



INFORME FINAL TOMO I

Convenio de Desempeño 2021

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 IV, 2021 – 2022.

SUBSECRETARÍA DE ECONOMÍA Y EMT / Agosto 2022



INFORME FINAL TOMO I

Convenio de Desempeño 2021
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 IV, 2021 – 2022.

SUBSECRETARÍA DE ECONOMÍA Y EMT / Agosto 2022

REQUIRENTE

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

Subsecretaría de Economía y
Empresas de Menor Tamaño
Javiera Petersen Muga

EJECUTOR

INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO, IFOP

Director Ejecutivo
Gonzalo Pereira Puchy
Jefe División Investigación en Acuicultura
F. Leonardo Guzmán Méndez

JEFE DE PROYECTO

Oscar Espinoza González



SUBSECRETARÍA DE ECONOMÍA Y EMT / Agosto 2022

AUTORES

Oscar Espinoza González
Pablo Salgado Garrido
Pamela Carbonell Arias
Luis Norambuena Subiabre
Emma Cascales Hellman
Héctor Tardón Sepúlveda
Christian Espinoza Alvarado
Julia Cáceres Chamizo
Leandro Lincoqueo
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
Javier Paredes Mella
Jonnathan Vilugrón Torres

COLABORADORES

Rudy Aguilar Márquez
Darwin Retamal Caimapo
Mauricio Palma Alarcón
Juan Carlos Unión

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 IV, 2021 - 2022*”, que comenzó en enero de 2021 y se extendió por un periodo de 11 meses. El estudio está inserto en el Convenio de Desempeño 2021: Asesoría Integral para la Pesca y Acuicultura 2021-2022, 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 11 cruceros a realizar entre los meses de enero y diciembre de 2020. Para efectos de este informe final se informarán los cruceros 1 a 11, correspondientes a los meses entre enero y diciembre 2021. Debidos factores climáticos adversos, la realización de las actividades de terreno, el último crucero (C11) de esta etapa sufrió un retraso en su ejecución finalizando durante el mes de enero de 2022, 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, el objetivo 3.2.2 incorpora los resultados del análisis interpretativo de los datos históricos del proyecto, el objetivo 3.2.3 entrega los resultados asociados a las nuevas técnicas de detección de microalgas, finalmente el objetivo 3.2.4 da cuenta de las actividades de difusión del proyecto.

El muestreo de mariscos para la detección de toxinas, se orienta hacia especies centinelas en cada



punto de muestreo, 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 Llico; navajuela en el caso de la bahía de Llico; choro maltón en los sectores de Nehuentúe, Puerto Saavedra, Queule y Mehuín, Colun; navajuelas en Niebla, almejas en Playa Brava y Carelmapu; choritos en Chepu; 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 documento de avance corresponden a los obtenidos durante los 11 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 11 de 2021. Para el análisis cualitativo del fitoplancton las muestras son 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 μm , además se estima 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 identifican 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 realizan 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 registra la transparencia de agua mediante disco Secchi. Las estaciones registran temperatura, humedad relativa del aire, radiación solar, velocidad y dirección del viento y precipitación.



Finalmente se incluyen aspectos relativos a la gestión del proyecto respecto de solicitudes administrativas para el cumplimiento legal y normativo, licitaciones públicas y privadas para identificar los armadores que entregaron los servicios para la realización del proyecto y aspectos diversos sobre la ejecución del estudio.



ÍNDICE GENERAL

	Página
RESUMEN EJECUTIVO	i
ÍNDICE GENERAL	<u>¡Error! Marcador no definido.</u>
ÍNDICE DE TABLAS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
1. INTRODUCCIÓN	24
2. ANTECEDENTES	27
3. OBJETIVOS	28
4. METODOLOGÍA DE TRABAJO	29
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	29
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	38
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.	42
4.4 Metodología objetivo específico 4. Difundir los resultados del programa, realizar acciones de capacitación y fortalecer la vinculación con el medio	50
5. GESTION DEL PROYECTO	53
6.RESULTADOS Y DISCUSIONES	56



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	56
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.	102
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... ..	122
6.4 Objetivo específico 4. Difundir los resultados del programa, realizar acciones de capacitación y fortalecer la vinculación con el medio	128
7. CONCLUSIONES	146
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	151



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 1.1.4. 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 GTX-2, DA, PTX-2, AZA2 y Gym por HPLC MS/MS en muestras de mariscos recolectados en estaciones de la región de Biobío.

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



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

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

Tabla 1.1.9. Concentración de GTX-2, DA, PTX-2, AZA2 y Gym por HPLC MS/MS en muestras de Fitoplancton recolectados en estaciones seleccionadas de la región del Biobío.

Tabla 1.1.10. Concentración de GTX-2, DA, PTX-2, AZA2 y Gym por HPLC MS/MS en muestras de Fitoplancton recolectados en estaciones seleccionadas de la región de la Araucanía.

Tabla 1.1.11. Concentración de GTX-2, DA, PTX-2, AZA2 y Gym por HPLC MS/MS en muestras de Fitoplancton recolectados en estaciones seleccionadas de la región de los Ríos.

Tabla 1.1.12. Concentración de GTX-2, DA, PTX-2, AZA2 y Gym por HPLC MS/MS en muestras de Fitoplancton recolectados en estaciones seleccionadas de la región de los Ríos.

Tabla 1.1.13. Estadístico descriptivo con los datos de nitrito (NO_2), nitrato (NO_3), fosfato (PO_4) y sílice (SiO_4) obtenidos desde el 2018 al 2020 para el estrato 0-10m.

Tabla 1.1.14. Estadístico descriptivo con los datos de nitrito (NO_2), nitrato (NO_3), fosfato (PO_4) y sílice (SiO_4) obtenidos desde el 2018 al 2020 para el estrato 10-20 m

Tabla 1.4.1. Listado de especies (nombres biológico y paleontológico) de quistes de dinoflagelados registrados en sedimento superficial de las regiones del Biobío, La Araucanía, Los Ríos y Los Lagos. Muestras obtenidas entre noviembre y diciembre 2021 (primavera). Se incluye estrategia nutricional (a: autótrofo, h: heterótrofo, nd: no determinada) y número de fotomicrografía en las Figuras 1-3. Especies productoras de toxinas confirmadas en Chile (*).

Tabla 1.4.2. Diversidad y abundancia total de quistes y quistes llenos (entre paréntesis) de dinoflagelados en sedimentos superficiales de la Región del Biobío obtenidos en diciembre 2021 (primavera). Números expresados como quistes cm^{-3} de sedimento húmedo.

Tabla 1.4.3. Diversidad y abundancia de quistes totales y quistes llenos (entre paréntesis) de dinoflagelados en sedimentos superficiales de la Región de La Araucanía obtenidos en noviembre 2021 (primavera). Números expresados como quistes cm^{-3} de sedimento húmedo.

Tabla 1.4.4. Diversidad y abundancia de quistes totales y quistes llenos (entre paréntesis) de dinoflagelados en sedimentos superficiales de la Región de Los Ríos obtenidos en noviembre 2021 (primavera). Números expresados como quistes cm^{-3} de sedimento húmedo.



Tabla 1.4.5. Diversidad y abundancia de quistes totales y quistes llenos (entre paréntesis) de dinoflagelados en sedimentos superficiales de la Región de Los Lagos obtenidos en noviembre 2021 (primavera). Números expresados como quistes cm^{-3} de sedimento húmedo.

Tabla 2.2.1. Listado consolidado de dinoflagelados registrados en la columna de agua (célula móvil) y/o en el sedimento (quiste bentónico) en las regiones del Biobío, La Araucanía, Los Ríos y Los Lagos, entre enero 2021 y enero 2022

Tabla 2.3.1. Concentraciones máximas, mínimas, promedios y desviación estándar para cada profundidad durante los meses de marzo 2018 a diciembre 2019

Tabla 3.3.1. Abundancia celular máxima (cels. mL^{-1} ; ACM) y tasa de crecimiento (Div.cels $^{-1}$; TC) de la cepa PDMA1 de *D. acuminata* aislada de la costa de Océano Pacífico cultivada a distintas intensidades de luz. DE: desviación estándar.

Tabla 3.3.2. Abundancia celular máxima (cels. mL^{-1} ; ACM) y tasa de crecimiento (Div.cels $^{-1}$; TC) de la cepa PDMA1 de *D. acuminata* aislada de la costa de Océano Pacífico cultivada a distintas temperaturas e intensidad de luz. DE: desviación estándar.



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 20 especies que más contribuyen a la abundancia total del fitoplancton en las estaciones ubicadas a 2 millas desde la costa.

Figura 1.1.2. Densidad (Células L⁻¹) de las 20 especies que más contribuyen a la abundancia total del fitoplancton en las estaciones ubicadas a 5 millas desde la costa.

Figura 1.1.3. Densidad (Células L⁻¹) de las 20 especies que más contribuyen a la abundancia total del fitoplancton en las estaciones ubicadas a 10 millas desde la costa

Figura 1.1.4. Distribución espacio – temporal de la abundancia relativa de *A. catenella* durante los Cruceros 1 a 11.

Figura 1.1.5. Distribución espacio – temporal de la abundancia relativa de *A. ostenfeldii* durante los Cruceros 1 a 11.



Figura 1.1.6. Distribución espacio – temporal de la abundancia relativa de *D. acuminata* durante los Cruceros 1 a 11.

Figura 1.1.7. Distribución espacio – temporal de la abundancia relativa de *D. acuta* durante los Cruceros 1 a 11.

Figura 1.1.8. Distribución espacio – temporal de la abundancia relativa de *P. reticulatum* durante los Cruceros 1 a 11.

Figura 1.1.9. Distribución espacio – temporal de la abundancia relativa de *P. cf. australis* durante los Cruceros 1 a 11.

Figura 1.1.10. Distribución espacio – temporal de la abundancia relativa de *P. cf. pseudodelicatissima* durante los Cruceros 1 a 11.

Figura 1.3.1. a) Crucero 1-2 millas, b) Crucero 1-5 millas y c) Crucero 1-10 millas para las variables de Temperatura (°C), Salinidad (UPS), Oxígeno (ml/L) y Fluorescencia (mg/m³) entre las latitudes 36°S y 44°S.

Figura 1.3.2. a) Crucero 2-2 millas, b) Crucero 2-5 millas y c) Crucero 2-10 millas para las variables de Temperatura (°C), Salinidad (UPS), Oxígeno (ml/L) y Fluorescencia (mg/m³) entre las latitudes 36°S y 44°S

Figura 1.3.3. a) Crucero 3-2 millas, b) Crucero 3-5 millas y c) Crucero 3-10 millas para las variables de Temperatura (°C), Salinidad (UPS), Oxígeno (ml/L) y Fluorescencia (mg/m³) entre las latitudes 36°S y 44°S.

Figura 1.3.4. a) Crucero 4-2 millas, b) Crucero 4-5 millas y c) Crucero 4-10 millas para las variables de Temperatura (°C), Salinidad (UPS), Oxígeno (ml/L) y Fluorescencia (mg/m³) entre las latitudes 36°S y 44°S.

Figura 1.3.5. a) Crucero 5-2 millas, b) Crucero 5-5 millas y c) Crucero 5-10 millas para las variables de Temperatura (°C), Salinidad (UPS), Oxígeno (ml/L) y Fluorescencia (mg/m³) entre las latitudes 36°S y 44°S.

Figura 1.3.6. a) Crucero 6-2 millas, b) Crucero 6-5 millas y c) Crucero 6-10 millas para las variables de Temperatura (°C), Salinidad (UPS), Oxígeno (ml/L) y Fluorescencia (mg/m³) entre las latitudes 36°S y 44°S.

Figura 1.3.7. a) Crucero 7-2 millas, b) Crucero 7-5 millas y c) Crucero 7-10 millas para las variables de Temperatura (°C), Salinidad (UPS), Oxígeno (ml/L) y Fluorescencia (mg/m³) entre las latitudes 36°S y 44°S.



Figura 1.3.8. a) Crucero 8-2 millas, b) Crucero 8-5 millas y c) Crucero 8-10 millas para las variables de Temperatura ($^{\circ}\text{C}$), Salinidad (UPS), Oxígeno (ml/L) y Fluorescencia (mg/m³) entre las latitudes 36°S y 44°S.

Figura 1.3.9. a) Crucero 9-2 millas, b) Crucero 9-5 millas y c) Crucero 9-10 millas para las variables de Temperatura ($^{\circ}\text{C}$), Salinidad (UPS), Oxígeno (ml/L) y Fluorescencia (mg/m³) entre las latitudes 36°S y 44°S.

Figura 1.3.10. a) Crucero 10-2 millas, b) Crucero 10-5 millas y c) Crucero 10-10 millas para las variables de Temperatura ($^{\circ}\text{C}$), Salinidad (UPS), Oxígeno (ml/L) y Fluorescencia (mg/m³) entre las latitudes 36°S y 44°S.

Figura 1.3.11. a) Crucero 10-2 millas, b) Crucero 10-5 millas y c) Crucero 10-10 millas para las variables de Temperatura ($^{\circ}\text{C}$), Salinidad (UPS), Oxígeno (ml/L) y Fluorescencia (mg/m³) entre las latitudes 36°S y 44°S.

Figura 1.3.12. Sección longitudinal de las masas de agua entre los 10° S y los 50° S. Tomado de Silva *et al.*, 2009. ESSW=AESS, SAAW=ASAA, AAIW=AIAA, PDW=APP.

Figura 1.3.13. Diagrama de un sistema de surgencia en la costa de Chile.

Figura 1.3.14. Concentraciones de nitrito (NO_2) para las 5 regiones de muestreo en el estrato 0-10m y 10-20m, durante 2018, 2019 y 2020.

Figura 1.3.15. Concentraciones de nitrato (NO_3) para las 5 regiones de muestreo en el estrato 0-10m y 10-20m, durante 2018, 2019 y 2020

Figura 1.3.16. Concentraciones de fosfato (PO_4) para las 5 regiones de muestreo en el estrato 0-10m y 10-20m, durante 2018, 2019 y 2020

Figura 1.3.17. Concentraciones de silicato (SiO_4) para las 5 regiones de muestreo en el estrato 0-10m y 10-20m, durante 2018, 2019 y 2020

Figura 1.3.18. Diagrama de cajas para concentraciones de nitrito (NO_2), nitrato (NO_3), fosfato (PO_4) y sílice (SiO_4) en las 5 regiones de muestreo en el estrato 0-10m, durante los meses promediados.

Figura 1.3.19. Diagrama de cajas para concentraciones de nitrito (NO_2), nitrato (NO_3), fosfato (PO_4) y sílice (SiO_4) en las 5 regiones de muestreo en el estrato 10-20m, durante los meses promediados.



Figura 1.3.20. Promedios y desviación entre meses durante los periodos 2018, 2019 y 2020, para las concentraciones de nitrito (NO_2), nitrato (NO_3), fosfato (PO_4) y sílice (SiO_4) en las 5 regiones de muestreo en el estrato 0-10m

Figura 1.3.21. Promedios y desviación entre meses durante los periodos 2018, 2019 y 2020, para las concentraciones de nitrito (NO_2), nitrato (NO_3), fosfato (PO_4) y sílice (SiO_4) en las 5 regiones de muestreo en el estrato 10-20m

Figura 1.3.22. Serie de tiempo de las concentraciones de nitrito (NO_2) para las 5 regiones de muestreo en el estrato 0-10m, durante 2018, 2019 y 2020.

Figura 1.3.23. Serie de tiempo de las concentraciones de nitrito (NO_2) para las 5 regiones de muestreo en el estrato 10-20m, durante 2018, 2019 y 2020.

Figura 1.3.24. Serie de tiempo de las concentraciones de nitrato (NO_3) para las 5 regiones de muestreo en el estrato 0-10m, durante 2018, 2019 y 2020.

Figura 1.3.25. Serie de tiempo de las concentraciones de nitrato (NO_3) para las 5 regiones de muestreo en el estrato 10-20m, durante 2018, 2019 y 2020.

Figura 1.3.26. Serie de tiempo de las concentraciones de fosfato (PO_4) para las 5 regiones de muestreo en el estrato 0-10m, durante 2018, 2019 y 2020.

Figura 1.3.27. Serie de tiempo de las concentraciones de nitrato (PO_4) para las 5 regiones de muestreo en el estrato 10-20m, durante 2018, 2019 y 2020.

Figura 1.3.28. Serie de tiempo de las concentraciones de silicato (SiO_4) para las 5 regiones de muestreo en el estrato 0-10m, durante 2018, 2019 y 2020

Figura 1.3.29. Serie de tiempo de las concentraciones de silicato (SiO_4) para las 5 regiones de muestreo en el estrato 10-20m, durante 2018, 2019 y 2020

Figura 1.4.1. Quistes de dinoflagelados registrados en sedimentos de las regiones del Biobío, La Araucanía, Los Ríos y Los Lagos. (A, B) *Alexandrium catenella*, (C) *Alexandrium ostenfeldii*, (D) *Protoceratium reticulatum*, (E) cf. *Lingulodinium polyedra*, (F) *Spiniferites pachydermus*, (G) *Spiniferites* cf. *ramosus*, (H) *Gonyaulax spinifera* (*Nematosphaeropsis labyrinthus*), (I) *Biecheleria* sp., (J) *Dactylodinium arachnoides*, (K) *Pentaparsodinium dalei*, (L) *Scrippsiella donghaiensis*, (M) *Scrippsiella lachrymosa*, (N) *Scrippsiella precaria*, (Ñ) *Scrippsiella patagonica*, (O) *Scrippsiella* sp., (P) *Echinidinium aculeatum*, (Q) *Echinidinium* cf. *granulatum*, (R) cf. *Oblea rotunda*, (S) cf. *Lebouraia pusilla*, (T) cf. *Huia caspica*, (U) *Niea acanthocysta*, (V) *Niea torta*, (W) *Preperidinium meunieri*. Barra de escala: 10 μm .



Figuras 1.4.2. Quistes de dinoflagelados registrados en sedimentos de las regiones del Biobío, La Araucanía, Los Ríos y Los Lagos. (A) *Diplopsalopsis ovata*, (B) *Brigantedinium* cf. *asymmetricum*, (C) *Archaeoperidinium minutum*, (D) *Archaeoperidinium constrictum*, (E) cf. *Protooperidinium haizhouense*, (F) *Trinovantedinium variable*, (G) *Selenopemphix tholus*, (H) *Selenopemphix undulata*, (I) *Protooperidinium americanum*, (J) *Protooperidinium avellana*, (K) *Protooperidinium claudicans*, (L) *Protooperidinium conicoides*, (M) *Protooperidinium conicum*, (N) *Protooperidinium* cf. *conicum*, (Ñ) *Protooperidinium denticulatum*, (O) *Protooperidinium excentricum*, (P) *Protooperidinium leonis*, (Q) *Protooperidinium nudum*, (R) *Protooperidinium oblongum*, (S) *Protooperidinium pentagonum*, (T) *Protooperidinium punctulatum*, (U) *Protooperidinium thorianum*, (V) *Protooperidinium thulesence*, (W) *Protooperidinium* spp., (X) *Protooperidinium* sp. 3. Barra de escala: 10 μ m

Figuras 1.4.3. Quistes de dinoflagelados registrados en sedimentos de las regiones del Biobío, La Araucanía, Los Ríos y Los Lagos. (A) *Protooperidinium* sp. 4, (B) *Protooperidinium* sp. 6, (C) *Protooperidinium* sp. 8, (D) *Protooperidinium* sp. 9, (E) *Gyrodinium undulans*, (F) *Polykrikos schwartzii*, (G) *Polykrikos kofoidii*, (H) *Polykrikos* sp., (I) No identificado 4, (J) No identificado 9, (K) No identificado 10, (L) No identificado 42, (M) No identificado 44, (N) No identificado 45, (Ñ) No identificado 46. Barra de escala 10.

Figuras 1.4.4. Número de especies identificadas en el área de estudio de acuerdo a órdenes de dinoflagelados.

Figura 1.4.5. Número total de especies identificadas en sedimentos de las regiones del Biobío, La Araucanía, Los Ríos y Los Lagos.

Figuras 1.4.6. Abundancia total de quistes identificados en sedimento superficial de las regiones del Biobío, La Araucanía, Los Ríos y Los Lagos de acuerdo a órdenes de dinoflagelados.

Figuras 1.4.7. Abundancia total de quistes No Identificados (NI) registrados en sedimento superficial de las regiones del Biobío, La Araucanía, Los Ríos y Los Lagos.

Figuras 1.4.8. Estrategia nutricional de especies de quistes de dinoflagelados registrados en sedimento superficial de las regiones del Biobío, La Araucanía, Los Ríos y Los Lagos.

Figuras 1.4.9. Abundancia total de quistes de dinoflagelados registrados en sedimento superficial de las regiones del Biobío, La Araucanía, Los Ríos y Los Lagos.

Figuras 1.4.10. Abundancia de quistes de dinoflagelados en sedimento superficial de la Región del Biobío obtenido en diciembre 2021 (primavera). Valores expresados como quistes cm^{-3} de sedimento húmedo.



Figuras 1.4.11. Abundancia de quistes de dinoflagelados en sedimento superficial de la Región de La Araucanía obtenido en noviembre 2021 (primavera). Valores expresados como quistes cm^{-3} de sedimento húmedo.

Figuras 1.4.12. Abundancia de quistes de dinoflagelados en sedimentos superficial de la Región de Los Ríos obtenido en noviembre 2021 (primavera). Valores expresados como quistes cm^{-3} de sedimento húmedo.

Figuras 1.4.13. Abundancia de quistes de dinoflagelados en sedimentos superficial de la Región de Los Ríos obtenido en noviembre 2021 (primavera). Valores expresados como quistes cm^{-3} de sedimento húmedo.

Figuras 1.4.14. Registro total de quistes vacíos (germinados) y quistes llenos (con protoplasma) en el área de estudio.

Figuras 1.4.15. Registro de quistes vacíos (germinados) y quistes llenos (con protoplasma) en la Región del Biobío

Figuras 1.4.16. Registro de quistes vacíos (germinados) y quistes llenos (con protoplasma) en la Región de La Araucanía.

Figuras 1.4.17. Registro de quistes vacíos (germinados) y quistes llenos (con protoplasma) en la Región de Los Ríos

Figuras 1.4.18. Registro de quistes vacíos (germinados) y quistes llenos (con protoplasma) en la Región de Los Lagos.

Figuras 1.4.19. Quistes vacíos (germinados), quistes llenos (con protoplasma) y abundancia total de quistes en estaciones de las regiones del Biobío, La Araucanía, Los Ríos y Los Lagos.

Figuras 1.4.20. Riqueza de especies de quistes en estaciones de las regiones del Biobío, La Araucanía, Los Ríos y Los Lagos. Valor promedio indicado por línea roja punteada.

Figuras 1.4.21. Riqueza de especies promedio en las regiones del Biobío, La Araucanía, Los Ríos y Los Lagos.

Figuras 1.4.22. Índice de diversidad de Shannon-Wiener (H') en estaciones de las regiones del Biobío, La Araucanía, Los Ríos y Los Lagos. Valor promedio indicado por línea roja punteada.

Figuras 1.4.23. Índice de diversidad de Shannon-Wiener (H') promedio en las regiones del Biobío, La Araucanía, Los Ríos y Los Lagos.



Figuras 1.4.24. Equitatividad de Shannon (E_H) en estaciones de las regiones del Biobío, La Araucanía, Los Ríos y Los Lagos. Valor promedio indicado por línea roja punteada.

Figuras 1.4.25. Equitatividad de Shannon (E_H) promedio en las regiones del Biobío, La Araucanía, Los Ríos y Los Lagos.

Figuras 1.4.26. Abundancia de quistes de *A. catenella* en la Región de Los Lagos. Valores expresados en quistes cm^{-3} de sedimento húmedo.

Figuras 1.4.27. Abundancia de quistes de *A. ostenfeldii* en la Región del Biobío. Valores expresados en quistes cm^{-3} de sedimento húmedo.

Figuras 1.4.28. Abundancia de quistes de *P. reticulatum* en la Región de Los Lagos. Valores expresados en quistes cm^{-3} de sedimento húmedo.

Figura 1.4.29. Células móviles de *Dactylocladus arachnoides* obtenidas a partir de la germinación de quistes de resistencia. Triángulo negro indica compleja estructura apical y triángulo blanco vesículas anfrimales del hipocono.

Figura 2.1.1 Contribución porcentual de los grupos del fitoplancton a la abundancia total durante el periodo de estudio 2018 – 2021

Figura 2.1.2 Número de especies por grupo del fitoplancton durante el periodo de estudio 2018 – 2021

Figura 2.1.3 Contribución porcentual de las principales especies del fitoplancton para cada una de las regiones de estudio, para el periodo entre el 2018 – 2021.

Figura 2.1.4 Composición fitoplanctónica de las 55 especies que contribuyen con una abundancia promedio mayor a 1000 células L^{-1} durante el periodo de estudio 2018-2021. Para cada especie se presentan las abundancias promedio (Cél L^{-1}), frecuencia de ocurrencia (%), frecuencia de ocurrencia por periodo del año (%), frecuencia de ocurrencia por región de estudio (%) y frecuencia de ocurrencia por profundidad de muestreo (%).

Figura 2.1.5. Diagrama de Olmstead-Tukey que relaciona la frecuencia de ocurrencia (%) y la densidad celular ($\log \text{Cél. L}^{-1}$), para el periodo comprendido entre marzo de 2018 y enero de 2022.

Figura 2.1.6. Frecuencia de ocurrencia (%) para la especie nociva *Alexandrium catenella* en el área de estudio.



Figura 2.1.7. Frecuencia de ocurrencia (%) para la especie nociva *Alexandrium ostenfeldii* en el área de estudio.

Figura 2.1.8. Frecuencia de ocurrencia (%) para la especie nociva *Dinophysis acuminata* en el área de estudio.

Figura 2.1.9. Frecuencia de ocurrencia (%) para la especie nociva *Dinophysis acuta* en el área de estudio.

Figura 2.1.10. Frecuencia de ocurrencia (%) para la especie nociva *Protoceratium reticulatum* en el área de estudio.

Figura 2.1.11. Frecuencia de ocurrencia (%) para la especie nociva *Pseudo-nitzschia australis* en el área de estudio.

Figura 2.1.12. Frecuencia de ocurrencia (%) para la especie nociva *Pseudo-nitzschia pseudodelicatissima* en el área de estudio.

Figura 2.1.13. Frecuencia de ocurrencia (%) para el grupo de las Kareniaceas en el área de estudio.

Figura 2.1.14. Sección latitudinal que muestra los valores de Temperatura (°C), Salinidad (PSU), Oxígeno (ml/L) y Fluorescencia (mg/m³) registrados durante febrero de 2018.

Figura 2.1.15. Sección latitudinal que muestra los valores de Temperatura (°C), Salinidad (PSU), Oxígeno (ml/L) y Fluorescencia (mg/m³) registrados durante febrero de 2019.

Figura 2.1.16. Sección latitudinal que muestra los valores de Temperatura (°C), Salinidad (PSU), Oxígeno (ml/L) y Fluorescencia (mg/m³) registrados durante febrero de 2020.

Figura 2.1.17. Sección latitudinal que muestra los valores de Temperatura (°C), Salinidad (PSU), Oxígeno (ml/L) y Fluorescencia (mg/m³) registrados durante febrero de 2021.

Figura 2.1.18. 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 2.1.19. 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 2019.



Figura 2.1.20. 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 2.1.21. 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 2021

Figura 2.1.22. Distribución espacio – temporal de la abundancia relativa de *A. catenella* para el periodo de estudio comprendido entre febrero de 2018 a enero de 2021.

Figura 2.1.23. Distribución espacio – temporal de la abundancia relativa de *A. ostenfeldii* para el periodo de estudio comprendido entre febrero de 2018 a enero de 2021.

Figura 2.1.24. Distribución espacio – temporal de la abundancia relativa de *D. acuminata* para el periodo de estudio comprendido entre febrero de 2018 a enero de 2021.

Figura 2.1.25. Distribución espacio – temporal de la abundancia relativa de *D. acuta* para el periodo de estudio comprendido entre febrero de 2018 a enero de 2021.

Figura 2.1.26. Distribución espacio – temporal de la abundancia relativa de *P. reticulatum* para el periodo de estudio comprendido entre febrero de 2018 a enero de 2021.

Figura 2.1.27. Distribución espacio – temporal de la abundancia relativa de *P. cf. australis* para el periodo de estudio comprendido entre febrero de 2018 a enero de 2021.

Figura 2.1.28. Distribución espacio – temporal de la abundancia relativa de *P. cf. pseudodelicatissima* para el periodo de estudio comprendido entre febrero de 2018 a enero de 2021.

Figura 2.1.29. Distribución espacial del promedio de: temperatura (°C), salinidad (UPS), Clorofila (mg m⁻³), Abundancia relativa de las especies nocivas y concentración de toxinas Ácido Domoico AD (ng g⁻¹), Pectenotoxina 2 PTX-2 (ng g⁻¹), Azaspirácido 2 AZA2 (ng g⁻¹), Gymnodimina Gym (ng g⁻¹), Espirolidos SPX1 (ng g⁻¹), N-sulfocarbamil gonyautoxinas C1, C2 (µg eq. STX 2HCL 100 g⁻¹), Gonyautoxinas GTX1-5 (µg eq. STX 2HCL 100 g⁻¹), Saxitoxinas (µg eq. STX 2HCL 100 g⁻¹), para cada una de las estaciones de monitoreo de mariscos.

Figura 2.1.30. Áreas Bootstrap para el promedio anual de la abundancia de la composición fitoplanctónica para todo el periodo de estudio (2018 – 2021), ploteadas en un gráfico de Escalamiento Multidimensional Métrico (mMDS) con 60 bootstraps por grupo y 95% de cobertura.

Figura 2.1.31. Áreas Bootstrap para el promedio anual de las variables ambientales (Temperatura (°C), Salinidad (PSU), Oxígeno (ml/L), Fluorescencia (ug/L), T°Aire (°C), Nubosidad, Presión Atm (Bar), Dir Viento (°) IntViento (m/s), Secchi (m), Luz (Lux)) para todo el periodo de estudio (2018 –



2021), ploteadas en un gráfico de Escalamiento Multidimensional Métrico (mMDS) con 60 bootstraps por grupo y 95% de cobertura.

Figura 2.1.32. Áreas Bootstrap para el promedio mensual de la abundancia de la composición fitoplanctónica para todo el periodo de estudio (2018 – 2021), ploteadas en un gráfico de Escalamiento Multidimensional Métrico (mMDS) con 25 bootstraps por grupo y 95% de cobertura.

Figura 2.1.33. Áreas Bootstrap para el promedio mensual de las variables ambientales (Temperatura (°C), Salinidad (PSU), Oxígeno (ml/L), Fluorescencia (ug/L), T° Aire (°C), Nubosidad, Presión Atm (Bar), Dir Viento (°), IntViento (m/s), Secchi (m), Luz (Lux)) para todo el periodo de estudio (2018 – 2021), ploteadas en un gráfico de Escalamiento Multidimensional Métrico (mMDS) con 60 bootstraps por grupo y 95% de cobertura.

