meses de enero a mayo, y de agosto a diciembre, es decir la estructura es casi-permanente a lo largo del año, siendo más intensa en primavera-verano. Los resultados indican que la generación de la “pluma” de clo-a está fuertemente mediada por la batimetría de la zona.

6.2.3 Actividad 3: Estudio comparativo entre tipos de quistes y células planctónicas de dinoflagelados

En la **Tabla 2.3.1**, se presenta el listado de dinoflagelados observados en la columna de agua (células planctónica) durante los 12 cruceros de investigación y en los sedimentos (quistes de resistencia) durante dos cruceros (campanías de invierno: agosto-septiembre; campaña de primavera-verano: diciembre y enero). De acuerdo a los resultados de abundancia relativa de dinoflagelados planctónicos, un total de 114 especies fueron identificadas. Por su parte, el número de quistes de dinoflagelados registrados en los sedimentos correspondió a 61. Los morfotipos de quistes no identificados (10 morfotipos) no se consideraron en el listado debido a que su fase móvil es desconocida. Similar situación ocurrió con las especies de quistes *Echinidinium aculeatum*, *Spiniferites cf. hypacanthus* y *Dubridinium ulsterum* de los cuales no se conoce su fase móvil (Mertens et al., 2019). Los morfotipos de quistes del género *Protoperidinium* que están registrados como *Protoperidinium* sp. 3, *Protoperidinium* sp. 4, *Protoperidinium* sp. 5, *Protoperidinium* sp. 6, *Protoperidinium* sp. 8 y *Protoperidinium* spp. se consideraron en el listado como *Protoperidinium* spp. Las especies de quistes *Nematosphaeropsis labyrinthus* y *Spiniferites mirabilis* se consideraron en el listado como *Gonyaulax spinifera* dado que ambos morfotipos son considerados como quistes bentónicos de esta especie (Rochón et al. 2009).

De acuerdo al listado total de especies de dinoflagelados (**Tabla 2.3.1**) compuesto por 134 especies, 20 de ellas (14,9%) fueron identificadas mediante quistes (fase bentónica) pero no como células planctónicas. Estas especies correspondieron a: *Archaeoperidinium minutum*, *Archaeoperidinium constrictum*, *Diplopsalopsis ovata*, *Enciculifera carinata*, *Gymnodinium aureolum*, *Gyrodinium undulans*, *Niea acanthocysta*, *Pentapharsodinium dalei*, *Polykrikos kofoidii*, *Polykrikos schwartzii*, *Polykrikos* sp., *Prorocentrum cf. tsawwassenense*, *Protoperidinium americanum*, *Protoperidinium avellana*, *Protoperidinium nudum*, *Protoperidinium sinuosum*, *Protoperidinium subinermis*, *Scrippsiella patagonica*, *Scrippsiella precaria*, y *Scrippsiella lachrymosa*.

Por otro lado, 18 especies (13,4%) fueron identificadas mediante quistes y como células planctónicas. Estas especies fueron: *Alexandrium catenella*, *Alexandrium ostenfeldii*, *Gonyaulax spinifera*, *Gonyaulax* spp., *Lingulodinium polyedra*, *Preperidinium meunieri*, *Protoceratium reticulatum*, *Protoperidinium claudicans*, *Protoperidinium conicum*, *Protoperidinium denticulatum*, *Protoperidinium excentricum*, *Protoperidinium*



pentagonum, *Protoperidinium conicoides*, *Protoperidinium leonis*, *Protoperidinium oblongum*, *Protoperidinium thorianum*, *Protoperidinium* spp., y *Scrippsiella trochoidea*.

Adicionalmente, en esta actividad se estudió la diversidad y abundancia de quistes en 23 muestras provenientes de un testigo de sedimento de 23 cm de longitud de la estación Caleta Zorra 10 millas (**Tabla 2.3.2**). En las muestras analizadas se registró un total de 37 morfotipos distintos, entre los cuales destaca la presencia de quistes de las especies productoras de toxinas *Alexandrium catenella* y *Protoceratium reticulatum* (**Fig. 1.4.1A y D**). La abundancia total de quistes por profundidad (secciones) a lo largo del testigo de sedimento varió entre 21 y 326 quistes $\times$ cm⁻³ sh (promedio y DS: 73 $\pm$ 63 quistes $\times$ cm⁻³ sh), siendo registrado el valor mínimo en la sección 9-10 cm y el máximo en la sección 17-18 cm (**Fig. 2.3.1**).

De acuerdo a la abundancia total por especie, el tipo de quiste más abundante del testigo correspondió a la especie *A. catenella* (507 quistes), seguido por *Preperidinium meunieri* (327 quistes) (ver columna Total en **Tabla 2.3.2**). En la **Figura 2.3.2** se presenta la abundancia total y la abundancia acumulada porcentual de las 13 especies más abundantes del estudio, las cuales en conjunto representaron el 80% de la densidad total. Entre estas especies destacan en orden decreciente *A. catenella*, *Preperidinium meunieri*, *Archaeoperidinium minutum*, *Protoperidinium avellana*, *Scrippsiella patagonica*, *Protoperidinium leonis*, *Polykrikos schwartzii*, *Protoperidinium americanum*, *Protoperidinium conicum*, *Archaeoperidinium constrictum*, quiste No identificado 34, *Protoperidinium excentricum*, y *Protoperidinium subinermis*.

Especies nocivas

Los quistes de *A. catenella* fueron registrados en 22 (95,6%) de las 23 muestras analizadas del testigo (**Fig. 2.3.2**), y sus abundancias variaron entre 0 y 199 quistes $\times$ cm⁻³ sh, con nula presencia de quistes en la sección 9-10 cm y con un valor máximo en la sección 17-18 cm (**Fig. 2.3.1**). En esta ocasión, a diferencia de los resultados presentados para el resto del área de estudio en muestras de sedimento superficial, se evidenció la clara presencia de quistes vacíos (germinados) de *A. catenella* (**Fig. 1.4.1B**) los cuales fueron contabilizados. En variadas profundidades el número de quistes vacíos superó al de quistes con protoplasma en su interior (quiste lleno) (**Fig. 2.3.2**).

En el caso de *P. reticulatum*, sus quistes tuvieron menos frecuencia de aparición y fueron menos abundantes. Los quistes de *P. reticulatum* fueron registrados en 12 (52,1%) de 23 muestras, y su valor de abundancia máximo fue 4 quistes $\times$ cm⁻³ sh (**Fig. 2.3.1**). Un hecho importante fue la presencia de quistes vacíos (germinados) de *A. catenella* (**Fig. 1.4.1B**) en 16 (69,5%) de las 23 muestras analizadas, incluso en 10 secciones siendo más abundante que los quistes llenos (con protoplasma) (**Fig. 2.3.3**).

Varios estudios de quistes de dinoflagelados registrados en muestras de sedimento han revelado la presencia de especies de dinoflagelados que no han sido registrados anteriormente en el mismo sector mediante su estado planctónico (Dale, 1976; Ellegaard et al., 1994; Nehring, 1997; Montresor et al., 1998;



Persson et al., 2000; Orlova et al., 2004), tal como ha quedado de manifiesto en este estudio. De acuerdo a Dale (1983), para obtener la mejor información sobre la composición de especies de un área determinada, es necesario estudiar las muestras de plancton y de sedimento, dado que esa estrategia de muestreo permite reconocer el estado móvil y el estado bentónico de las especies. El 14,9% (20 de 134 especies) de los dinoflagelados identificados en el área de estudio solo fue posible identificarlos mediante sedimentos. Aunque parezca un número bajo hay que considerar que de todos los dinoflagelados, las especies formadoras de quistes sólo representan alrededor del 10% (Dale 1983), por lo cual los resultados actuales pueden considerarse exitosos ya que el número de especies identificadas en el plancton durante esta etapa fue 114 especies.

Algunas especies identificadas sólo mediante quistes tuvieron abundancias altas. Este es el caso de, por ejemplo, de *Scrippsiella precaria*, *Protoperidinium americanum*, *P. avellana*, y *Archaeoperidinium minutum*. Para el caso de *S. precaria*, a pesar de que su fase bentónica es relativamente fácil de identificar —quiste con cuerpo redondo a ovoide cubierto con numerosos procesos calcáreos en forma de espinas (Kim et al., 2021)—, la célula móvil es difícil de identificar en análisis rutinarios de fitoplancton, misma situación para otras tres especies peridinales que solo se identificaron mediante quistes: *S. patagonica*, *S. lachrymosa* y *Pentapharsodinium dalei*. La dificultad en reconocer certeramente su identidad se debe muy probablemente a que estas especies tienen un pequeño tamaño, además que su morfología es muy similar entre ellas —como también a otras especies del género *Scrippsiella*—, lo cual hace necesario un tratamiento especial para visualizar el patrón de placas tecaes (Lewis, 1991). Esto además consume mucho tiempo por lo cual es complicado llevar a cabo en programas de monitoreo no siendo además el objetivo fundamental. Por lo tanto, es muy probable que los estados móviles de estas tres especies están siendo agrupados como *Scrippsiella* spp.

Para los *Protoperidinium* varios trabajos han reportado que la alta abundancia de quistes de especies heterótrofas, tales como *Protoperidinium americanum*, *P. avellana*, y *Archaeoperidinium minutum*, está asociada a áreas con alta concentración de nutrientes y alta abundancia de productores primarios como diatomeas (Dale, 1996) lo cual es confirmado en las estaciones de la región del Biobío, siendo esta área donde se produce una alta productividad por la surgencia costera (Daneri et al., 2000). Verleye & Lowye (2010) mencionan además que *P. americanum* domina junto con otras especies heterótrofas los ensambles de quistes registrados en la zona de surgencia frente a Concepción. Por lo tanto, considerando estos antecedentes, la ausencia de las fases móviles de estas especies (*P. americanum*, *P. avellana*, y *A. minutum*) en el listado de especies de dinoflagelados planctónico se debe a que no han sido identificadas en estudios previos de fitoplancton en Chile (Alves de Souza et al., 2008) y por lo tanto se desconoce su morfología.

Los resultados mostraron la presencia de quistes de *A. catenella* a lo largo del testigo de sedimento (en 22 de 23 muestras) obtenido en la plataforma continental, particularmente en caleta Zorra 10 millas, indicando

que el área presenta características adecuadas tanto para la acumulación de quistes de la especie como también para su germinación. Hay que mencionar que la textura del sedimento no fue predominantemente fino tipo limo o arcilla, sino más bien arenas medias (datos no mostrados), lo que indicaría que el número de quiste podría ser mayor bajo condiciones óptimas de sedimento (limo-arcilla) ya que existe una clara relación positiva entre abundancia y presencia de sedimentos finos (Rodríguez-Villegas et al., 2021). Los valores de abundancia fueron generalmente bajos ($1-12$ quistes $\times$ cm^{-3} sh), y más aún si sólo se consideran los quistes con protoplasma en su interior (Quiste lleno en **Figura 2.3.2**), sin embargo, existen algunos máximos claros que sugieren que en el pasado hubo incrementos celulares en la columna de agua o un claro evento de floración, como por ejemplo el registrado en la profundidad 17-18 cm (299 quistes $\times$ cm^{-3} sh). La presencia de quistes vacíos es relevante porque sugiere que poblaciones móviles del área podrían estar siendo soportadas por poblaciones de quistes, siendo este un mecanismo ya reportado para los dinoflagelados (Dale, 1983; Brosnahan et al., 2017).