Figura 2.3.1. Distribución vertical y espacial de las concentraciones de PO_4^{3-} (μM) a 0 m (rojo), 5 m (naranja), 10 m (amarillo), 15 m (verde), 20 m (celeste) y 30 m (azul) para las 20 localidades ordenadas de norte a sur, Coliumo, Colcura, Tubul, Llico, Nehuentué, Puerto Saavedra, Queule, Mehuin, Niebla, Chaihuin, Rio Bueno, Bahía Mansa, Estaquilla, Playa Brava, Faro Corona, Carelmapu, Mar Brava, Chepu, Cucao, Caleta Zorra, donde el eje y muestra la concentración de PO_4^{3-} (μM) y el eje x la fecha de muestreo realizado entre marzo 2018 a diciembre 2019.

Figura 2.3.2. Distribución vertical y espacial de las concentraciones de nitrito, NO_2^- (μM) a 0 m (rojo), 5 m (naranja), 10 m (amarillo), 15 m (verde), 20 m (celeste) y 30 m (azul) para las 20 localidades ordenadas de norte a sur, Coliumo, Colcura, Tubul, Llico, Nehuentué, Puerto Saavedra, Queule, Mehuin, Niebla, Chaihuin, Rio Bueno, Bahía Mansa, Estaquilla, Playa Brava, Faro Corona, Carelmapu, Mar Brava, Chepu, Cucao, Caleta Zorra, donde el eje y muestra la concentración de NO_2^- (μM) y el eje x la fecha de muestreo realizado entre marzo 2018 a diciembre 2019.

Figura 2.3.3. Distribución vertical y espacial de las concentraciones de nitrato, NO_3^- (μM) a 0 m (rojo), 5 m (naranja), 10 m (amarillo), 15 m (verde), 20 m (celeste) y 30 m (azul) para las 20 localidades ordenadas de norte a sur, Coliumo, Colcura, Tubul, Llico, Nehuentué, Puerto Saavedra, Queule, Mehuin, Niebla, Chaihuin, Rio Bueno, Bahía Mansa, Estaquilla, Playa Brava, Faro Corona, Carelmapu, Mar Brava, Chepu, Cucao, Caleta Zorra, donde el eje y muestra la concentración de NO_3^- (μM) y el eje x la fecha de muestreo realizado entre marzo 2018 a diciembre 2019.

Figura 2.3.4. Mapa de los promedios latitudinales de las Anomalías de Energía Potencial (J/m^3) para las estaciones seleccionadas (Izquierda) y distribución de la Anomalía de Energía Potencial (J/m^3) para cada localidad de norte a sur (derecha) y las fechas analizadas (eje inferior derecho).

Figura 2.3.5. Mapa de los promedios latitudinales de la Profundidad de la capa de agua dulce superficial “HF” (m) para las estaciones seleccionadas (enumeradas) (Izquierda) y distribución de la



Profundidad de la capa de agua dulce superficial “HF” (m) para cada localidad de norte a sur y las fechas analizadas

Figura 2.3.6. Distribución vertical y espacial de la Salinidad para las profundidades discretas en líneas de colores, 0 m (rojo), 5 m (naranja), 10 m (amarillo), 15 m (verde), 20 m (celeste) y 30 m (azul) metros para las 20 estaciones ordenadas de norte a sur, Coliumo, Colcura, Tubul, Llico, Nehuentué, Puerto Saavedra, Queule, Mehuin, Niebla, Chaihuin, Rio Bueno, Bahía Mansa, Estaquilla, Playa Brava, Faro Corona, Carelmapu, Mar Brava, Chepu, Cucao, Caleta Zorra, donde el eje *y* son la Salinidad y el eje *x* es el período del muestreo realizado entre marzo 2018 a diciembre 2019.

Figura 2.3.7. Mapa de los promedios latitudinales de la Clorofila-a (mg/m^2) integrada para las estaciones seleccionadas (enumeradas) (Izquierda) y distribución de la clorofila integrada para cada localidad de norte a sur y las fechas analizadas.

Figura 2.3.8. MDS (Metric Dimensional Scaling) para los datos de nutrientes (Nitri0, Nitri30, Nitra0, Nitra30, Fosfa0, Fosfa30, MDnitri, MDnitra, MDfosfa, NitriInt, NitralInt, FosfalInt) de los promedios (av) y agrupaciones para los años 2018 (azul) y 2019 (rojo).

Figura 2.3.9. MDS (Metric Dimensional Scaling) para los datos de nutrientes (Nitri0, Nitri30, Nitra0, Nitra30, Fosfa0, Fosfa30, MDnitri, MDnitra, MDfosfa, NitriInt, NitralInt, FosfalInt) de los promedios Bootstrap (av) para la región de Biobío (azul), región de la Araucanía (rojo) región de Los Ríos (verde) y región de Los Lagos (púrpura) durante meses de marzo al 2018 a diciembre 2019.

Figura 2.3.10. Metric MDS para los datos de nutrientes (Nitri0, Nitri30, Nitra0, Nitra30, Fosfa0, Fosfa30, MDnitri, MDnitra, MDfosfa, NitriInt, NitralInt, FosfalInt) de los promedios Bootstrap para cada localidad entre los meses de enero (1), febrero (2), marzo (3), abril (4), mayo (5), junio (6), julio (7), agosto (8), septiembre (9), octubre (10), noviembre (11), diciembre (12).

Figura 2.3.11. Análisis Canónico de Coordenadas principales (CAP) para la Anomalía de energía potencial, PEA (J/m^3), Profundidad de la capa de agua dulce superficial, HF (m), Máximo gradiente de la frecuencia Brunt-Vaisala MBV(ciclos/hora), Profundidad del máximo gradiente de la frecuencia Brunt-Vaisala PMBV (m), Clorofila integrada CHLI y máximo de clorofila integrada MCHL como impulsores de la distribución regional estaciones de la región Biobío en azul, púrpura para La Araucanía, verde Los Ríos y rojo Los Lagos) para los datos de nutrientes (Nitri0, Nitri30, Nitra0, Nitra30, Fosfa0, Fosfa30, MDnitri, MDnitra, MDfosfa, NitriInt, NitralInt, FosfalInt), durante los promedios de los meses octubre, noviembre, diciembre para los años 2018 y 2019.

Figura 2.3.12. Caudal en el Río Calle Calle en Pupunahue para el período de enero 2017 a enero 2020.



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 IV. Barras de color azul representan el número de copias del gene ribosomal para cada estación analizada.

Figura 3.1.2. Detección de *A. ostentfeldii* mediante PCR tiempo real (qPCR) para las estaciones ubicadas en las 5 millas para cada uno de los cruceros de la Etapa IV. Barras de color azul 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 IV. Barras de color azul representan el número de copias del gene ribosomal para cada estación analizada.

Figura 3.1.4. Número de ASV por sitio de muestreo.

Figura 3.1.5. Abundancia relativa (N° de lecturas) a nivel taxonómico de genero para la clase *Dinophyceae* y *Bacillariophyta*.

Figura 3.3.1. Reconstrucción filogenética de las secuencias de *D. acuminata* aisladas de la costa del Pacífico (PDAM1, PDAM2 y PDAM3) utilizando una aproximación bayesiana.

Figura 3.3.2. Fotografías de la cepa PDAM1 de *D. acuminata* aislada de la costa del océano Pacífico a lo largo de sus fases de crecimiento. A - F Células en crecimiento exponencial. G – R células después de tres meses de cultivo sin adición de presa (*M. rubrum*).

Figura 3.3.3. Curva de crecimiento de la cepa PDAM1 de *D. acuminata* (naranja) aislada de la costa del océano Pacífico y de su presa *M. rubrum* (azul) cultivadas a distintas intensidades de luz.

Figura 3.3.4. Curva de crecimiento de la cepa PDAM1 de *D. acuminata* (naranja) aislada de la costa del océano Pacífico y de su presa *M. rubrum* (azul) cultivadas a distintas intensidades de luz y temperatura.

Figura 3.3.5. Producción de toxinas de la cepa de *D. acuminata* PDAM1 aislada de la costa del océano Pacífico y cultivada a distinta intensidad de luz y temperatura.

Figura 4.1.1.- Vista principal del WebMap “Situación Marea Roja Costa-Pacífico 2021

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

Figura 4.1.3.- Ejemplo de consulta directa a Estaciones de Monitoreo e información que contiene la entidad, desplegada como recuadro de la estación consultada o como tabla con toda la información de la capa.



Figura 4.1.4.- Ejemplo de consulta dinámica en el panel del WebMap y gráfico asociado a esta. En el ejemplo se aprecia situación de Abundancia Relativa para *Dinophysis acuminata*, crucero 1.

Figura 4.1.5.- Servicios web (MapServer) accesibles por medio de url, tanto para información actual e histórica, del Programa Costa-Pacífico, con acceso a información de estaciones de monitoreo, reportes y abundancias relativas.

Figura 4.1.6 Imagen de entrada a la aplicación i-FAN. En la parte inferior (resaltada en un cuadro de color), están disponibles los banners con los cuales trabaja esta app.

Figura 4.1.7 En la sección del menú “Semáforos”, se encuentra el significado de cada uno de ellos. Cada color (blanco, verde, amarillo, naranja y rojo), está relacionado con un estado de alerta (situación de ausencia, situación normal, precaución moderada, alerta temprana y situación de riesgo), las que dependen de la escala de abundancia relativa de cada especie presentada (entre 0 a 10).

Figura 4.1.8. En la sección del menú “Alertas”, se encuentran los dos principales monitoreos de marea roja. Al ingresar al banner de Marea Roja Pacífico, se despliegan las áreas asociadas a este Monitoreo.

Figura 4.1.9. En la sección del menú “Más”, se despliega la información general del Monitoreo, además de noticias, preguntas frecuentes y fotografías.

Figura 4.2.1. Invitación al taller de difusión de resultados de los Programas en los sistemas de Fiordos y Canales, y océano Pacífico del centro sur de Chile.

Figura 4.2.2 Invitación para el taller de actualización de conocimientos relacionados a floraciones de algas nocivas y toxinas marinas.

Figura 4.3.1. Hall de acceso al centro CECREA con los diversos stands del grupo de Putemún, IFOP, y su exposición sobre oceanografía física.

Figura 4.3.2. Diversas actividades realizadas en el hall principal de CECREA, Castro

Figura 4.3.3. Sala-Laboratorio, con espacios y equipos necesarios para el desarrollo de diversas actividades para el reconocimiento de las principales especies de microalgas en nuestro país.

Figura 4.3.4. Exposición de videos relacionados a Floraciones de Algas Nocivas en la sala multimedia del CECREA.



INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO / DIVISIÓN INVESTIGACIÓN EN ACUICULTURA



1. INTRODUCCIÓN

Durante las últimas cinco décadas se ha apreciado, a escala mundial, un incremento aparente 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 productoras de toxinas. Las primeras, provocan daño principalmente al agotar el oxígeno y los nutrientes del agua (Smayda, 1997; Reguera et al., 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* Halim, 1960 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. Caracterizadas 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 para separarlas a nivel de especie, el uso de microscopía electrónica (Hasle, 1995; 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 espirólidos en cepas de Estados Unidos, Canadá, Dinamarca y Noruega (Cembella et al., 2002). En la etapa pasada 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 las TAM, este complejo tóxico ha sido vinculado a las diatomeas *P. australis*, Frenguelli y *P. pseudodelicatissima*, Hasle. 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 de magnitud 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 Nehuentú 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 2021 se ejecutó la cuarta Etapa de este programa, el cual se desarrolla 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 2021–22 se encuentra en su etapa XV. El programa incluye 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 cuarta Etapa el estudio se estructuró sobre la base de un muestreo mensual, con un total de 11 cruceros (febrero a diciembre de 2021) en un lapso anual.

En lo fundamental este programa permitirá 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 recolectan 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 efectuará 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 continuará con el formato para difundir la información derivada del estudio, de tal forma que ésta esté disponible para todo público, usando distintos formatos de las redes sociales.



2. ANTECEDENTES

Las Floraciones Algas 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, ambos programas son 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 alimentar una base de datos con 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 transectas perpendiculares a la línea de costa y con una separación entre ellas por una distancia de 2, 5 y 10 millas náuticas. Cada transecta pertenece a una red fija, dispuesto de manera representativa y según las particularidades de cada sector geográfico (**Tabla A**; Figuras **A, B, 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 de 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 11 cruces durante el periodo de estudio, comenzando el primer muestreo en el mes de enero de 2021 y finalizando el último de ellos en enero de 2022.

El muestreo de mariscos fue realizado en 17 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 recursos para asegurar la recolección durante todo el proyecto. La extracción de mariscos se llevó a cabo 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 realizó 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 acuminata*, *D. acuta*, *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 ejecutó el estudio. Se hicieron análisis cualitativos y cuantitativos de fitoplancton según la siguiente metodología:

i. 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, y se conformó una sola muestra por estación (i.e. muestra integrada de seis arrastres). Las muestras fueron fijadas con formalina neutralizada al 2-3%.



ii. 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 (que permite unir y/o separar fácilmente las dos partes de la manguera), cada sección posee una llave de paso, las cuales al cerrarlas impiden la caída del agua contenida en su interior. El agua contenida en cada una de las secciones 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

i. 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 acuminata*, *D. acuta*, *Protoceratium reticulatum*, *Pseudo-nitzschia cf. australis* y *P. cf. pseudodelicatissima*, para lo cual se contabilizó el número de células en una alícuota de 0,1 ml 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 identificaron 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 decanta 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**.

ii. 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.

iii. Análisis en taxones emergentes: Tanto en las muestras cualitativas como en las cuantitativas se puso especial atención a taxones de los géneros *Karenia*, *Pseudochattonella* 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 una de estos recursos por cada región estuvo dada según lo indicado en la **Tabla C**, **Figuras B-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 y recolección de orilla (en el caso de las machas en los sectores de Mar Brava y Cucao y en el caso de los piures en bahía Mansa). 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 recolectadas, las muestras fueron etiquetadas y almacenadas 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 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 [Wright et al. \(1995\)](#). Los resultados se presentan en microgramos de ácido domoico por gramos de carne de marisco ($\mu\text{g g}^{-1}$).

Toda la información referente a resultados de toxicidad en mariscos, es entregada tabulada, con las unidades para resultados cuantitativos, o según corresponda para resultados cualitativos (en el caso de TDM). 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 ocurrió 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 autoanalizador 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))

Método de ensayo de nutrientes

Patrón de nitrito y curva de calibración.

Para los análisis de nitritos se preparó una solución estándar de nitrito de sodio, (secado 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 notificación 0,002 mg N / L, límite del método de detección según el procedimiento de la EPA MDL = 0,0001 mg N / L.

Patrón de nitrato-nitrito y curva de calibración.



Para análisis de nitrato-nitrito, se puede agregar una solución estándar de nitrito de sodio (secado a 105 ° C) hasta 7 ml de ácido sulfúrico, 5 normal, para su conservación, de 500 mg N / L NO_3^- y autoanalizador de nutrientes discretos AQ 400 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 según el procedimiento de la USEPA MDL = 0,003 mg N / L.

Patrón de fosfato y curva de calibración.

Para los análisis de fosfato, se preparó una solución estándar de ortofosfato de dihidrógeno de potasio, anhidro (secado a 105 ° C), de 1000 mg P / L PO_4^{3-} , y el autoanalizador de nutrientes discretos AQ 400 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 notificación 0,003 mg P / L, límite del método de detección mediante el procedimiento de la USEPA MDL = 0,0006 mg P / L.

Patrón de sílice y curva de calibración.

Para los análisis de sílice, se preparó una solución estándar de metasilicato de sodio monohidrato de 1000 mg de sílice / L, y el autoanalizador de nutrientes discretos AQ 400 realiza una autocalibración estándar de 8 puntos, (0.10 mg de sílice / L a 10 mg de sílice / L), para un cuantificación de regresión lineal, $r > 0,9985$, rango aplicado entre 0,1-10,0 mg de sílice / L, límite del método de detección mediante el procedimiento de la USEPA MDL = 0,018 mg de sílice / L.

Análisis estadístico para nutrientes

Se realizó análisis estadístico descriptivo con los datos obtenidos desde el 2018 al 2020, donde se incorporaron los 36 cruceros desarrollados en las tres primeras etapas de este monitoreo con la idea de generar un análisis exploratorio de los cuatro nutrientes. La aplicación de este análisis permite estudiar la tendencia, distribución y forma de cada uno de los datos de nitrito, nitrato, fosfato y sílice en los estratos 0-10m y 10-20m.

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°46'45,12"S; 73°03'43,92"W; región de La Araucanía: Maquehue a 92 m.s.n.m. en 38°46'12"S; 72°38'12,84"W, la cual se utilizó hasta junio de 2021, desde julio de 2021 no aparece disponible la estación Maquehue, por lo que se comenzó a utilizar la información de la estación La Araucanía Ad. a 96 m.s.n.m en 38°36'4"S; 72°39'12"W; región de Los Ríos: Pichoy a 18 m.s.n.m. en 39°39'3,96"S; 73°04'54,12"W; en la región de Los Lagos: provincia de Osorno,



Cañal Bajo a 61 m.s.n.m. en 40°36'18"S; 73°03'38,88"W; y en la región de Aysén: Aeródromo de Melinka a 11 m.s.n.m en 43°53'43.67"S y 73°44'20.59"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, II y III 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 (La Araucanía, Los Ríos y Los Lagos), 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 puede corresponder con los del muestreo de agua, pues depende de la profundidad y del tipo de sedimento que presente cada sector.



Frecuencia de muestreo

En esta etapa IV se realizó una campaña para la obtención de sedimento superficial para el estudio de quistes de dinoflagelados. El muestreo en las distintas regiones se realizó durante el período de primavera, particularmente entre los meses de noviembre y diciembre. En la región del Biobío se obtuvieron 15 muestras, en La Araucanía 6 muestras, en Los Ríos 4 muestras, y en Los Lagos 25 muestras, lo cual dio un total de 50 muestras de sedimento superficial.

Muestreo de sedimentos

Los muestreos se llevaron a cabo buscando, preferentemente, la presencia de sedimentos finos, es decir, 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 fueron realizados mediante buceo autónomo, mientras que en lugares donde la profundidad fue 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 dos centímetros de sedimento de cada estación. Para evitar la germinación de los quistes presentes en las muestras, 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 ($\sim 4^{\circ}\text{C}$) y ninguna muestra 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) 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 realizarán 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 será contrastado con las distintas variables ambientales (meteorológicas e hidrográficas) registradas por el programa. Para ello, se realizarán análisis exploratorios de la información disponible (análisis de componentes principales, análisis de conglomerados, relaciones, análisis canónico de correspondencias, 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, Etapa III desde enero a diciembre de 2020 y Etapa IV desde enero a diciembre de 2021), 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.

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, las variables meteorológicas seleccionadas fueron temperatura del aire (°C), nubosidad (8vos), presión barométrica (mba), dirección (grados), velocidad del viento (m/seg) y luz (lux). Estos datos ambientales fueron dispuestos en una matriz para cada una de las estaciones y fechas de muestreo.

Análisis estadístico

Para conocer la similitud/disimilitud de la composición fitoplanctónica y las variables ambientales entre cada estación de muestreo y a través del tiempo se utilizaron análisis exploratorios multivariados. Los métodos considerados fueron el Escalamiento Multidimensional Métrico (mMDS). Estos análisis se basaron en una matriz donde las variables correspondieron a cada una de las especies del fitoplancton y en el caso de las variables ambientales cada una de las 11 detalladas en el párrafo anterior, las muestras correspondieron a cada una de las estaciones y fechas de muestreo, entre febrero de 2018 y diciembre de 2021. Los datos de fitoplancton fueron transformados con raíz cuadrada, con ellos se construyó una matriz de similitud basada en distancia de Bray-Curtis ([Clarke & Warwick, 2001](#)). Mientras que, los datos ambientales fueron normalizados y transformados aplicando Log+1, con ellos se construyó la matriz de similitud a partir de distancias euclidianas.

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%.

Además, se realizaron análisis de ANOSIM basados en correlaciones de Spearman para evaluar: a) la similitud de la composición fitoplanctónica y las estaciones de muestreo asociada a cada región de estudio y b) la similitud de las variables ambientales y las estaciones de muestreo asociada a cada región de estudio.



Para visualizar las similitudes/diferencias entre las distintas estaciones/regiones de muestreo, se utilizaron promedios Bootstrap, basados en las matrices de similitud calculadas para la composición del fitoplancton y las variables ambientales. El resultado de estos análisis se presentará en gráficos de ordenación con escalamiento multidimensional métrico (mMDS). La interpretación de estos gráficos depende de cuán buena es la representación de las similitudes reales; es decir el valor de stress indica la bondad de ajuste de ésta (Holland, 2008). Valores cercanos a cero son los que indican una mejor representación de los datos. Bates (2008) entrega la siguiente clasificación: 0.0= ajuste ideal; 0.1= buen ajuste; 0.2= ajuste aceptable; 0.3 y más= mal ajuste. Por su parte Clarke (1993), sugiere que valores del stress <0,1 corresponden a buenas ordenaciones y valores <0,2 dan una interpretación de los datos potencialmente útil.

4.2.2 Actividad 2: Estudio comparativo entre quistes de resistencia bentónicos y células planctónicas de dinoflagelados

En esta etapa se realizará un estudio comparativo entre los distintos quistes de resistencia registrados en sedimentos superficiales obtenidos durante el muestreo de primavera versus los distintos dinoflagelados identificados en la columna de agua mediante análisis cualitativos durante todos los 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).

4.2.3 Actividad 3: Distribución y variabilidad de Nutrientes

Se integrará la información obtenida desde los resultados de las especies químicas inorgánicas disueltas de nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2^-), fosfato (PO_4^-) y silicato (Si(OH)_4) con los registros oceanográficos y meteorológicos (ver sección 4.1). Esto se realizará para buscar patrones de distribución y su posible relación con parámetros físicos y clorofila_a, considerando las diferencias geográficas y temporales.

Análisis de datos.

A partir de los datos de densidad y salinidad obtenidos desde los perfiles verticales de CTD-OF, se estimaron algunos parámetros asociados a la estratificación y el espesor del agua dulce. Se determinó la frecuencia de flotación de Brunt-Väisälä (N) como

$$N^2 = -\frac{g}{\rho} \frac{\partial \rho}{\partial z} \quad (1)$$

donde g es la aceleración de la gravedad ($m \cdot s^{-2}$), ρ es la densidad ($kg \cdot m^{-3}$) y z (m) es la profundidad de la columna de agua. La profundidad de la pycnoclina se estimó a partir de la profundidad del máximo N (N_{max}). La estratificación de la columna de agua se estimó a partir de la anomalía de energía potencial (PEA) ϕ

$$\phi = \frac{1}{h} \int_{-h}^0 (\bar{\rho} - \rho) g z \, dz ; \quad \bar{\rho} = \frac{1}{h} \int_{-h}^0 \rho \, dz \quad (2)$$

La anomalía ϕ es la cantidad de energía potencial por unidad de volumen ($J \cdot m^{-3}$) necesaria para redistribuir la masa de agua a través de toda la columna de agua en una mezcla vertical completa (Simpson et al., 1997). En esta expresión, h es la profundidad máxima del espesor de la capa superficial que incluye la profundidad de la pycnoclina principal y la capa salobre. Tras examinar la profundidad de la haloclina en todo el conjunto de datos, se eligió la profundidad $h = 20$ m para todos los perfiles.

Según [Green \(2004\)](#) el espesor de agua dulce de la columna de agua (H_f) se puede estimar a partir de la concentración de agua dulce observada ($S_{ref} - S(z)$) / S_{ref} ,

$$H_f = \int_0^{Z_{ref}} \frac{S_{ref} - S(z)}{S_{ref}} \, dz \quad (3)$$

donde $S(z)$ es la salinidad a la profundidad z y S_{ref} es la salinidad a una profundidad de referencia Z_{ref} , obtenida por debajo de la capa de flotación bajo la influencia del aporte de agua dulce ($Z_{ref} = 20$ m).

Utilizando los perfiles verticales de fluorescencia de los lances del CTD-OF, se estimó la Chl-a integrada verticalmente, **CHLI** ($mg \cdot m^{-2}$), donde Chl es la concentración de Chl-a (mg/m^3), en la profundidad z .

$$Chl_{int} = \int_{-h}^0 Chl(z) \, dz \quad (4)$$

La profundidad máxima de integración ($h = 20$ m) se seleccionó siguiendo el criterio de un espesor de agua comparable con las variables físicas.

Análisis multivariado

Se realizaron análisis estadísticos para las concentraciones de nitrato a 0m (Nitri0), nitrato a 30 m (Nitri30), nitrato a 0 m (Nitri0), nitrato a 30 m (Nitri30), fosfato a 0 m (Fosfa0), fosfato a 30 m (Fosfa30), máximo gradiente vertical de nitrato (MDnitri), máximo gradiente vertical de nitrato (MDnitri), máximo gradiente



vertical fosfato (MDfosfa), nitrito verticalmente integrado (NitrInt), nitrato verticalmente integrado (NitrInt) y verticalmente integrado (FosInt), se relacionaron con las variables de los parámetros físicos y clorofila-a, en este caso los resultados obtenidos desde las fórmulas de anomalías de energía potencial, PEA (J/m^3), profundidad de la capa de agua dulce superficial, HF (m), máximo gradiente de la frecuencia Brunt-Vaisala MBV (ciclos/hora), profundidad del máximo gradiente de la frecuencia Brunt-Vaisala PMBV (m), clorofila-a integrada CHLI, (mg/m^2) y máximo de clorofila-a integrada, MCHL (mg/m^2) como impulsores de la distribución regional de nitrato, nitrito y fosfato.

Se generó un subconjunto de datos a partir del análisis de Bootstrap para nutrientes (Nitr0, Nitr30, Nitra0, Nitra30, Fosfa0, Fosfa30, MDnitr, MDnitra, MDfosfa, NitrInt, NitrInt y FosInt), como estaban distribuidos entre los meses de marzo 2018 y diciembre 2019, en forma regional y estacional, usando PRIMER 7 con (Complemento Permanova+ 1.0.2) Los datos de nutrientes se transformaron y normalizaron y se obtuvieron los promedios Bootstraps con el área de confianza del 95%.

Se usó un análisis de componentes principales canónicos, para la interpretación de las variables de nutrientes (Nitr0, Nitr30, Nitra0, Nitra30, Fosfa0, Fosfa30, MDnitr, MDnitra, MDfosfa, NitrInt, NitrInt y FosInt) de los ejes extraídos del MDS (Metric Dimensional Scaling), sobreponiendo los coeficientes canónicos o/y las correlaciones intragrupo de los datos de los parámetros físicos y clorofila-a integrada (PEA, HF, MBV, PMBV, CHLI y MCHL).

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 (XV ETAPA) 2021-2022, y es similar en cuanto a que pretenden alcanzar los mismos logros, aunque existen diferencias dadas por la geografía que abarcan ambos 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 han sido descritas en 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



estandarizaci3n requiere la validaci3n de etapas cr3ticas como el dise1o de partidores, especificidad de los partidores por las especies objetivo, cobertura en t3rminos de n3mero de especies por sitio, de tal forma que se asegure que la informaci3n obtenida representa fielmente la identificaci3n de especies presentes en una muestra de ambiente. Lo anterior hace necesario la realizaci3n de diferentes ensayos antes de llegar al protocolo final el cual es una de las principales ventajas de esta t3cnica.

Sitios de muestreo

Para el caso de este proyecto las estaciones de muestreos contempladas para la identificaci3n molecular basados en la metodolog3a de metabarcoding corresponder3n a las estaciones: BCL5; BTB5; MPAT2-5; MPRT2-5; MPRT4-5; MPLT1-5; MPLT2-5; MPLT3; MPLT5-5; MPLT7-5; MPLT9-5; MPAYT1-5, sin embargo, el n3mero de estaciones a secuenciar, depender3 directamente de la calidad del ADN extra3do y la posterior elaboraci3n de la librer3a de secuenciaci3n.

Para la utilizaci3n de marcadores moleculares especie-espec3ficos basados en PCR en tiempo real (qPCR) las estaciones analizadas ser3n todas las ubicadas en el transecta de 2, 5 y 10 millas.

Dise1o de marcadores moleculares

qPCR

Se descargar3n secuencias correspondientes a los genes 28S (LSU) y 18S (SSU) de las especies *A. catenella*, *A. ostenfeldii*, *P. reticulatum*, *D. acuta*, *D. acuminata* y *Pseudo-nitzschia spp* u otras que se considere relevantes para la identificaci3n basado en esta t3cnica (Karenias, Azadinium, Pseudochattonella etc.), provenientes de la base de datos NCBI en la secci3n nucle3tidos, las cuales se alinearon para buscar regiones conservadas que permitan el dise1o de primers (Forward and Reverse) para la t3cnica de qPCR, los cuales ser3n enviados a sintetizar en la empresa IDT (Integrated DNA Technologies, <https://www.idtdna.com>). Una vez recibidos los nuevos primers se probar3n en muestras de cultivos monoclonales de las especies objetivo antes se1aladas, en diferentes concentraciones celulares para determinar los l3mites de detecci3n y tambi3n en muestras de ambiente.

Extracci3n de ADN

Para las muestras de cultivo la extracci3n de ADN se realizar3 a partir de un volumen de 10ml, el cual se filtr3 usando papel de microfibra de 47mm de di3metro (WhatmanTM) y apertura de poro de 1.2µm. La extracci3n de ADN se realizar3 mediante el m3todo de CTAB, el cual ser3 cuantificado usando el kit dsDNA BR Assay (Invitrogen) y el equipo Qubit V4 (Invitrogen) mientras que la integridad se corroborar3 usando geles de agarosa.



PCR con partidores especie-específicos.

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

PCR en tiempo real

Una vez determinada la especificidad de los partidores antes señalados mediante PCR tradicional, se empleará diluciones seriadas para determinar la eficiencia de estos, usando PCR tiempo real (qPCR). Con la eficiencia establecida anteriormente los primers serán testeados en muestras de monocultivo en una batería de concentraciones desde 25 a 3000 células/ml con la finalidad de detectar los límites de detección. De forma paralela los partidores se probarán en muestras de ambiente para determinar concentraciones de las especies objetivos en este tipo de muestras usando el kit Master mix LightCycler 480 II y a su vez se diseñarán sondas Taqman para incrementar la especificidad de los marcadores diseñados anteriormente.

Metabarcoding

La estandarización de la técnica requiere la validación de etapas como la elección de los partidores, los cuales aseguren una cobertura suficiente para establecer índices de diversidad adecuados para cada uno de los sitios analizados. Lo anterior hace necesario la realización de diferentes ensayos antes de llegar al protocolo final el cual es una de las principales ventajas de desarrollar esto en Austral-omics. Este centro es una plataforma de servicios integrada que incluye la genómica, y bioinformática, lo cual asegura un análisis de datos robusto y de buena calidad además sus dependencias se encuentran en la ciudad de Valdivia, lo cual facilita el traslado de muestras (Puerto Montt - Valdivia) para la realización de los diferentes ensayos que se deben realizar para optimizar la estandarización de la técnica.

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 para ser analizadas por espectrometría de masas acoplados a un cromatógrafo líquido. Un extracto (100% metanol) se utilizó 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 diluyó 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. (Turner et al 2020).”

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 una de las los puntos de extracción de mariscos contempladas en la **Tabla C** 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, se



congelaron a -20° C hasta el momento del análisis que fue realizado en el Laboratorio de 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 determinó 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.

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. Se entregaron los resultados 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 serán mantenidas en incubación con medio de cultivo hasta que la aislación sea realizada. Esta se efectuará mediante micro manipulación desde la muestra de campo. Las células aisladas se dispondrán en placas de cultivo de 96 pocillos. Estas placas se dejarán incubando hasta que se detecte división celular y el cultivo se establezca definitivamente con una biomasa celular a definir según la especie aislada.

Mantenición 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.

Cultivos unicelulares de cepas de *D. acuminata* aisladas desde la costa del Océano Pacífico, taxonomía y condiciones ambientales afectan el crecimiento y la producción de toxinas.

Aislamiento de cepas

El 2019 se aislaron cepas de *Dinophysis acuminata* desde muestras de plancton vivas tomadas del en la localidad costera de caleta Zorra (PDAM1, PDAM2 y PDAM3). Las células se depositaron en placas de cultivo celular (48 pocillos), se alimentaron con *Mesodinium rubrum* y este se alimentó con *Teleaulax sp.* Las células se mantuvieron a una intensidad de luz de 45 mmol fotón m⁻²s⁻¹, 12 °C, 16 L:8 D de fotoperiodo, 33 ± 1 de salinidad y (f/2)1/3 de medio de cultivo.

Extracción, amplificación, secuenciación y filogenia de ADN

Los cultivos de *Dinophysis acuminata* libres de *M. rubrum* se recolectaron y concentraron por centrifugación a 1500 g durante 10 min a 4 °C, se descartó el sobrenadante y el pellet celular se incubó a 65 °C durante 1



h en 10 μL de proteinasa K (10 mg mL^{-1}) y 1 mL de bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB). Los partidores Dinocox1F y Dinocox1R (en: Park et al., 2019) se utilizaron para amplificar un segmento del gen *cox1*. El análisis filogenético se realizó utilizando una matriz alineada de 673 pb junto con secuencias disponibles en GenBank, y se usó el programa ClustalW/Geneious Prime 2019.0.3 (Larkin et al., 2007). Luego se realizó el análisis Bayesiano usando MrBayes V3.1.2 bajo el modelo apropiado (GTR+I) (Ronquist y Huelsenbeck, 2003).

Fotografía de células

Para describir la variación morfológica de las cepas de *D. acuminata* a lo largo del crecimiento se tomaron dos conjuntos de fotografías: (1) en la fase exponencial de crecimiento (2) y luego de mantenerlas por más de 3 meses en cultivo sin agregar la presa (*M. rubrum*). Las imágenes fueron tomadas con una cámara implementada en un microscopio invertido Zeiss AXIO VERT A1.

Crecimiento bajo diferente intensidad de luz y temperatura

Se utilizó la cepa PDAM1 para evaluar el crecimiento bajo diferentes niveles de intensidad de luz y temperatura. En el primer experimento se midió el crecimiento de *D. acuminata* cultivada a 45, 95 y 125 $\text{mmol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de intensidad de luz. En el segundo experimento se evaluó el crecimiento de las cepas a 90 y 45 $\text{mmol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de intensidad de luz, y temperaturas de 12 y 15 $^{\circ}\text{C}$. En los experimentos, las cepas se mantuvieron utilizando fotoperíodo 16 L:8 D, 33 ± 1 de salinidad y medio de cultivo (f/2)1/3. El primer experimento se inició con una abundancia de *D. acuminata* de 30 células mL^{-1} y 5000 células mL^{-1} de *M. rubrum*. El segundo experimento, comenzó con 100 células mL^{-1} de *D. acuminata* 2000 células mL^{-1} de *M. rubrum*. Periódicamente se tomaron muestras (tres repeticiones), se fijaron con Lugol y se contaron bajo microscopía invertida. Al mismo tiempo, las cepas PDAM2, PDAM3 se mantuvieron a 45 $\text{mmol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ de intensidad de luz y 15 $^{\circ}\text{C}$ de temperatura y se alimentaron con 2000 células mL^{-1} de *M. rubrum*. Después de alrededor de 45 días las cepas se filtraron para realizar análisis de toxinas.

Tasa de crecimiento y abundancia celular máxima

La tasa de crecimiento de *D. acuminata* se determinó mediante un modelo de regresión lineal $y_i = \alpha + \beta x_i$ (Guillard y Hargraves, 1993), donde y_i = densidad celular transformada por $\ln$ (células mL^{-1}); x_i = tiempo (días); α = intersección; y β = tasa de crecimiento ($\text{div. celular día}^{-1}$). La abundancia celular al final de la fase exponencial se utilizó como respuesta de abundancia celular máxima (células mL^{-1}).

Producción de toxinas celulares

Luego de aproximadamente 45 días de cultivo las células se filtraron a través de filtros de fibra de vidrio de 47 mm de diámetro (GF/F Whatman) y el filtro se añadió a un tubo Eppendorf de 2 ml con 1 ml de metanol al 100 %. Luego, los tubos se colocaron en un recipiente con hielo, se sonicaron cinco veces durante 5 segundos y se dejaron reposando por 10 minutos. La solución se filtró utilizando jeringa de PVDF, filtros de



poro de 0,22 μm y 3 mm de diámetro, y se depositó en viales de HPLC de 1,8 mL. Para estimar la concentración de toxinas, se realizaron mediciones de monitoreo de reacciones seleccionadas en un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo (Agilent 6420) equipado con una fuente de ionización por electrospray (ESI), acoplado a un sistema UHPLC 1290 (Agilent, Palo Alto, CA, EE. UU.). La separación cromatográfica de Toxinas Lipófilas (LTs) y Ácido Domoico (DA) después de la inyección de 2.5 ml de una muestra, se realizó por cromatografía de fase reversa usando una columna SunShell C18 (100 x 2.1 mm id, 2.6 μm de tamaño de partícula) a 40°C según Braña-Magdalena et al. (2014). Se utilizaron estándares de referencia certificados, de ácido okadaico, pectenotoxina-2, dinofisistoxina-1, dinofisis-toxina-2, que se obtuvieron del Consejo Nacional de Investigación de Canadá (Halifax, Canadá).

4.4 Metodología Objetivo Específico 4:

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

Las actividades de difusión y capacitación durante el periodo de contingencia por la pandemia COVID-19, se desarrollaron tanto presencial, como de forma remota privilegiando las videoconferencias a través de plataformas como Google Meet, Zoom, Teams entre otras. La asistencia a seminarios y congresos nacionales e internacionales estuvo condicionada por las restricciones impuestas por los organizadores de estas actividades. Por lo que, para ambas actividades, difusión y capacitación, se evaluará la forma de participación (presencial/telemática) en función del estado de la pandemia y las restricciones impuestas por esta contingencia.

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 mantuvieron 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 el laboratorio.

En la Etapa IV de este proyecto, se incorporó la distribución de los estimadores de abundancia relativa de los dinoflagelados nocivos (*Alexandrium catenella*, *A. ostenfeldii*, *Protoceratium reticulatum*, *Dinophysis acuminata* y *D. acuta*) a través de la aplicación móvil IFAN, la cual puede ser descargada tanto para sistemas Android e iOS. Esta información, además fue replicada en nuestras redes sociales del Centro de Estudios de Algas Nocivas (CREAN), tales como Twitter (@crean_ifop), Facebook (CREAN) e Instagram (crean_ifop).



Para el público más especializado, los estimadores de abundancia relativa de *A. catenella*, deberán ser distribuidos tan pronto como los resultados estén disponibles en el laboratorio, a través de la página WEB (minisito), y Sistema de Información Geográfica on-line (<https://ifop.maps.arcgis.com>), en el cual además de los cinco dinoflagelados mencionados anteriormente, se incluyen *Pseudo nitzschia cf. australis* y *P. cf. pseudodelicatissima*.

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 (periodo 2018-2021), con la participación de todos los investigadores y técnicos integrantes del grupo de investigación. La actividad estará orientada a integrar y compartir los conocimientos obtenidos, bajo una comprensión multidimensional (oceanográfica-biológica-meteorológica), la cual ayude a explicar y comprender la dinámica y desarrollo de las Floraciones Algales Nocivas (FAN) en el sector costero entre las regiones de las zonas desde Biobío a 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 2021), tanto de los resultados obtenidos durante la etapa IV como de los avances del conocimiento en materias FAN, de tal manera de realizar una capacitación que considere la 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 4 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 está trabajando en la elaboración de



manuscritos científicos 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 han sido presentados en congresos y reuniones científico/técnicas a nivel nacional e internacional. Entre los eventos que se ha participado a nivel nacional, destaca el XL Congreso de Ciencias del Mar a realizarse en Punta Arenas, el cual no se pudo realizar durante el año 2020 debido a la pandemia de COVID-19 y que fue reprogramado para mayo de 2021. Entre los eventos destacables a nivel internacional, destaca la participación del grupo de investigadores del CREAM en el 12th International Phycological Congress (IPC 2021), que se realizó de forma telemática entre el 22 y 26 de marzo de 2021 y la 19th International Conference on Harmful Algae (ICHA), que se realizó en La Paz, Baja California Sur, México, siendo esta última la conferencia mundial más importante relativa al tema que aborda el programa, la cual fue pospuesta durante el 2020, debido a la pandemia de COVID-19 y realizada finalmente en octubre de 2021.

4.3.3 Actividad 3: Fortalecer la vinculación con el medio.

Charlas. Vinculación con colegios en zonas afectadas por Floraciones de Algas Nocivas (FANs) para transmitir conocimientos respecto al estado del arte de las FANs y toxinas marinas en Chile, además de entregar un mensaje de responsabilidad frente al consumo de mariscos (desde su compra hasta su consumo). Las charlas fueron orientadas de acuerdo al rango de edad, buscando estrategias lúdicas para niños de 1er ciclo (pre-kinder a 2do básico), estrategias dinámicas para alumnos de 2do ciclo (3ro básico a 6to básico), e incorporando términos más específicos para alumnos de tercer ciclo (7mo básico a IV medio).

Ferias y Fiestas Científicas. Se participará en diversas actividades científicas, con el fin de vincular los temas de Floraciones de Algas Nocivas a estudiantes (desde pre-básica a educación media), y público en general. El principal objetivo es dar a conocer el estado actual de las Floraciones de Algas Nocivas en las zonas que comprende este Programa, dando a conocer las principales especies de fitoplancton encontradas en la zona de muestreo, y si existen o no algún tipo de efectos negativos en la comunidad. También se deberá incorporar las principales toxinas marinas, en base a los resultados presentados en las etapas anteriores.



5. GESTIÓN DEL PROYECTO

En la gestión del proyecto se abordaron 6 tópicos de relevancia para la ejecución de las acciones comprometidas en los términos técnicos de referencia.

- a) Solicitud dirigida al Servicio Hidrográfico de la Armada en cumplimiento del Decreto Supremo N° 711 del 22 de agosto de 1975 relativo al “Reglamento de Control de las Investigaciones Científicas y Tecnológicas Marinas Afectadas en la Zona Marina en Jurisdicción Nacional”. La autorización fue aprobada el 12 de abril de 2021 mediante documento SHOA ORDINARIO N° 13270/24/456/Vrs.
- b) Solicitud de Pesca de Investigación ante la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura para la recolección de muestras de mariscos para los análisis de las toxinas marinas según se compromete en la propuesta técnica de acuerdo a los requerimientos de la Ley General de Pesca y Acuicultura. La autorización de Pesca de Investigación está vigente hasta el 22 de julio 2022. Resol.Exenta N° E-2021-385.
- c) Incorporación de personal asociado al proyecto: En Puerto Montt, durante el mes de marzo de 2021, se contrató al Tecnólogo Semi Senior Sr. Rudi Aguililar y al Asistente de Investigación Semi Senior Sr. Mario Retamal, quienes se integran al equipo de trabajo en terreno, después de los cargos vacantes dejados por los Señores César Loncón y Adán Navarro.

Posterior a la no renovación del contrato a plazo fijo del Asistente de Investigación Semi Senior Sr. Mario Retamal, el cual dejó el cargo en septiembre de 2021, se realizó un proceso de selección para reemplazar el cargo vacante. En este concurso, se seleccionó al Sr. Jonnathan Vilugrón, que desde el 15 de diciembre de 2021 ha sido contratado por el proyecto en el cargo de Analista de Oceanografía Observacional.

- d) Licitaciones y contratos para el arriendo de embarcaciones: Durante el mes de diciembre se inició el proceso de licitación para el servicio de arriendo de traslado de pasajeros para el estudio de marea roja en la costa del Pacífico Etapa V que incluye los sectores de: sector región del Biobío (ID n° 1049-44-LP21), sector de las regiones de la Araucanía y los Ríos (ID n° 1049-42-LQ21) y sector región de los Lagos (ID n° 1049-43-LQ21)
- e) Desarrollo de las actividades durante el periodo de estudio:



Debido a la condiciones de mal tiempo, las cuáles fueron más frecuentes que en etapas anteriores del proyecto, las actividades de terreno y laboratorio presentaron un desarrollo heterogéneo durante la etapa pasada de este estudio, lo que implicó que las actividades de terreno durante esta Etapa IV se retrasaran en su comienzo. Mientras las actividades asociadas a las región del Biobío, finalizó en la fecha comprometida, esto es diciembre de 2021, las actividades de monitoreo en las regiones de la Araucanía, Los Ríos y Aysén finalizaron durante la segunda semana del mes de enero de 2021. El grado de desarrollo dependió de las distintas complejidades de cada región administrativa, principalmente asociado al estado de los puertos, cuyo cierre o apertura es dictaminada por la Gobernación Marítima correspondiente a cada zona de zarpe. En cuanto a las restricciones asociada al COVID-19, estas no dificultaron el desarrollo de las actividades comprometidas, de hecho el instituto de Fomento Pesquero retornó paulatinamente a las actividades presenciales a partir de septiembre de 2021, lo que facilitó el desarrollo de las actividades de terreno. Sin embargo, se generó un retraso, derivado de las condiciones pro COVID durante el 2020, que afectó el comienzo del proyecto en el mes de enero de 2021. Debido a ello, el primer crucero del proyecto se realizó en el mes de febrero, lo que modificó la planificación de las actividades de terreno que, indicaban que los 11 cruceros comprometidos se desarrollarían entre enero y diciembre, con un receso en el mes de julio. De acuerdo al retraso comentado previamente, las actividades de terreno se desarrollaron entre febrero y diciembre de 2021.

En cuanto al trabajo de laboratorio, análisis e interpretación de la información, durante la elaboración de este informe, se mantiene el trabajo 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 de forma presencial, manteniéndose un horario de trabajo normal, lo que ha no ha afectado en el desarrollo de las actividades de laboratorio y terreno.

Las actividades de terreno presentaron un retraso de 1 mes, debido principalmente a lo que indicamos previamente, a las malas condiciones climáticas, que implicaron cierre de puertos por la autoridad marítima y por lo tanto, suspensión de embarques.

Debido a este atraso, fue necesario realizar una prórroga en el plazo de ejecución de los contratos de traslado de pasajeros n°35644-21, n°35645-22 y n°35662-03, establecidos entre IFOP y los armadores Sr. Juan Segundo Bello Torres y Manuel Cárdenas Alonzo. Los Armadores prestan el SERVICIO DE TRASLADO DE PASAJEROS PARA EL ESTUDIO DE MAREA ROJA EN LA COSTA DEL PACÍFICO ETAPA IV, en los sectores de la región del Biobío, regiones de La Araucanía y Los Ríos y región de los Lagos, respectivamente, donde el periodo de ejecución es entre el 20 de enero de 2021 y 31 de diciembre de 2021.



f) Problemas con equipamiento de laboratorio:

Análisis de nutrientes: Los análisis de laboratorio han sufrido un retraso derivado de las condiciones de trabajo en condiciones de COVID-19 durante la etapa pasada del proyecto 2020, generando un posterior retraso para el análisis de muestras de esta etapa de casi 6 meses entre los distintos proyectos que se analizan en el laboratorio de biogeoquímica del CREAN, considerando imponderables por fallas reiteradas del instrumento, en estos momentos el multianalizador se envió a mantención a USA por lo que las muestras están almacenadas a -18°C en espera para su posterior análisis.

Análisis de Toxinas por HPLC-Ms: Los análisis comprometidos han sufrido un retraso debido a dos importantes fallas que ha presentado el equipo y que han requerido asistencia del servicio técnico. Una de ellas tuvo que ver con el cambio del capilar, el que afectó el análisis de las masas más pequeñas (menores a 600) y una segunda relacionada con el generador de nitrógeno presentó un fallo en el compresor, el retraso asociado se debe principalmente a que el repuesto no está en plaza, y una posible fecha de arribo es durante la primera semana de enero. Actualmente estos problemas fueron solucionados, realizando la totalidad de los análisis comprometidos de los 11 cruceros.



6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación se presentan los resultados y discusión por objetivo específico:

6.1 Resultados y Discusión 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 acuminata*, *D. acuta*, *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 11 cruceros efectuados en las cinco regiones de estudio entre los meses de enero de 2021 y enero de 2022. 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 de las regiones de estudio, estuvo compuesta por un total de 232 especies, de las cuales 133 son diatomeas, 88 son dinoflagelados, 3 silicoflagelados, 1 zoomastigoforo, 2 ciliados, 1 euglenofícea, 2 prasinofíceas y 2 prymnesiales. La **Figura 1.1.1**, muestra la distribución espacial y temporal de las 20 especies que más contribuyen a la abundancia total del fitoplancton (>90%) en las estaciones ubicadas a 2 millas desde la costa. Entre estas especies se encuentran: *Bacteriastrum* spp., *Cerataulina* pelágica, *Chaetoceros convolutus*, *Chaetoceros debilis*, *Chaetoceros* spp., *Detonula pumila*, *Eucampia zodiacus*, *Leptocylindrus danicus*, *Paralia sulcata*, *Pseudo-nitzschia* cf. *australis*, *Pseudo-nitzschia* cf. *pseudodelicatissima*, *Pseudo-nitzschia* spp., *Skeletonema* spp., *Thalassionema nitzschioides*, *Thalassiosira anguste-lineata*, *Thalassiosira* cf. *minúscula*, *Thalassiosira* spp., *Scrippsiella* spp., *Dinoflagelados atecados indet.* y *Laboea strobila*. Latitudinalmente se observó la dominancia numérica de *Eucampia zodiacus*, que promedio alcanzó valores de 4.3×10^7 células L^{-1} , exclusivamente en estaciones de la región del Biobío y en particular en la estación de Tubul durante el mes de septiembre de 2021. La densidad promedio de las especies dominantes disminuye considerablemente en la región de la Araucanía, con una dominancia de *Skeletonema* spp., la cual alcanza su mayor densidad asociada a la estación de Niebla durante mes de diciembre de 2021, alcanzando valores promedio de 1.03×10^7 células L^{-1} . Hacia el sur, en la región de los Lagos se observó que un número mayor de especies contribuye a la abundancia total del fitoplancton, con dominancia de *Pseudo-*

nitzschia cf. australis, que registró los mayores valores promedio de 9.02×10^6 células L^{-1} asociada a la estación de Estaquilla durante el mes de diciembre de 2021. En la región de los Lagos se registró el valor máximo de *Chaetoceros spp* (1.32×10^7 células L^{-1}), asociada a la estación de caleta Zorra durante el mes de diciembre de 2021. La **Figura 1.1.2**, muestra la distribución espacial y temporal de las 20 especies que más contribuyen a la abundancia total del fitoplancton (>90%) en las estaciones ubicadas a 5 millas desde la costa. Entre estas especies se encuentran: *Cerataulina pelágica*, *Chaetoceros convolutus*, *Chaetoceros debilis*, *Chaetoceros spp.*, *Eucampia zodiacus*, *Leptocylindrus danicus*, *Leptocylindrus minimus*, *Pseudo-nitzschia cf. australis*, *Pseudo-nitzschia cf. pseudodelicatissima*, *Pseudo-nitzschia spp.*, *Skeletonema spp.*, *Thalassionema nitzschioides*, *Thalassiosira cf. minúscula*, *Thalassiosira spp.*, *Diatomeas céntricas indet.*, *Diatomeas pennadas indet.*, *Gyrodinium spp.*, *Dinoflagelados atecados indet.*, *Dictyocha speculum*, *Mesodinium rubrum*. La distribución latitudinal de estas especies se caracterizó por una dominancia de *Eucampia zodiacus* en la región del Biobío, donde alcanzó valores promedios máximos de 2.34×10^7 células L^{-1} asociado a la estación de Tubul en el mes de agosto de 2021. Mientras que, hacia el sur en las regiones de la Araucanía, los Ríos y los Lagos, no se observó una dominancia de una especie en particular, con una dominancia de un mayor número de especies, sin embargo, destaca el valor promedio máximo de *Thalassiosira cf. minúscula* de 7.05×10^7 células L^{-1} , asociada a la estación de caleta Zorra en el mes de noviembre de 2021. La **Figura 1.1.3**, muestra la distribución espacial y temporal de las 20 especies que más contribuyen a la abundancia total del fitoplancton (>90%) en las estaciones ubicadas a 10 millas desde la costa. Entre estas especies se encuentran: *Cerataulina pelágica*, *Chaetoceros debilis*, *Chaetoceros spp.*, *Corethron pennatum*, *Dactyliosolen fragilissimus*, *Eucampia zodiacus*, *Guinardia striata*, *Leptocylindrus danicus*, *Navicula spp.*, *Pseudo-nitzschia cf. australis*, *Pseudo-nitzschia cf. pseudodelicatissima*, *Pseudo-nitzschia spp.*, *Rhizosolenia cf. pungens*, *Skeletonema spp.*, *Thalassiosira cf. minúscula*, *Thalassiosira spp.*, *Diatomeas pennadas indet.*, *Amphidinium spp.*, *Dinoflagelados atecados indet.*, *Mesodinium rubrum*. A partir de la distribución de estas especies en la zona de estudio se observó que, en la región del Biobío *Eucampia zodiacus* continuó siendo la especie dominante numéricamente alcanzando valores promedio máximos de 2.44×10^7 células L^{-1} asociado a la estación de Tubul en el mes de agosto de 2021, en esta región alcanzó una relevancia numérica la especie *Leptocylindrus danicus*, la cual alcanzó valores promedio máximos de 8.98×10^6 células L^{-1} asociada a la estación de Tubul en el mes de marzo de 2021. La distribución de las especies dominantes y su relevancia numérica, al sur de la región del Biobío, es similar a lo descrito para las estaciones de las 5 millas desde la costa.

De este análisis se desprende que, las mayores densidades están asociadas a la región del Biobío, donde se registraron los máximos valores promedio asociado a las estaciones de primavera y verano y, en donde la especie *Eucampia zodiacus* fue la dominante en cada una de las estaciones de muestreo en las distancias de 2, 5 y 10 millas desde la costa. Además, la dominancia numérica disminuye hacia el sur de la región del Biobío, en



contraste se observó un aumento del número de especies que dominan la composición Fitoplanctónica. Estacionalmente los periodos de otoño e invierno presentaron bajas densidades celulares. Finalmente, la especies nocivas que más contribuyeron a la densidad total del fitoplancton fueron *Pseudo-nitzschia cf. australis*, *Pseudo-nitzschia cf. pseudodelicatissima*, las cuales se asociaron a casi todas las estaciones de muestreo, pero con densidades relevantes en las estaciones de la región de los Lagos.

Abundancia relativa especies nocivas: Los resultados de abundancia relativa en cada una de las regiones estudiadas se presentan en el **Anexo 1 Base de datos** (Planilla AR_ ETAPA 4 Pacífico) y en las **Figuras 1.1.4 a 1.1.10**. Para los 11 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 realizó para cada región de estudio.

Nota: Entiéndase para los comentarios de Ab. relativa de las especies nocivas, que cuando nos referimos a cobertura espacial, queremos explicar la relación en porcentaje del: **Nº de estaciones con presencia de la especie / Nº 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 11 campañas realizadas durante el periodo de estudio, detectándose en los cruceros N°4 (mayo 2021) y crucero N°6 (julio 2021).

En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que tres de las cuatro transectas de la región, Coliumo, Tubul y Llico, tuvieron presencia de este dinoflagelado, y que en 1 crucero coincidieron las tres transectas, pero sin ser detectado en todas sus estaciones. La cobertura espacial de *A. catenella* fue del 2,3% en la región durante el periodo de estudio.

Cuando la especie fue detectada, sus estimadores de abundancia relativa fueron bajos y se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 2 (Escaso). Entre los estimadores antes nombrados, el Nivel 1 fue la moda, detectándose en 3 ocasiones durante el periodo de estudio. El Nivel 2, que fue el máximo en la región, sólo se presentó durante el crucero N°6 en la estación de 10 millas de la transecta de Tubul.



2_ Región de La Araucanía

Se observó que la distribución temporal de esta microalga tuvo presencia en 4 de las 11 campañas realizadas durante el periodo de estudio, detectándose en los cruceros N°5 (julio 2021), N°7 (septiembre 2021), N°9 (noviembre 2021) y N°10 (diciembre 2021).

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, pero nunca coincidieron estas tres transectas en un mismo crucero. La cobertura espacial de *A. catenella* fue del 7,1% en la región durante el periodo de estudio.

Cuando la especie fue detectada, sus estimadores de abundancia relativa fueron bajos y se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 2 (Escaso). Entre los estimadores antes nombrados, el Nivel 1 fue la moda, detectándose en 5 ocasiones durante el periodo de estudio. El Nivel 2, que fue el máximo en la región, solamente se presentó durante los cruceros N°7 y crucero N°10, en ambas oportunidades únicamente en la estación de 5 millas de la transecta de Puerto Saavedra.

3_ Región de Los Ríos

Se observó que la distribución temporal de esta microalga tuvo presencia en 3 de las 11 campañas realizadas durante el periodo de estudio, detectándose en los cruceros N°5 (julio 2021), N°7 (septiembre 2021) y N°9 (noviembre 2021).

En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que tres de las cuatro transectas de la región, Mehuín, Chaihuín y Río Bueno, tuvieron presencia de este dinoflagelado en al menos una de sus estaciones, pero nunca coincidieron estas tres transectas en un mismo crucero. La cobertura espacial de *A. catenella* fue del 4,5% en la región durante el periodo de estudio.

Cuando la especie fue detectada, sus estimadores de abundancia relativa fueron bajos y se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 2 (Escaso). Entre los estimadores antes nombrados, el Nivel 1 fue la moda, detectándose en 4 ocasiones durante el periodo de estudio. El Nivel 2, que fue el máximo en la región, sólo se presentó durante el crucero N°9 en las estaciones de 5 y 10 millas de la transecta de Río Bueno.

4_ Región de Los Lagos

Se observó que la distribución temporal de esta microalga tuvo presencia en 10 de las 11 campañas realizadas durante el periodo de estudio, estando sólo ausente en el crucero N°1 (febrero 2021).

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, pero nunca coincidieron estas nueve



transectas en un mismo crucero. La cobertura espacial de *A. catenella* fue del 15,8% en la región durante el periodo de estudio.

Cuando la especie fue detectada, sus estimadores de abundancia relativa se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y Nivel 4 (Abundante). Entre los estimadores antes nombrados, el Nivel 2 (Escaso) fue la moda, detectándose en 21 ocasiones durante el periodo de estudio. El Nivel 4, que fue el máximo en la región, sólo se presentó durante el crucero N°9 (noviembre 2021) en la estación de 2 millas de la transecta de Cucao. El Nivel 3 (Regular) se detectó en 9 ocasiones en esta región durante el transcurso del proyecto, estando 5 de ellas en el crucero N°9, específicamente en las estaciones de 5 y 10 millas de la transecta de Estaquilla, en la estación de 2 millas de la transecta de Playa Brava, en la estación de 10 millas de la transecta de Mar Brava y en la estación de 10 millas de la transecta de Cucao. Por su parte el Nivel 1 (Raro), se detectó en 16 ocasiones en esta región durante el transcurso del proyecto.

5_ Región de Aysén

Se observó que la distribución temporal de esta microalga tuvo presencia en 9 de las 11 campañas realizadas durante el periodo de estudio, detectándose en los cruceros N°1 (enero 2021), N°2 (febrero 2021), N°3 (abril 2021), N°5 (junio 2021), N°7 (octubre 2021), N°8 (inicios de noviembre de 2021), N°9 (fines de noviembre de 2021), N°10 (diciembre 2021) y N°11 (enero 2022).

En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que la transecta de esta región tuvo presencia de este dinoflagelado en sus tres estaciones, y se detectó en todas ellas simultáneamente en 4 de los cruceros. La cobertura espacial de *A. catenella* fue del 60,6% en la región durante el periodo de estudio.

Cuando la especie fue detectada, sus estimadores de abundancia relativa fueron bajos y se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 3 (Regular). Entre los estimadores antes nombrados, el Nivel 1 fue la moda, detectándose en 14 ocasiones durante el periodo de estudio. El Nivel 3, que fue el máximo en la región, sólo se presentó durante el crucero N°3 en la estación de 2 millas de la transecta de Canal Tuamapu. Por su parte el Nivel 2 (Escaso), se observó solamente durante los cruceros N°1 (en la estación de 5 millas), crucero N°3 (en las estaciones de 5 y 10 millas), crucero N°8 (en la estación de 5 millas) y crucero N°10 (en la estación de 2 millas).

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

1_ Región del Biobío



Se observó una importante distribución temporal de esta microalga, con presencia en las 11 campañas realizadas durante el periodo de estudio, desde febrero 2021 (cruce N°1) hasta enero de 2022 (cruce N°11).

En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que las cuatro transectas de la región tuvieron presencia de este dinoflagelado, encontrándose todas estas transectas simultáneamente en 10 de los 11 cruces, incluso en dos de estos cruces se detectó en todas sus estaciones. La cobertura espacial de *A. ostenfeldii* fue del 73,9% en la región durante el periodo de estudio.

Cuando la especie fue detectada, sus estimadores de abundancia relativa se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 6 (Extremadamente Abundante). Entre los estimadores antes nombrados, el Nivel 1 fue la moda, detectándose en 46 ocasiones durante el periodo de estudio. El Nivel 6, que fue el máximo en la región, sólo se presentó durante el cruce N°11 (enero 2022) en la estación costa de la transecta de Coliumo y en la estación de 2 millas de la transecta de Colcura. Por su parte el Nivel 5 (Muy Abundante) y el Nivel 4 (Abundante), se detectaron en 6 y 11 ocasiones respectivamente en esta región durante el transcurso del proyecto, en las demás oportunidades, que sumadas fueron la mayoría, la presencia de esta especie sólo estuvo entre los niveles de abundancia relativa 1 (Raro) y 3 (Regular)

2_ Región de La Araucanía

Se observó una importante distribución temporal de esta microalga, con presencia en las 11 campañas realizadas durante el periodo de estudio, desde febrero 2021 (cruce N°1) hasta enero de 2022 (cruce N°11).

En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que las tres transectas de la región tuvieron presencia de este dinoflagelado durante todo el proyecto, y que en 7 de los 11 cruces se detectó en todas sus estaciones simultáneamente. La cobertura espacial de *A. ostenfeldii* fue del 83,8% en la región durante el periodo de estudio.

Cuando la especie fue detectada, sus estimadores de abundancia relativa se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 7 (Hiper Abundante). Entre los estimadores antes nombrados, el Nivel 4 (Abundante) fue la moda, detectándose en 25 ocasiones durante el periodo de estudio. El Nivel 7, que fue el máximo en la región, sólo se presentó durante el cruce N°5 (julio 2021) en las estaciones de 2 y 5 millas de la transecta de Queule. El Nivel 6 (Extremadamente Abundante) se observó solamente durante los cruces N°5 (en la estación de 10 millas de la transecta de Queule) y cruce N°6 (agosto 2021, en la estación de 5 millas de Nehuentúe y la estación de 2 millas de Puerto Saavedra). Por su parte el Nivel 5 (Muy Abundante), se detectó en 13



ocasiones en esta región durante el transcurso del proyecto, en las demás oportunidades la presencia de esta especie sólo estuvo entre los niveles de abundancia relativa 1 (Raro) y 3 (Regular).