Registros de quistes de *A. catenella* en la plataforma continental del sur de Chile son casi inexistentes, a excepción de lo reportado en el reciente trabajo de Rodríguez-Villegas (2021) donde se informan abundancia de 16 quistes $\times$ cm^{-3} sh. frente a Chiloé (Los Lagos) y de 32 , 22 y 14 quistes $\times$ cm^{-3} sh en estaciones de la plataforma frente a Aysén. En el sistema de fiordos del sur de Chile los valores de abundancia de quistes de la especie en sedimentos superficiales también han sido generalmente bajos (ver Lembeye & Sfeir, 1999; Seguel & Sfeir, 2004; Seguel et al., 2005; Lembeye, 2004). Una excepción lo constituyen los registros realizados en Seno Medio y Seno Canalad en Aysén luego de la floración del 2009 donde se registraron valores excepcionalmente altos (14627 y 2729 $\times$ quistes cm^{-3} sh, respectivamente) (Guzmán et al., 2011; Mardones et al., 2016). Antes de esos valores extraordinarios, los máximos habían sido $221,3$ quistes en Bahía Tic Toc en Los Lagos (Seguel & Sfeir 2010) y de 269 $\times$ quistes cm^{-3} sh un testigo obtenido en bahía de Quellón (profundidad: 36-37 cm; ver Salgado et al., 2011). Todo esto indicaría que el valor máximo registrado en la profundidad 17-18 cm se encuentra dentro de un rango válido para abundancias de la región.

Por otro lado, el registro de quistes de *A. catenella* a una profundidad de 23 cm indicaría que los quistes debieron sedimentar hace varios años atrás. Siendo conservador, y sabiendo que son ambientes distintos, si consideramos sólo como referencia la geocronología del sector sur de Chiloé (Tasa de sedimentación de $\sim 0,5$ cm año^{-1} , Salgado et al., 2011), -dado que a nuestro entender no existen datos de tasas de sedimentación para la zona de plataforma de Los Lagos- los sedimentos más profundos (más antiguos) del testigo de caleta zorra podrían tener una edad de 46 años, ocurriendo su depositación alrededor de 1974. Sin embargo, se necesitan estudios que determinen esto y puedan dar cuenta de la tasa de sedimentación del área para determinar la edad aproximada de los sedimentos.

El hallazgo de quistes de *A. catenella* en una columna sedimentaria genera algunas interrogantes que deben ser respondidas. Por ejemplo, ¿estos quistes son formados en la misma área de sedimentación? o ¿son



éstos quistes advectados desde el sistema de fiordos hacia la plataforma continental mediante corrientes? [Mardones et al. \(2016\)](#) mencionan que procesos de circulación de aguas de fondo en la plataforma podrían resuspender los quistes y ser transportados hacia la zona de fiordos. Por otro lado, [Rodríguez-Villegas et al. \(2021\)](#) mencionan que la presencia de quistes en áreas oceánicas es probablemente el resultado de un transporte de larga distancia desde el interior de fiordos y canales. Sin embargo, cualquiera sea el proceso, es importante ver que los resultados aquí presentados son otra evidencia que *A. catenella* ha estado presente en el área desde tiempo anteriores a sus primeros registros. En el sur de la isla de Chiloé, en la localidad de Quellón, [Salgado \(2011\)](#) mostró la presencia de quistes de *A. catenella* en columnas de sedimento de hasta 40 cm de longitud, correspondientes según la geocronología del sector al año ca. 1929. La interrogante surge a partir de que sólo en 1998 se reporta por primera vez la presencia de *A. catenella* en la columna de agua en el mar interior de Chiloé ([Lembeye et al., 1998](#)), ocurriendo en 2002 la primera floración de la especie en el sector ([García et al., 2004](#); [Lembeye 2006](#)). Para la región de Aysén los primeros registros de la especie datan desde 1992 ([Muñoz et al., 1992](#); [Uribe et al., 1995](#)) estando de forma continua desde 1994 en sus aguas.

6.2.3 Actividad 3: Distribución y variabilidad de Nutrientes

Las concentraciones promedio de nitrito se mantuvieron bajas ($< 0.26 \mu\text{M}$) para los primeros tres cruceros del año, durante los meses de enero, febrero y marzo de 2020, donde las concentraciones altas se registraron en la región del Biobío durante el mes de febrero con una concentración máxima de $0.65 \mu\text{M}$, desviación estándar de 0.17 y un promedio de $0.25 \mu\text{M}$, durante marzo esta condición se mantiene homogéneamente, con un promedio de $0.26 \mu\text{M}$ y una desviación estándar de 0.05 . A diferencia del ion de nitrato que registró altas concentraciones durante los primeros meses de verano ($>19.82 \mu\text{M}$) en la región de Los Ríos, disminuyendo en el cambio de estación. El aumento se observa en los meses de otoño-invierno de ambos iones del nitrógeno, nitrito presentó altas concentraciones en los meses de invierno en la región de Los Ríos, en los transectos de Niebla y Chaihuin, con un promedio de $0.99 \mu\text{M}$, y nitrato presentó sus mayores concentraciones en el área sur del muestreo con una máxima de $73.24 \mu\text{M}$, debido a una columna de agua más oxigenada por un cambio estacional en la estructura de la columna de agua.

Para los meses de primavera-verano, ambas especies registraron concentraciones promedias entre los $18 \mu\text{M}$ a $39.99 \mu\text{M}$ durante estos meses, presentándose a lo largo de la costa, con focos de altas concentraciones en Biobío y Los Ríos, durante este periodo se observa una homogeneidad en superficie producto de la surgencia que ocurre en el borde costero, removiendo los nutrientes del fondo hacia superficie. La distribución espacial de las concentraciones de fosfato durante los meses de febrero a abril, fueron altas en la región del Biobío ($>3.45 \mu\text{M}$), disminuyendo hacia el sur del área de muestreo, esta disminución se presenta también para los meses de invierno en toda la costa desde Biobío a Los Lagos ($<1.43 \mu\text{M}$). El



aumento de las concentraciones de fosfato se presenta más marcado a lo largo de la costa durante los meses de primavera y finales del 2020.

Durante los primeros cruceros muestreados en los meses de verano, las concentraciones de sílice son bajas (<21 uM) debido a la disminución de provenientes de ríos y lluvias hacia el océano. Las mayores concentraciones de silicatos se presentaron principalmente en la región del Biobío, durante los cruceros 5 y 6 con un promedio de 40 uM y una máxima de 77.85 uM en la región de Biobío, presentando una fuerte disminución hacia el sur del área de muestreo. En los meses de invierno la distribución de sílice se mantiene en el borde costero desde Biobío a Los Ríos. Esta diferencia estacional en la capa superficial, se manifiesta por el consumo de nutrientes por parte del fitoplancton durante la primavera y verano. La distribución de los silicatos en la columna de agua, es descendente latitudinalmente de norte a sur, las mayores concentraciones se observan en el periodo de otoño- invierno en la capa superficial.

6.3 Resultados Objetivo Específico 3:

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 con el conocimiento y comprensión de los eventos nocivos.

6.3.1 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 de los 12 cruceros comprometidos en la etapa III del proyecto para las estaciones ubicadas en las 5 millas. Durante esta etapa también se testeó un marcador diseñado para la especie *Dinophysis acuminata* sin embargo su especificidad no ha podido ser determinada al cien por ciento ya que ensayos de PCR cruzada determinaron que el marcador no es específico para esta especie, pero de igual manera se testeó en las muestras antes mencionadas.

La detección mediante qPCR se detalla en las **Figuras 3.1.1, 3.1.2, 3.1.3 y 3.1.4** para las especies *Alexandrium catenella*, *Alexandrium ostenfeldii*, *Protoceratium reticulatum*, y *Dinophysis* 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* identificaron positivamente a esta especie en 97 muestras durante todo el desarrollo de la etapa III del proyecto, la cual muestra una concordancia con lo reportado mediante microscopía entre los cruceros 5 al 9 (**Figura 3.1.1**).

Para *A. ostenfeldii* los análisis de microscopía detectan a esta especie en 129 muestras durante toda la etapa, mientras que en qPCR la detección fue positiva en 97 muestras (**Figura 3.1.2**). Para esta especie la eficiencia es menor debido a al alto número de falsos positivos y negativos identificados mediante qPCR.

En *P. reticulatum* los ensayos de qPCR detectaron a esta especie en 21 muestras (**Figura 3.1.3**), las cuales en la mayoría de los casos confirman lo detectado mediante microscopía en los cruceros 2, 3, 6, 9 y 12 pero también muestran una detección en muestras donde no se identificó microscópicamente la especie como en el crucero 10 y 11.

Dinophysis acuminata es la especie que mostros mayores niveles de abundancia relativa durante todo el transcurso de esta etapa. De manera similar la detección mediante qPCR muestra señales de positivas en la detección en casi todas las muestras (**Figura 3.1.4**), sin embargo, los marcadores diseñados para esta especie resultaron no ser específicos por lo que no podemos determinar si también se identificó de manera simultánea a *Dinophysis acuta*, lo cual podría explicar que los niveles de detección sean mayores a los reportados para las otras tres especies antes mencionadas. Por el momento estos marcadores pueden ser utilizados de manera general para la identificación de especies a nivel de genero *Dinophysis*.

Metabarcoding

El número total de *reads* obtenidos en la secuenciación fue de 12.582.832. Después de los análisis bioinformáticos se detectaron un total de 3.444 ASVs los cuales fueron representados por 4.673.336 secuencias. Se logro la identificación de 406 especies para los supergrupos taxonomicos Alveolata, Amoebozoa, Apusozoa, Archaeplastida, Hacrobia, Rhizaria, Stramenopiles (**Anexo 3**). En términos de abundancia relativa, basándose en el numero de lecturas, las divisiones Orchrophyta y Dinoflagellata fueron los más abundantes para todas las estaciones de las 5 millas analizadas en este estudio (**Figura 3.1.5**), a nivel de región, Los lagos presentan los mayores niveles de abundancia comparados con las otras regiones, lo cual se debe al numero de estaciones analizadas en este estudio. Dentro de las divisiones *Orchrophyta* y *Dinflagellata* el mayor numero de especies detectadas se agrupan en las clases *Dinophyceae* y Bacillariophyta, siendo esta ultima la que muestra mayor numero de especies para todas las estaciones (**Figura 3.1.6**),

Para la clase *Dinophyceae*, las abundancias relativas de las familias de esta clase muestran patrones contrastantes, donde las estaciones ubicadas en la región del Bio-Bio, Araucania y Los Rios son dominadas



principalmente por las familias *Gymnodiniaceae* y *Gonyaulacaceae*, mientras que las estaciones ubicadas entre los Lagos y Aysén son dominadas por las familias *Ceratiaceae*, *Dinophysiaceae*, *Suessiaceae* (**Figura 3.1.7**). Las estaciones BCC5, BCL5 y MPLT2-5 muestran las abundancias más bajas. Los géneros *Gyrodinium*, *Dinophysis*, *Alexandrium*, *Prorocentrum*, *Protoperdinium*, *Lepidodinium* y *Triplos* son los que registraron mayores niveles de detección (**Figura 3.1.8**).