3_ Región de Los Ríos

Se observó una importante distribución temporal de esta microalga, con presencia en las 11 campañas realizadas durante el periodo de estudio, desde febrero 2021 (cruce N°1) hasta enero de 2022 (cruce N°11).

En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que las cuatro transectas de la región tuvieron presencia de este dinoflagelado, encontrándose todas estas transectas simultáneamente en 8 de los 11 cruces, incluso en tres de estos cruces se detectó en todas sus estaciones. La cobertura espacial de *A. ostensfeldii* fue del 74,2% en la región durante el periodo de estudio.

Cuando la especie fue detectada, sus estimadores de abundancia relativa se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 8 (Ultra Abundante). Entre los estimadores antes nombrados, el Nivel 1 fue la moda, detectándose en 36 ocasiones durante el periodo de estudio. El Nivel 8, que fue el máximo en la región, sólo se presentó durante el cruce N°5 (julio de 2021) en la estación de 2 millas de la transecta de Mehuín. El Nivel 7 (Hiper Abundante) se observó solamente en los cruces N°1 (febrero 2021, en la estación de 2 millas de la transecta de Mehuín) y cruce N°5 (en la estación de 5 millas de la transecta de Mehuín). Por su parte el Nivel 6 (Extremadamente Abundante), el Nivel 5 (Muy Abundante) y el Nivel 4 (Abundante), se detectaron en 3, 3 y 18 ocasiones respectivamente en esta región durante el transcurso del proyecto, en las demás oportunidades, que sumadas fueron la mayoría, la presencia de esta especie sólo estuvo entre los niveles de abundancia relativa 1 (Raro) y 3 (Regular).

4_ Región de Los Lagos

Se observó una importante distribución temporal de esta microalga, con presencia en las 11 campañas realizadas durante el periodo de estudio, desde febrero 2021 (cruce N°1) hasta enero de 2022 (cruce N°11).

En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que todas las estaciones de la región tuvieron presencia de este dinoflagelado en algún momento del proyecto, pero nunca se detectaron todas ellas simultáneamente en un mismo cruce, sin embargo, las nueve transectas que componen la región sí coincidieron todas juntas (representadas con al menos una de sus estaciones) en 4 de los 11 cruces. La cobertura espacial de *A. ostensfeldii* fue del 69,0% en la región durante el periodo de estudio.



Cuando la especie fue detectada, sus estimadores de abundancia relativa se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 6 (Extremadamente Abundante). Entre los estimadores antes nombrados, el Nivel 1 fue la moda, detectándose en 93 ocasiones durante el periodo de estudio. El Nivel 6, que fue el máximo en la región, sólo se presentó durante el crucero N°2 (marzo 2021) en la estación de 5 millas de la transecta de Caleta Zorra. El Nivel 5 (Muy Abundante) se observó solamente en los cruceros N°2 (en la estación de 5 millas de Cucao y en las estaciones de 10 millas de las transectas de Estaquilla y Chepu) y crucero N°5 (junio 2021, en la estación de 5 millas de Caleta Zorra). Por su parte el Nivel 4 (Abundante), se detectó en 20 ocasiones en esta región durante el transcurso del proyecto, en las demás oportunidades, que sumadas fueron la mayoría, la presencia de esta especie sólo estuvo entre los niveles de abundancia relativa 1 (Raro) y 3 (Regular).

5_ Región de Aysén

Se observó que la distribución temporal de esta microalga tuvo presencia en 6 de las 11 campañas realizadas durante el periodo de estudio, detectándose en los cruceros N°1 (enero 2021), N°3 (abril 2021), N°6 (agosto 2021), N°7 (octubre 2021), N°8 (inicios de noviembre 2021) y N°9 (fines de noviembre 2021).

En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que la transecta de esta región tuvo presencia de este dinoflagelado en sus tres estaciones, y se detectó en todas ellas simultáneamente en 3 de los cruceros. La cobertura espacial de *A. ostenfeldii* fue del 39,4% en la región durante el periodo de estudio.

Cuando la especie fue detectada, sólo presentó el Nivel 1 (Raro) de abundancia relativa, detectándose específicamente en los cruceros N°1 en las tres estaciones de Canal Tuamapu, crucero N°3 en las estaciones de 2 y 5 millas, crucero N°6 en las tres estaciones, crucero N°7 en las tres estaciones, crucero N°8 en la estación de 2 millas y el crucero N°9 en la estación de 10 millas.

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

1_ Región del Biobío

Se observó una importante distribución temporal de esta microalga, con presencia en las 11 campañas realizadas durante el periodo de estudio, desde febrero 2021 (crucero N°1) hasta enero de 2022 (crucero N°11).

En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que las cuatro transectas de la región tuvieron presencia de este dinoflagelado, encontrándose todas estas transectas simultáneamente en 9 de los 11 cruceros, incluso en cinco de estos cruceros se detectó en todas sus estaciones. La cobertura espacial de *D. acuminata* fue del 85,2% en la región durante el periodo de estudio.



Cuando la especie fue detectada, sus estimadores de abundancia relativa se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 10 (>Mega Abundante), pero sin tener representatividad en el Nivel 9 (Mega Abundante). Entre los estimadores antes nombrados, el Nivel 2 (Escaso) fue la moda, detectándose en 35 ocasiones durante el periodo de estudio. El Nivel 10, que fue el máximo en la región, sólo se presentó durante el crucero N°3 (abril 2021) en la estación de 2 millas de la transecta de Llico. El Nivel 8 (Ultra Abundante) se detectó en 6 ocasiones en esta región durante el transcurso del proyecto, estando 4 de ellas en el crucero N°3, específicamente en la estación costa de la transecta de Colcura, en la estación de 5 millas de la transecta de Tubul, y en las estaciones costa y 5 millas de la transecta de Llico. Por su parte el Nivel 7 (Hiper Abundante), el Nivel 6 (Extremadamente Abundante), el Nivel 5 (Muy Abundante) y el Nivel 4 (Abundante), se detectaron en 8, 8, 19 y 15 ocasiones respectivamente en esta región durante el transcurso del proyecto, en las demás oportunidades, que sumadas fueron la mayoría, la presencia de esta especie sólo estuvo entre los niveles de abundancia relativa 1 (Raro) y 3 (Regular).

2_ Región de La Araucanía

Se observó una importante distribución temporal de esta microalga, con presencia en las 11 campañas realizadas durante el periodo de estudio, desde febrero 2021 (crucero N°1) hasta enero de 2022 (crucero N°11).

En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que las tres transectas de la región tuvieron presencia de este dinoflagelado durante todo el proyecto, y que en 7 de los 11 cruceros se detectó en todas sus estaciones simultáneamente. La cobertura espacial de *D. acuminata* fue del 92,9% en la región durante el periodo de estudio.

Cuando la especie fue detectada, sus estimadores de abundancia relativa se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 8 (Ultra Abundante). Entre los estimadores antes nombrados, el Nivel 3 (Regular) fue la moda, detectándose en 18 ocasiones durante el periodo de estudio. El Nivel 8, que fue el máximo en la región, sólo se presentó durante el crucero N°8 (octubre 2021) en la estación de 10 millas de la transecta de Queule. El Nivel 7 (Hiper Abundante) se detectó en 6 ocasiones en esta región durante el transcurso del proyecto, estando 3 de ellas en el crucero N°8, específicamente en las estaciones de 5 y 10 millas de la transecta de Nehuentúe y en la estación de 5 millas de la transecta de Queule. Por su parte el Nivel 6 (Extremadamente Abundante), el Nivel 5 (Muy Abundante) y el Nivel 4 (Abundante), se detectaron en 12, 17 y 11 ocasiones respectivamente en esta región durante el transcurso del proyecto, en las demás oportunidades la presencia de esta especie sólo estuvo entre los niveles de abundancia relativa 1 (Raro) y 3 (Regular).



3_ Región de Los Ríos

Se observó una importante distribución temporal de esta microalga, con presencia en las 11 campañas realizadas durante el periodo de estudio, desde febrero 2021 (cruce N°1) hasta enero de 2022 (cruce N°11).

En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que las cuatro transectas de la región tuvieron presencia de este dinoflagelado durante todo el proyecto, y que en 4 de los 11 cruces se detectó en todas sus estaciones simultáneamente. La cobertura espacial de *D. acuminata* fue del 89,4% en la región durante el periodo de estudio.

Cuando la especie fue detectada, sus estimadores de abundancia relativa se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 8 (Ultra Abundante). Entre los estimadores antes nombrados, el Nivel 1 fue la moda, detectándose en 28 ocasiones durante el periodo de estudio. El Nivel 8, que fue el máximo en la región, sólo se presentó durante el cruce N°1 en las estaciones de Chaihuín 2 millas y Río Bueno 5 millas. El Nivel 7 (Hiper Abundante) se observó solamente durante los cruces N°1 (en las estaciones de 5 y 10 millas de la transecta de Chaihuín), cruce N°7 (septiembre 2021, en las estaciones Mehuín 5 millas y Chaihuín 2 millas) y cruce N°8 (octubre 2021, en las estaciones de 5 y 10 millas de la transecta de Mehuín y en las estaciones de 2 y 10 millas de la transecta de Niebla). Por su parte el Nivel 6 (Extremadamente Abundante), el Nivel 5 (Muy Abundante) y el Nivel 4 (Abundante), se detectaron en 9, 14 y 12 ocasiones respectivamente en esta región durante el transcurso del proyecto, en las demás oportunidades, que sumadas fueron la mayoría, la presencia de esta especie sólo estuvo entre los niveles de abundancia relativa 1 (Raro) y 3 (Regular).

4_ Región de Los Lagos

Se observó una importante distribución temporal de esta microalga, con presencia en las 11 campañas realizadas durante el periodo de estudio, desde febrero 2021 (cruce N°1) hasta enero de 2022 (cruce N°11).

En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que las nueve transectas de la región tuvieron presencia de este dinoflagelado, encontrándose todas estas transectas simultáneamente en 10 de los 11 cruces, incluso en cuatro de estos cruces se detectó en todas sus estaciones. La cobertura espacial de *D. acuminata* fue del 90,9% en la región durante el periodo de estudio.

Cuando la especie fue detectada, sus estimadores de abundancia relativa se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 9 (Mega Abundante). Entre los estimadores antes nombrados, el Nivel 4 (Abundante) fue la moda, detectándose en 54 ocasiones durante el periodo de estudio. El Nivel 9, que fue el máximo en la región, sólo se presentó durante el cruce N°7 (septiembre 2021) en la estación Cucao 10 millas. Por su parte el Nivel



8 (Ultra Abundante), el Nivel 7 (Hiper Abundante), el Nivel 6 (Extremadamente Abundante) y el Nivel 5 (Muy Abundante), se detectaron en 5, 10, 25 y 42 ocasiones respectivamente en esta región durante el transcurso del proyecto, en las demás oportunidades la presencia de esta especie sólo estuvo entre los niveles de abundancia relativa 1 (Raro) y 3 (Regular).

5_ Región de Aysén

Se observó una importante distribución temporal de esta microalga, con presencia en las 11 campañas realizadas durante el periodo de estudio, desde enero 2021 (cruce N°1) hasta enero de 2022 (cruce N°11).

En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que la transecta de esta región tuvo presencia de este dinoflagelado en sus tres estaciones durante todo el proyecto. La cobertura espacial de *D. acuminata* fue del 100% en la región durante el periodo de estudio.

La especie siempre fue detectada y sus niveles de estimadores relativa se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 8 (Ultra Abundante), pero sin tener representatividad en los niveles 5 (Muy Abundante) y 7 (Hiper Abundante). El Nivel 1 fue la moda, detectándose en 19 ocasiones durante el periodo de estudio. El Nivel 8, que fue el máximo en la región, sólo se presentó durante el cruce N°1 en las estaciones de 5 y 10 millas de Canal Tuamapu. Es preciso mencionar que el Nivel 6 (Extremadamente Abundante), también fue observado solamente en el cruce N°1, pero en la estación de 2 millas de la transecta de Canal Tuamapu. Por su parte el Nivel 4 (Abundante), se detectó en 4 ocasiones en esta región durante el transcurso del proyecto, en las demás oportunidades, que sumadas fueron la mayoría, la presencia de esta especie sólo estuvo entre los niveles de abundancia relativa 1 (Raro) y 3 (Regular).

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

1_ Región del Biobío, esta microalga estuvo ausente en las 11 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 11 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 11 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 4 de las 11 campañas realizadas durante el periodo de estudio, detectándose en los cruceros N°2 (marzo 2021), N°3 (abril 2021), N°6 (agosto 2021) y N°10 (diciembre de 2021).

En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que cinco de las nueve transectas de la región, Playa Brava, Faro Corona, Chepu, Cucao y Caleta Zorra, tuvieron presencia de este dinoflagelado en algún momento del proyecto, pero nunca se encontraron estas cinco simultáneamente en un mismo crucero. La cobertura espacial de *D. acuta* fue del 3,0% en la región durante el periodo de estudio.

Cuando la especie fue detectada, sólo presentó el Nivel 1 (Raro) de abundancia relativa y fue observada en apenas 9 ocasiones, estando 5 de ellas en el crucero N°2 (en las estaciones de Playa Brava 5 millas, Faro Corona 2 millas, Cucao 2 millas, Cucao 5 millas y Caleta Zorra 5 millas).

5_ Región de Aysén

Se observó que la distribución temporal de esta microalga tuvo presencia en 6 de las 11 campañas realizadas durante el periodo de estudio, detectándose en los cruceros N°1 (enero 2021), N°2 (febrero 2021), N°3 (abril 2021), N°4 (mayo 2021), N°5 (junio 2021) y N°7 (octubre 2021).

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.

En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que la transecta de esta región tuvo presencia de este dinoflagelado en sus tres estaciones, y se detectó en todas ellas simultáneamente en 5 de los cruceros. La cobertura espacial de *D. acuta* fue del 51,5% en la región durante el periodo de estudio.

Cuando la especie fue detectada, sus estimadores de abundancia relativa se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 4 (Abundante). Entre los estimadores antes nombrados, el Nivel 1 fue la moda, detectándose en 11 ocasiones durante el periodo de estudio. El Nivel 4, que fue el máximo en la región, sólo se presentó durante el crucero N°3 en la estación de 10 millas de Canal Tuamapu. Es preciso mencionar que el Nivel 3 (Regular) también se observó solamente en el crucero N°3, pero en las estaciones de 2 y 5 millas de la transecta de Canal Tuamapu. Por su parte el Nivel 2 (Escaso) sólo fue detectado en el crucero N°1 (en las tres estaciones de la transecta).

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



1_ Región del Biobío

Se observó que la distribución temporal de esta microalga tuvo presencia solamente en 4 de las 11 campañas realizadas durante el periodo de estudio, detectándose en los cruceros N°4 (mayo 2021), N°5 (junio 2021), N°6 (julio 2021) y N°7 (septiembre 2021).

En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que tres de las cuatro transectas de la región, Coliumo, Tubul y Llico, tuvieron presencia de este dinoflagelado en al menos una de sus estaciones, sin embargo, nunca coincidieron estas tres transectas en un mismo crucero. La cobertura espacial de *P. reticulatum* fue del 11,4% en la región durante el periodo de estudio.

Cuando la especie fue detectada, sus estimadores de abundancia relativa fueron bajos y se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 3 (Regular). Entre los estimadores antes nombrados, el Nivel 1 fue la moda, detectándose en 10 ocasiones durante el periodo de estudio. El Nivel 3, que fue el máximo en la región, solamente se presentó en los cruceros N°4 (en la estación de 5 millas de la transecta de Tubul) y crucero N°5 (en la estación de 2 millas de la transecta de Llico). El Nivel 2 (Escaso) se observó solamente en estaciones de las transectas de Tubul (en el crucero N°4 en la estación 10 millas, y en el crucero N°5 en las estaciones costa y 5 millas) y Llico (en el crucero N°4 en la estación costa, en el crucero N°5 en la estación 5 millas, y en el crucero N°7 en las estaciones 2, 5 y 10 millas).

2_ Región de La Araucanía

Se observó que la distribución temporal de esta microalga tuvo presencia en 3 de las 11 campañas realizadas durante el periodo de estudio, detectándose en los cruceros N°4 (junio de 2021), N°5 (julio 2021) y N°7 (septiembre 2021).

En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que todas las estaciones de la región tuvieron presencia de este dinoflagelado en algún momento del proyecto, pero nunca se detectaron todas ellas simultáneamente en un mismo crucero, sin embargo, las tres transectas que componen la región sí coincidieron todas juntas (representadas con al menos una de sus estaciones) en dos cruceros. La cobertura espacial de *P. reticulatum* fue del 16,2% en la región durante el periodo de estudio.

Cuando la especie fue detectada, sus estimadores de abundancia relativa se movieron entre el nivel 1 (Raro) y el Nivel 4 (Abundante). Entre los estimadores antes nombrados, los Niveles 1 (Raro), 2 (Escaso) y 3 (Regular) fueron las modas, detectándose en 5 ocasiones cada uno durante el periodo de estudio. El Nivel 4, que fue el máximo en la región, sólo se presentó durante el crucero N°7 en la estación de 10 millas de la transecta de Queule. Es preciso mencionar que de las 5 ocasiones en que fue detectado el Nivel 3 (Regular),



4 de ellas estuvieron en el crucero N°7, específicamente en las estaciones de Nehuentúe 5 millas, Nehuentúe 10 millas, Puerto Saavedra 10 millas y Queule 5 millas.

3_ Región de Los Ríos

Se observó que la distribución temporal de esta microalga tuvo presencia en 2 de las 11 campañas realizadas durante el periodo de estudio, detectándose en los cruceros N°5 (julio 2021) y N°7 (septiembre 2021).

En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que las cuatro transectas de la región tuvieron presencia de este dinoflagelado, y que en 1 crucero coincidieron las cuatro, pero sin ser detectado en todas sus estaciones. La cobertura espacial de *P. reticulatum* fue del 9,8% en la región durante el periodo de estudio.

Cuando la especie fue detectada, sus estimadores de abundancia relativa se movieron entre el nivel 1 (Raro) y el Nivel 4 (Abundante). Entre los estimadores antes nombrados, el Nivel 1 fue la moda, detectándose en 7 ocasiones durante el periodo de estudio. El Nivel 4, que fue el máximo en la región, sólo se presentó durante el crucero N°7 en las estaciones de 5 y 10 millas de la transecta de Mehuín. Es preciso mencionar que el Nivel 3 (Regular) también se observó solamente en el crucero N°7, pero en la estación de 5 millas de la transecta de Niebla. El Nivel 2 (Escaso) sólo fue detectado en el crucero N°5, específicamente en las estaciones de 5 y 10 millas de la transecta de Mehuín, y en la estación de 5 millas de la transecta de Niebla.

4_ Región de Los Lagos

Se observó que la distribución temporal de esta microalga tuvo presencia en 9 de las 11 campañas realizadas durante el periodo de estudio, detectándose en los cruceros N°1 (febrero 2021), N°2 (marzo 2021), N°3 (abril 2021), N°4 (mayo 2021), N°6 (fines de julio e inicios de agosto de 2021), N°7 (septiembre 2021), N°9 (noviembre 2021), N°10 (diciembre 2021) y N°11 (enero 2022).

En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que las nueve transectas de la región tuvieron presencia de este dinoflagelado, y que en 1 crucero coincidieron las nueve, pero sin ser detectado en todas sus estaciones. La cobertura espacial de *P. reticulatum* fue del 30,6% en la región durante el periodo de estudio.

Cuando la especie fue detectada, sus estimadores de abundancia relativa se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 5 (Muy Abundante). Entre los estimadores antes nombrados, el Nivel 3 (Regular) fue la moda, detectándose en 37 ocasiones durante el periodo de estudio. El Nivel 5, que fue el máximo en la región, sólo se presentó durante el crucero N°11 en la estación de 2 millas de la transecta de Carelmapu. El Nivel 4 (Abundante) se observó solamente en los cruceros N°2 (en las estaciones de 2 y 5 millas de las transectas



de Estaquilla, en las estaciones de 2 y 10 millas de la transecta de Mar Brava, y en las estaciones de 2 y 5 millas de la transecta de Cucao) y crucero N°11 (en las estaciones de 10 millas de las transectas de Playa Brava y Faro Corona). Por su parte el Nivel 2 (Escaso) y el Nivel 1 (Raro), se detectaron en 29 y 16 ocasiones respectivamente en esta región durante el transcurso del proyecto.

5_ Región de Aysén

Se observó que la distribución temporal de esta microalga tuvo presencia en 6 de las 11 campañas realizadas durante el periodo de estudio, detectándose en los cruceros N°1 (enero 2021), N°2 (febrero 2021), N°3 (abril 2021), N°6 (agosto 2021), N°10 (diciembre 2021) y N°11 (enero 2022).

En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que la transecta de esta región tuvo presencia de este dinoflagelado en sus tres estaciones, y se detectó en todas ellas simultáneamente en 4 de los cruceros. La cobertura espacial de *P. reticulatum* fue del 42,4% en la región durante el periodo de estudio.

Cuando la especie fue detectada, sus estimadores de abundancia relativa se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 4 (Abundante). Entre los estimadores antes nombrados, el Nivel 4 fue la moda, además de ser el máximo en la región, y se registró en los cruceros N°1 (en las tres estaciones de Canal Tuamapu), crucero N°2 (en la estación de 10 millas) y crucero N°3 (en las tres estaciones). El Nivel 3 (Regular) sólo se observó en el crucero N°2, específicamente en la estación de 5 millas de Canal Tuamapu. El Nivel 2 (Escaso) se presentó solamente en los cruceros N°2 (en la estación de 2 millas) y crucero N°11 (en las estaciones de 2 y 5 millas). Por su parte el Nivel 1 (Raro), se detectó en 3 ocasiones en esta región durante el transcurso del 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 11 campañas realizadas durante el periodo de estudio, desde febrero 2021 (crucero N°1) hasta enero de 2022 (crucero N°11).

En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que las cuatro transectas de la región tuvieron presencia de esta diatomea durante todo el proyecto, y que en 8 de los 11 cruceros se detectó en todas sus estaciones simultáneamente. La cobertura espacial de *Pseudo-nitzschia cf. australis* fue del 97,2% en la región durante el periodo de estudio.



Cuando la especie fue detectada, sus estimadores de abundancia relativa se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 8 (Ultra Abundante). Entre los estimadores antes nombrados, el Nivel 5 (Muy Abundante) fue la moda, detectándose en 39 ocasiones durante el periodo de estudio. El Nivel 8, que fue el máximo en la región, sólo se presentó durante el crucero N°9 (octubre 2021) en la estación 10 millas de la transecta de Tubul y en la estación de 5 millas de la transecta de Llico. El Nivel 7 (Hiper Abundante) se detectó en 23 ocasiones en esta región durante el transcurso del proyecto, estando 9 de ellas en el crucero 9, específicamente en las estaciones de 5 y 10 millas de la transecta de Colcura, en las estaciones costa, 2 y 5 millas de la transecta de Tubul, en las estaciones costa, 2 y 10 millas de la transecta de Llico, y en la estación de 5 millas de la transecta de Coliumo. Por su parte el Nivel 6 (Extremadamente Abundante) y el Nivel 4 (Abundante), se detectaron en 23 y 32 ocasiones respectivamente en esta región durante el transcurso del proyecto, en las demás oportunidades la presencia de esta especie sólo estuvo entre los niveles de abundancia relativa 1 (Raro) y 3 (Regular).

2_ Región de La Araucanía

Se observó una importante distribución temporal de esta microalga, con presencia en las 11 campañas realizadas durante el periodo de estudio, desde febrero 2021 (crucero N°1) hasta enero de 2022 (crucero N°11).

En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que las tres transectas de la región tuvieron presencia de esta diatomea durante todo el proyecto, y que en 10 de los 11 cruceros se detectó en todas sus estaciones simultáneamente. La cobertura espacial de *Pseudo-nitzschia cf. australis* fue del 98,0% en la región durante el periodo de estudio.

Cuando la especie fue detectada, sus estimadores de abundancia relativa se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 9 (Mega Abundante). Entre los estimadores antes nombrados, el Nivel 4 (Abundante) fue la moda, detectándose en 26 ocasiones durante el periodo de estudio. El Nivel 9, que fue el máximo en la región, solamente se presentó durante los cruceros N°8 (octubre 2021, en la estación Nehuentúe 10 millas) y crucero N°9 (noviembre 2021, en las estaciones de Puerto Saavedra 5 millas y Queule 2 millas). Es preciso mencionar que el Nivel 8 (Ultra Abundante) también se observó solamente en los cruceros N°8 (en las estaciones de Nehuentúe 5 millas, Puerto Saavedra 10 millas, Queule 2 millas y Queule 5 millas) y crucero N°9 (en las estaciones de Nehuentúe 5 millas, Puerto Saavedra 2 millas y Queule 10 millas). Por su parte el Nivel 7 (Hiper Abundante), el Nivel 6 (Extremadamente Abundante) y el Nivel 5 (Muy Abundante), se detectaron en 8, 10 y 11 ocasiones respectivamente en esta región durante el transcurso del proyecto, en las demás oportunidades la presencia de esta especie sólo estuvo entre los niveles de abundancia relativa 1 (Raro) y 3 (Regular).



3_ Región de Los Ríos

Se observó una importante distribución temporal de esta microalga, con presencia en las 11 campañas realizadas durante el periodo de estudio, desde febrero 2021 (crucero N°1) hasta enero de 2022 (crucero N°11).

En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que las cuatro transectas de la región tuvieron presencia de esta diatomea durante todo el proyecto, y que en 5 de los 11 cruceros se detectó en todas sus estaciones simultáneamente. La cobertura espacial de *Pseudo-nitzschia cf. australis* fue del 93,9% en la región durante el periodo de estudio.

Cuando la especie fue detectada, sus estimadores de abundancia relativa se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 9 (Mega Abundante). Entre los estimadores antes nombrados, el Nivel 4 (Abundante) fue la moda, detectándose en 21 ocasiones durante el periodo de estudio. El Nivel 9, que fue el máximo en la región, sólo se presentó durante el crucero N°9 (noviembre 2021) en la estación de Niebla 2 millas. El Nivel 8 (Ultra Abundante) se detectó en 3 ocasiones en esta región durante el transcurso del proyecto, estando 2 de ellas en el crucero N°9, específicamente en las estaciones de Mehuín 2 millas y Niebla 5 millas. Por su parte el Nivel 7 (Hiper Abundante), el Nivel 6 (Extremadamente Abundante) y el Nivel 5 (Muy Abundante), se detectaron en 14, 15 y 14 ocasiones respectivamente en esta región durante el transcurso del proyecto, en las demás oportunidades la presencia de esta especie sólo estuvo entre los niveles de abundancia relativa 1 (Raro) y 3 (Regular).

4_ Región de Los Lagos

Se observó una importante distribución temporal de esta microalga, con presencia en las 11 campañas realizadas durante el periodo de estudio, desde febrero 2021 (crucero N°1) hasta enero de 2022 (crucero N°11).

En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que las nueve transectas de la región tuvieron presencia de esta diatomea, encontrándose todas estas transectas simultáneamente en 7 de los 11 cruceros, incluso en uno de estos cruceros se detectó en todas sus estaciones (crucero N°2, marzo 2021). La cobertura espacial de *Pseudo-nitzschia cf. australis* fue del 87,2% en la región durante el periodo de estudio.

Cuando la especie fue detectada, sus estimadores de abundancia relativa se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 9 (Mega Abundante). Entre los estimadores antes nombrados, el Nivel 3 (Regular) fue la moda, detectándose en 44 ocasiones durante el periodo de estudio. El Nivel 9, que fue el máximo en la región,



solamente se presentó durante los cruceros N°1 (en las estaciones de Estaquilla 10 millas, Mar Brava 2 millas, Mar Brava 10 millas y Chepu 2 millas) y crucero N°11 (en las estaciones de Estaquilla 2 millas, Carelmapu 2 millas, Carelmapu 5 millas, Mar Brava 2 millas y Mar Brava 10 millas). Por su parte el Nivel 8 (Ultra Abundante), el Nivel 7 (Hiper Abundante), el Nivel 6 (Extremadamente Abundante), el Nivel 5 (Muy Abundante) y el Nivel 4 (Abundante), se detectaron en 18, 33, 37, 26 y 36 ocasiones respectivamente en esta región durante el transcurso del proyecto, en las demás oportunidades la presencia de esta especie sólo estuvo entre los niveles de abundancia relativa 1 (Raro) y 3 (Regular).

5_ Región de Aysén

Se observó una importante distribución temporal de esta microalga, con presencia en las 11 campañas realizadas durante el periodo de estudio, desde enero 2021 (crucero N°1) hasta enero de 2022 (crucero N°11).

En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que la transecta de esta región tuvo presencia de esta diatomea durante todo el proyecto, y que en 9 de los 11 cruceros se detectó en todas sus estaciones simultáneamente. La cobertura espacial de *Pseudo-nitzschia cf. australis* fue del 93,9% en la región durante el periodo de estudio.

Cuando la especie fue detectada, sus estimadores de abundancia relativa se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 6 (Extremadamente Abundante). Entre los estimadores antes nombrados, el Nivel 1 fue la moda, detectándose en 15 ocasiones durante el periodo de estudio. El Nivel 6, que fue el máximo en la región, solamente se presentó durante los cruceros N°1 (en las estaciones de 2 y 5 millas de Canal Tuamapu) y N°3 (abril 2021, en la estación de 2 millas de Canal Tuamapu). El Nivel 5 (Muy Abundante) se observó solamente durante los cruceros N°1 (en la estación de 10 millas), crucero N°2 (febrero 2021, en las tres estaciones) y crucero N°3 (en la estación de 5 millas). Por su parte el Nivel 4 (Abundante), se detectó en 4 ocasiones en esta región durante el transcurso del proyecto, en las demás oportunidades, que sumadas fueron la mayoría, la presencia de esta especie sólo estuvo entre los niveles de abundancia relativa 1 (Raro) y 3 (Regular).

***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 11 campañas realizadas durante el periodo de estudio, desde febrero 2021 (crucero N°1) hasta enero de 2022 (crucero N°11).



En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que las cuatro transectas de la región tuvieron presencia de esta diatomea, encontrándose todas estas transectas simultáneamente en 7 de los 11 cruceros, incluso en tres de estos cruceros se detectó en todas sus estaciones. La cobertura espacial de *Pseudo-nitzschia cf. pseudodelicatissima* fue del 71,6% en la región durante el periodo de estudio.

Cuando la especie fue detectada, sus estimadores de abundancia relativa se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 7 (Hiper Abundante). Entre los estimadores antes nombrados, el Nivel 3 (Regular) fue la moda, detectándose en 32 ocasiones durante el periodo de estudio. El Nivel 7, que fue el máximo en la región, solamente se presentó durante los cruceros N°5 (junio 2021, en las estaciones de 2 y 10 millas de la transecta de Llico) y crucero N°6 (julio 2021, en la estación de 10 millas de la transecta de Coliumo). El Nivel 6 (Extremadamente Abundante) se observó solamente en los cruceros N°3 (abril 2021, en las estaciones de 5 y 10 millas de la transecta de Coliumo), crucero N°5 (en las cuatro estaciones de la transecta de Colcura, en las estaciones de 2, 5 y 10 millas de la transecta de Tubul, y en las estaciones costa y 5 millas de la transecta de Llico) y crucero N°6 (en las estaciones costa, 2 y 5 millas de la transecta de Coliumo). Por su parte el Nivel 5 (Muy Abundante) y el Nivel 4 (Abundante), se detectaron en 9 y 24 ocasiones respectivamente en esta región durante el transcurso del proyecto, en las demás oportunidades, que sumadas fueron la mayoría, la presencia de esta especie sólo estuvo entre los niveles de abundancia relativa 1 (Raro) y 3 (Regular)

2_ Región de La Araucanía

Se observó una importante distribución temporal de esta microalga, con presencia en las 11 campañas realizadas durante el periodo de estudio, desde febrero 2021 (crucero N°1) hasta enero de 2022 (crucero N°11).

En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que las tres transectas de la región tuvieron presencia de esta diatomea, encontrándose todas estas transectas simultáneamente en 8 de los 11 cruceros, incluso en tres de estos cruceros se detectó en todas sus estaciones. La cobertura espacial de *Pseudo-nitzschia cf. pseudodelicatissima* fue del 71,7% en la región durante el periodo de estudio.

Cuando la especie fue detectada, sus estimadores de abundancia relativa se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 7 (Hiper Abundante). Entre los estimadores antes nombrados, el Nivel 3 (Regular) fue la moda, detectándose en 18 ocasiones durante el periodo de estudio. El Nivel 7, que fue el máximo en la región, sólo se presentó durante el crucero N°8 (octubre 2021), en las estaciones de Nehuentúe 10 millas, Puerto Saavedra 10 millas, Queule 5 millas y Queule 10 millas. El Nivel 6 (Extremadamente Abundante) se observó solamente en los cruceros N°1 (en la estación Nehuentúe 5 millas) y crucero N°8 (en las estaciones de 2 y



5 millas de la transecta de Nehuentúe, y en las estaciones de Puerto Saavedra 2 millas y Queule 2 millas). El Nivel 5 (Muy Abundante) también se detectó solamente en los cruceros N°1 (en la estación Nehuentúe 10 millas) y crucero N°8 (en la estación Puerto Saavedra 5 millas). Por su parte el Nivel 4 (Abundante), se detectó en 8 ocasiones en esta región durante el transcurso del proyecto, en las demás oportunidades, que sumadas fueron la mayoría, la presencia de esta especie sólo estuvo entre los niveles de abundancia relativa 1 (Raro) y 3 (Regular).

3_ Región de Los Ríos

Se observó una importante distribución temporal de esta microalga, con presencia en las 11 campañas realizadas durante el periodo de estudio, desde febrero 2021 (crucero N°1) hasta enero de 2022 (crucero N°11).

En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que las cuatro transectas de la región tuvieron presencia de esta diatomea, encontrándose todas estas transectas simultáneamente en 8 de los 11 cruceros, incluso en tres de estos cruceros se detectó en todas sus estaciones. La cobertura espacial de *Pseudo-nitzschia cf. pseudodelicatissima* fue del 74,2% en la región durante el periodo de estudio.

Cuando la especie fue detectada, sus estimadores de abundancia relativa se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 8 (Ultra Abundante). Entre los estimadores antes nombrados, el Nivel 2 (Escaso) fue la moda, detectándose en 26 ocasiones durante el periodo de estudio. El Nivel 8, que fue el máximo en la región, sólo se presentó durante el crucero N°1 en la estación de Niebla 10 millas. Es preciso mencionar que el Nivel 7 (Hiper Abundante) también se observó solamente en el crucero N°1, pero en las estaciones de Mehuín 10 millas, Niebla 2 millas, Niebla 5 millas y Chaihuín 10 millas. Por su parte el Nivel 6 (Extremadamente Abundante), el Nivel 5 (Muy Abundante) y el Nivel 4 (Abundante), se detectaron en 3, 11 y 9 ocasiones respectivamente en esta región durante el transcurso del proyecto, en las demás oportunidades, que sumadas fueron la mayoría, la presencia de esta especie sólo estuvo entre los niveles de abundancia relativa 1 (Raro) y 3 (Regular). Los mayores valores de abundancia relativa, desde el Nivel 4 (Abundante) al Nivel 8 (Ultra Abundante), sólo fueron detectados en los periodos de primavera y verano.

4_ Región de Los Lagos

Se observó una importante distribución temporal de esta microalga, con presencia en las 11 campañas realizadas durante el periodo de estudio, desde febrero 2021 (crucero N°1) hasta enero de 2022 (crucero N°11).



En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que las nueve transectas de la región tuvieron presencia de esta diatomea, encontrándose todas estas transectas simultáneamente en 5 de los 11 cruceros, incluso en dos de estos cruceros se detectó en todas sus estaciones. La cobertura espacial de *Pseudo-nitzschia cf. pseudodelicatissima* fue del 86,9% en la región durante el periodo de estudio.

Cuando la especie fue detectada, sus estimadores de abundancia relativa se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 10 (>Mega Abundante). Entre los estimadores antes nombrados, el Nivel 5 (Muy Abundante) fue la moda, detectándose en 48 ocasiones durante el periodo de estudio. El Nivel 10, que fue el máximo en la región, sólo se presentó durante el crucero N°11 en la estación de Estaquilla 2 millas. Es preciso mencionar que el Nivel 9 (Mega Abundante) también se observó solamente en el crucero N°11, pero en la estación de Playa Brava 2 millas. Por su parte el Nivel 8 (Ultra Abundante), el Nivel 7 (Hiper Abundante), el Nivel 6 (Extremadamente Abundante) y el Nivel 4 (Abundante), se detectaron en 8, 17, 34 y 45 ocasiones respectivamente en esta región durante el transcurso del proyecto, en las demás oportunidades la presencia de esta especie sólo estuvo entre los niveles de abundancia relativa 1 (Raro) y 3 (Regular).

5_ Región de Aysén

Se observó una importante distribución temporal de esta microalga, con presencia en las 11 campañas realizadas durante el periodo de estudio, desde enero 2021 (crucero N°1) hasta enero de 2022 (crucero N°11).

En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que la transecta de esta región tuvo presencia de esta diatomea en sus tres estaciones durante todo el proyecto. La cobertura espacial de *Pseudo-nitzschia cf. pseudodelicatissima* fue del 100% en la región durante el periodo de estudio.

La especie siempre fue detectada y sus estimadores de abundancia relativa se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 6 (Extremadamente Abundante). El Nivel 2 (Escaso) fue la moda, detectándose en 10 ocasiones durante el periodo de estudio. El Nivel 6, que fue el máximo en la región, solamente se presentó durante los cruceros N°1 (enero 2021) y crucero N°3 (abril 2021), en ambas oportunidades únicamente en la estación de 2 millas de la transecta de Canal Tuamapu. El Nivel 5 (Muy Abundante) se observó solamente durante los cruceros N°1 (en la estación de 5 millas) y crucero N°2 (febrero 2021, en las tres estaciones). Por su parte el Nivel 4 (Abundante), se detectó en 6 ocasiones en esta región durante el transcurso del proyecto, en las demás oportunidades, que sumadas fueron la mayoría, la presencia de esta especie sólo estuvo entre los niveles de abundancia relativa 1 (Raro) y 3 (Regular).



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.

Se presentan los resultados de los cruceros 1 al 11.

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**). Se presentan los resultados de biotoxinas por HPLC-MS en el Laboratorio del CREAN (**Tablas 1.1.5 a 1.1.8**). Solo se observa en algunas muestras de los dos primeros cruceros la presencia de GTX-2, pero en todos los casos bajo el límite de cuantificación de la técnica, lo que explica que las mismas muestras hayan sido negativas con el Bioensayo del Ratón realizado por el servicio de salud.

Toxina Amnésica

Todas las muestras analizadas por HPLC mediante Cromatografía Líquida de Alta Eficacia (HPLC) según la metodología descrita por [Wright & Quilliam \(1995\)](#), 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. En la región Del Biobío se detectó la presencia de DA en Colcura (cruceros 4 y 9 con niveles de 100 y 520 ng/g, respectivamente), en el crucero 9 además se detectó DA en las estaciones de Llico y Tubul (1580 y 1460 ng/g) (**Tabla 1.1.5**). En la región de la Araucanía (**Tabla 1.1.6**) se obtienen resultados positivos a DA en el crucero 8 (Queule, <LC) y 9 (Nehuentúe y Queule, ambos con 360 ng/g). En la región de Los Ríos (**Tabla 1.1.7**), se detectó DA en los cruceros 1 (Niebla: < LC, Chaihuín: 290 ng/g y Río Colún: 790 ng/g), 8 (Niebla: <LC) y 9 (Mehuín: 288 ng/g, Chaihuín: 167 ng/g y Río Colún: 262 ng/g). En la Región de Los Lagos (**Tabla 1.1.8**) se detectó la presencia de DA en todas las estaciones del crucero 1 (niveles desde 620 a 3780 ng/g) y en la mayoría de las estaciones del crucero 2 (los niveles de las estaciones positivas fluctúan desde < LC a 620 ng/g), en los demás cruceros, se detectó DA en algunas estaciones con niveles inferiores. Solamente los cruceros 7 y 8 no presentaron muestras positivas.

Toxinas Lipofilicas.

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 en el Laboratorio del CREAN. (**Tablas 1.1.5 a 1.1.8**). En este último caso solo se tabulan las toxinas que en alguna muestra tengan resultados positivos.



En la región de Biobío los resultados de TDM (**Tabla 1.1.1**) obtienen algunos resultados positivos en los cruceros 1 (Coliumo), 2 (Colcura y Coliumo), 6 (Coliumo, Llico y Tubul), 9 (Coliumo y Llico) y 11 (Colcura, Llico y Tubul). Los resultados de TML por HPLC Ms presentan una muestra positiva a Gym (<LC) en el crucero 5 en la Estación de Llico (**Tabla 1.1.5**).

En las regiones de La Araucanía y Los Ríos (**Tabla 1.1.2 y 1.1.3**) los resultados de TDM presentan un solo caso positivo en Niebla (crucero 8). Por HPLC MS, la mayoría de las estaciones son positivas a Gym, con niveles de <LC (**Tablas 1.1.6 y 1.1.7**).

En la región de Los Lagos solo la estación de Carelmapu dio positiva a TDM en los cruceros 3 y 11 (**Tabla 1.1.4**). De las TML, solo se detectó Aza 2 en Playa Brava (cruceros 2 y 10), con nivel de <LC. Se detectó Gym en los cruceros 1 (Carelmapu), crucero 5 (todas las estaciones), crucero 6 (Chepu), crucero 7 (Bahía Mansa y Carelmapu) y crucero 8 (Chepu), pero con concentraciones <LC. (**Tabla 1.1.8**).

Tal como se señala en los resultados, la totalidad de las muestras analizadas mediante el Bioensayo del ratón son negativas a TPM. Sin embargo en los ensayos realizados en el Crean por HPLC Ms, unas pocas muestras presentaron resultados positivos a toxinas paralizantes, específicamente el análogo GTX2, pero en todos los casos con niveles bajo el límite de cuantificación, lo que no es raro, debido a que la metodología de HPLC Ms es mucho más sensible que el bioensayo del ratón.

Se da una situación similar en las muestras analizadas para TAM. Todas las muestras analizadas por el HPLC-FI son negativas (ND), sin embargo en las muestras analizadas por HPLC-MS en el Crean se dan varios casos positivos, que son producto de la mayor sensibilidad de la metodología utilizada. Sin embargo en las muestras que dan niveles más elevados de DA (Crucero 1 de la Región de los Lagos), la de mayor concentración encontrada, es al menos 5 veces menor al límite regulatorio.

Los resultados obtenidos por el Bioensayo del ratón para TDM, son en su mayoría negativos (ND), sin embargo en los pocos casos que presentan resultados positivos, son Muerte del ratón a las 21-23 horas, en su mayoría sin signología característica. Con los resultados obtenidos con el HPLC-MS en el Crean, podemos inferir que posiblemente esos casos son falsos positivos, ya que los pocos casos positivos encontrados, son por Gymnodimina y AZA 2 (un solo caso), pero siempre con niveles bajo el límite de cuantificación, niveles que no tienen ningún riesgo para la salud humana, y que no podrían causar la muerte en el ensayo del ratón. En todo caso no se puede descartar la posibilidad que se encuentre alguna toxina que no hemos buscado con el HPLC MS.



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

A continuación, se presentan los resultados obtenidos de la data CTD durante el monitoreo de la etapa IV en 5 las regiones de cobertura del proyecto (i.e., Biobío, La Araucanía, Los Ríos, Los Lagos y Aysén) con transectas perpendiculares a la costa y puntos de muestreo en las 2, 5 y 10 millas marinas.

Para una mejor comprensión y análisis se agruparon los meses en función de la estacionalidad, y dado que el primer crucero fue realizado en febrero, comenzaremos a describir desde verano tardío a otoño, invierno, primavera y comienzo de verano.

En la condición de verano tardío para el mes de febrero y marzo se puede apreciar el proceso de surgencia tanto en el golfo de Arauco (Biobío) como en el área de Punta Galera (Los Ríos). En el área de Biobío se observa una columna de agua estratificada con máximos subsuperficiales de clorofila_a.

Por otra parte, se aprecia la mezcla de agua que produce el Canal de Chacao (remolinos), generando una frontera para las aguas que están al norte y al sur del Canal de Chacao con características más estratificadas. A las 2 millas se puede apreciar para este periodo los aportes de agua de los ríos, los cuales desaguan aguas altas en O₂ y T° y bajas salinidades superficiales (río Imperial, río Valdivia y el río Maullín). (**Figuras 1.3.1 y 1.3.2**).

Durante la temporada de otoño la columna de agua tiende a homogenizarse y la descarga de los ríos se hace más evidente con mayores valores de O₂ y bajas salinidades en donde estos hacen ingreso al mar. En la región del Biobío se observan altos niveles de clorofila_a asociadas a las estaciones del golfo de Arauco con valores altos de O₂. En la región de los Lagos y particularmente en el canal de Chacao se mantiene la mezcla de agua en profundidad, lo que actúa como barrera natural de las condiciones oceanográficas que se presentan al norte y al sur del mismo (**Figuras 1.3.3, 1.3.4 y 1.3.5**).

En los meses de invierno y comienzo de primavera (septiembre) se presenta una columna agua homogénea (Mezcla Invernal) y la influencia de los ríos (e.g., régimen pluvial) se hace más relevante, principalmente a las 2 millas donde se puede observar menores salinidades y valores altos de O₂. Se observó una evidente la influencia del río Cucao, el cual tiene un régimen pluvial con sus mayores caudales durante el invierno. El efecto del canal de Chacao y sus remolinos se mantiene mezclando el agua en toda la columna (al menos



hasta los 60 metros de profundidad) y se mantiene como una barrera entre las aguas al norte y al sur del canal, las cuales tienen características muy diferentes (**Figuras 1.3.6, 1.3.7 y 1.3.8**).

Las condiciones de primavera en el área de estudio, que se caracterizan por un aumento en la intensidad de los vientos de componente sur, favorables a los procesos de surgencia costera y una mayor radiación solar, promueven el repunte primaveral de fitoplancton. Debido a este proceso, se observó un aumento de clorofila_a subsuperficial con el consiguiente incremento del O_2 (**Figuras 1.3.9, 1.3.10 y 1.3.11**).

Durante este periodo de primavera la influencia de los ríos sigue siendo importante, incorporando al sistema costero agua con concentraciones altas de O_2 y bajas salinidades, lo que se observa principalmente en las estaciones ubicadas a 2 millas de la costa: el aporte de agua de baja salinidad al sistema costero induce un proceso de estratificación, que implica que se desarrollen máximos subsuperficiales de clorofila_a en las estaciones costeras, con un evidente gradiente norte a sur. Durante este periodo se mantuvo presente el efecto de mezcla de agua del canal de Chacao. (**Figuras 1.3.10 y 1.3.11**).

Con el inicio del verano, se intensifica la estratificación de la columna de agua, con presencia de máximos subsuperficiales de clorofila_a y el consiguiente aumento del O_2 . En este periodo también se observa el efecto de aporte de agua de los ríos principalmente en las 2 millas, con menores valores de salinidad y mayor cantidad de O_2 . El Canal de Chacao se mantiene con la mezcla de agua en profundidad. En la costa de Chiloé (Cucao) se registró el ingreso de aguas desde el fondo bajas en O_2 y alta salinidad, lo que pudo estar relacionado con un evento de surgencia local. (**Figuras 1.3.10 y 1.3.11**).

Durante el periodo de estudio se observaron tres procesos oceanográficos que tuvieron un impacto en las concentraciones de clorofila_a, los que además, se pueden relacionar con los cambios de la composición del fitoplancton y los procesos biogeoquímicos en la zona de estudio:

1. Surgencia costera: de norte a sur Biobío, Punta Galera y Cucao (Chiloé centro).
2. Aporte de ríos: con efecto principalmente en las 2 millas y con sus mayores influencias entre los meses de invierno, primavera y verano.
3. Mezcla de la columna de agua en el Canal de Chacao: se mantiene un efecto de remolinos la cual homogeniza la columna de agua y mantiene una condición particular del área. Manteniéndose como una barrera entre las condiciones presentes al norte y al sur del Canal de Chacao.



Surgencia costera: en el borde oriental de los océanos se encuentran localizados los centros de mayor productividad biológica (Barber y Smith, 1981). En el Océano Pacífico Sur Oriental se ubica el sistema de Corrientes Humboldt (Strub *et al.* 1998) la cual incluye los sistemas de surgencia costera de Perú y Chile (Morales y Lange, 2004). En este sistema, la fuente principal del agua de la surgencia es el Agua Ecuatorial Subsuperficial (AESS), que se caracteriza por tener una alta concentración de nutrientes y un bajo contenido de oxígeno disuelto que aflora a la zona eufótica. Mientras que el AESS se desplaza hacia el polo, las aguas de origen antártico y APP se desplazan hacia el norte (Sievers y Silva, 1982; Silva, 1983). Además, a lo largo de la costa de Chile y en particular en la zona centro sur, se encuentra el Agua SubAntártica (ASAA), el Agua Intermedia Antártica (AIAA) y el Agua Profunda del Pacífico (APP) (Figura. 1.3.12) (Sievers y Silva, 1982; Silva, 1983). En este sistema de corrientes, el viento a lo largo de la costa tiene una señal anual con máximos entre primavera y verano (Soto-Mardones *et al.* 2004) con una dirección predominante hacia el ecuador favoreciendo la surgencia.

La surgencia costera que se manifiesta en los sistemas de borde oriental está asociada a puntos topográficos específicos como puntas, penínsulas, cabos y bahías (Fonseca y Farías, 1987), y es manejada por el esfuerzo del viento que genera transporte hacia el oeste de las aguas superficiales. El esfuerzo del viento sobre la superficie del mar y la rotación terrestre dan como resultado este transporte (Smith, 1968). El ascenso de aguas de menor temperatura y mayor densidad, que posteriormente se desplazan al oeste promueve la formación de un frente de surgencia (Figura. 1.3.12a) (Fedorov, 1985).

En la zona centro sur se han identificado cinco focos de surgencia importantes: Punta Curaumilla (33°00'S), Punta Topocalma (34°10'S), Punta Nugurne (35°57'S), Punta Lavapie (37°15'S) y Punta Galera (40°00'S) (Cáceres, 1992; Fonseca y Farías, 1987; Letelier *et al.* 2009) además se suma como una zona de surgencia leve la zona central de Chiloé (Thiel *et al.* 2007). La zona frente a Concepción, se caracteriza por una surgencia de carácter estacional, con mayor intensidad durante primavera-verano (Cáceres y Arcos, 1991; Sobarzo y Figueroa, 2001; Sobarzo *et al.*, 2007).

Aporte de ríos: En la zona de monitoreo desaguan importantes ríos, y su influencia se hace más importante durante los meses de invierno y primavera producto dependiendo de las condiciones de cada uno de ellos, estos pueden ser pluviales o mixtos con mayores caudales en invierno. En orden de norte a sur tenemos el río Bío-Bío con un caudal promedio de 899 m³/seg y con un régimen pluvio-nival. Río Imperial con caudal promedio 240m³/seg con régimen pluvial. Río Tolten con caudal promedio 52m³/seg con régimen mixto, mayor caudal en invierno. Río Valdivia con caudal promedio 687m³/seg régimen pluvial y regulado por lagos precordilleranos. Río Bueno con caudal promedio 570m³/seg con régimen pluvial, regulado por lagos



precoedilleranos y con algunos tributarios de régimen nival. Río Maullín con un caudal promedio de 100m³/seg con régimen pluvial y desaguadero del Lago Llanquihue. (BCN, 2022).

Remolinos de mesoescala: Los remolinos tienen gran importancia para muchos procesos oceánicos, pues generan importantes variaciones en el nivel del mar, transportando y redistribuyendo la salinidad y el calor entre las distintas masas de agua, e intercambiando calor y agua con la atmósfera. Por tanto, juegan un papel muy importante en la mezcla de capas oceánicas, intercambiando nutrientes y otros elementos entre zonas superficiales y profundas, y entre su zona de ubicación y su entorno (Candelario Cruz Gomez *et al.* 2008).

Recolección de muestras y análisis para nutrientes

Análisis base de datos nutrientes periodo 2018-2019-2020.

Con el propósito de establecer mayor conocimiento en la distribución y variabilidad de los nutrientes, temporal y espacial, desde el 2018 se recolectaron muestras de nitrato, nitrito, fosfato y silice en dos profundidades (0-10 y 10-20 metros) al largo de las 5 regiones, 21 transectas entre las 2, 5 y 10 millas que contempla este monitoreo, en este informe se realiza una caracterización de los años 2018, 2019 y 2020. Los rangos de concentración latitudinal por nutrientes se muestran en las **Figuras 1.3.13, 1.3.14, 1.3.15 y 1.3.16**, para cada uno de los dos estratos, entre los años 2018 al 2020 y para todas las regiones que comprende este estudio.

Para el periodo comprendido entre el 2018 y 2020, en el estrato 0-10 m (**Figura 1.3.17**), las concentraciones de nitrito fluctuaron entre 0,001 uM a 3,50 uM, con un promedio de $0,40 \pm 0,38$. En la distribución de los datos se observa que el tercer cuartil (Q75) es cercano al promedio (**Tabla 1.1.13**). Para las concentraciones de nitrato en el mismo periodo las concentraciones fluctuaron entre 0,001 uM a 39,99 uM con un promedio de $9,35 \pm 7,15$. En la distribución de los datos se observa que el primer cuartil junto con el tercer cuartil se ubica bajo la mediana. Para fosfato el rango fue entre 0,01 uM a 5,97 uM donde el promedio de los datos fue de 1,22 uM. La distribución de los datos en el tercer cuartil es de 1,55. Para los datos de sílice en el periodo analizado, el rango fue de 0,001 uM a 77,84 uM, con un promedio de $9,64 \pm 9,80$. La distribución del tercer cuartil esta por sobre el promedio con un valor Q75 de 12,10. (**Tabla 1.1.13**)

En el estrato 10-20 m (**Figura 1.3.18**), las concentraciones de nitrito fluctuaron entre 0,001 uM a 3,43 uM, con un promedio de $0,42 \pm 0,39$. En la distribución de los datos se observa que el tercer cuartil (Q75) es cercano al promedio de 0,51. Para las concentraciones de nitrato en el mismo periodo las concentraciones fluctuaron entre 0,05 uM a 40,47 uM con un promedio de $11,54 \pm 7,88$. En la distribución de los datos se observa que el primer cuartil se ubica bajo la mediana y el Q75 por sobre el promedio con un valor de 16,43.



Para fosfato el rango fue entre 0,04 uM a 6,05 uM donde el promedio de los datos fue de 0,94 uM. La distribución de los datos en el tercer cuartil es de 1,74. Para los datos de sílice en el periodo analizado, el rango fue de 0,001 uM a 61,33 uM, con un promedio de $7,85 \pm 6,61$. La distribución del tercer cuartil esta por sobre el promedio con un valor Q75 de 10,52. (**Tabla 1.1.14**)

Al realizar la serie de tiempo entre estaciones, fechas y los promedios de las concentraciones (**Figuras 1.3.19 y 1.3.20**) se observa de mejor manera los gradientes latitudinales para cada analito.

Para el caso del ion nitrito, los mayores promedios se registran en las estaciones de la región del Biobío, manteniendo un gradiente latitudinal similar, para los promedios de fosfato y sílice más marcado. En el caso de nitrato los promedios se mantienen homogéneos en un rango de promedios de 5 a 15 a lo largo de la latitud de muestreo, observándose promedios altos en la región del Biobío como también en la región de Los Ríos y Los Lagos durante los tres años realizados.

Distribución espacial y temporal: Verano 2018 (**Figuras 1.3.21 a 1.3.27**)

Para el análisis de los datos en verano se consideraron las fechas de muestreo entre los meses de enero, febrero y marzo 2018.

Nitrito

Durante el verano del 2018 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,04 uM a 3,5 uM con un promedio de $0,81 \pm 0,44$. El valor alto se presentó en la estación de Mar Brava (MPLT6-10) a las 10 millas en el mes de febrero 2018. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,07 uM a 3,39 uM con un promedio en los valores de $0,75 \pm 0,42$. El valor alto se presentó en Puerto Saavedra (MPAT2-5) a las 2 millas durante el mes de febrero 2018.

Nitrato

Para el verano del 2018 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,01 uM a 21,33 uM con un promedio de $9,35 \pm 4,90$. El valor alto se presentó en la estación de Bahía Coliumo (BCL-1) a la milla durante el mes de febrero 2018. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,17 uM a 27,80 uM con un promedio en los valores de $12,44 \pm 6,43$. El valor alto se presentó en Bahía Colcura (BCC-5) a las 5 millas durante el mes de marzo 2018.

Fosfato

Durante el verano del 2018 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,14 uM a 4,61 uM con un promedio de $1,32 \pm 0,65$. El valor alto se presentó en la estación de Bahía Tubul (BTB-4) a las 4 millas



en el mes de marzo 2018. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,15 μM a 3,43 μM con un promedio en los valores de $1,38 \pm 0,69$. El valor alto se presentó en Puerto Saavedra (MPAT2-5) a las 5 millas durante el mes de marzo 2018.

Sílice

Para el verano del 2018 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,01 μM a 46,00 μM con un promedio de $6,84 \div 5,40$. El valor alto se presentó en la estación de Bahía Tubul (BTB-4) a las 4 millas durante el mes de marzo 2018. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,01 μM a 27,38 μM con un promedio en los valores de $6,67 \pm 5,11$. El valor alto se presentó en Bahía Llico (BLL-5) a las 5 millas durante el mes de marzo 2018.

Distribución espacial y temporal: Otoño 2018 (Figuras 1.3.21 a 1.3.27)

Para el análisis de los datos en otoño se consideraron las fechas de muestreo entre los meses de abril, mayo y junio 2018.

Nitrito

Para el otoño del 2018 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,01 μM a 2,93 μM con un promedio de $0,47 \pm 0,20$. El valor alto se presentó en la estación de Estaquilla (MPLT2-2) a las 2 millas durante el mes de junio 2018. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,01 μM a 3,43 μM con un promedio en los valores de $0,58 \pm 0,32$. El valor alto se presentó en Estaquilla (MPLT2-5) a las 5 millas durante el mes de mayo 2018.

Nitrato

Durante el otoño del 2018 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,01 μM a 36,95 μM con un promedio de $9,15 \div 5,79$. El valor alto se presentó en la estación de Mar Brava (MPLT6-10) a las 10 millas en el mes de junio 2018. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,05 μM a 33,78 μM con un promedio en los valores de $11,03 \pm 5,15$. El valor alto se presentó en Puerto Saavedra (MPAT2-2) a las 2 millas durante el mes de marzo 2018.

Fosfato

Para el otoño del 2018 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,01 μM a 3,62 μM con un promedio de $1,10 \div 0,49$. El valor alto se presentó en la estación de Tubul (BTB-1) a la milla durante el mes de mayo 2018. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,15 μM a 3,30 μM con un



promedio en los valores de $1,05 \pm 0,46$. El valor alto se presentó en Bahía Tubul (BTB-10) a las 10 millas durante el mes de mayo 2018.

Sílice

Durante el otoño del 2018 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,01 uM a 45,79 uM con un promedio de $10,39 \pm 7,11$. El valor alto se presentó en la estación de Queule (MPAT3-2) a las 2 millas en el mes de junio 2018. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,01 uM a 34,07 uM con un promedio en los valores de $7,47 \pm 4,60$. El valor alto se presentó en Bahía Tubul (BTB-10) a las 10 millas durante el mes de junio 2018.

Distribución espacial y temporal: Invierno 2018 (Figuras 1.3.21 a 1.3.27)

Para el análisis de los datos en invierno se consideraron las fechas de muestreo entre los meses de julio, agosto y septiembre 2018.

Nitrito

Para el invierno del 2018 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,11 uM a 0,77 uM con un promedio de $0,36 \pm 0,12$. El valor alto se presentó en la estación de Bahía Colcura (BCC-1) a la 1 milla durante el mes de julio 2018. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,21 uM a 3,39 uM con un promedio en los valores de $0,58 \pm 0,32$. El valor alto se presentó en Playa Brava (MPLT3-5) a las 5 millas durante el mes de junio 2018.

Nitrato

Durante el invierno del 2018 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,05 uM a 20,67 uM con un promedio de $7,46 \pm 3,33$. El valor alto se presentó en la estación de Puerto Saavedra (MPAT2-5) a las 5 millas en el mes de junio 2018. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 1,42 uM a 20,01 uM con un promedio en los valores de $7,97 \pm 2,92$. El valor alto se presentó en Bahía Llico (BLL-10) a las 10 millas durante el mes de agosto 2018.

Fosfato

Para el invierno del 2018 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,28 uM a 3,17 uM con un promedio de $1,01 \pm 0,28$. El valor alto se presentó en la estación de Tubul (BTB-10) a las 10 millas durante el mes de mayo 2018. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,30 uM a 2,11 uM con un



promedio en los valores de $0,98 \pm 0,28$. El valor alto se presentó en Puerto Saavedra (MPAT2-5) a las 5 millas durante el mes de agosto 2018.

Sílice

Durante el invierno del 2018 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,36 μM a 45,27 μM con un promedio de $12,97 \div 6,99$. El valor alto se presentó en la estación de Queule (MPAT3-5) a las 5 millas en el mes de julio 2018. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,05 μM a 31,15 μM con un promedio en los valores de $9,03 \pm 4,54$. El valor alto se presentó en Bahía Mansa (MPLT1-2) a las 2 millas durante el mes de agosto 2018.

Distribución espacial y temporal: Primavera 2018 (**Figuras 1.3.21 a 1.3.27**)

Para el análisis de los datos en primavera se consideraron las fechas de muestreo entre los meses de octubre, noviembre y diciembre 2018.

Nitrito

Durante la primavera del 2018 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,03 μM a 0,81 μM con un promedio de $0,31 \pm 0,10$. El valor alto se presentó en la estación de Bahía Coliumo (BCL-4) a las 4 millas en el mes de noviembre 2018. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,02 μM a 1,22 μM con un promedio en los valores de $0,32 \pm 0,13$. El valor alto se presentó en Bahía Llico (BLL-5) a las 5 millas durante el mes de diciembre 2018.