En cuanto a la clase *Bacillariophyta*, las abundancias relativas muestran niveles mucho mas elevados comparados con la clase *Dinophyceae*, donde se observa una marcada dominancia de la familia *Mediophyceae* en todas las estaciones muestreadas, seguido de las familias *Coscinodiscophyceae* y *Raphid-pennate* las cuales muestran niveles mas bajos en las estaciones ubicadas en la región del Bio-Bio (**Figura 3.1.9**). En cuanto a los géneros mas dominantes, destacan *Thalassiosira*, *Skeletonema*, *Chaetoceros*, *Corethron*, *Pseudo-nitzschia* y *Coscinodiscus* (**Figura 3.1.10**).

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; Ruvindy *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. La sonda *TaqMan* es un oligonucleótido monocatenario que contiene dos fluoróforos colocados a 10-30 bases de distancia (Jothikumar *et al.* 2018). Este método, además de los 2 partidores usados normalmente, agrega una sonda marcada en sus extremos 5' con un reporter y en su extremo 3' un quencher, los cuales al momento de hibridar con el ADN complementario generan fluorescencia, que al igual que en el PCR tradicional, es detectado por un sensor. La ventaja de agregar una tercera sonda es que la especificidad de la amplificación aumenta debido a que esta sonda es específica para el producto de PCR generado, usando los partidores diseñados para la especie objetivo. 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 (Ruvindy *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. 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 microscopia (Zimmermann *et al* 2015) y recientemente se ha discutido sobre la aplicabilidad al monitoreo de FAN (Sildever *et al* 2019).

La diversidad molecular del fitoplancton a lo largo de la Costa Pacífico entre las regiones del Bio-Bio y Aysén, fue descrita 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 para especies emergentes o 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 algunas 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 fitoplanctonica con potencial nocivo a lo largo de la costa chilena.

6.3.2 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 la Tabla 1.1.9 se presentan los resultados de TML y Toxinas Paralizantes en los primeros muestreos de muestras de agua. Se detectó la presencia de Ácido Domoico (DA) en la mayoría de las muestras analizadas, todas con niveles bastante bajos (desde < LC a 52,5 ng/L). La otra toxina detectada en estas muestras fue PTX2 en los cruceros 10 (Niebla) y 12 (Carelmapu y Cucao), todos los casos con niveles de < LC. Se comenzó el estudio de toxinas en muestras de agua, se obtuvieron algunos resultados positivos para algunas toxinas, pero para sacar mayores conclusiones de esta actividad hay que esperar al próximo año, cuando se cuente con una mayor cantidad de datos.

6.3.3 Actividad 3: Estudio de biotoxinas en tejidos de mariscos

Los resultados preliminares asociados a una parte del desarrollo de esta actividad son presentados en el punto 6.1.2. Actividad 2: Muestreo transvectores y detección toxinas.

6.3.4 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.

Identificación de cepas de *Alexandrium* aisladas desde la costa de la Región del Biobío.

Alexandrium catenella es la principal especie que forma floraciones algales nocivas en el sur de Chile. A través de los años ha mostrado un aparente incremento de su rango de distribución. Así, desde su primer registro en 1972 en el sur de la región de Magallanes, progresivamente se ha ido detectando su presencia hacia el norte, alcanzando el sur de Chiloé en el 2002. El 2016 se produjo una severa floración que se extendió desde el centro de la región de Aysén hasta el Mar Interior de Chiloé. Sorprendentemente, también se observó la extensión de la floración por la costa del Océano Pacífico desde el sur de Chiloé hasta aproximadamente Mehuín, localidad costera de la región de Los Ríos.

Recientemente, el monitoreo implementado por el CREAM-IFOP ha detectado la presencia de *Alexandrium* en la costa de la región del Biobío en el 2018, 2019 y 2020. Este correspondería al registro de más septentrional observado hasta el momento para *A. catenella*, considerando que su ancestral distribución en el sistema de fiordos patagónicos que abarca las regiones de Magallanes, Aysén y Los Lagos (**Figura 3.4.1**).



En esta actividad se realizó la caracterización molecular de 7 células vegetativas de *Alexandrium* aisladas desde la localidad costera de la Bahía Coliumo Región del Biobío, el 2019. Estas cepas fueron establecidas como cultivo clonal y se secuenció un segmento de la LSU rDNA. Al mismo tiempo, se secuenciaron tres cepas obtenidas desde la región de Magallanes y tres aisladas desde la Región de Aysén, correspondiente a la distribución ancestral de *A. catenella* (Figura 38). Con las secuencias obtenidas se realizó un análisis filogenético, junto a secuencias de especies del género *Alexandrium* obtenidas desde un banco de genes (GenBank).

Adicionalmente, se realizó la evaluación toxicológica utilizando 5 cepas de *A. catenella* obtenidos desde la Región del Bío-Bío el 2019, y así, verificar la presencia de toxinas paralizantes. Esto se hizo mediante un análisis HPLS-MS/MS.

El análisis filogenético reveló que las secuencias obtenidas de los aislados desde la costa del Bío-Bío se agregaron en el grupo I correspondiente al clado que agrega a la especie *A. catenella*. En ese clado además se agregaron las secuencias obtenidas de los aislados de la región de Aysén y Magallanes. El análisis bayesiano para evaluar la fiabilidad del nodo del grupo I tuvo una probabilidad de 1 (**Figura 3.4.2**).

Adicionalmente, la caracterización toxicológica reveló la presencia de análogos de saxitoxinas. La contribución de los análogos de toxinas de las cepas aisladas del Bío-Bío fue, en orden decreciente, la siguiente: C2 (21-45%), GTX4 (18-36%), GTX3 (18-25%), GTX5 (13-20%), NeoSTX (1.3-4.3%), GTX1 (<LOQ-1.4%) y GTX2 (<LOQ-0.6) (**Figura 3.4.3**). SXT fue detectada en una cepa con un valor de 0.3% (CREAN_ACP5). El contenido de toxinas por célula entre las cepas aisladas varió entre 10.5 y 48.5 fmol/cél (**Tabla 3.2.1**).

Actualmente en Chile, la detección más septentrional de un morfotipo de *A. catenella* se encuentra frente a la Región del Bío-Bío y ocurrió en agosto de 2018 con densidades celulares bajas (Abundancia relativa = 1). Esta detección se registró pocos meses después de que una severa floración de *A. catenella* en la Región de Los Lagos produjo densidades celulares superiores a una abundancia relativa de 9 ($> 174,762$ células L^{-1}), y además se observó el registro más alto informado de $143,130 \mu g$ STXeq. $100 g^{-1}$ en toxicidad del mejillón (MINSAL, Decreto 76, 2018. <http://bcn.cl/2f7gq>). Los eventos de floración de *A. catenella* de 2016 y 2018 en el sur de Chile estuvieron estrechamente relacionados con el fenómeno de El Niño en la costa sureste del Pacífico con una alta estratificación de la columna de agua y varias semanas de alta irradiancia. Ambos eventos de floración extendieron la distribución de *A. catenella* más allá de las aguas costeras del norte, lo que es una situación preocupante para las entidades gubernamentales y sanitarias chilenas bajo futuras anomalías climáticas (Trainer et al., 2019). Sin embargo, las densidades de células de *A. catenella* solo han aumentado levemente en las áreas costeras de las Regiones del Bío-Bío y Los Ríos desde 2018 (Abundancia relativa <3).



Estudios genéticos recientes con cepas de *A. catenella* aisladas de diferentes áreas del sur de Chile están arrojando luz sobre la interconectividad y taxonomía de la población. En este estudio, las cepas de *Alexandrium* aisladas de la Región del Bío-Bío en 2019 se alinearon dentro del ribotipo de *A. catenella* del Grupo I (anteriormente *A. tamarense* o *A. fundyense*. Ej. [John et al. 2014](#), [Lilly et al. 2007](#)) y mostraron la presencia de toxinas paralizantes. Además, se agregaron las cepas de *A. catenella* aislada de la Región de Aysén y Magallanes junto con las cepas del Bío-Bío. Estos resultados 1) ratifican las observaciones registradas dentro del programa de monitoreo del IFOP desde 2018 utilizando microscopía óptica en relación a la presencia de *A. catenella*, 2) confirman la homología de ribotipo constantemente detectada entre las poblaciones de *A. catenella* tanto al interior de los fiordos del sur como en áreas costeras oceánicas ([Paredes et al., 2019](#)) y, 3) alertan sobre el riesgo potencial de toxinas paralizantes en las áreas costeras de la Región del Bío-Bío.

La contribución relativa de los análogos de toxinas dentro de los aislados de *A. catenella* del Bío-Bío fue, en orden decreciente, fue la siguiente: C2 (21-45%), GTX4 (18-36%), GTX3 (18-25%), GTX5 (13-20), NeoSTX (1.3-4.3%), GTX1 (<LOQ-1.4%) y GTX2 (<LOQ-0.6). SXT solo se detectó en una cepa con valores de 0.3% (CREAN_ACP5). El contenido total de toxinas por célula entre los aislamientos de *A. catenella* del Bío-Bío osciló entre 10,5 y 48,5 fmol / célula. Estos resultados están en línea con los reportados por [Varela et al. \(2012\)](#) quien analizó catorce cepas de *A. catenella* aisladas desde la región de Magallanes hasta Los Lagos, encontrando altas concentraciones de C2, GTX3, GTX4 y NeoSTX, y trazas de STX y dcSTX (<1%). Por el contrario, [Aguilera-Belmonte et al. \(2011\)](#) reportó diferentes perfiles de toxinas en cuatro cepas de *A. catenella* aisladas de las Regiones de Los Lagos y Aysén en 2009. En ese estudio los análogos NeoSTX, GTX3 y GTX4 comprendieron más del 85% del contenido total de toxinas paralizantes. Las diferencias en los perfiles de toxinas entre las poblaciones chilenas de *A. catenella* no son resultados novedosos ya que la composición de la toxina puede variar a niveles intraespecíficos y regionales en respuesta, por ejemplo, a la variabilidad ambiental y la diferenciación geográfica de las poblaciones ([Alpermann et al., 2010](#); [Varela et al., 2012](#)).

6.4 Resultados Objetivo Específico 4:

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

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

Sistema de Información Geográfica on-line (WebMap)

Parte de la difusión on-line es por medio de un Sistema de Información Geográfica alojado en <https://ifop.maps.arcgis.com> sobre una plataforma ArcGis On-line; desde el WebMap se accede a la



aplicación [03.-Situación Marea Roja Costa-Pacífico 2020](#), con información dinámica referente a las Áreas de Muestreo, Estaciones de Monitoreo y la Situación de los Muestreos (**Figura 4.1.1**);

Áreas de Muestreo: contiene los reportes que estarán disponibles para descarga directa desde las entidades gráficas por click directo sobre estas, se despliega información en pantalla de áreas y reportes; los cuales están agrupados en cuatro zonas (Región del Bio-Bio, Región de La Araucanía - Los Ríos, Región de Los Lagos y Región de Aysén) (**Figura 4.1.2**).

Estaciones de monitoreo: al hacer click sobre la entidad gráfica, muestra información básica de estas (Región, Transecto, Estación, Código, Latitud, Longitud y Tipo de Muestreo) (**Figura 4.1.3**).

Situación de muestreo: contiene información de abundancia relativa según el avance de los muestreos, la cual está categorizada en 5 niveles con sus respectivos rangos de abundancia relativa (Ausencia de microalga (Ab. Relativa = 0), Situación normal (Ab. Relativa entre 1 y 3), Situación moderada (Ab. Relativa entre 4 y 5), Situación de alerta (Ab. Relativa entre 6 y 7) y Situación de riesgo (Ab. Relativa > 8)). Esta información se puede consultar de manera dinámica en el webmap; por especie de microalga (*Alexandrium catenella*, *Alexandrium ostenfeldii*, *Dinophysis acuminata*, *Dinophysis acuta*, *Protoceratium reticulatum*, *Pseudo nitzschia cf. Australis*, *P. cf. Pseudodelicatissima*), según región y crucero; el resultado de esta consulta se verá reflejado de manera dinámica sobre el mapa, además de un gráfico por especie consultada que podrá ver de forma dinámica (**Figura 4.1.4**).

Este Sistema de Información Geográfica está disponible de manera multiplataforma, es decir, se puede visualizar en diversos entornos o sistemas operativos.

La información desplegada en ArcGis on-line se confeccionó con el software ArcMap de ArcGis, la cual es almacenada y distribuida con ArcGis Server; con lo cual se garantiza la interoperabilidad de la información, con otros Sistema de Información Geográfico on-line (con estándares de Infraestructura de Datos Espaciales de Chile - Ministerio de Bienes Nacionales ([Documentos Técnicos, 2021](#))); por medio de servicios alojados en el siguiente url: https://sig-acuicultura.ifop.cl/server/rest/services/marearoja_costa. Esto permite que otros organismos puedan consultar nuestra información en línea y cruzarla con sus propios datos ampliando la capacidad de análisis en la información.

La difusión de los resultados de análisis de las abundancias relativas por medio de un Sistema de Información Geográfica *online*, nos permite llegar a más usuarios con la información, la que es actualizada constantemente y a su vez la plataforma que soporta este sistema también posee una mantención anual que nos permite contar con los últimos estándares en Infraestructuras de Datos Geo-espaciales y cumplir con la normativa de I.D.E.Chile sobre normas de Información Territorial; para de esta manera entregar una



herramienta multiplataforma con potencial de actualización y análisis. Que puede interoperar con otros S.I.G Gubernamentales y/o privados.

También como estrategia de difusión; no se está bajando de la plataforma la información correspondiente al programa anterior, esto con el objetivo que los usuarios tengan un punto de comparación entre el monitoreo en curso y el anterior.

Entre de las herramientas que ofrece el S.I.G. *online*, está la entrega de reportes por descarga directa sobre las áreas de muestreo y un análisis rápido para ver el estado del avance de los muestreos y valores obtenidos de abundancias relativas por despliegue geográfico en pantalla, además de un gráfico de barras que muestra por medio de una consulta por región y/o crucero; el resultado por cada una de los 7 taxones nocivos.

Por otra parte, esta herramienta multiplataforma permite a los usuarios incorporar información personal y/o pública proveniente de otros S.I.G. *online* como capas de información publicadas por medio de ArcGis *online*, servicios de mapas vía URL o añadiendo datos personales georreferenciados sobre el S.I.G.; asimismo todos nuestros servicios de mapas están publicados para que a su vez puedan ser compartidos y/o levantados en plataformas de los propios usuarios.

Finalmente, comentar que el sistema contará próximamente con información histórica para enriquecer los análisis de los resultados. Este tema se está trabajando para obtener un archivo en línea histórico de este programa que contenga la información de estaciones, áreas de muestreo y abundancias relativas. Esto entregará una visión espacio-temporal del comportamiento de las Abundancias relativas para los 7 taxones nocivos.

6.4.2. Actividad 2: Difusión de resultados y capacitación

6.4.3 Actividad 3: Fortalecer la vinculación con el medio.

Seminario-taller de difusión.

Esta actividad se realizará en el 31 de mayo de 2021, de acuerdo a la carta Gantt de los términos técnicos de referencia del proyecto. Este seminario – taller, se realizará en conjunto con el estudio “Programa de manejo y monitoreo de las mareas rojas en el sistema de fiordos y canales de Chile (etapa XIV) 2020-2021”. El programa se desarrolló vía telemática y las conferencias entregadas se presentan en el **Anexo 2.2**.

Taller de capacitación.

Esta actividad se realizará a partir del viernes 4 de junio de 2021, con conferencias semanales, hasta el 24 de este mes. El programa de las conferencias se entregan en el **Anexo 2.2**. Estas actividades de capacitación



se realizarán en conjunto con el estudio Programa de manejo y monitoreo de las mareas rojas en el sistema de fiordos y canales de Chile (etapa XIV) 2020-2021.

Charlas. Vinculación con colegios en zonas afectadas por Floraciones de Algas Nocivas (FAN) para transmitir conocimientos respecto al estado del arte de las FAN y toxinas marinas en Chile, además de entregar un mensaje de responsabilidad frente al consumo de mariscos (desde su compra hasta su consumo). Actualmente, las charlas se han realizado de manera telemática, enfocando los trabajos para alumnos de 2do ciclo de educación general básica (3ro a 6to), e incorporando términos más específicos para alumnos del tercer ciclo (7mo básico a IV medio).

Ferias y Fiestas Científicas. No fueron posibles durante esta etapa, las actividades presenciales, participando sólo en un recorrido virtual de los laboratorios del CREAN.

Elaboración de manuscritos científicos.

A razón de los resultados obtenidos del análisis de toxinas en mariscos y el hallazgo de producción de toxinas paralizantes de un cultivo de *Alexandrium ostenfeldii* establecido a partir de un quiste de resistencia, en esta etapa III se empezó a escribir un manuscrito titulado "Toxin profile and source in shellfish from the south central coast of Chile (~36°– 42.5° S)" el cual será enviado próximamente a la revista Toxicon. En este trabajo se aborda el estudio de perfil de toxinas registrados en mariscos recolectados en el área de estudio y particularmente el perfil de toxinas de *A. ostenfeldii* de la región del Biobío.

-Se envió un manuscrito a la revista Marine Pollution Bulletin en la sección baseline el que reporta la presencia de *A. catenella* en la costa del Bío-Bío. Se utilizaron aproximaciones genéticas, toxicológicas y de abundancia relativa para este estudio. El manuscrito ya fue revisado por revisores de la revista y actualmente se está en proceso de corrección.

El título del manuscrito es:

Toxic *Alexandrium catenella* expanding northward along the Chilean coast: New risk of paralytic shellfish poisoning off Bío-Bío Region (36 S).

Los autores del manuscrito son: Javier Paredes-Mella*, Jorge I. Mardones, Luis Norambuena, Gonzalo Fuenzalida, Oscar Espinoza-González, Leonardo Guzmán and Gissela Labra.

Charlas

Sin duda, la modalidad de transmitir y comunicarse ha cambiado, y las charlas *on-line* toman protagonismo lo que ha permitido continuar con una constante vinculación con diferentes públicos e instituciones. De esta manera, se ha logrado presentar los principales resultados pertinentes a las regiones monitoreadas, y también a distintos temas relacionados con las FAN, tales como toxinas marinas y quistes de resistencia. 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 de las charlas realizadas fueron:

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. “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.)
3. “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.)
4. “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.)
5. “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.)
6. “Desarrollo y evolución de eventos TAM - *Pseudo-nitzschia* y *Alexandrium catenella*”, presentado en el Seminario de Herramientas Moleculares en el Estudio de las Floraciones Algales Nocivas, organizado por Intemit, 16 de marzo de 2021 (Dr. Oscar Espinoza G.)
7. “Desafío Floraciones Algales Nocivas en la región de Aysén Conversatorio: Desafío Floraciones Algales Nocivas en la región de Aysén”, organizado por la Secretaría Regional Ministerial de Ciencia, Tecnología, Conocimiento e Innovación. Macrozona Austral, 19 de marzo de 2021 (Dr. Oscar Espinoza G.)



Congresos nacionales e internacionales (ANEXO 2.1)

Durante el período que se informa se asistió de manera remota a la 12th versión del Congreso Internacional de Ficología, organizado por la Universidad de Los Lagos, realizado entre el 22 al 26 de marzo 2021. En esta jornada internacional, se presentaron dos trabajos titulados:

1. “Phytoplankton composition and Harmful Algal Blooms dynamics in coastal waters of central-southern Chile (36° - 44°S)”, y
2. “Spatial and temporal patterns of harmful species of *Alexandrium*, *Dinophysis* and *Protoceratium* throughout Chilean fjords in a 12-years period”.

Durante los días 24 al 28 de mayo 2021, se desarrolló la XL versión del Congreso de Ciencias del Mar organizado por la Universidad de Magallanes, en la cual se presentaron cinco trabajos de manera remota, titulados:

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*.

Todos los resúmenes presentados en este periodo, pueden ser revisados en detalle en el **Anexo 2.1**.