Nitrato

Para la primavera del 2018 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,12 μM a 19,62 μM con un promedio de $5,65 \pm 3,83$. El valor alto se presentó en la estación de Bahía Coliumo (BCL-1) a la milla durante el mes de diciembre 2018. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,13 μM a 27,49 μM con un promedio en los valores de $7,46 \pm 5,12$. El valor alto se presentó en Bahía Tubul (BTB-10) a las 10 millas durante el mes de diciembre 2018.

Fosfato

Durante la primavera del 2018 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,30 μM a 3,05 μM con un promedio de $1,15 \pm 0,48$. El valor alto se presentó en la estación de Bahía Tubul (BCL-4) a las 4 millas en el mes de marzo 2018. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,17 μM a 3,43 μM



con un promedio en los valores de $1,21 \pm 0,55$. El valor alto se presentó Bahía Tubul (BTB-10) a las 10 millas durante el mes de diciembre 2018.

Sílice

Para la primavera del 2018 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,01 uM a 40,36 uM con un promedio de $7,98 \pm 5,50$. El valor alto se presentó en la estación de Queule (MPAT3-2) a las 2 millas durante el mes de marzo 2018. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,25 uM a 29,73 uM con un promedio en los valores de $6,13 \pm 4,07$. El valor alto se presentó en Carelmapu (MPLT4-5) a las 5 millas durante el mes de marzo 2018.

Distribución espacial y temporal: Verano 2019 (**Figuras 1.3.21 a 1.3.27**)

Para el análisis de los datos en verano se consideraron las fechas de muestreo entre los meses de enero, febrero y marzo 2019.

Nitrito

Durante el verano del 2019 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,08 uM a 3,25 uM con un promedio de $0,51 \pm 0,29$. El valor alto se presentó en la estación de Bahía Colcura (BCC-1) a la milla en el mes de marzo 2019. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,13

uM a 2,35 uM con un promedio en los valores de $0,37 \pm 0,18$. El valor alto se presentó la estación de Bahía Colcura (BCC-10) a las 10 millas durante el mes de marzo 2019.

Nitrato

Para el verano del 2019 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,23 uM a 25,38 uM con un promedio de $10,03 \pm 4,95$. El valor alto se presentó en la estación de Niebla (MPRT2-10) a las 10 millas durante el mes de febrero 2019. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 1,69 uM a 27,78 uM con un promedio en los valores de $12,38 \pm 4,40$. El valor alto se presentó en Rio Bueno (MPRT4-2) a las 2 millas durante el mes de febrero 2019.

Fosfato

Durante el verano del 2019 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,21 uM a 3,59 uM con un promedio de $1,55 \pm 0,53$. El valor alto se presentó en la estación de Bahía Tubul (BTB-4) a las 4 millas en el mes de marzo 2019. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,41 uM a 3,30 uM



con un promedio en los valores de $1,39 \pm 0,48$. El valor alto se presentó en Bahía Coliumo (BCL-4) a las 4 millas durante el mes de marzo 2019.

Sílice

Para el verano del 2019 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,11 uM a 26,85 uM con un promedio de $6,72 \pm 4,01$. El valor alto se presentó en la estación de Bahía Coliumo (BCL-1) a la milla durante el mes de enero 2019. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,36 uM a 26,61 uM con un promedio en los valores de $8,11 \pm 3,52$. El valor alto se presentó en Bahía Coliumo (BCL-4) a las 4 millas durante el mes de enero 2019.

Distribución espacial y temporal: Otoño 2019 (**Figuras 1.3.21 a 1.3.27**)

Para el análisis de los datos en otoño se consideraron las fechas de muestreo entre los meses de abril, mayo y junio 2019.

Nitrito

Para el otoño del 2018 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,04 uM a 1,84 uM con un promedio de $0,53 \pm 0,31$. El valor alto se presentó en la estación de Bahía Coliumo (BCL-10) a las 10 millas durante el mes de junio 2019. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,37 uM a 1,81 uM con un promedio en los valores de $0,58 \pm 0,37$. El valor alto se presentó en Faro Corona (MPLT5-2) a las 5 millas durante el mes de junio 2019.

Nitrato

Durante el otoño del 2018 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,35 uM a 28,13 uM con un promedio de $4,66 \pm 4,25$. El valor alto se presentó en la estación de Carelmapu (MPLT4-10) a las 10 millas en el mes de junio 2019. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,70 uM a 27,82 uM con un promedio en los valores de $4,68 \pm 4,19$. El valor alto se presentó en Cucao (MPLT8-2) a las 2 millas durante el mes de junio 2019.

Fosfato

Para el otoño del 2018 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,01 uM a 5,97 uM con un promedio de $2,23 \pm 1,43$. El valor alto se presentó en la estación de Carelmapu (MPLT4-2) a las 2 millas durante el mes de mayo 2019. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,08 uM a 5,96



uM con un promedio en los valores de $2,10 \pm 1,31$. El valor alto se presentó en Queule (MPAT3-2) a las 2 millas durante el mes de mayo 2019.

Sílice

Durante el otoño del 2018 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,43 uM a 72,64 uM con un promedio de $9,64 \pm 5,17$. El valor alto se presentó en la estación de Bahía Colcura (BCC-1) a la milla en el mes de junio 2019. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 1,24 uM a 57,13 uM con un promedio en los valores de $9,49 \pm 4,04$. El valor alto se presentó en Queule (MPAT3-5) a las 5 millas durante el mes de junio 2019.

Distribución espacial y temporal: Invierno 2019 (**Figuras 1.3.21 a 1.3.27**)

Para el análisis de los datos en invierno se consideraron las fechas de muestreo entre los meses de julio, agosto y septiembre 2019.

Nitrito

Para el invierno del 2019 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,01 uM a 1,89 uM con un promedio de $0,38 \pm 0,34$. El valor alto se presentó en la estación de Bahía Colcura (BCC-1) a la 1 milla durante el mes de julio 2019. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,01 uM a 1,66 uM con un promedio en los valores de $0,36 \pm 0,31$. El valor alto se presentó en Playa Brava (MPLT3-2) a las 2 millas durante el mes de julio 2019.

Nitrato

Durante el invierno del 2019 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,03 uM a 34,33 uM con un promedio de $12,12 \pm 5,97$. El valor alto se presentó en la estación de Puerto Saavedra (MPAT2-5) a las 5 millas en el mes de junio 2018. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,51 uM a 31,24 uM con un promedio en los valores de $13,36 \pm 6,02$. El valor alto se presentó en Chaihuin (MPRT3-2) a las 2 millas durante el mes de septiembre 2019.

Fosfato

Para el invierno del 2019 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,03 uM a 2,12 uM con un promedio de $0,69 \pm 0,27$. El valor alto se presentó en la estación de Chaihuin (MPRT3-10) a las 10 millas durante el mes de septiembre 2019. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,06 uM a



2,07 μM con un promedio en los valores de $0,77 \pm 0,31$. El valor alto se presentó en Canal Tuamapu (MPAYT1-2) a las 2 millas durante el mes de agosto 2019.

Sílice

Durante el invierno del 2019 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,04 μM a 76,64 μM con un promedio de $9,22 \pm 6,38$. El valor alto se presentó en la estación de Niebla (MPRT2-3) a las 2 millas en el mes de julio 2019. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,01 μM a 46,95 μM con un promedio en los valores de $6,53 \pm 4,45$. El valor alto se presentó en Estaquilla (MPLT2-5) a las 5 millas durante el mes de julio 2019.

Distribución espacial y temporal: Primavera 2019 (Figuras 1.3.21 a 1.3.27)

Para el análisis de los datos en primavera se consideraron las fechas de muestreo entre los meses de octubre, noviembre y diciembre 2019.

Nitrito

Durante la primavera del 2019 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,03 μM a 1,06 μM con un promedio de $0,11 \pm 0,08$. El valor alto se presentó en la estación de Bahía Coliumo (BCL-1) a la milla en el mes de diciembre 2019. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,01 μM a 0,94 μM con un promedio en los valores de $0,12 \pm 0,08$. El valor alto se presentó en Bahía Bahía Colcura (BCC-5) a las 5 millas durante el mes de noviembre 2019.

Nitrato

Para la primavera del 2018 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,01 μM a 28,94 μM con un promedio de $6,53 \pm 4,94$. El valor alto se presentó en la estación de Mar Brava (MPLT6-2) a las 2 millas durante el mes de octubre 2019. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,04 μM a 28,87 μM con un promedio en los valores de $9,02 \pm 5,74$. El valor alto se presentó en Mar Brava (MPLT6-2) a las 2 millas durante el mes de octubre 2019.

Fosfato

Durante la primavera del 2019 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,05 μM a 1,89 μM con un promedio de $0,64 \pm 0,35$. El valor alto se presentó en la estación de Puerto Saavedra (MPAT2-2) a las 2 millas en el mes de octubre 2019. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,07 μM



a 2,27 μM con un promedio en los valores de $0,69 \pm 0,36$. El valor alto se presentó Bahía Coliumo (BCL-4) a las 4 millas durante el mes de noviembre 2019.

Sílice

Para la primavera del 2018 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,01 μM a 35,45 μM con un promedio de $5,89 \pm 4,70$. El valor alto se presentó en la estación de Bahía Llico (BLL-2) a las 2 millas durante el mes de noviembre 2019. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,08 μM a 35,45 μM con un promedio en los valores de $5,66 \pm 3,89$. El valor alto se presentó en Bahía Llico (BLL-10) a las 10 millas durante el mes de noviembre 2019.

Distribución espacial y temporal: Verano 2020 (**Figuras 1.3.21 a 1.3.27**)

Para el análisis de los datos en verano se consideraron las fechas de muestreo entre los meses de enero, febrero y marzo 2020.

Nitrito

Durante el verano del 2020 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,01 μM a 0,65 μM con un promedio de $0,17 \pm 0,05$. El valor alto se presentó en la estación de Bahía Coliumo (BCL-4) a las 4 millas en el mes de febrero 2020. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,01 μM a 2,13 μM con un promedio en los valores de $0,19 \pm 0,07$. El valor alto se presentó la estación de Queule (MPAT3-10) a las 10 millas durante el mes de enero 2020.

Nitrato

Para el verano del 2020 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,04 μM a 29,54 μM con un promedio de $8,93 \pm 5,62$. El valor alto se presentó en la estación de Chepu (MPLT7-2) a las 2 millas durante el mes de enero 2020. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,12 μM a 31,13 μM con un promedio en los valores de $12,77 \pm 5,99$. El valor alto se presentó en Niebla (MPRT2-3) a las 2 millas durante el mes de enero 2020.

Fosfato

Durante el verano del 2020 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,01 μM a 5,29 μM con un promedio de $1,56 \pm 0,85$. El valor alto se presentó en la estación de Bahía Colcura (BCC-3) a las 3 millas en el mes de marzo 2020. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,04 μM a 4,94 μM



con un promedio en los valores de $1,91 \pm 0,89$. El valor alto se presentó en Bahía Colcura (BCC-5) a las 5 millas durante el mes de marzo 2020.

Sílice

Para el verano del 2020 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,26 uM a 45,18uM con un promedio de $7,99 \pm 4,93$. El valor alto se presentó en la estación de Bahía Coliumo (BCL-1) a la milla durante el mes de febrero 2020. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,31 uM a 41,74 uM con un promedio en los valores de $8,17 \pm 4,57$. El valor alto se presentó en Bahía Coliumo (BCL-4) a las 4 millas durante el mes de febrero 2020.

Distribución espacial y temporal: Otoño 2020 (**Figuras 1.3.21 a 1.3.27**)

Para el análisis de los datos en otoño se consideraron las fechas de muestreo entre los meses de abril, mayo y junio 2020.

Nitrito

Para el otoño del 2020 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,16 uM a 0,37 uM con un promedio de $0,21 \pm 0,02$. El valor alto se presentó en la estación de Bahía Coliumo (BCL-4) a las 4 millas durante el mes de junio 2020. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,17 uM a 0,37 uM con un promedio en los valores de $0,21 \pm 0,03$. El valor alto se presentó en Bahía Coliumo (BCL-1) a la milla durante el mes de junio 2020.

Nitrato

Durante el otoño del 2020 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 3,44 uM a 27,31 uM con un promedio de $11,99 \pm 4,84$. El valor alto se presentó en la estación Bahía Coliumo (BCL-1) a la milla durante el mes de junio 2020. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 3,46 uM a 26,23 uM con un promedio en los valores de $14,13 \pm 5,69$. El valor alto se presentó en Bahía Tubul (BTB-10) a las 10 millas durante el mes de abril 2020.

Fosfato

Para el otoño del 2020 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,15 uM a 5,38 uM con un promedio de $2,28 \pm 1,24$. El valor alto se presentó en la estación de Bahía Coliumo (BCL-1) a la milla durante el mes de mayo 2020. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,60 uM a 5,64 uM con un



promedio en los valores de $2,34 \pm 1,30$. El valor alto se presentó en Bahía Tubul (BTB-10) a las 10 millas durante el mes de abril 2020.

Sílice

Durante el otoño del 2020 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,34 uM a 42,15 uM con un promedio de $14,70 \pm 12,10$. El valor alto se presentó en la estación de Bahía Coliumo (BCL-4) a las 4 millas en el mes de junio 2020. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,13 uM a 32,42 uM con un promedio en los valores de $10,80 \pm 7,33$. El valor alto se presentó en Bahía Lico (BLL-5) a las 5 millas durante el mes de abril 2020.

Distribución espacial y temporal: Invierno 2020 (**Figuras 1.3.21 a 1.3.27**)

Para el análisis de los datos en invierno se consideraron las fechas de muestreo entre los meses de julio, agosto y septiembre de 2020.

Nitrito

Para el invierno del 2020 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,04 uM a 1,64 uM con un promedio de $0,49 \pm 0,20$. El valor alto se presentó en la estación de Bahía Colcura (BCC-1) a la 1 milla durante el mes de agosto 2020. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,05 uM a 1,73 uM con un promedio en los valores de $0,52 \pm 0,20$. El valor alto se presentó en Nehuentúe (MPAT2-5) a las 5 millas en el mes de julio 2020.

Nitrato

Durante el invierno del 2019 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,39 uM a 34,57 uM con un promedio de $11,42 \pm 4,56$. El valor alto se presentó en la estación de Puerto Saavedra (MPAT2-2) a las 2 millas en el mes de julio 2020. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,94 uM a 39,82 uM con un promedio en los valores de $12,36 \pm 4,45$. El valor alto se presentó en Bahía Coliumo (BCL-4) a las 4 millas durante el mes de septiembre 2020.

Fosfato

Para el invierno del 2020 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,02 uM a 4,03 uM con un promedio de $0,69 \pm 0,27$. El valor alto se presentó en la estación de Río Bueno (MPRT4-5) a las 5 millas durante el mes de julio 2020. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,11 uM a 3,21 uM



con un promedio en los valores de $0,99 \pm 0,37$. El valor alto se presentó en Bahía Tubul (BTB-10) a las 10 millas durante el mes de septiembre 2020.

Sílice

Durante el invierno del 2019 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,04 uM a 77,84 uM con un promedio de $15,91 \pm 11,36$. El valor alto se presentó en la estación de Bahía Tubul (BTB-4) a las 4 millas en el mes de julio 2020. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,11 uM a 61,33 uM con un promedio en los valores de $8,92 \pm 4,91$. El valor alto se presentó en Niebla (MPRT2-3) a las 2 millas durante el mes de julio 2020.

Distribución espacial y temporal: Primavera 2020 (**Figuras 1.3.21 a 1.3.27**)

Para el análisis de los datos en primavera se consideraron las fechas de muestreo entre los meses de octubre, noviembre y diciembre 2020.

Nitrito

Durante la primavera del 2020 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,01 uM a 3,31 uM con un promedio de $0,35 \pm 0,22$. El valor alto se presentó en la estación de Bahía Coliumo (BCL-5) a las 5 millas en el mes de diciembre 2020. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,01 uM a 2,96 uM con un promedio en los valores de $0,37 \pm 0,19$. El valor alto se presentó en Bahía Llico (BLL-5) a las 5 millas durante el mes de noviembre 2020.

Nitrato

Para la primavera del 2020 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,24 uM a 37,63 uM con un promedio de $12,84 \pm 7,60$. El valor alto se presentó en la estación de Bahía Mansa (MPLT1-2) a las 2 millas durante el mes de diciembre 2020. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,04 uM a 38,04 uM con un promedio en los valores de $16,76 \pm 8,28$. El valor alto se presentó en Bahía Mansa (MPLT1-2) a las 2 millas durante el mes de diciembre 2020.

Fosfato

Durante la primavera del 2020 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,01 uM a 3,41 uM con un promedio de $1,12 \pm 0,58$. El valor alto se presentó en la estación de Puerto Saavedra (MPAT2-2) a las 2 millas en el mes de octubre 2020. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,06 uM



a 3,61 μM con un promedio en los valores de $1,43 \pm 0,61$. El valor alto se presentó Mehuin (MPRT1-5) a las 5 millas durante el mes de diciembre 2020.

Sílice

Para la primavera del 2020 las concentraciones en el estrato 0-10m oscilaron entre 0,03 μM a 39,47 μM con un promedio de $9,23 \pm 5,67$. El valor alto se presentó en la estación de Bahía Coliumo (BCL-4) a las 4 millas durante el mes de noviembre 2020. Para el estrato 10-20m las concentraciones oscilaron entre 0,08 μM a 45,20 μM con un promedio en los valores de $9,14 \pm 5,73$. El valor alto se presentó en Bahía Coliumo (BCL-4) a las 4 millas durante el mes de diciembre 2020.

Las concentraciones promedio de nitrito se mantuvieron bajas $< 0,40 \mu\text{M} \pm 0,38$ para el estrato 0-10m y $< 0,42 \mu\text{M} \pm 0,39$ para el estrato 10-20m en las tres etapas realizadas, donde las concentraciones altas se registraron en la región del Biobío durante los meses de verano del 2018 para el estrato 0-10 m con un valor de 3,5 μM y 3,39 μM para el estrato 10-20m, en los meses de verano del 2018 se observa una homogeneidad en la columna y un gradiente latitudinal entre regiones, para ambos estratos, durante los tres años de estudio. A diferencia del ion de nitrito que registró altas concentraciones durante los primeros meses de verano del 2018 en la región del Biobío, disminuyendo en el cambio de estación, el ion nitrato registra concentraciones altas en los meses de primavera del 2020, estando disponible en ambos estratos con valores de 37,63 μM en 0-10m y 38,03 μM en 10-20m, mostrando una capa superficial (0-20 metros) mezclada, debido a una columna de agua más oxigenada por un cambio estacional.

Para los meses de otoño 2019, se registran las concentraciones más altas durante las tres etapas realizadas, observándose una homogeneidad en ambos estratos para fosfato, con valores entre 5,97 μM en el estrato 0-10m y de 5,95 μM en el estrato 10-20, generando una capa de mezcla, producto del cambio de vientos, menos intensos de un final de la surgencia que ocurre en el borde costero, en los meses previos a otoño e invierno.

Las concentraciones de silicatos se presentaron principalmente en la región del Biobío, durante los primeros meses de cada año, con una mayor variabilidad entre las regiones del Biobío y los ríos, principalmente por el aporte de ríos al océano, con un promedio de 9,80 μM en el estrato 0-10m y 7,85 μM en el estrato 10-20m, presentando una fuerte disminución hacia el sur del área de muestreo para las tres etapas. 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, registrando las concentraciones más altas en invierno del 2020 con valores en el estrato superficial 0-10m de 77,84 uM y 61,22 uM en el estrato 10-20m.

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

En esta IV etapa de estudio se informa el resultado del análisis de 50 muestras de sedimento superficial obtenidas desde las regiones del Biobío, La Araucanía, Los Ríos y Los Lagos en primavera (noviembre y diciembre) de 2021. Los análisis arrojaron que todas las muestras de sedimento presentaron quistes de resistencia de dinoflagelados. El registro de las especies se realizó de acuerdo al nombre de la fase móvil del dinoflagelado (nombre biológico) y/o al nombre de su quiste (nombre paleontológico), basado en que muchos dinoflagelados actuales han sido descritos inicialmente mediante sus quistes de resistencia (dándoles un nombre paleontológico) y posteriormente -ignorando la descripción del quiste- se describió la fase móvil (otorgándoles un nombre biológico), lo cual significa que una misma especie puede tener dos nombres científicos. Un ejemplo es el caso del dinoflagelado *Protoceratium reticulatum* (nombre biológico), el cual forma un quiste de resistencia que fue descrito como la especie *Operculodinium centrocarpum* (nombre paleontológico). Sin embargo, para mayor claridad, en este informe las especies se mencionarán principalmente de acuerdo al nombre de su fase móvil, sin embargo, el nombre del quiste también podrá ser utilizado cuando la fase móvil solo se identifica a nivel de género.

El análisis taxonómico mostró un total de 63 tipos de quistes distintos (**Figuras 1.4.1-1.4.3**), siendo asignados en su mayoría a 20 géneros y 47 especies pertenecientes a los órdenes de dinoflagelados Gonyaulacales, Suessiales, Peridinales y Gymnodinales (**Tabla 1.4.1**). Siete tipos de quistes no fueron identificados según sus características morfológicas. La mayor parte de los quistes identificados perteneció al orden Peridinales (42 especies, 68%) y la menor al orden Suessiales (2 especies, 3%). Los Gonyaulacales estuvieron representados por 7 especies (11%), al igual que el grupo de quistes no identificados (7%), mientras que los Gymnodinales, con 4 especies (6%) (**Figura 1.4.4**). De acuerdo a la diversidad de especies identificadas por región, en el Biobío se registraron en total 49 especies, en La Araucanía 28 especies, en Los Ríos 24 especies y en Los Lagos 45 especies (**Figura 1.4.5**).

Según la abundancia total de quistes en el área de estudio, el grupo de los Peridinales fue el más abundante (46462 quistes, 80,4%), seguido por el grupo de quistes No identificados (9202 quistes, 15,9%), luego por el orden Gymnodinales (1542 quistes, 2,7%), el orden Gonyaulacales (468 quistes, 0,8%) y finalmente por el orden Suessiales, como el grupo menos abundante (117 quistes, 0,2%) (**Figura 1.4.6**). El grupo de quistes No identificados destacó por la alta abundancia del quiste registrado como No identificado 44 (7939 quistes,



86%) (**Figuras 1.4.3M y 1.4.7**), el cual fue particularmente abundante (7400 quistes cm^{-3}) en la estación Coliumo 4 (2 millas) (**Tabla 1.4.2**) donde se presentó casi exclusivamente como quiste con protoplasma (quiste lleno) (**Tabla 1.4.2**). El quiste No identificado 44 fue el segundo más abundante del área de estudio (7939 quistes, 13,7% del total) luego de *Scrippsiella precaria*, quien representó el 32,7% (18869 quistes) de la abundancia total (57791 quistes). No identificado 44 se presentó casi exclusivamente en el Biobío (excepto la estación Niebla 5 millas), siendo registrado en 7 (46,6%) de las 15 estaciones. Por su parte los quistes de *S. precaria* estuvieron presentes en 12 (80%) de las 15 estaciones de la Región del Biobío, siendo extremadamente abundantes en las estaciones Colcura 5 y Colcura 10 millas, con 10530 (5310 quistes llenos) y 4872 (2906 quistes llenos) quistes cm^{-3} de sedimento húmedo, respectivamente.

De acuerdo a la estrategia nutricional de las especies identificadas (**Tabla 1.4.1**), 41 (65,1%) de ellas fueron identificadas como heterótrofas, mientras que 15 (23,8%) especies como autótrofas; los 7 (11,1%) tipos de quistes no identificados tienen una estrategia no determinada (**Figura 1.4.8**).

En el listado de especies (**Tabla 1.4.1**) se presenta *Protoperidinium* spp., que corresponde a un grupo de dinoflagelados heterótrofos que forman quistes que se caracterizan por tener una forma esférica, de color café y con una pared lisa, y que al estar con protoplasma (quiste lleno) (**Figura 1.4.2W**), es decir, sin germinar y por lo tanto sin arqueopilo (estructura por donde sale la célula germinada con forma característica para cada especie), es imposible su identificación taxonómica. Los dinoflagelados que presentan este tipo de quistes, y que fueron identificadas aquí, son *P. avellana*, *P. denticulatum* y *P. thorianum*, *P. thulesense*, y *P. punctulatum* (**Figura 1.4.2**). Dentro del grupo de los dinoflagelados heterótrofos, el género *Protoperidinium* fue el más destacado presentando 24 especies (**Tabla 1.4.1**).

En esta etapa se identificaron por primera vez para el área de estudio los quistes de las especies *Dactylodinium arachnoides* y *Niea torta*. Se identificó además a las especies *Scrippsiella donghaiensis* y *Biecheleria* sp., las cuales habían sido registradas en informes de etapas anteriores como quistes No identificado 27 y No identificado 34, respectivamente. La primera se identificó mediante herramientas moleculares y la segunda con la colaboración de Øjvind Moestrup, taxónomo del Instituto Botánico de la Universidad de Copenhage, Dinamarca (Comm pers. Øjvind Moestrup) experto en el género. Se presentan también por primera vez los quistes de las especies cf. *Oblea rotunda*, cf. *Huia caspica*, cf. *Lebouraia pusilla* (anteriormente No identificado 2), cf. *Protoperidinium haizhouense* y *Brigantedinium* cf. *asymmetricum*, los cuales han sido identificados con “cf.” (“confer”) dado que su morfología se relaciona estrechamente con la de las especies ya descritas (Mertens et al., 2019), no obstante se deben realizar más estudios (e.g. experimentos de germinación) para confirmar su identidad.



De acuerdo a la abundancia total de quistes por región (**Tablas 1.4.2-1.4.5**), el registro más alto correspondió al de la Región del Biobío (47655 quistes; 82,5%), seguido por el de la Región de Los Lagos (7376 quistes; 12,8%), luego el de la Región de La Araucanía (2489 quistes; 4,3%), y finalmente el de la Región de Los Ríos con el registro más bajo (271 quistes; 0,5%) (**Figura 1.4.9**). En la Región del Biobío las abundancias variaron entre 24 quistes (Llico 4, 2 millas) y 14303 quistes (Colcura 5, 5 millas), con un promedio ($\pm$ DS) de 3177 ± 4216 quistes (**Figura 1.4.10; Tabla 1.4.2**). En la Región de La Araucanía los valores fueron más bajos, variando entre 19 quistes (Queule 2, 2 millas) y 2040 quistes (P. Saavedra 10, 10 millas), con un promedio de 415 ± 806 quistes (**Figura 1.4.11; Tabla 1.4.3**). La Región de Los Ríos presentó valores que variaron entre 8 quistes (Mehuín 2, 2 millas) y 147 quistes (Niebla 2, 2 millas), promedio 68 ± 58 quistes (**Figura 1.4.12; Tabla 1.4.4**). En la Región de Los Lagos los valores variaron entre 3 quistes (Faro Corona 5, 5 millas) y 1914 quistes (Estaquilla 5, 5 millas) promediando 295 ± 466 quistes (**Figura 1.4.13; Tabla 1.4.5**).

Del total de quistes contabilizados en el área de estudio (57791 quistes), el 50,2% (29015 quistes) correspondió a quistes vacíos (germinados) y el 49,8% (28776 quistes) a quistes llenos (con protoplasma) (**Figura 1.4.14**). El registro de quistes vacíos y quistes llenos en la Región del Biobío correspondió a 54,6% (26026 quistes) y 45,4% (21629 quistes), respectivamente, en la Región de La Araucanía a 37,4% (930 quistes) y 62,6% (1559 quistes) respectivamente, en la Región de Los Ríos a 48% (130 quistes) y 52% (141 quistes) respectivamente, y en la Región de Los Lagos a 77,2% (5697 quistes) y 22,8% (1679 quistes) respectivamente (**Figuras 1.4.15-1.4.18**). La relación entre quistes vacíos y quistes llenos y la abundancia total de quistes en las estaciones se muestra en la **Figura 1.4.19**. Todas las estaciones presentaron quistes vacíos y llenos, a excepción de la estación C. Zorra 2 (2 millas) que presentó solo quistes vacíos.

La riqueza de especies en el área de estudio varió entre 2 (Carelmapu 10, 10 millas y F. Corona 5, 5 millas) y 36 (Colcura 5, 5 millas) especies, con un promedio de 14 ± 9 especies por estación (**Figura 1.4.20**). Los valores promedio de riqueza de especies por región mostraron una disminución de norte a sur, con un valor de 21 (36,3%) en Biobío, 15 (25,2%) en La Araucanía, 12 (20,6%) en Los Ríos, y 10 (17,9%) especies en Los Lagos (**Figura 1.4.21**). En relación a la diversidad de especies, el índice de Shannon-Wiener (H') ([Shannon & Weaver, 1949](#)) mostró que el valor más alto fue 3,03 (Coliumo 5, 5 millas) y el más bajo 0,15 (M. Brava 2, 2 millas), con un valor promedio de $1,84 \pm 0,76$ (**Figura 1.4.22**). Los valores promedio regionales del índice H' mostraron que el valor más alto se registró en La Araucanía (2,35), seguido por Los Ríos (2,13), Biobío (2,02) y Los Lagos (1,56) (**Figura 1.4.23**). Por su parte, los valores de la Equitatividad de Shannon (E_H) variaron entre 1 (P. Brava 5, 5 millas) y 0,08 (M. Brava 2, 2 millas) con un valor promedio de $0,75 \pm 0,22$ (**Figura 1.4.24**). A nivel regional el valor promedio más alto de E_H se registró en La Araucanía (0,89), seguido por Los Ríos (0,88), Los Lagos (0,74) y Biobío (0,69) (**Figura 1.4.25**).

Respecto a las especies productoras de toxinas identificadas en esta etapa (**Tabla 1.4.1**), los registros de sus quistes fueron poco frecuentes y con valores bajos. Los quistes de *A. catenella* fueron registrados sólo en la Región de Los Lagos, encontrando valores que oscilaron entre 1 quiste (F. Corona 5, 5 millas) y 18 quistes cm^{-3} (C. Zorra 10, 10 millas). Otras estaciones como Chepu 5 (5 millas), Cucao 2 (2 millas), Cucao 5 (5 millas) y Cucao 10 (10 millas) presentaron valores de 2, 2, 4 y 7 quistes cm^{-3} , respectivamente (**Figura 1.4.26; Tabla 1.4.5**). Los quistes de la especie *A. ostenfeldii* fueron registrados en una sola estación del área de estudio, en Tubul 10 (10 millas) en la Región del Biobío con valores de 10 quistes cm^{-3} de sedimento húmedo (**Figura 1.4.27; Tabla 1.4.2**). *Protoceratium reticulatum* por su parte presentó quistes solo en la Región de Los Lagos. Los registros se realizaron en las estaciones Estaquilla 10 millas, F. Corona 10 millas y Cucao 10 millas, todas con abundancia de 7 quistes cm^{-3} de sedimento húmedo (**Figura 1.4.28; Tabla 1.4.5**).

En programas de manejo y monitoreo de fitoplancton nocivo en zonas costeras, el estudio de quistes de resistencia de dinoflagelados es de gran relevancia debido a que estas células juegan un rol esencial en el ciclo de vida, ecología y evolución de las especies. Además de acoplar los hábitats planctónicos y bentónicos mediante los procesos de enquistamiento y germinación ([Dale 1983](#)), la formación de bancos de quistes reviste suma importancia debido a que sirve como fuente de inóculos de flotaciones y de reservorio genético que permite a las especies mayor adaptabilidad a nuevos nichos ecológicos ([Bravo & Figueroa 2014](#)).