Taller Final – Etapa 3. (ANEXO 2.2)

Con fecha 31 de mayo 2021, entre las 09.00 y 12.00h se realizó vía telemática, el taller de cierre de la Etapa 3 del programa de Marea Roja Pacífico, en conjunto con exposiciones del Programa de Marea Roja Fiordos. En este taller se presentarán siete exposiciones divididas en dos bloques de cuatro, y tres presentaciones respectivamente. En el primer bloque se realizará un repaso sobre los “Avances y desafíos del estudio de las floraciones de algas nocivas y toxinas marinas en el océano Pacífico del centro-sur de Chile” a cargo del Dr. Oscar Espinoza G.. Posteriormente, se realizarán tres exposiciones con contenidos transversales que abordarán el “Monitoreo de fitoplancton mediante la implementación de metodologías moleculares” a cargo del Dr. Gonzalo Fuenzalida del Río, seguido por el “Registro de quistes de resistencia de dinoflagelados entre las regiones del Biobío y Magallanes: distribución, diversidad y abundancia”, a cargo del Dr. Pablo Salgado G., y terminando este bloque con las “Estrategias de difusión ligadas a floraciones de algas nocivas y sus efectos”, a cargo de Pamela Carbonell A. Durante el segundo bloque, se realizarán tres presentaciones relacionadas a los principales taxones nocivos presentes en nuestras costas. De esta manera, se abordará el “Rol de la salinidad, temperatura y patrones climáticos en la dinámica de especies FAN de los géneros *Alexandrium*, *Protoceratium* y *Dinophysis*” a cargo del Dr. Javier Paredes M., continuando con dos presentaciones que trataron sobre dos importantes floraciones que afectaron distintos puntos de la región de Los Lagos. Así, se abordará sobre la “Floración de *Pseudo-nitzschia* y ácido domoico en el mar interior de Chiloé durante la primavera/verano 2020/2021”, a cargo del Dr. Oscar Espinoza G., finalizando con la “Floración de *Heterosigma akashiwo* en el fiordo Comau en 2021: observaciones in situ y de laboratorio”, a cargo del Dr. Jorge Mardones S.



7. CONCLUSIONES

A continuación, se presentan las conclusiones generales del proyecto.

7.1 Conclusiones Objetivo Específico 1

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

- La diatomea *Skeletonema spp.* es la especie que presentó las mayores densidades, presente en casi todas las estaciones de monitoreo y con una alta frecuencia de aparición.
- Para los 12 cruceros considerados se identificaron cinco especies nocivas de dinoflagelados (*Alexandrium catenella*, *A. ostenfeldii*, *D. acuminata*, *D. acuta* y *P. reticulatum*) y dos especies de diatomeas (*Pseudo-nitzschia cf. australis* y *P. cf. pseudodelicatissima*).
- La distribución espacial de las especies nocivas difiere entre cada especie, mientras que *A. ostenfeldii*, *D. acuminata*, *Pseudo-nitzschia cf. australis* y *P. cf. pseudodelicatissima* están ampliamente distribuidas por toda el área de estudio, las especies *Alexandrium catenella*, *D. acuta* y *P. reticulatum* presentan una menor distribución con una presencia más importante en la región de Los Lagos.
- Para todas las estaciones distribuidas desde las regiones del Biobío hasta Los Lagos, no se detectan toxinas paralizantes a través del Bioensayo de Ratón. Sin embargo, a partir de análisis por HPLC-MS se detectó la presencia de GTX-2 en gran parte de los cruceros de la región del Biobío.
- Las muestras positivas a toxinas paralizantes por HPLC-MS (GTX2, C1 y Sxt), a pesar de dar negativas a los análisis del bioensayo del Ratón, se explican debido a la alta sensibilidad de este análisis. Los niveles encontrados son muy bajos, lo que no representa un riesgo para la salud humana.
- La presencia de las toxinas paralizantes detectadas se puede deber a la presencia de los dinoflagelados *A. catenella* y *A. ostenfeldii*, que han sido señalados como productores de estas toxinas.



- Las pocas muestras positivas a TDM, en general no guardan relación con las muestras positivas a Gym, PTX2 y AZA2 (únicas toxinas lipofílicas positivas en algunas muestras), por lo que probablemente se debe a falsos positivos.
- Las muestras positivas a AZA 2 en la región de Los Lagos puede deberse a la presencia de dinoflagelados del género *Azadinium*, lo que, de momento, no ha podido ser confirmado y por lo tanto, representa un desafío para las siguientes etapas del proyecto
- El análisis de 115 muestras de sedimento obtenidas entre las campañas de invierno y primavera-verano permitió registrar 61 tipos de quistes de dinoflagelados distintos entre las regiones del Biobío, La Araucanía, Los Ríos y Los Lagos.
- Se identificaron 21 géneros de dinoflagelados distintos (*Alexandrium*, *Protoceratium*, *Lingulodinium*, *Nematosphaeropsis*, *Spiniferites*, *Prorocentrum*, *Pentaparsodinium*, *Scrippsiella*, *Gymnodinium*, *Gyrodinium*, *Trinovantedinium*, *Echinidinium*, *Selenopemphix*, *Archaeoperidinium*, *Protoperidinium*, *Polykrikos*, *Preperidinium*, *Dubridinium*, *Diplopsalopsis*, *Enciculifera* y *Niea*).
- Entre las especies identificadas se destaca la presencia de los dinoflagelados productores de toxinas *Alexandrium catenella*, *Alexandrium ostenfeldii* y *Protoceratium reticulatum*.
- Quistes de *A. catenella* se registraron en la región de La Araucanía, Los Ríos y Los Lagos, siendo Queule 10 millas la estación más septentrional de su estado bentónico.
- Quistes de *A. ostenfeldii* fueron registrados en el Biobío, La Araucanía, y Los Lagos, y los de *P. reticulatum* solo en la región de Los Lagos.
- El género *Protoperidinium* fue el más diverso aportando con 14 especies distintas (*P. americanum*, *P. avellana*, *P. claudicans*, *P. conicoides*, *P. conicum*, *P. nudum*, *P. denticulatum*, *P. excentricum*, *P. leonis*, *P. oblongum*, *P. pentagonum*, *P. sinuosum*, *P. subinermis*, *P. thorianum*).
- En ambas campañas de muestreo de sedimentos la región del Biobío fue la que presentó mayor abundancia total de quistes, seguido por Los Lagos, Los Ríos y La Araucanía.
- Las estaciones ubicadas a 10 millas de la costa fueron, en general, las que presentaron mayor abundancia de quistes, mientras que las más cercanas a costa las que presentaron más baja abundancia.
- Veinte especies de dinoflagelados identificados mediante quistes de resistencia, y no mediante su forma planctónica, podrían ser consideradas para integrar el listado definitivo de especies de dinoflagelados que se encuentran entre las regiones del Biobío y Los Lagos.



- Diez y ocho especies fueron identificadas mediante quistes de resistencia y célula planctónica, entre las cuales se destaca la presencia de los dinoflagelados productores de toxinas *Alexandrium catenella*, *Alexandrium ostenfeldii* y *Protoceratium reticulatum*.
- Quistes de *A. catenella* fueron registrados en 22 de 23 muestras (excepto sección 9-10 cm) de un testigo de sedimento de 23 cm de profundidad obtenido en Caleta Zorra a 10 millas de distancia de la costa, lo cual demuestra que el área presenta condiciones adecuadas para la acumulación de quistes de la especie.
- De acuerdo a los registros de abundancia total de quistes, *A. catenella* fue la especie más abundante del testigo obtenido en Caleta Zorra seguido por *Preperidinium meunieri*.
- La presencia de quistes vacíos de *A. catenella* en distintas profundidades del testigo da cuenta que el área ha presentado durante años condiciones adecuadas para la germinación de los quistes de la especie.

7.2 Conclusiones Objetivo Específico 2

Continuar con el análisis interpretativo de los datos obtenidos disponibles desde el año 2018, 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.

- Se identifica que los sectores con mayores concentraciones de clorofila_a serían los sectores asociados a las estaciones del Biobío (Coliumo, Colcura, Tubul y Llico), estaciones al norte de Niebla en las regiones de la Araucanía y Los Ríos (Niebla, Mehuín, Queule, Puerto Saavedra y Nehuentué) y las estaciones a la salida del canal de Chacao e la región de Los Lagos (Mar brava, Faro Corona, Carelmapu, Playa Brava y Estaquilla).
- Los periodos de mayor concentración de clorofila_a estarían asociados a los veranos, los procesos responsables de estas altas concentraciones podrían estar relacionados con surgencia costera, aportes de nutrientes desde los ríos y la mezcla vertical por acción de remolinos de submesoescala.
- Estos procesos impactarían sobre la composición y abundancia celular del fitoplancton generando ensamblajes de estaciones, donde las estaciones de la región del Biobío segregarían un grupo independiente.
- Se propone que los ríos Valdivia, Bueno y canal de Chacao actuarían como zonas de transición latitudinal, modificando la estructura fitoplanctónica en las estaciones de monitoreo adyacentes.



7.3 Conclusiones Objetivo Específico 3

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.

- 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.
- Se logró identificar seis de los nueve órdenes de dinoflagelados que agrupan principalmente a los flagelados planctónicos marinos de vida libre *Gonyaulacales*, *Peridiniales*, *Gymnodiniales*, *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.
- Estudios genéticos recientes con cepas de *A. catenella* aisladas de diferentes áreas del sur de Chile están arrojando luz sobre la interconectividad y taxonomía de la población. En este estudio, las cepas de *Alexandrium* aisladas de la Región del Bío-Bío en 2019 se alinearon dentro del ribotipo de *A. catenella* del Grupo I (anteriormente *A. tamarense* o *A. fundyense*) y mostraron la presencia de toxinas paralizantes. Además, se agregaron las cepas de *A. catenella* aislada de la Región de Aysén y Magallanes junto con las cepas del Bío-Bío. Estos resultados 1) ratifican las observaciones registradas dentro del programa de monitoreo del IFOP desde 2018 utilizando microscopía óptica en relación a la presencia de *A. catenella*, 2) confirman la homología de ribotipo constantemente detectada entre las poblaciones de *A. catenella* tanto al interior de los fiordos del sur como en áreas costeras oceánicas y, 3) alertan sobre el riesgo potencial de toxinas paralizantes en las áreas costeras de la Región del Bío-Bío.

7.4 Conclusiones Objetivo Específico 4

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



- Dar a conocer los resultados de los estimadores de abundancias relativas de los taxones nocivos, en una plataforma S.I.G. *online*, nos permite como institución llegar a muchos más potenciales usuarios. Y poder contar con una herramienta actualizada y multiplataforma, que amplía las oportunidades de trabajo multidisciplinario e interinstitucional ya que la información es accesible tanto desde la plataforma que ofrecemos como importable directamente ya sea a S.I.G. *online* o S.I.G. de escritorios.