En esta Etapa IV de monitoreo, la cual contempló un solo muestreo de sedimentos (primavera) para estudiar la diversidad, abundancia y distribución de quistes (etapas II y III consideraron 2 muestreos: otoño y primavera) entre las regiones del Biobío, La Araucanía, Los Ríos y Los Lagos, los resultados mostraron el registro de 63 tipos de quistes, mientras que en la etapa II y III se registraron 64 y 61 tipos de quistes, respectivamente ([Espinoza et al., 2020](#)). En la etapa I 30 tipos de quistes fueron identificados ([Espinoza et al., 2019](#)). Cuando se compara el número de especies de quistes de estas últimas etapas con otros estudios de quistes de diversas partes del mundo (e.g. [Joyce 2004](#); [Satta et al., 2010](#); [Gurdebeke et al., 2018](#)) y del sur de Chile (e.g. [Álvez de Souza et al., 2008](#); [Díaz et al., 2014](#)), se puede concluir que nuestros registros son altos lo cual ha permitido aumentar el conocimiento sobre diversidad de dinoflagelados presentes en la costa chilena. En esta última etapa, por ejemplo, se identificó por primera vez para el área de estudio a la especie *Dactylodinium arachnoides*, la cual ha sido recientemente descrita como nueva especie y registrada en aguas de Japón ([Mun Lum et al., 2019](#)). A fines de 2019 esta especie había sido identificada en sedimentos de Magallanes luego del desarrollo del crucero oceanográfico PROFAN ([Salgado et al., en prep.](#)). Luego de experimentos de germinación de quistes de la especie, se observaron características confirmatorias que presenta la fase móvil, tales como, una particular y compleja estructura apical (**Figura 1.4.29A,B**) y abultadas vesículas anfiesmales (**Figura 1.4.29C,D**) las cuales, cuando ocurre el proceso de enquistamiento, generan una superficie irregular en la pared del quiste de resistencia (**Figura 1.4.1J**). El otro

miembro del grupo Suessiales identificado aquí fue *Biecheleria* sp., el cual había sido identificado como No identificado 34 en etapas anteriores y que luego de la germinación de los quistes se pudo confirmar que la célula móvil pertenece al género *Biecheleria* sp. (com. pers. Øjvind Moestrup), el cual tiene miembros adaptados a condiciones marinas y salobres (Moestrup et al., 2009). Quistes de *Biecheleria* sp. ya habían sido reportados recientemente en fiordos y canales de la región de Aysén como un quiste no identificado (Rodríguez-Villegas et al., 2021). Futuros trabajos sobre esta especie, y sobre otras registradas en esta etapa (cf. *Oblea rotunda*, cf. *Huia caspica*, cf. *Lebouraia pusilla*, cf. *Protoperidinium haizhouense* y *Brigantedinium* cf. *asymmetricum*) serán realizados con experimentos de germinación y utilizando herramientas moleculares para dilucidar completamente sus identidades.

El alto número de especies y las altas abundancias registradas en sedimentos de la región del Biobío, en comparación con las otras regiones estudiadas, es atribuido a las condiciones oceanográficas mediadas por forzantes atmosféricos que proporcionan condiciones ambientales propicias para el crecimiento fitoplanctónico. Frente a Biobío los procesos de surgencia costera durante períodos de primavera y verano han sido bien documentados (e.g., Anabalón et al., 2007; Montero et al., 2007), siendo este proceso, el responsable de la mayor disponibilidad de nutrientes en la columna de agua. La alta representatividad de quistes de especies heterótrofas, y principalmente del género *Protoperidinium*, en la zona del Biobío (particularmente sobre el Golfo de Arauco) permite relacionar los ensambles dominados por heterótrofos con una mayor disponibilidad de alimento. Varios autores mencionan que dinoflagelados heterótrofos pueden ingerir una amplia variedad de alimentos, tales como, pequeños flagelados, dinoflagelados autótrofos y huevos de copépodos (Jeong 1994, 1999; Naustvoll 2000) sin embargo, las diatomeas forman una de sus principales fuentes de nutrición (Jacobson & Anderson, 1986, 1993) generando una relación causal entre dinoflagelados heterótrofos y diatomeas (Price & Pospelova 2011; Biringué et al., 2013). El predominio de taxones protoperidinoides en los sistemas de surgencia costera y la presencia de menos especies autótrofas que son superadas en gran medida por las diatomeas ha sido ya reportada en variadas ocasiones (e.g. Dale 1996; Marret & Zonneveld 2003, Pitcher & Joyce, 2009). Dentro de las especies más abundantes del género *Protoperidinium* que fueron registradas en Biobío se encontró a *P. americanum* y *P. conicum*, especies que ya han sido reportadas por su alta presencia en sedimentos de zonas de surgencia en distintas partes del planeta (Biringué et al., 2013; Verleye & Louwye, 2010).

Sin embargo, no solo los dinoflagelados heterótrofos pueden ser exitosos en sistemas de surgencia. Una especie que fue dominante en los ensambles de quistes del Biobío en esta etapa, y que ha mostrado este mismo comportamiento en las etapas pasadas (Espinoza et al., 2020) es el peridinioide autótrofo *Scrippsiella* *precaria*. Las altas abundancias de quistes en sedimentos, haciéndose particularmente frecuente en estaciones de Colcura (5 y 10 millas), sugiere que los quistes de resistencia de la especie le proporcionan una exitosa estrategia de vida que le permiten sobrellevar las condiciones ambientales desfavorables de la



columna de agua, y germinar re-estableciendo las poblaciones móviles cuando las condiciones de la columna de agua vuelven a ser favorables. Esto es sugerido por el alto número de quistes vacíos (~50%) que fueron registrados en Colcura 5 y 10 millas, donde las abundancias totales de la especie (quistes vacíos + quistes llenos) alcanzaron cerca de 10000 y 5000 quistes cm^{-3} , respectivamente. Las altas abundancias registradas en esta especie no son sorprendentes dado que especies del género *Scrippsiella* han sido ya reportadas como especies con una alta capacidad para formar quistes. Olli & Anderson (2002) reportaron cerca del 100% de eficiencia de enquistamiento y una alta producción de quistes ($>10^5$ quistes mL^{-1}) en experimentos de laboratorio cuando cultivos de la especie *S. cf. lachrymosa* fueron expuestos a medio f/2 enriquecido. Por otro lado, la especie *S. trochoidea* ha mostrado también una alta capacidad para formar quistes, esta vez en el medio natural. Wang et al. (2007) reportó un enquistamiento masivo durante una densa floración de *S. trochoidea* en la bahía de Daya en el Mar de China meridional coincidiendo con el registró de máxima abundancia de células vegetativas. Por lo tanto, la aparentemente frecuente aparición de altas abundancias de quistes de *S. precaria* en zonas del Golfo de Arauco podría indicar que, 1) es una zona favorable para poblaciones móviles de esta especie, lo cual concuerda con reportes que indican que *Scrippsiella* es un género típico de aguas costeras ricas en nutrientes altamente estratificadas (Smayda, 2002; Smayda & Reynolds, 2003), 2) es un área de retención de partículas finas con potencial formación de banco de quistes que podría estar actuando como fuente inóculos de floraciones y 3) que las cepas del Biobío tienen muy alta capacidad para formar quistes.

Otra especie que fue muy abundante en sedimentos del Biobío, particularmente en Coliumo 2 millas, fue el quiste No identificado 44. Estudios anteriores (Espinoza et al., 2019, 2020) no evidencian la presencia de este quiste en el área de estudio y su actual registro refuerza la necesidad de mantener muestreos periódicos que permitan visualizar cambios en los ensambles planctónicos y bentónicos y posibles eventos de floración evidenciados mediante quistes. La alta abundancia de quistes con protoplasma (quistes llenos) en estaciones de la región (83–100%) sugiere el desarrollo de un evento reciente de floración en Coliumo, lo cual abre la posibilidad de futuras floraciones cuando se reúnan condiciones que propicien la germinación de los quistes. Mediante experimentos de germinación bajo condiciones controladas (14°C, 31 psu, ciclo 12:12 L:O) se probó preliminarmente la viabilidad de los quistes, mostrando que luego de 5 días de incubación los quistes iniciaron el proceso de germinación.

Algunos parámetros biológicos fueron utilizados para caracterizar los ensambles de quistes de las diferentes regiones. Por un lado, los procesos de surgencia costera que enriquecen las aguas superficiales con nutrientes recién aflorados frente a Biobío genera que exista una mayor riqueza de especies con fuerte predominio de especies heterótrofas, lo cual ha sido ampliamente reportado (e.g. Smayda & Reynolds, 2003; Ribeiro & Amorim, 2008). Los valores más bajos de índice de diversidad (H') y/o Equitatividad (E_H) en algunas estaciones de esta región, como por ejemplo Colcura 5 y 10 millas y Coliumo 2 millas, estuvieron



relacionados a un menor número de especies y/o a las altas abundancias de algunas especies (i.e. *S. precaria* y No identificado 44, respectivamente), marcando de esta forma un ensamble más heterogeneidad. En la región de Los Lagos esto quedó en evidencia ante la mayor abundancia de quistes de cf. *L. pusilla* en comparación a las abundancias de otras especies en las estaciones Estaquilla 2 millas, M. Brava 2 millas y Cucao 2 millas, significando bajos H' y E_H' debido a que el número de especies fue bajo.

Durante esta IV etapa, la abundancia y distribución de quistes de la especie productora de toxinas paralizantes *A. catenella* (Krock et al., 2007) fueron, en general, baja y restringida, respectivamente, en comparación con resultados de etapas anteriores. Sus quistes fueron registrados solo en la región de Los Lagos teniendo como abundancia máxima 18 quistes cm^{-3} y límite norte la estación F. Corona (5 millas). A diferencia de esto, en la etapa III (Espinoza et al., 2020) los quistes fueron registrados hasta la región de La Araucanía (Queule 10 millas), siendo ese su registro más septentrional en la costa chilena, y su abundancia máxima tuvo valores similares (19 quistes cm^{-3} en Cucao 10 millas). En la etapa II la especie fue registrada solo en Los Lagos y en la etapa I en Los Lagos y Los Ríos, y en ambas etapas sus abundancias no superaron los 21 quistes cm^{-3} (Espinoza et al., 2019, 2020).

En relación a la abundancia y distribución de los quistes de *A. ostenfeldii*, la segunda especie productora de toxinas paralizantes registrada en Chile (Salgado et al., 2015), éstos fueron muy poco abundantes (10 quistes cm^{-3}) y se registraron solo a una estación (Tubúl 10 millas) en la región del Biobío. En las etapas anteriores, en cambio, su abundancia ha sido algo mayor (máximo 54 quistes cm^{-3} en etapa III) y su distribución, aunque casi exclusivamente restringida a la región del Biobío, el número de estaciones positivas a la presencia de quistes ha sido mayor, siendo registradas en estaciones de Coliumo, Colcura y Llico (Espinoza et al., 2019, 2020).

Los quistes de *P. reticulatum*, especie productora de floraciones y yesotoxinas registrada en el centro-sur de Chile (Pizarro et al., 2014; Díaz et al., 2022), fueron registrados solo en la región de Los Lagos con una baja abundancia (máximo 7 quistes cm^{-3}). Al comparar con los estudios previos, las abundancias han sido también bajas pero con una distribución más amplia. En la etapa I los quistes de esta especie fueron registrados hasta la región de La Araucanía (P. Saavedra, 2 quistes cm^{-3}) (Espinoza et al., 2018), en la Etapa II hasta la región del Biobío (máximo 23 quistes cm^{-3}) (Espinoza et al., 2019), y en la etapa III, al igual que en la actual etapa, solo se registraron en Los Lagos (máximo 38 quistes cm^{-3}) (Espinoza et al., 2020).

6.2 Resultados y Discusión 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.

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

1.- Composición taxonómica y distribución de especies

Para el periodo comprendido entre febrero de 2018 y diciembre de 2021, se identificaron 265 especies de fitoplancton, las cuales correspondieron a los siguientes grupos: 149 Diatomeas, 101 Dinoflagelados, 3 Silicoflagelados, 1 Zoomastogoforo, 2 Ciliados, 1 Euglenoficea, 2 Prasinoficeas, 5 Primnesiales y 1 asociado al grupo de Kareniaceae. Sin embargo, en términos de contribución porcentual a la abundancia total (células L⁻¹), las Diatomeas representaron el 97,3% del total, los Dinoflagelados contribuyeron con el 2,2% y los otros grupos constituyeron el restante 0,5% (**Figura 2.1.1**). Del total de esta composición fitoplanctónica para las cinco regiones de estudio, un total de 28 especies constituyen con mas de un 90% al total de la abundancia celular, entre estas especies de encuentran: *Skeletonema* spp., *Pseudo-nitzschia* cf. *pseudodelicatissima*, *Chaetoceros* spp., *Thalassiosira* spp., *Chaetoceros debilis*, *Thalassiosira* cf. *minúscula*, *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 didymus*, *Cylindrotheca closterium*, *Dictyocha speculum*, *Navicula* spp., especies de la familia *Kareniaceae*, *Navicula* spp., *Thalassiosira subtilis*, *Thalassionema nitzschioides*, *Paralia sulcata*, *Eucampia zodiacus*, *Gyrodinium* spp. y *Euglena* spp. (**Figura 2.1.2**).

En promedio, para las cuatro Etapas del estudio y para las cinco regiones de monitoreo se registró que, la especie más abundante fue la Diatomea *Skeletonema* spp. con una frecuencia de ocurrencia cercana al 50%, registrada principalmente en verano en la región del Biobío y con una mayor abundancia en las muestras provenientes del estrato de 0 – 10 metros (**Figura 2.1.3**). Otras especies de Diatomeas como *Chaetoceros* spp., *Chaetoceros debilis*, *Leptocylindrus danicus* y *Leptocylindrus minimus*, mostraron promedios de densidad altos, con frecuencia de ocurrencia cercanas al 40%, con presencia principalmente en las estaciones de primavera y verano en cada una de las regiones de monitoreo y con mayores abundancias en el estrato de 0 – 10 metros. Se observó que *Eucampia zodiacus* fue la excepción en cuanto a la distribución entre las regiones de monitoreo y la estación del año ya que, esta especie se registró principalmente en a región del Biobío durante el periodo de invierno. Para las especies nocivas que producen biotoxinas marinas, se observaron abundancias promedio altas sólo para las Diatomeas *Pseudo-nitzschia* cf. *australis* y *Pseudo-nitzschia* cf. *pseudodelicatissima*, ambas con frecuencia de ocurrencia cercana al 50%, asociada principalmente al periodo de primavera en la región de los Lagos. Para los Dinoflagelados *Alexandrium catenella* y *Dinophysis acuminata*, estos registraron abundancias promedio bajas con frecuencia de ocurrencia de 1,6% y 18%, respectivamente. En el caso de *A. catenella* se registró principalmente en verano asociada a la región de los Lagos mientras que, *D. acuminata*, fue más importante en primavera asociada a la

región del Biobío. Cabe destacar la contribución del grupo de las Kareniaceas a la abundancia promedio durante el otoño en la región de los Lagos, donde alcanzó una frecuencia de ocurrencia del 8% (**Figura 2.1.4**).

En general, el fitoplancton de la costa del Pacífico se caracterizó por presentar especies de Diatomeas dominantes en cuanto a la frecuencia de ocurrencia y densidad celular, este es el caso de *Skeletonema spp.*, *Pseudo-nitzschia cf. pseudodelicatissima*, *Thalassiosira spp.*, *Chaetoceros spp.*, *Navicula spp* y *Cilindrotheca closterium*. La mayoría de las Diatomeas se presentan como especies ocasionales y raras mientras que, la mayoría de los Dinoflagelados se presentaron como especies raras, con la excepción de *Gyrodinium spp.* la cual se presentó en el estudio como una especie común (**Figura 2.1.5**). La frecuencia de ocurrencia para cada especie nociva y su distribución en la zona de estudio se presenta en las **Figuras 2.1.6 a 2.1.12**, para *A. catenella*, se observó que la frecuencia de ocurrencia entre las estaciones de monitoreo alcanzó el 6% principalmente en la región de los Lagos ya que, en las regiones de Aysén, La Araucanía, Los Ríos, y Biobío la frecuencia de ocurrencia fue menor a 4% (**Figura 2.1.6**). Para *A. ostensfeldii*, se registraron las mayores frecuencias de ocurrencia asociadas a la región del Biobío con valores menores a 12,5%, los cuales fueron disminuyendo hacia el sur (**Figura 2.1.7**). La frecuencia de ocurrencia de *D. acuminata*, *D. acuta* y *P. reticulatum* contrastan notablemente mientras que, la primera presentó valores cercanos al 40% para las estaciones asociadas a la región del Biobío y con una alta ocurrencia en todas las estaciones de la zona de estudio, *D. acuta* y *P. reticulatum* presentaron valores cercanos al 2% de frecuencia de ocurrencia en las estaciones del sur, especialmente en la región de los Lagos y Aysén (**Figuras 2.1.8, 2.1.9 y 2.1.10**). Como hemos señalado anteriormente, entre las especies que generan biotoxinas, las Diatomeas *Pseudo-nitzschia cf. pseudodelicatissima* y *Pseudo-nitzschia cf. australis*, dominan tanto numéricamente como en frecuencia de ocurrencia, además, están ampliamente distribuidas en la zona de estudio especialmente en la región del Biobío, donde ambas especies registraron valores mayores al 75% (**Figuras 2.1.11 y 2.1.12**). Por su parte, el grupo de las Kareniaceas presentó valores cercanos al 20% de frecuencia de ocurrencia, especialmente en las estaciones asociadas a las regiones de los Ríos, los Lagos y Aysén (**Figuras 2.1.13**).

2.- Variación estacional de las condiciones oceanográficas

Como forma continuar explorando 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, 2020 y 2021 (**Figuras 2.1.14, 2.1.15, 2.1.16 y 2.1.17**).

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 y 2021, 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 alcanzando valores cercanos a 8 mL/L durante febrero de 2021, sin embargo, esta concentración disminuyó rápidamente a <2 mL/L bajo los 10 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, mientras que, para febrero de 2021, se registraron valores de fluorescencia cercanos a 30 mg/m³, esta alta concentración observada induce las altas concentraciones de oxígeno comentados anteriormente. Las masas de agua descritas para este periodo estarían relacionadas con 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.

Para las regiones de la Araucanía ($\sim 38,48^{\circ}$ - $39,38^{\circ}$ S) y los Ríos ($\sim 39,38^{\circ}$ - $40,19^{\circ}$ S), se observaron temperaturas bajas ($<12^{\circ}$ 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). La distribución y valores de estas variables se incrementan durante febrero de 2021, los valores de temperatura superficial de la columna de agua alcanzan temperaturas cercanas a 15°C en las estaciones de la Araucanía y disminuyen a 10°C en la estación de Chaihuín y Río Bueno en la región de los Ríos. La salinidad se mantuvo en valores menores a 34 PSU, con concentraciones mayores a 7 mL/L en las estaciones al sur y norte de Chaihuín y Río Bueno, donde la concentración disminuye drásticamente hasta valores menores a 3 mL/L y con concentraciones de clorofila_a cercanos a 10 mg/m³.

Para la región de los Lagos, se observó que, para cada año de estudio, la capa superficial, hasta los 20 metros de profundidad se caracterizó por una temperatura cercana a los 13°C, la cual disminuyó en las estaciones ubicadas en la proximidad del canal de Chacao, especialmente durante el mes de febrero de los años 2018, 2019 y 2021. En las estaciones de Playa Brava, Carelmapu, Faro Corona y Mar Brava, se observó la influencia del canal de Chacao que mezcla verticalmente la columna de agua hasta una profundidad cercana a los 100 metros. El efecto del canal se observa, además en la distribución de la salinidad, oxígeno y clorofila_a y la mezcla en profundidad de estas variables. La mezcla en estas estaciones se caracteriza por una columna de agua con temperaturas menores a 11°C, salinidad menor a 33 PSU, oxígeno con concentraciones cercanas a 4 mL/L y valores de clorofila_a especialmente altos (>20 mg/m³) durante febrero de 2021. 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).

La región de Aysén, se caracterizó como una zona donde la profundización de las variables oceanográficas fue más importante que para las estaciones ubicadas en la costa de la isla de Chiloé. Así, por ejemplo, la distribución de la temperatura de 14°C alcanza hasta los 60 metros de profundidad durante febrero de los años 2020 y 2021, algo similar ocurre con las variables de Salinidad y Oxígeno. Probablemente la dinámica de la zona favorezca la mezcla vertical en estas estaciones. La clorofila_a fue baja en todos los años, alcanzando valores <5 mg/m³.

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 los máximas concentraciones de clorofila_a asociados a los periodos de verano, en esta sección se evaluaron los ensambles fitoplanctónicos para cada estación de monitoreo durante el mes de febrero de los años 2018, 2019, 2020 y 2021.

La **Figura 2.1.18** 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 abundancia 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 Rios, donde la dominancia es casi exclusiva de *Skeletonema* spp. que presentó los máximos densidades (~1,4 x 10⁷ 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 del grupo de las *Kareniaceae* en las estaciones de Cucao y en la mayor parte de las estaciones de la región de Los Lagos, respectivamente. Durante el mes de febrero de 2019 (**Figura 2.1.19**), se observó que la composición fitoplanctónica de las estaciones de la región del Biobío y La Araucanía estuvo dominado por *Skeletonema* spp., con un cambio en la distribución y composición de especies asociado a la región de la Araucanía, donde el numero de especies dominantes y su contribución a la abundancia total disminuyó considerablemente, para continuar en la región de los Lagos, desde bahía Mansa, nuevamente

con contribuciones altas y una mayor diversidad de especie, donde las especies dominantes fueron *Chaetoceros debilis* y *Navicula spp.* La composición fitoplanctónica durante febrero de 2020 (**Figura 2.1.20**) muestran una contribución importante de *Chaetoceros radicans*, la cual alcanzó una densidad de $\sim 1,8 \times 10^7$ Cél/L, asociada a la estación de faro Corona a cinco millas desde la costa en la región de los Lagos. En esta región se observó una dominancia de *Pseudo-nitzschia cf. pseudodelicatissima* en la mayoría de las estaciones de monitoreo. Hacia el norte las abundancias celulares disminuyen, pero aumenta el número de especies dominantes, marcando una clara diferencia entre las regiones de estudio. Durante febrero de 2021 (**Figura 2.1.21**), se observó una clara diferencia regional en la composición de especies dominantes y la contribución a la abundancia celular. En la región del Biobío se registró un bloom importante de la especie *Skeletonema spp.* que presentó los máximos densidades ($\sim 2,3 \times 10^6$ Cél/L) asociada a la estación de Tubul a 10 millas náuticas, la composición cambia en la región de la Araucanía donde se observó un aumento en el número de especies dominantes y alta contribución de *Chaetoceros spp.* Al igual que lo registrado en febrero de 2019 y 2020, se observó un nuevo cambio latitudinal en la composición del fitoplancton asociado a las estaciones de Niebla, Chaihuín y río Bueno en la región de los Ríos, dando paso a una composición de especies más variable y con contribuciones a la abundancia más altas. Durante este año se registró la floración de las especies *Pseudo-nitzschia cf. pseudodelicatissima* y *Pseudo-nitzschia cf. australis*, asociada a las estaciones de la región de los Lagos.

4.- Variación espacial y temporal de las especies nocivas y toxinas marinas en las distintas estaciones de muestreo.

***Alexandrium catenella* (Figura 2.1.22):**

El análisis de la distribución espacial y temporal de esta microalga para el periodo de estudio entre febrero de 2018 y enero de 2022, mostró bajos niveles de abundancia relativa que se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 3 (Escaso) entre las regiones del Biobío y la región de los Ríos, principalmente asociado al periodo de primavera de los años 2020 y 2021. A diferencia de lo observado en la región de los Lagos y Aysén, donde se registraron niveles altos, Nivel 9 (Mega Abundante) y Nivel 8 (Ultra Abundante) durante el verano de 2018, para posteriormente mantenerse en Nivel 4 (Abundante) como valor máximo observado durante diciembre de 2021. En cuanto a la distribución espacial, en la región de los Lagos, 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, alcanzado una cobertura espacial cercana al 40% el periodo de estudio.

***Alexandrium ostenfeldii* (Figura 2.1.23):**



El análisis de la distribución espacial y temporal de esta microalga para el periodo de estudio entre febrero de 2018 y enero de 2022 arrojó que, en la mayoría de las estaciones monitoreadas en el área de estudio, una importante distribución temporal de esta microalga, mostrando niveles de abundancia relativa que se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 8 (Ultra Abundante), donde sus valores máximos se registraron en el verano del año 2019 asociado a la región del Biobío. En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que la mayoría de las transectas del área de estudio tuvieron presencia de este dinoflagelado durante una gran parte del proyecto, alcanzando una cobertura espacial cercana al 60% durante el periodo de estudio.

***Dinophysis acuminata* (Figura 2.1.24):**

Del análisis de la distribución espacial y temporal de esta microalga para el periodo de estudio entre febrero de 2018 y enero de 2022 se observó una importante distribución temporal de esta microalga, con presencia en la mayoría de las campañas realizadas durante el periodo de estudio, mostrando niveles de abundancia relativa que se movieron entre el Nivel 1 (Raro) y el Nivel 9 (Mega Abundante), donde los máximos valores fueron registrados en verano durante los meses de marzo de 2018, febrero de 2019 febrero de 2020 y diciembre de 2021 en las estaciones de la región de los Lagos. En cuanto a la distribución espacial, se puede señalar que en la mayoría de las transectas tuvieron presencia de este dinoflagelado en prácticamente todas sus estaciones de monitoreo, alcanzando una cobertura espacial cercana al 80% durante el periodo de estudio.

***Dinophysis acuta* (Figura 2.1.25):**

Durante el periodo de estudio esta microalga estuvo ausente en las regiones del Biobío y la Araucanía, con una baja presencia en la región de los Ríos, donde alcanzó Nivel 1 (Raro). La presencia de esta microalga se registró en las regiones de los Lagos y Aysén, donde alcanzó un valor máximo de Nivel 7 (Hiper Abundante), en una estación durante junio de 2018. La cobertura espacial de *D. acuta* fue cercana al 2% durante el periodo de estudio, con valores mayores cercanos al 10% en la región de Aysén.

***Protoceratium reticulatum* (Figura 2.1.26):**

Para el periodo de estudio se observó que la distribución temporal de esta microalga tuvo presencia solamente en una baja cantidad de campañas y principalmente asociada a las estaciones de la región de los Lagos, donde alcanzó un Nivel 4 (Abundante) durante el mes de diciembre de 2021. La cobertura espacial



para toda el área de es baja, alcanzando un valor cercano al 6%, el cual se incrementa en la región de los Lagos (20%) y se hace máximo en la región de Aysén (40%).

***Pseudo-nitzschia cf. australis* (Figura 2.1.27):**

Para toda el área y durante todo el periodo de estudio se observó una importante distribución temporal de esta microalga, en la mayoría de las campañas realizadas. Los máximos valores Nivel 9 (Mega Abundante) y Nivel 8 (Ultra Abundante) se registraron en el verano durante los meses de febrero de 2020, marzo de 2021 y enero de 2022 asociado a las estaciones de la región de los Lagos. Sin embargo, la presencia cobertura geográfica fue importante en todas las regiones y estaciones de estudio. La cobertura espacial de *Pseudo-nitzschia cf. australis* fue cercana al 80% en toda el área de estudio.

***Pseudo-nitzschia cf. pseudodelicatissima* (Figura 2.1.28):**

La dinámica de distribución, cobertura y niveles máximos de abundancia relativa de esta especie, son similares a los observados con *Pseudo-nitzschia cf. australis*. Con una alta presencia en cada una de las regiones y estaciones de monitoreo, con valores máximos Nivel 9 (Mega Abundante) en el verano, febrero de 2020, marzo de 2021 y diciembre de 2021 asociado a la región de los Lagos. Durante el mes de diciembre de 2021, se registraron valores altos Nivel 7 (Hiper Abundante) y Nivel 8 (Ultra Abundante) en las estaciones asociadas a la región de los Ríos. La cobertura espacial de esta especie fue cercana al 80% para todas las estaciones de estudio.

La **Figura 2.1.29** muestra la distribución espacial del promedio de la temperatura, salinidad, clorofila, y su relación con la abundancia relativa de las especies nocivas y concentración de biotoxinas en todas las estaciones de monitoreo de mariscos. En cuanto a la distribución promedio de las variables de temperatura, salinidad y clorofila_a, se observó que los mayores valores promedio de temperatura (13°C) y clorofila_a (8 mg m⁻³) se registraron en las estaciones de la región del Biobío, específicamente asociada a la estación de bahía Colcura. Hacia el sur y especialmente en las estaciones de la región de la Araucanía y los Ríos, las concentraciones de clorofila_a tienden a disminuir alcanzando valores promedio de 4 mg m⁻³, este descenso es acompañado con una disminución de los valores promedio de temperatura (12°C) y salinidad (32 PSU). La presencia de las especies nocivas, evaluada a partir de la abundancia relativa de la estación a 2 millas desde la costa, sigue el patrón descrito en la sección anterior, donde los valores mayores estuvieron asociados a las estaciones de muestreo de la región de Los Lagos, principalmente para las especies *A. catenella*, *D. acuminata*, *P. cf. australis* y *P.cf. pseudodelicatissima*. Como hemos comentado previamente, *A. ostenfeldii*, tiene una alta cobertura, lo que se reflejó en valores promedio similares en casi todas las

estaciones de estudio. Esta distribución y nivel de abundancia relativa se relacionó con la distribución y concentración de las biotoxinas evaluadas por HPLC MS MS. En cuanto al ácido domoico (AD) las máximas concentraciones ($> 800 \text{ ng g}^{-1}$) fueron registradas en la estación de Cucao, pero con valores altos ($\sim 500 \text{ ng g}^{-1}$) hasta bahía Mansa en la región de Los Lagos. Hacia el norte estos valores disminuyen gradualmente, lo que se relaciona con el patrón de *P. cf australis* y *P.cf. pseudodelicatissima* que son las especies que producen esta toxina. En cuanto a las toxinas lipofílicas del tipo Pectenotoxinas, Azaspirácidos, Gymnodiminas y Espirólidos, se observó que fue la Pectenotoxina2 (PTX-2), la que alcanzó valores importantes ($> 50 \text{ ng g}^{-1}$) especialmente en las estaciones de la región del Biobío, donde la especie que produce esta toxina *D. acuminata* es importante en términos de abundancia relativa, mientras que, las Gymnodiminas (Gym) se distribuyen en gran parte de la estaciones de monitoreo, siempre en valores bajos, cercanos al límite de detección y, que pueden estar relacionados con la distribución y nivel de abundancia relativa de *A. ostenfeldii* como potencial especie productora. Las toxinas Azaspirácidos (Aza2) y Espirólidos (SPX1) mostraron concentraciones y distribución espacial muy bajas. Para las toxinas paralizantes del tipo N-sulfocarbamil gonyautoxinas (C1, C2), Gonyautoxinas GTX1 – 5 y Saxitoxinas se observó que siguieron el patrón de distribución, principalmente de *A.catenella* como especie productora, con concentraciones altas asociadas a la estación de Cucao en la región de Los Lagos donde superan el límite regulatorio ($80 \mu\text{g eq. STX 2HCL } 100 \text{ g}^{-1}$), para extracción, consumo y comercialización de los mariscos. Hacia el norte los valores estuvieron bajo este umbral regulatorio y con la presencia de los análogos menos tóxicos como C1, GTX2 y GTX3. Cabe señalar, que según los resultados informados en la Etapa III de este proyecto ([Espinoza et al., 2020](#)), *A. ostenfeldii* puede producir este tipo de toxina y ser la potencial responsable de su presencia en las estaciones de las regiones del Biobío, La Araucanía y Los Ríos, donde *A. catenella* tiene una baja presencia y abundancia relativa.