8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- A.O.A.C. 1990. Paralytic Shellfish Poison. Biological method. Final action. In Hellrich, K. ed. Official Method of Analysis. 15th Edition, pp. 881-882, Sec 959.08. Association of Official Analytical Chemists (AOAC), Arlington, Virginia, USA.
- Álvarez, G., E. Uribe, S. Quijano-Scheggia, A. López-Rivera, C. Mariño & J. Blanco. 2009. Domoic acid production by *Pseudo-nitzschia australis* and *Pseudo-nitzschia calliantha* isolated from North Chile. *Harmful Algae* 8: 938–945
- Álvarez, G., Uribe, E., Díaz, R., Braun, M., Mariño C., Blanco, J. 2011. Bloom of the yessotoxin producing dinoflagellate *Protoceratium reticulatum* (Dinophyceae) in Northern Chile. *J. Sea Res.* 65: 427-434.
- Alves de Sousa, C., Varela, D., Navarrete, F., Fernández, P., Leal, P. 2008. Distribution, abundance and diversity of modern dinoflagellate cyst assemblages from southern Chile (43-54° S). *Bot. Mar.* 51: 399-410.
- Alpermann, T.J., Tillmann, U., Beszteri, B., Cembella, A.D., John, U., 2010. Phenotypic Variation and Genotypic Diversity in a Planktonic Population of the Toxigenic Marine Dinoflagellate *Alexandrium tamarense* (Dinophyceae). *J. Phycol.* 46, 18–32. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2009.00767.x>
- Anabalón, V., C. Morales, R. Escribano, & M. Varas. 2007. The contribution of nano- and micro-planktonic assemblages in the surface layer (0–30 m) under different hydrographic conditions in the upwelling area off Concepción, central Chile. *Progress in Oceanography* 75: 396–414
- Avaria, S., P. Muñoz, & E. Uribe. 1982. Composición y biomasa del fitoplancton marino del norte de Chile en diciembre de 1980. (Operación Oceanográfica MARCHILE XI-ERFEN II). *Ciencia y Tecnología del Mar, Cona* 6: 5-36.
- Balech, E. 1985. The genus *Alexandrium* or *Gonyaulax* of the *tamarensis* group. In D. M. Anderson, A. W. White, and D. G. Baden (eds.), *Toxic Dinoflagellates*. Elsevier, New York, pp. 33-38.
- Bates, S. 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.
- Blanco, J., G. Álvarez y E. Uribe. 2007. Identification of pectenotoxins in plankton, filter feeders, and isolated cells of *Dinophysis acuminata* with atypical toxin profiles, from Chile. *Toxicon*. 49 (5): 710-716.



- Braña-Magdalena A, Leao-Martins JM, Glauner T, Gago-Martinez A (2014) Intralaboratory validation of a fast and sensitive UHPLC/MS/MS method with fast polarity switching for the analysis of lipophilic shellfish toxins. J AOAC Int 97:285–292
- Bricelj, V.M., & S.E. Shumway, 1998. Paralytic shellfish toxins in bivalve molluscs: occurrence, transfer kinetics and biotransformation. Rev. in Fisheries Science 6(4): 315-383
- Brosnahan, M.L., Ralston, D.K., Fischer, A.D., Solow, A.R., Anderson, D.M. 2017. Bloom termination of the toxic dinoflagellate *Alexandrium catenella*: Vertical migration behavior, sediment infiltration, and benthic cyst yield. Limnol. Oceanogr. 62: 2829–2849.
- Cembella, A., M.A. Quilliam, N.I. Lewis, A.G. Bauder, C. Dell'Aversano, K. Thomasa, J. Jellett, & R.R. Cusack. 2002. The toxigenic marine dinoflagellate *Alexandrium tamarense* salmon in Nova Scotia. Harmful Algae 1: 313–325.
- Chelton, D. B., M. G. Schlax, R. M. Samelson & R. A. de Szoeke. 2007. Global observations of large ocean eddies. Geophys. Res. Lett., 34, L15606, doi:10.1029/2007GL030812. Correa-Ramirez, M. A., S. Hormazabal & G. Yuras. 2007. Mesoscale eddies and high chlorophyll concentrations off central Chile (29°S-39°S). Geophys. Res. Lett. 34, L12604. Johnson, G. C. & K. E. McTaggart. 2009. Equatorial Pacific 13°C Water Eddies in the Eastern Subtropical South Pacific Ocean. J. Phys. Oceanogr., 40(1), doi:10.1175/2009JPO4287.1.
- Cho, E.S., Hur, H.J., Byun, H.S., Lee, S.G., Rhodes, L.L., Jeong, C.S., Park, J.G., 2002. Monthly monitoring of domoic acid producer *Pseudo-nitzschia multiseries* (Hasle) Hasle using species-specific DNA probes and WGA lectins and abundance of *Pseudo-nitzschia* species (Bacillariophyceae) from Chinhae Bay, Korea. Bot. Mar. 45, 364–372
- Clarke, K.R. & Gorley, R.N., 2006. PRIMER v6: User Manual/Tutorial. PRIMER-E, Plymouth.
- Clarke, K., P. Somerfield & R. Gorley. 2008. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 366, 56-59.
- Collins, C., J. Graham, L. Brown, E. Bresnan, J.-P. Lacaze, & E.A. Turrell. 2009. Identification and toxicity of *Alexandrium tamarense* (dinophyceae). Journal of Phycology 45: 692–703.
- 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.



- Dale, B. (1976) Cyst formation, sedimentation and preservation: factors affecting dinoflagellate assemblages in recent sediments from Trondheimsfjord, Norway. *Rev. Palaeobot. Palynol.*, 22, 39–60.
- Dale, B. 1983. Dinoflagellate resting cysts: "benthic plankton". In: G. Fryxell (ed.), *Survival strategies of the Algae*. Cambridge University Press, Cambridge pp. 69–136.
- Daneri, G., Dellarossa, V., Quiñones, R., Jacob, B., Montero, P., Ulloa, O., 2000. Primary production and community respiration in the Humboldt Current System off Chile and associated oceanic areas. *Mar. Ecol.-Prog. Ser.* 197, 41–49.
- 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.
- Díaz, P., 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.
- Dyhrman ST, Erdner D, Du JL, Galac M, Anderson DM. Molecular quantification of toxic *Alexandrium fundyense* in the Gulf of Maine using real-time PCR. *Harmful Algae*. 2006;5:242–250. doi: 10.1016/j.hal.2005.07.005.
- Ebenezer V, L Medlin & JS Ki. 2012. Molecular detection, quantification, and diversity evaluation of microalgae. *Marine Biotechnology* 14: 129-142.
- Ellegaard, M., Christensen, N.F., & Moestrup, O. 1994. Dinoflagellate cysts from Danish recent marine sediments. *Eur. J. Phycol.* 29: 183-194.
- Ellegaard, M. & S. Ribeiro. 2018. The long-term persistence of phytoplankton resting stages in aquatic 'seed banks'. *Biol. Rev.* 93: 166–183.
- Espinoza–González, O et al. (2017). Monitoreo de especies microalgales nocivas en bahías selectas de la región del Biobío I Etapa 2016 – 2017. INFORME FINAL CONVENIO DE DESEMPEÑO 2016, 116 Págs.
- Espinoza-González, O., Cáceres, J., Calderón, M., López, L., Labra G., Correa, K., Norambuena, L., Muñoz, V., Cornejo, M.F., Palma, M., Tardón, H., Ramírez, L., Olivares, B., González, R., Soto, C., Salgado, P., Carbonell, P., Cascales, E. 2019. Programa de Manejo y Monitoreo de las Floraciones de Algas Nocivas y Toxinas Marinas en el Océano Pacífico desde Biobío a Aysén (I Etapa) 2018. Informe Final (Tomo I y II). Subsecretaría de Economía y EMT. Instituto de Fomento Pesquero. 63 pág.
- Espinoza-González, O., Salgado, P., Andrade, I., Carbonell, P., Norambuena, L., Cascales, E., Tardón, H., Cáceres, Lincoqueo, L., López, L., Labra G., Correa, K., Olivares, B., González, R., Soto, C., Muñoz,



- V., Cornejo, M.F., Ramirez, L. 2020. Programa de Manejo y Monitoreo de las Floraciones de Algas Nocivas y Toxinas Marinas en el Océano Pacífico del Centro Sur de Chile (36°-44° S), Etapa II, 2019-2020. Informe Final (Tomo I y II). Subsecretaría de Economía y EMT. Instituto de Fomento Pesquero. 102 pág.
- EU Harmonised Standard Operating Procedure for determination of Lipophilic marine biotoxins in molluscs by LC-MS/MS (2015). Version 5, 1–33.
- Figueroa, R., Bravo, I. & E. Garcés. 2005. Effects of nutritional factors and different parental crosses on the encystment and excystment of *Alexandrium catenella* (Dinophyceae) in culture. *Phycologia* 44(6), 24-36
- Fux, Elie, Juliette L. Smith, Mengmeng Tong, Leonardo Guzmán, Donald M. Anderson. 2011. Toxin profiles of five geographical isolates of *Dinophysis* spp. from North and South America *Toxicon* 57 (2): 275-287.
- Galluzzi L, E Bertozzini, A Penna & F Perini. 2010. Análisis del contenido del gen del rRNA en el dinoflagelado 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
- García, C., P. Mardones, A. Sfeir, and N. Lagos. 2004. Simultaneous presence of Paralytic and Diarrhetic Shellfish Poisoning toxins in *Mytilus chilensis* samples collected in the Chiloé Island, Austral Chilean Fjords. *Biological Research* 37: 721–731.
- GEOHAB (2001) Global Ecology and Oceanography of Harmful Algal Blooms, Science Plan. P. Gilbert and G. Pitcher (eds.) SCOR and IOC, Baltimore and Paris. 87 pp.
- GEOHAB (2003) Global Ecology and Oceanography of Harmful Algal Blooms, Implementation Plan. P. Gentien, G. Pitcher, A. Cembella, P. Gilbert (Eds.). SCOR an IOC, Baltimore and Paris. 36 pp.
- Gu, H., Liu, T., Mertens, K.N. 2015. Cyst-theca relationship and phylogenetic positions of *Protoperidinium* (Peridinales, Dinophyceae) species of the sections *Conica* and *Tabulata*, with description of *Protoperidinium shanghaiense* sp. nov. *Phycologia* 54(1): 49-66.
- Gutiérrez-Rodríguez, A.E., Stukel, M.R., Santos, 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., H. Pacheco, G. Pizarro & C. Alarcón. 2002. *Alexandrium catenella* y veneno paralizante de los mariscos en Chile. En: Sar, E.A., M.E. Ferrario & B. Reguera (eds.) *Floraciones algales nocivas en el cono sur americano*, pp 235–255. Instituto Español de Oceanografía, Vigo, España.



- 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, V. Hinojosa & C. Zamora. 2010. Manejo y monitoreo de las mareas rojas en las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes. Informe Final, III etapa, 238 pp. + Figuras + Tablas + Anexos. Ministerio de Economía. Subsecretaría de Pesca. Instituto de Fomento Pesquero
- 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. 2011. 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.
- Hasle, G.R. 2002. Are most of the acid domoic acid-producing species of the diatom genus *Pseudo-nitzschia* cosmopolites?. *Harmful Algae*, 1: 137 – 146
- 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.
- 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.
- Ichimi, K., T. Suzuki, & A. Ito. 2002. Variety of PSP toxin profiles in various culture strains of *Alexandrium tamarense* and change of toxin profile in natural *A. tamarense* population. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 273: 51– 60.
- IDE Chile. 2021. Documentos Técnicos. [online] Disponible en: <<https://www.ide.cl/index.php/s-e-snit/area-de-informacion-y-normas/documentos-tecnicos>> [Accedido 5 Mayo 2021].
- John, U., Litaker, R.W., Montresor, M., Murray, S., Brosnahan, M.L., Anderson, D.M., 2014. Formal Revision of the *Alexandrium tamarense* Species Complex (*Dinophyceae*) Taxonomy: The Introduction of Five Species with Emphasis on Molecular-based (rDNA) Classification. *Protist* 165, 779–804. <https://doi.org/10.1016/j.protis.2014.10.001>
- Jothikumar P, V Hill & J Narayanan. 2009. Design of FRET-TaqMan probes for multiplex real-time PCR using an internal positive control. *BioTechniques* 46(7): 519-524.
- 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



- 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., T. Lindholm, N. Dreßler, K. Erler, G. Gerdts, S. Eirtovaara, & E. Leskinen. 2009. Bloom forming *Alexandrium ostenfeldii* (Dinophyceae) in shallow waters of the Åland Archipelago, Northern Baltic Sea. *Harmful Algae* 8: 318–328.
- 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.
- Kim, H.J., Li, Z., Kang, N.S., Gu, H., Kim, D., Seo, M.H., Lee, S.D., Yun, S.M., Oh, S.-J., Shin, H.H. 2021. Morphology and Phylogeny of *Scrippsiella precaria* Montresor & Zingone (Thoracosphaerales, Dinophyceae) from Korean Coastal Waters. *J. Mar. Sci. Eng.* 9: 154
- Kudela, R., G. Pitcher, T. Probyn, F. Figueiras, T. Moita, V. Trainer. 2005. Harmful algal blooms in coastal upwelling systems. *Oceanography* 18, 184–197.
- Lembeye, G. 2004. Distribución de quistes de *Alexandrium catenella* y otros dinoflagelados en sedimentos de la zona sur-austral de Chile. *Ciencia y Tecnología del Mar* 27: 21-31.
- Lembeye, G. 2006. Florecimientos Algales Nocivos en Aguas Australes. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, CONA, 99–103
- Lembeye, G., N. Marcos, A. Sfeir, C. Molinet, F. Jara, A. Clément & X. Rojas. 1998. Seguimiento de la toxicidad en recursos pesqueros de importancia comercial en la X y XI región. Informe Final Proyecto FIP 97/49. 86 pp.
- Lembeye, G. & A. Sfeir. 1999 b. Distribución del quiste *Alexandrium catenella* y otros dinoflagelados en sedimentos de la XI Región. Resultados Crucero CIMAR 4 Fiordos. Resúmenes Ampliados. 57-59.
- Lewis, J. 1991. Cyst-theca relationship in *Scrippsiella* (Dinophyceae) and related orthoperidinoid genera. *Bot. Mar.* 34: 91-106.
- Lindholm, T. 1978. Autumnal mass development of the “Red Water” ciliate *Mesodinium rubrum* in the Åland Archipelago. *Soc. Fauna Flora Fennica*, 54 1-5.
- Lilly, E.L., Halanych, K.M., Anderson, D.M., 2007. Species boundaries and global biogeography of the *Alexandrium tamarens* complex (Dinophyceae). *J. Phycol.* 43, 1329–1338. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2007.00420.x>



- 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.
- McQuoid, M., Godhe, A. & Nordberg, K. 2002. Viability of phytoplankton resting stages in the sediments of a coastal Swedish fjord. *Eur. J. Phycol.* 37:191–201.
- Mardones, J.I., Bolch, C., Guzmán, L., Paredes, J., Varela, D., Hallegraeff, G.M., 2016. Role of resting cysts in Chilean *Alexandrium catenella* dinoflagellate blooms revisited. *Harmful Algae* 55, 238–249.
- Marret, F. & Zonneveld, K. 2003. Atlas of modern organic-walled dinoflagellate cyst distribution. *Rev. Paleobot. Palynol.* 125: 1-200.
- Matsuoka K & Y Fukuyo. 2000. Guía técnica para el estudio de quistes de dinoflagelados actuales, 30 pp. WESTPAC-HAB/WESTPAC/IOC, Unesco, Paris.
- McGillicuddy, D., A. Robinson, D. Siegel, H. Jannasch, R. Johnson, T. Dickey, J. McNeil, A. Michaels, A. Knap. 1998. Influence of mesoscale eddies on new production in the Sargasso Sea. *Nature*, 394: 263–266.
- Mertens, K.N., A. Yamaguchi, H. Kawami, S. Ribeiro, B.S. Leander, A.M. Price, V. Pospelova, M. Ellegaard, K. Matsuoka. 2012. *Archaeperidinium saanichi* sp. nov.: a new species based on morphological variation of cyst and theca within the *Archaeperidinium minutum* Jorgensen 1912 species complex. *Mar Micropaleontol.* 96-97: 48–62.
- Mertens, K.N., Gu, H., Gurdebeke, P.R., Takano, Y., Clarke, D., Aydin, H., Li, Z., Pospelova, V., Shin, H.H., Li, Z., Matsuoka, K., Head, M.J. 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. *Marine Micropaleontology* (In Press, Corrected Proof, Available online 26 August 2019).
- Molinet, C., Lafón, A., Lembeye, G., Moreno, C. 2003. Patrones de distribución espacial y temporal de floraciones de *Alexandrium catenella* (Whedon & Kofoid) Balech 1985, en aguas interiores de la Patagonia noroccidental de Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 76: 681-698.
- Montresor, M., Zingone, A., Sarno, D. 1998. Dinoflagellate cyst production at a coastal Mediterranean site. *J. Plankton Res.* 20(12): 2291-2312.
- Morales, C. E., S. Hormazabal, M. Correa-Ramirez, O. Pizarro, N. Silva, C. Fernandez, V. Anabalón, M. L. Torreblanca. 2012. Mesoscale variability and nutrient–phytoplankton distributions off central-southern Chile during the upwelling season: The influence of mesoscale eddies. *Prog. Oceanogr.*, 104: 17–29.



- Mudie, P.J., F. Marret, K.N. Mertens, L. Shumilovskikh, S.A.G. Leroy. 2017. Atlas of modern dinoflagellate cyst distributions in the Black Sea Corridor: from Aegean to Aral Seas, including Marmara, Black, Azov and Caspian Seas. *Mar. Micropaleontology* 134: 1–152.
- Muñoz, P., S. Avaria, H. Sievers, & R. Prado. 1992. Presencia de dinoflagelados tóxicos del género *Dinophysis* en el Seno Aysén, Chile. *Revista de Biología Marina (Chile)* 27(2): 187–212.
- Murray S, R Ruwindy, 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.
- Nehring, S. 1993. Mechanisms for recurrent nuisance algal blooms in coastal zones: resting cyst formation as life-strategy of dinoflagellates. In: Sterr, H., J. Hofstade & H-P. Plag (eds.), *Interdisciplinary Discussion of Coastal Research and Coastal Management Issues and Problems*. Lang, Frankfurt/M.: 454–467.
- Nehring, S. 1994. Spatial distribution of dinoflagellate resting cysts in recent sediments of Kiel Bight, Germany Baltic Sea. *Ophelia* 39(2): 137-158.
- Nehring, S. 1997. Dinoflagellate resting cysts from recent German coastal sediment. *Bot. Mar.* 40: 307-324.
- Olli, K & Anderson, D. 2002. High encystment success of the dinoflagellate *Scrippsiella* cf. *lachrymosa* in culture experiments. *J. Phycol.* 38: 145-156.
- Orlova, T., T. Morozova, K. Gribble, D. Kulis & D. Anderson. 2004. Dinoflagellate cysts in recent marine sediments from the east coast of Russia. *Bot. Mar.* 47: 184–201.
- Paredes, J., Varela, D., Martínez, C., Zúñiga, A., Correa, K., Villarroel, A., Olivares, B., 2019. Population genetic structure at the northern edge of the distribution of *Alexandrium catenella* in the Patagonian fjords and its expansion along the open Pacific Ocean coast. *Front. Mar. Sci.* 5, 1–13.
- Persson, A., Godhe, A. & Karlson, B. 2000. Dinoflagellate cysts in recent sediments from the West coast of Sweden. *Botanica Marina* 43: 69-79.
- Pizarro, G., C. Alarcón, J. Franco, M. Palma, L. Escalera, B. Reguera, G. Vidal & L. Guzmán. 2011. Distribución espacial de *Dinophysis* spp. Y detección de toxinas DSP en el agua mediante resinas DIAION. *Cienc. Tecno. Mar.* 34 (1-2): 31-48.
- Pizarro, G., N. Pesse, P. Salgado, C. Alarcón, C. Garrido & L. Guzmán. 2012. Determinación de la capacidad de adherencia, mecanismos de propagación y métodos de destrucción de *Alexandrium catenella* (célula vegetativa y quiste). Informe Final Proyecto SUBPESCA. Instituto de Fomento Pesquero, Valparaíso, Chile, 79 pp



- Pizarro, G. Arévalo, F., Morono, A., Riobó, P., Franco, J., Zamora, C. & Guzmán, L. 2014. 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.
- Quijano-Scheggia, S., E. Garcés, N. Sampedro, K. van Lenning, E. Flo, K. Andree, J.M. Fortuño, J. Camp. 2008. Identification and characterisation of the dominant *Pseudo-nitzschia* species (Bacillariophyceae) along the NE Spanish coast (Catalonia, NW Mediterranean). *Scientia Marina*. 72 (2), 343–359.
- 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, París.
- Reguera, B., L. Velo-Suárez, R. Raine, M. G. Park. 2012. Harmful Dinophysis species: A review. *Harmful Algae* 14: 87-106.
- Rochon, A., Lewis, J., Ellegaard, M., Harding, I.C. 2009. The *Gonyaulax spinifera* (Dinophyceae) “complex”: Perpetuating the paradox? 155: 52-60.
- Rodríguez-Villegas, C., Lee, M.R., Salgado, P., Figueroa, R.I., Baldrich, A., Pérez-Santos, I., Tomasetti, S.J., Niklitschek, E., Díaz, M., Álvarez, G., Marín, S.L., Seguel, M., Farías, L., Díaz, P. 2021. Drivers of dinoflagellate benthic cyst assemblages in the NW Patagonian Fjords System and its adjacent oceanic shelf, with a focus on harmful species. *Sci. Total Environ.* 785: 147378
- Roose A, E Garnier & M Harry. 2001. Extraction and purification of microbial DNA from soil and sediment samples. *Applied Soil Ecology* 18: 47–60
- 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
- Salgado, P., 2011. Distribuci3n espacio-temporal de ensambles de quistes de dinoflagelados productores de floraciones algales nocivas en sedimentos costeros del sur de Chile (Regi3n de Los Lagos) durante los últimos ~150 años. Tesis para optar al grado de Magíster. Universidad de Concepci3n. 130 pág.
- Salgado, P, L. Guzmán, G. Labra & C. Cáceres. 2013. Monitoreo de especies nocivas en la regi3n del Biobío. Informe Final Proyecto SUBPESCA. Instituto de Fomento Pesquero, Valparaíso, Chile, 126 pp.



- Salgado, P., P. Riobó, F. Rodríguez, J. Franco & I. Bravo. 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.
- Sangrà, P., A. Pacual, A. Rodríguez-Santana, F. Machín, E. Mason, J.C. McWilliams, J.L. Pelegrí, Ch. Dong, A. Rubio, J. Aristegui, A. Marrero-Díaz, A. Hernández-Guerra, A. Martínez-Marrero & M. Auladell. 2009. The Canary Eddy Corridor: A mayor pathway for long-lived eddies in the subtropical North Atlantic. *Deep-Sea Res. I*, 56: 2100–2114.
- Saulquin, B, Gohin, F & d'Andon. O.F. 2019. Interpolated fields of satellite-derived multi-algorithm chlorophyll-a estimates at global and European scales in the frame of the European Copernicus-Marine Environment Monitoring Service, *Journal of Operational Oceanography*, 12:1, 47-57, DOI: 10.1080/1755876X.2018.1552358.
- Savela 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.
- Seguel, M. & A. Sfeir. 2004. Situación de la marea roja en la época de invierno y primavera, y su posible interacción con larvas de peces. CIMAR 9 Fiordos. Informes preliminares, p. 137-144.
- Seguel, M., M. A. Tocornal, & A. Sfeir. 2005. Floraciones Algales Nocivas en los canales y fiordos del sur de Chile. *Cienc. Tecnol. Mar.* (28): 5-13.
- Seguel, M., A. Sfeir, J. González, P. Díaz, C. Molinet y G. Labra. 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); 5-7.
- Seguel, M., & Sfeir, A. 2010. Distribución de las toxinas marinas y quistes de dinoflagelados tóxicos en los canales occidentales de la región de Aysén. *Cienc. Tecnol. Mar.* 33 (1): 43-55
- 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 .
- 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., N. Rojas, A. Fedele. 2009. Water masses in the Humboldt Current System: properties, distribution, and the nitrate deficit as a chemical water mass tracer for Equatorial Subsurface Water off Chile. *Deep-Sea Res. II*, 56: 1004-1020.



- Smayda, T.J. 1997. Harmful algal blooms: their ecophysiology and general relevance to phytoplankton blooms in the sea. *Limnol. Oceanogr.* 42:1137–1153.
- Stoeck, T., Frühe, L., Forster, D., Cordier, T., Martins, C.I., & Pawlowski, J. (2018). Environmental DNA metabarcoding of benthic bacterial communities indicates the benthic footprint of salmon aquaculture. *Marine pollution bulletin*, 127, 139-149 .
- Stivala, C. E., Benoit, E., Araoz, R., Servent, D., Novikov, A., Molgó, J. & Zakarian, A. 2015. Synthesis and biology of cyclic imine toxins, an emerging class of potent, globally distributed marine toxins. *Natural product reports*, 32, 411-435.
- Suárez, B. & L. Guzmán. 1992. Floraciones de Algas Nocivas, Mareas Rojas y Toxinas Marinas. *Rev. San. Def. Nac.* 9, 133-138.
- Trainer, V. L., Bates, S. S., Lundholm, N., Thessen, A. E., Cochlan, W. P., Adams, N. G. & Trick, C. G. 2012. Pseudo-nitzschia physiological ecology, phylogeny, toxicity, monitoring and impacts on ecosystem health. *Harmful algae*, 14, 271-300.
- Tillmann, U., Elbrachter, M., Krock, B., John, U. & Cembella, A. 2009. *Azadinium spinosum* gen. et sp. nov. (Dinophyceae) identified as a primary producer of azaspiracid toxins. *European Journal of Phycology*, 44, 63-79.
- Trefault, N., Krock, B., Delherbe, N., Cembella, A. & Vásquez, M. 2011. Latitudinal transects in the southeastern Pacific Ocean reveal a diverse but patchy distribution of phycotoxins. *Toxicon*, 58, 389-397.
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2019.03.009>
- Uribe, J. C., L. Guzmán, and S. Jara. 1995. Monitoreo mensual de la marea roja en la XI y XII regiones. Proyecto FIP 93/16, Informe Final, Universidad de Magallanes, Punta Arenas, Chile. 93 pp.
- Utermohl, H. 1958. Zur Vervollkommung der quantitativen Phytoplankton. Methodik. *Mitt int. Verein. theor. angew. Limnol.* 9, 38.
- Vandersea M, S Kibler, S Van Sant, P Tester, K Sullivan, G Eckert, C Cammarata, K Reece, G Scott, A Place, K Holderied, D Hondolero & W Litaker. 2017. qPCR assays for *Alexandrium fundyense* and *A. ostenfeldii* (Dinophyceae) identified from Alaskan waters and a review of species-specific *Alexandrium* molecular assays. *Phycologia* 56(3): 303–320.



- Varela, D., Paredes, J., Alves-de-Souza, C., Seguel, M., Sfeir, A., Frangópulos, M., 2012. Intraregional variation among *Alexandrium catenella* (Dinophyceae) strains from southern Chile: Morphological, toxicological and genetic diversity. *Harmful Algae* 15, 8–18. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2011.10.029>
- Verleye, T., Lowye, S. 2010. Recent geographical distribution of organic-walled dinoflagellate cysts in the southeast Pacific (25–53°S) and their relation to the prevailing hydrographical conditions. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 298:319-340.
- USEPA, 1993a. Methods for the Determination of Inorganic Substances in Environmental Samples, USEPA 600/R 93/100, August 1993: Method 365.1, Rev. 2.0. (phosphates).
- USEPA, 1993b. Methods for Determination of Inorganic Substances in Environmental Samples, USEPA 600/R 93/100, August 1993: Method 353.2, Revision 2.0.
- USEPA, 1983. Methods for Chemical Analysis of Waters and Wastes, USEPA 600/4-79-020, 1983: Method 370.1.(silicates).
- Wall, D. 1971. Biological problems concerning fossilizable dinoflagellates. *Geosci. Man.* 3:1–15
- Wang, Z-H., Qi, Y-Z., Yang, Y-F. 2007. Cyst formation: an important mechanism for the termination of *Scrippsiella trochoidea* (Dinophyceae) bloom. *J. Plankton Res.* 29(2): 209-218
- Yasumoto, T., M. Murata, Y. Oshima, K. Matsumoto & J. Clardy. 1984. Diarrhetic shellfish poisoning. Pp. 207-214, in: E. P. Ragelis (ed.). *SeaFood Toxins*, ACS Symposium Series 262, American Chemical Society, Washington, D.C.
- Zimmermann, J., Glöckner, G., Jahn, R., Enke, N., & Gemeinholzer, B. (2015). Metabarcoding vs. morphological identification to assess diatom diversity in environmental studies. *Molecular ecology resources*, 15 3, 526-42.
- Zonneveld, K.A.F., V. Pospelova. 2015. A determination key for modern dinoflagellate cysts. *Palynology* 39(3): 387–409.



INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO / DIVISI3N INVESTIGACI3N EN ACUICULTURA



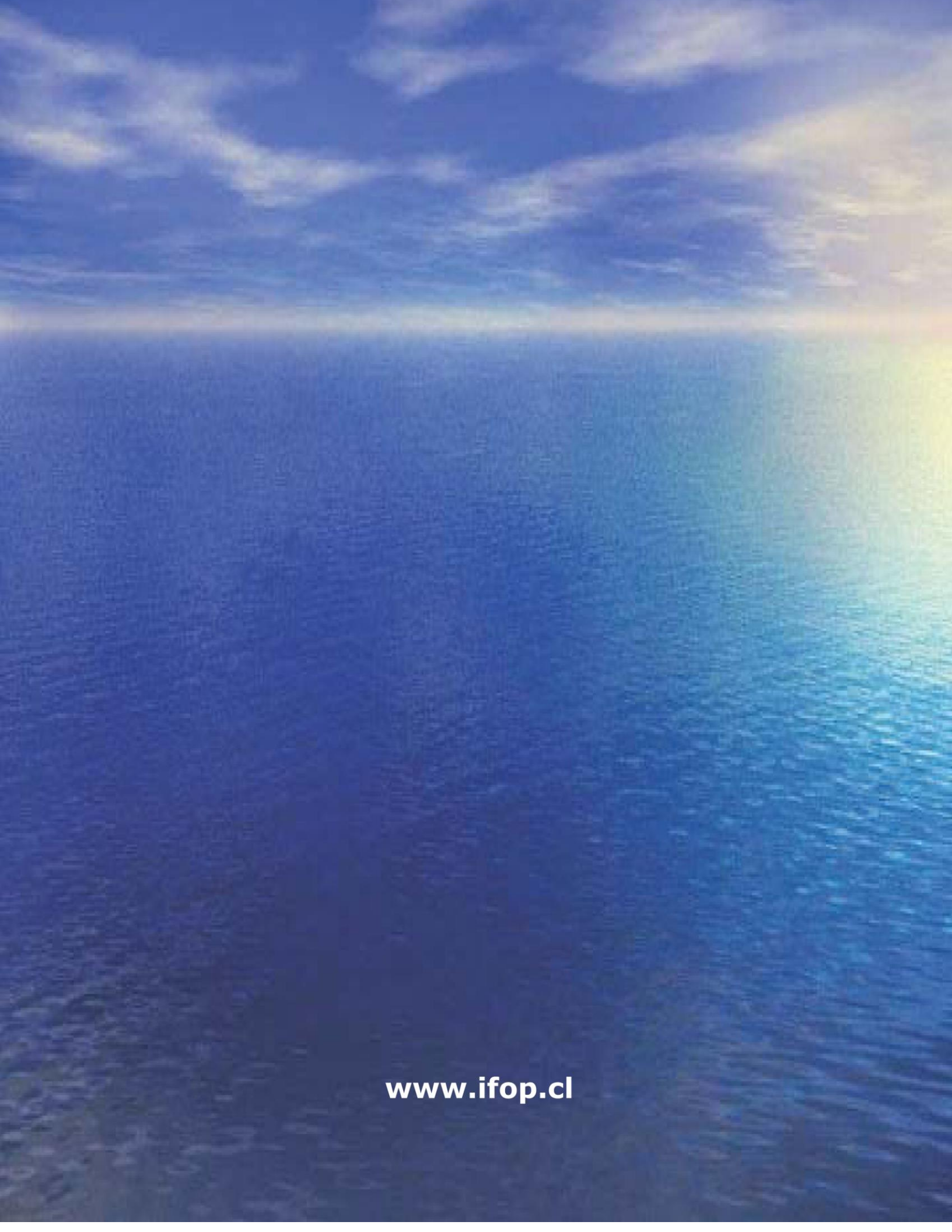
INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO

Secci3n Ediciones y Producci3n

Blanco 839, Fono 56-32-2151500

Valparaíso, Chile

www.ifop.cl



www.ifop.cl