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

Durante esta etapa del proyecto, se evaluó la relación entre la composición del fitoplancton y las variables ambientales, utilizando para ello la densidad de las especies del fitoplancton (Células L^{-1}) para cada una de las estaciones de monitoreo y crucero realizado entre febrero de 2018 y diciembre de 2021, junto con las variables ambientales de Temperatura, Salinidad, Oxígeno, Fluorescencia, T°Aire, Nubosidad, Presión Atm ,Dir Viento IntViento, Secchi, Luz, para las misma estaciones y periodo de estudio.

De acuerdo al análisis de ANOSIM para las similitudes entre las regiones de estudio y la composición fitoplanctónica, el test determinó que se presentan diferencias significativas entre las regiones de Biobío y La Araucanía, Los Ríos, Los Lagos y Aysén (R global = 0,334, 0,326, 0,212, 0,714, respectivamente; $p=0,001$). Mientras que para las regiones de Araucanía y Los Ríos no se presentaron diferencias significativas (R global = -0,007; $p = 0,714$). Las similitudes y diferencias entre la composición del fitoplancton



para cada una de las regiones, se presentan en la **Figura 2.1.30**, usando el promedio Bootstrap basado en una matriz de similitudes de Bray-Curtis y representada en una gráfica de Escalamiento Multidimensional métrico (mMDS), con un estrés de Kruskal aceptable de 0,1.

Las variables ambientales para cada estación de monitoreo de las cinco regiones, fueron evaluadas de forma similar, utilizando el ANOSIM para las similitudes entre las regiones de estudio y las 11 variables ambientales. El test determinó que se presentan diferencias significativas entre las regiones de Biobío y La Araucanía, Los Ríos, Los Lagos y Aysén ($R_{\text{global}} = 0,261, 0,267, 0,302, 0,901$, respectivamente; $p=0,001$). Mientras que, para las regiones de Araucanía y Los Ríos no se presentaron diferencias significativas ($R_{\text{global}} = 0.035$; $p = 0,005$). Las similitudes y diferencias entre la composición del fitoplancton para cada una de las regiones, se presentan en la **Figura 2.1.31**, usando el promedio Bootstrap basado en una matriz de similitudes de Bray-Curtis y representada en una gráfica de Escalamiento Multidimensional métrico (mMDS), con un estrés de Kruskal aceptable de 0,09.

Utilizando la misma aproximación anterior, se evaluó el promedio mensual de la densidad de las especies del fitoplancton (Células L^{-1}) y las variables ambientales, con el propósito de encontrar diferencias estacionales. En la **Figura 2.1.32** se observa el resultado de este análisis aplicado a la composición fitoplanctónica, donde se aprecia una marcada estacionalidad en el comportamiento del fitoplancton, claramente se diferencian los meses de enero, febrero y marzo (verano), de los meses de abril, mayo, junio y julio (otoño-inicio de invierno), de los meses de agosto, septiembre y octubre (invierno-primavera) y los meses de noviembre y diciembre (primavera tardía-inicio de verano). Un patrón similar fue observado cuando el análisis se realiza a partir de las variables ambientales (**Figura 2.1.33**).

De manera similar a lo informado en etapas anteriores de este estudio ([Espinoza et al., 2019, 2020](#)), la variabilidad de la composición del fitoplancton, donde se incluyen las especies nocivas, está significativamente correlacionado con la variabilidad ambiental en cada una de las regiones donde se desarrolla el estudio. En las secciones anteriores de este objetivo, se ha mencionado y que a partir del análisis de las variables ambientales se han identificado como la variabilidad de la composición del fitoplancton se relaciona con eventos de surgencia donde la salinidad, intensidad y dirección de los vientos y fosfatos 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 distinto dependiendo del periodo del año en que se evalúen.

Con el desarrollo de esta IV Etapa del estudio y la incorporación de más información a nuestra base de datos, los resultados obtenidos tienden a reflejar consistencias en el patrón de los procesos oceanográficos y como a partir de ella se modula la composición del fitoplancton y la ocurrencia de las especies nocivas. En la siguiente etapa de este estudio debemos incorporar información acerca de los factores atmosféricos de gran escala (SAM, Niño/Niña) que generan condiciones climáticas excepcionales (Anomalías positivas de temperatura, radiación, cambio en patrón de vientos, disminución de precipitación, entre otras), que inducen cambios drásticos en las condiciones de la columna de agua (mezcla por surgencia o estratificación por temperatura o salinidad) que, como hemos señalado, son procesos claves en la variabilidad de las especies que componen el fitoplancton de la zona costera del centro y sur de Chile.

6.2.2 Actividad 2: Estudio comparativo entre tipos de quistes y células planctónicas de dinoflagelados

En la **Tabla 2.2.1.** se presenta el listado consolidado de dinoflagelados registrados tanto en la columna de agua (célula móvil) durante 11 cruceros, como en los sedimentos (quiste de resistencia bentónico) durante la campaña de primavera entre las regiones del Biobío, La Araucanía, Los Ríos y Los Lagos. De acuerdo a los resultados de los análisis cualitativos de dinoflagelados planctónicos, un total de 104 especies fueron identificadas. Por su parte, el número de tipos de quistes registrados en los sedimentos correspondió a 63. Los 7 tipos de quistes no identificados se registraron dentro del grupo “Dinoflagelados tecados indeterminados” debido a que no se conoce su fase móvil. Situación similar ocurrió con las especies de quistes *Echinidinium aculeatum*, *Echinidinium* cf. *granulatum* y *Brigantedinium* cf. *asymmetricum* de los cuales en la actualidad no se conoce su fase móvil (Mertens et al., 2019) y se registraron en el mismo grupo (Dinoflagelados tecados indeterminados). Las especies de quistes en que su fase móvil está identificada como *Protoperidinium* sp. (i.e., *Trinovantedinium variable*, *Selenopemphix tholus*, *Selenopemphix undulata*; ver **Tabla 1.4.1**) se consideraron en el listado consolidado como *Protoperidinium* spp., al igual que lo ocurrido con los quistes de forma esférica y color café que fueron agrupados como *Protoperidinium* spp. (ver **Tabla 1.4.1**) y de los cuales se desconoce la identidad de su fase móvil. Para los quistes registrados como



Protoperidinium sp. 3, *Protoperidinium* sp. 4, *Protoperidinium* sp. 6, *Protoperidinium* sp. 8, y *Protoperidinium* sp. 9, también fueron agrupados como *Protoperidinium* spp. en el listado consolidado. Las especies de quistes *Spiniferites pachydermus* y *Spiniferites pachydermus* han sido registradas en el listado consolidado como *Gonyaulax* spp. debido a que se reporta que muy probablemente pertenecen a este género (Lewis et al., 1999).

El listado consolidado de especies construido con el registro de células móviles y quistes arrojó un total de 127 especies, de las cuales 23 (18,1%) de ellas fueron registradas sólo mediante quistes (*Archaeperidinium minutum*, *Archaeperidinium constrictum*, *Biecheleria* cf. *baltica*, *Dactylodinium arachnoides*, *Diplopsalopsis ovata*, *Gyrodinium undulans*, *Huia caspica*, *Lebouraia pusilla*, *Niea acanthocysta*, *Niea torta*, *Oblea rotunda*, *Pentapharsodinium dalei*, *Polykrikos schwartzii*, *Polykrikos kofoidii*, *Protoperidinium americanum*, *Protoperidinium avellana*, *Protoperidinium haizhouense*, *Protoperidinium nudum*, *Protoperidinium oblongum*, *Scrippsiella donghaiensis*, *Scrippsiella lachrymosa*, *Scrippsiella precaria* y *Scrippsiella patagonica*) y 20 especies compartieron registro tanto como célula móvil y como quiste (*Alexandrium catenella*, *Alexandrium ostenfeldii*, *Gonyaulax spinifera*, *Gonyaulax* spp., *Lingulodinium polyedra*, *Polykrikos* spp., *Preperidinium meunieri*, *Protoceratium reticulatum*, *Protoperidinium claudicans*, *Protoperidinium conicum*, *Protoperidinium punctulatum*, *Protoperidinium* cf. *conicoides*, *Protoperidinium* cf. *leonis*, *Protoperidinium* cf. *thorianum*, *Protoperidinium* cf. *thulesense*, *Protoperidinium* spp., *Scrippsiella* spp.).

El estudio comparativo entre dinoflagelados registrados en la columna de agua (análisis cualitativos), y aquellos registrados en el sedimento mediante quistes de resistencia (fase bentónica), tiene por objetivo robustecer el listado de especies de dinoflagelados en el área de estudio basado en que, de manera frecuente, es más fácil identificar una especie como quiste que como célula móvil, tal como ha sido reportado, por ejemplo, para especies del género *Scrippsiella* (Lewis, 1991). En este estudio se identificaron por ejemplo 5 tipos de quistes de *Scrippsiella* (*S. donghaiensis*, *S. lachrymosa*, *S. precaria*, *S. patagónica*, *Scrippsiella* sp.) y en plancton se identificó a *S. trochoidea* y *Scrippsiella* spp., correspondiendo este último grupo a especies difíciles de diferenciar a nivel de especies. Para el caso de *S. precaria*, especie extremadamente abundante en sedimentos de estaciones de Colcura, a pesar de que su fase bentónica es relativamente fácil de identificar dado que tiene un cuerpo redondo a ovoide y está generalmente cubierto con numerosos procesos calcáreos en forma de espinas (Kim et al., 2021), la célula planctónica es difícil de identificar en análisis rutinarios de fitoplancton. Probablemente la dificultad de su identificación está dada porque es una especie de pequeño tamaño y su morfología es muy similar a otras especies del género, estando considerada, seguramente, dentro del grupo de *Scrippsiella* spp. Para una identificación certera se hace necesario un estudio de patrón de placas tecales (Lewis, 1991), y disponer de tiempo que, generalmente, no siempre tiene en programas de monitoreo. Otro caso para analizar es el de *Protoperidinium americanum*, especie que se presentó de forma abundante en sedimentos de Biobío y que no fue identificada en el plancton. El quiste de



esta especie es fácilmente reconocible y se caracteriza por tener un cuerpo esférico de tamaño medio (35-52 μm de diámetro; [Lewis & Dodge, 1987](#)). El endofragma de paredes gruesas se compone de dos partes, la capa interna es lisa y está cubierta por una capa externa granulada de color marrón pálido. El perifragma es delgado, liso y claro y se ajusta holgadamente alrededor del endoquiste, en algunos lugares se presiona cerca del endofragma y en otros se pliega suavemente. El arqueópilo se forma por la pérdida de las paraplacas apicales 2', 3' y 4' (**Figura 1.4.21**) ([Lewis & Dodge, 1987](#)). Los quistes de esta especie han sido reportados de manera común en estudios llevados a cabo en el sistema de fiordos de Chile ([Díaz et al., 2014, 2018](#); [Rodríguez et al., 2021](#)). Por otro lado, [Verleye & Lowye \(2010\)](#) menciona que *P. americanum* es una especie que domina los ensambles de zonas de surgencia junto con otras especies heterótrofas, lo cual es confirmado en este estudio. Por lo tanto, considerando estos antecedentes, la ausencia de la fase móvil en el listado estaría dada principalmente porque la morfología de la especie no se conoce y estaría siendo confundida con otro dinoflagelado.

Adicionalmente, realizar este tipo de ejercicio comparativo tiene resultados favorables respecto a la identificación de especies. Reportes han mencionado la presencia de especies de dinoflagelados en los sedimentos y no en muestras de plancton de un mismo sector ([Dale, 1976](#); [Ellegaard et al., 1994](#); [Nehring, 1997](#); [Montresor et al., 1998](#); [Persson et al., 2000](#); [Orlova et al., 2004](#)), lo cual concuerda con nuestros resultados. Aquí de las 127 especies que representaron el listado consolidado de dinoflagelados, 23 (18,1%) de ellas solo estuvieron presente como quistes de resistencia, identificando por primera vez entre ellas a las especies *Dactylocladus arachnoides* y *Niea torta*.

Según [Dale \(1983\)](#), para lograr mejores resultados sobre la composición de especies de un área es fundamental estudiar tanto las muestras de plancton como las de sedimento, ya que esa estrategia permite reconocer las diferentes fases (móvil y bentónica) del ciclo de vida de las especies formadoras de quistes. En esta etapa, del listado consolidado de especies, el porcentaje de especies identificadas solo mediante quistes (18,1%) fue mayor al registrado en la etapa pasada (14,9%). Aunque parezca, en general, un número bajo, se debe considerar que, de todas las especies de dinoflagelados existentes, solo un 10% de ellas son especies formadoras de quistes de resistencia ([Dale 1983](#)), incrementándose este valor hasta 28% en áreas templadas ([Persson et al., 2008](#)). Por lo tanto, los resultados de esta etapa pueden considerarse exitosos ya que el número de especies identificadas en el plancton fue 104 especies.

6.2.3 Actividad 3: Distribución y variabilidad de Nutrientes

Se realizaron mediciones con perfilador vertical de temperatura y salinidad (CTD-OF) a máxima profundidad, además de muestras de agua para análisis de nutrientes a seis profundidades (0, 5, 10, 15, 20 y 30 m), en 20 estaciones oceanográficas ubicadas a 5 millas de la costa de Chile centro-sur, a diferentes latitudes entre 36°S a 41,5°S. Las estaciones se repitieron mensualmente entre marzo del 2018 y diciembre del 2019

Distribuciones espaciales, temporales y regionales.

Fosfato, PO_4^{3-} (μM)

En la Figura 4, se muestran las distribuciones de la concentración de PO_4^{3-} a 0, 5, 10, 15, 20 y 30 m para las 20 estaciones ordenadas de norte a sur, donde el eje **y** corresponde a la concentración de PO_4^{3-} (μM) y el eje **x** el período del muestreo realizado entre marzo 2018 a diciembre 2019 (**Figura 2.3.1**).

La concentración de PO_4^{3-} fluctuó entre 0,015 μM a 4,602 μM de PO_4^{3-} . Las menores concentraciones de PO_4^{3-} se registraron a 0 m (**Tabla 2.3.1**). Los mayores gradientes verticales se observaron en los meses de primavera verano (2018 y 2019) de norte a sur hasta Bahía Mansa. Al sur de esta, se destacan con diferencia Faro Corona, Chepu y Carelmapu. Las localidades de Estaquilla, Carelmapu, Mar Brava y Caleta Zorra mantienen concentraciones similares entre profundidades a lo largo del período de muestreo, con concentraciones hasta 2,5 μM de PO_4^{3-} . Las máximas concentraciones de PO_4^{3-} se observaron en la zona costera de la región del Biobío (> 4,0 μM PO_4^{3-} entre 15 y 30 m).

Nitrito, NO_2^- (μM)

En la figura 5, se muestran las distribuciones de NO_2^- a 0, 5, 10, 15, 20 y 30 m para las 20 estaciones ordenadas de norte a sur. El eje **y** muestra la concentración de NO_2^- (μM) y el eje **x** el período del muestreo realizado entre marzo 2018 a diciembre 2019 (**Figura 2.3.2**).

En Colcura, Llico, Tubul, Puerto Saavedra, Bahía Mansa y Caleta Zorra se presentó concentraciones de $\text{NO}_2^- > 2,00 \mu\text{M}$. Para Coliumo, Llico, Nehuentué, Queule, Mehuin, Niebla, Chaihuin, Rio Bueno, Estaquilla, Playa Brava, Faro Corona, Carelmapu, Mar Brava, Chepu, Cucao la concentración de NO_2^- fue más homogénea con concentraciones menores a 2,00 μM para el período 2018 a 2019.

Nitrato, NO_3^- (μM)

En la figura 6, se muestran las distribuciones de las profundidades 0, 5, 10, 15, 20 y 30 metros para las 20 estaciones ordenadas de norte a sur, donde el eje **y** son las concentraciones de NO_3^- (μM) y el eje **x** es el período del muestreo realizado entre marzo 2018 a diciembre 2019 (**Figura 2.3.3**).

La distribución de NO_3^- muestra que los mayores gradientes verticales se presentaron en octubre, noviembre y diciembre del 2018 y 2019, exceptuando las localidades de Carelmapu, Mar Brava y Chepu donde las concentraciones fueron homogéneas entre profundidades, con valores < a 21,0 μM en la vertical.

Variabilidad de los parámetros físicos y clorofila-a.

Anomalías de Energía Potencial, PEA (J/m^3)

En la **Figura 2.3.4**, se presenta el mapa de los promedios latitudinales de las PEA (J/m^3) para las estaciones seleccionadas (izquierda) y para cada localidad de norte a sur (derecha) y las fechas analizadas (eje inferior derecho). Se muestran los promedios espaciales y las distribuciones de los valores en el tiempo para las 20 estaciones ordenadas de norte a sur el período del muestreo realizado entre marzo 2018 a diciembre 2019. Los promedios observados en el mapa (**Figura 2.3.4**, parte izquierda) fluctuaron entre 0,04 a 56,41 J/m^3 , donde se observa un gradiente en ascenso hasta Bahía Mansa con promedios sobre 25 J/m^3 , y luego un descenso en los promedios hasta Caleta Zorra con promedios bajos.

Los mayores PEA ($> 95,0 \text{ J/m}^3$), se presentaron en las estaciones de Chaihuin, Rio Bueno, Niebla Puerto Saavedra y bahía Mansa, destacando las tres últimas por presentar valores sobre 120,0 $\text{J} \cdot \text{m}^3$, respectivamente para meses de invierno-primavera. Entre Coliumo y Queule los PEA fluctuaron entre 37,0 y 66,0 $\text{J} \cdot \text{m}^3$. Los valores $< 37 \text{ J/m}^3$ se ubicaron en desde Estaquilla hasta Caleta Zorra. (**Figura 2.3.4**, parte derecha). El color gris indica que no hubo dato para ese período.

Profundidad de la capa de agua dulce superficial, HF (m)

En la **Figura 2.3.5**, Mapa de los promedios latitudinales de la profundidad de la capa de agua dulce superficial “HF” (m) (izquierda) y distribución de la Profundidad de la capa de agua dulce superficial “HF” (m) (derecha) indicando los promedios espaciales y la distribución de los valores en el tiempo para las 20 estaciones ordenadas de norte a sur en el período del muestreo realizado entre marzo 2018 a diciembre 2019.

Los promedios observados en el mapa (**Figura 2.3.5**, parte izquierda) se observa un gradiente en ascenso desde Coliumo hasta Bahía Mansa con promedios sobre 0,150 m, y luego un descenso en los promedios hasta Caleta Zorra con promedios cercanos a cero metros, Niebla es la localidad con promedios más alto para el período marzo 2018 a diciembre 2019.

Se observaron que entre los meses de otoño e invierno en las estaciones ubicadas entre Colcura a Bahía mansa registran valores $> 0,250 \text{ m}$, donde Puerto Saavedra y Niebla están por sobre 1 m. Los valores $< 0,250 \text{ m}$ se ubicaron en desde Estaquilla hasta Caleta Zorra. (**Figura 2.3.5**, derecha) durante período muestreado. Los círculos grises indican que no hay datos por la profundidad de la salinidad de referencia (ver formula en metodología).

Salinidad

En la **Figura 2.3.6**, Se observan en el eje **y** los valores de Salinidad para las profundidades 0, 5, 10, 15, 20 y 30 metros (líneas de color) para las 20 estaciones ordenadas de norte a sur, donde el eje **x** es el período del muestreo realizado entre marzo 2018 a diciembre 2019.

La **Figura 2.3.6** muestra la variación mensual de salinidad en los 20 sitios de estudio. Las variaciones de la salinidad en las distintas profundidades muestran diferencias entre regiones y en las estaciones del año. Las variaciones entre la superficie y los 30 m de profundidad se mantienen sin grandes diferencias entre en los distintos meses del año desde la localidad de Estaquilla hacia el sur, hasta Caleta Zorra. Las estaciones al norte de Estaquilla muestran evidencia de aporte de agua más dulce en la superficie, en meses de mayor descarga de ríos cercanos. Por ejemplo, la descarga del río Calle-Calle en Pupunahue (**Figura 2.3.11**) muestra los más altos caudales en coincidencia con los tiempos de más bajas salinidades superficiales en la localidad de Niebla. Estos pulsos de agua dulce son incluso evidentes en la curva de 30 m de profundidad desde Queule hasta Bahía Mansa.

Clorofila-a integrada, CHLI (mg/m²)

En la **Figura 2.3.7** se presenta el mapa de los promedios de Clorofila-a integrada, CHLI (mg/m²) para las estaciones seleccionadas (izquierda) y distribución de la Clorofila-a integrada, CHLI (mg/m²) (derecha) para cada localidad de norte a sur (derecha) y las fechas analizadas (eje inferior derecho), para las 20 estaciones ordenadas de norte a sur el período del muestreo realizado entre marzo 2018 a diciembre 2019.

Los promedios de CHLI desde Coliumo a Queule fueron < 70 mg/m³. Los promedios > a 70 a 200 mg/m² se observan en las estaciones. Los promedios sobre 200 mg/m² se presentaron en las estaciones de Chaihuin y Estaquilla.

La distribución de las concentraciones de CHLI para las estaciones ubicadas en la región del Biobío, presentaron rangos entre 8 y 200 mg/m² de CHLI, para los meses de diciembre 2018 a abril 2019 se observaron concentraciones sobre 200 mg/m² para las estaciones de Coliumo y Colcura. Llico y Tubul presentaron las menores concentraciones en el período muestreado.

Patrones de distribución espacial y temporal

Variación entre año 2018 y 2019.

Los promedios Bootstrap y las distancias métricas del MDS (Metric Dimensional Scaling) destacaron por estar suficientemente distanciado entre los años 2018 y 2019, indicado por la separación entre los años y las



diferencias del área de confianza del 95 % entre ellas distintas de la media bootstrap para cada año observado en un gráfico 2 D con un estrés 0.06 (**Figura 2.3.8**).

Distribución regional

Los promedios Bootstrap y las distancias métricas MDS (Metric Dimensional Scaling) permitieron identificar mediante separaciones espaciales las siguientes regiones (**Figura 2.3.9**): 1) región del Biobío (Coliumo, Colcura, Tubul y Llico); 2) región de La Araucanía (Nehuentué, Puerto Saavedra y Queule); 3) región de Los Ríos (Mehuín, Niebla, Chaihuín y Río Bueno); 4) región de Los Lagos (Bahía Mansa, Estaquilla, Playa Brava, Carelmapu, Faro Corona, Mar brava, Chepu, Cucao y Caleta Zorra). Estas agrupaciones fueron observadas con los datos de NO_2 a 0 y 30 m, NO_3 0 y 30 m m, fósforo 0 y 30 metros, máximo gradiente vertical de nitrato, nitrato y fósforo; nitrato, nitrato y fósforo verticalmente integrado, durante los meses de marzo al 2018 a diciembre 2019.

La mayor similitud en el MDS (Metric Dimensional Scaling) fue entre las regiones de La Araucanía y la región de Los Ríos, con un cercano promedio Bootstrap entre ambas y con espacios del dominio traslapados entre sí. Los promedios Bootstrap y el Metric MDS para las regiones del Biobío y región de Los Lagos, destacaron por su lejanía espacial y disimilitud entre los datos de los nutrientes en comparación con las otras regiones. En este análisis se estableció un área de confianza del 95 % entre ellas, con los promedios bootstrap para cada región observado en un gráfico 2D, con un estrés 0,06.

Distribución estacional

Las distancias similares en el MDS (Metric Dimensional Scaling) fueron entre los meses enero, febrero, marzo, abril, mayo, ubicándose en el espacio MDS2 de -1 a 0 y MDS1 de 0 a -2 con un promedio cercano de Bootstrap y traslape con el área de confianza del 95 %. En los meses de junio y julio se presentaron similitudes de los promedios Bootstrap y compartieron el área de confianza del 95%. Para el área 0 a 2 MDS2 y el área 0 a 2 MDS1 se generaron similitudes de los promedios Bootstrap y el área de confianza del 95%, al igual que para los meses de noviembre y diciembre con una cercanía entre los promedios Bootstrap, en un gráfico 2D con un estrés 0,13 (**Figura 2.3.10**).

Asociación de nutrientes con parámetros físicos y clorofila

El Análisis Canónico de Coordenadas principales (CAP) permitió identificar las correlaciones entre los parámetros físicos; Anomalías de energía potencial, PEA (J/m^3), Profundidad de la capa de agua dulce superficial, HF (m), Máximo gradiente de la frecuencia Brunt-Vaisala MBV (ciclos/hora), Profundidad del máximo gradiente de la frecuencia Brunt-Vaisala PMBV (m), Clorofila integrada CHLI (mg/m^2), y máximo de clorofila integrada MCHL (mg/m^2), como impulsores de la distribución regional (azul Biobío, púrpura La

Araucanía, verde Los Ríos y rojo Los Lagos) de nitrato, nitrito y fosfato , durante los promedios de los meses octubre, noviembre, diciembre para los años 2018 y 2019.

En el grafico (**Figura 2.3.11**) Análisis Canónico de Coordenadas principales (CAP) sobre el MDS (Metric Dimensional Scaling), se observan que los nutrientes de las estaciones de Puerto Saavedra y Niebla tienen una mejor correlación con el PEA y que Nehuentué, Queule y Mehuin se asocian a MBV, todas estas estaciones ubicadas en el cuadrante 3, también cercanas a la correlación de HF. Para el cuadrante 4, la localidad de Llico la correlación de MCHL.

Caracterización de las distribuciones de nitratos, nitritos y fosfatos.

Para el período analizado, las concentraciones reportaron entre 0,063 μM (5m) a 38,533 μM (30m) en el caso de nitrato a lo largo de las 5 millas desde Coliumo hasta Caleta Zorra, estos valores son característico de áreas eutróficas ([Farías, et al., 2021a](#)) pero van a depender de múltiples factores ambientales (estratificación térmica y halina, estrés del viento, y precipitaciones), principalmente la distribución espacial, temporal y regional en las que sean monitoreados ([Masotti et al., 2018](#)). Es interesante observar que las concentraciones de fosfato durante la primavera 2018 y primavera 2019 oscilaron entre los 3,50 μM a 4,6 μM entre los 15 y 30 metros para las estaciones ubicadas en la región del Biobío estas concentraciones son similares a las descritas para años anteriores ([Farías et al., 2021b](#)).

En el mismo período se observan concentraciones mayores a 20 μM para nitrato; existen varios autores que relacionan estas concentraciones altas en períodos de vientos intensos del sur ($>10 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$) como un ascenso de nutrientes hacia superficie, esta inyección de nitrato y fosfato desde aguas profundas a la zona fótica, puede tener lugar a lo largo del frente de surgencia que se proyecta en esa región del Biobío durante los meses de septiembre a marzo ([Ahumada Bermúdez & Chuecas Muñoz, 1979](#); [Escribano et al., 2004](#); [Fernandez et al., 2015](#); [Sobarzo et al., 2007](#); [Thomas et al., 2001](#)). Durante los meses de finales de otoño e invierno 2018 y 2019 las concentraciones de nitrato fueron a $< 17 \text{ } \mu\text{M}$ y $> 4 \text{ } \mu\text{M}$, para fosfato las concentraciones fueron $< 3 \text{ } \mu\text{M}$ y $> 0,05 \text{ } \mu\text{M}$, indicando presencia de disponibilidad en la columna de agua. Se han reportado concentraciones similares para períodos de otoño e invierno para la región del Biobío ([Testa et al., 2018](#)).

Las estaciones ubicadas entre Araucanía y Los Ríos, manifestaron correlaciones positivas entre nitrato y fosfato para ambas regiones, se puede inferir que el aporte de agua dulce de los ríos en estas regiones mantiene un aporte de nutrientes constante estacional y similar entre las siete estaciones que comprenden estas dos regiones, con concentraciones similares entre profundidades



Las concentraciones de nitrato y fosfato observados a las 5 millas en la estación de Niebla reflejan una similitud entre los caudales observados para el río Pupunahue (**Figura 2.3.11**), tributario principal del río Valdivia, mostrando pulsos similares con las salinidades de 0 m, durante el 2018 y 2019 (figura 10, resultados).

Trabajos anteriores, indican que las contribuciones al área costera adyacente se pueden relacionar con los períodos precipitación y descarga de ríos ([Garreaud et al., 2017](#); [Montecinos, 2003](#); [Saldías et al., 2016](#); [Pérez et al., 2015](#)).

En general la distribución de las concentraciones de nutrientes tiene un descenso de norte a sur, donde los promedios y desviaciones estándar disminuyen en un gradiente latitudinal hacia las estaciones ubicadas en la región de Los Lagos en contraste con la región del Biobío. Las estaciones ubicadas en la región del Biobío presentan mayor variabilidad que las concentraciones de nitrato y fosfato, en todo el período medido.

En el caso de las concentraciones de nitrito, el rango de concentración fue de 0,006 uM (5m) hasta 5,530 uM (30m), con un promedio general de 0,511, donde se observaron once máximos en la columna de agua (figura 6, resultados) con valores > 2,000 uM, siete de ellos para la región del Biobío, durante los meses de primavera verano e inicio de otoño, estas concentraciones se ubican principalmente en toda la columna. Para la región de La Araucanía, Puerto Saavedra tiene dos máximos en superficie y medio fondo, durante los meses de invierno-primavera y otoño 2019. En Los Lagos, se observan dos máximos, uno en Bahía Mansa en los meses de invierno 2018 al igual que en Caleta Zorra, Autores como Lomas y Lipschultz, ([Lomas & Lipschultz, 2006](#)) indican que la baja irradiancia y los cambios abruptos inducidos por movimientos de masas de agua, pueden aumentar la excreción de nitritos, por parte del fitoplancton, lo que podría explicar la acumulación de nitritos alrededor de la zona eufótica. Existen evidencias que sugieren que los valores sobre 1,5 uM son característicos del máximo de nitrito primario (PNM) observados en la zona eufótica del Océano Indico Oriental por debajo del segundo máximo de clorofila ([Sato et al., 2022](#)). Las concentraciones de nitrito solo presentaron una correlación positiva para la región de La Araucanía de un $R = 0.576$

Patrones de distribución espacial y temporal de los nutrientes con los parámetros físicos

A partir de las diferencias entre los años 2018 y 2019 encontradas en la (figura 12) para los nutrientes, concuerdan ya que las diferencias aparentes podrían explicarse por la presencia de La Niña para el 2018, estas condiciones climáticas generan sequías, provocando disminución en las precipitaciones y afectando los caudales de agua dulce, originando cambios que pueden afectar la dinámica de los procesos costeros ([Garreaud et al., 2017](#)).



La distribución latitudinal de las estaciones seleccionadas en este estudio, resalta las diferencias de nutrientes entre las regiones de Biobío, Araucanía, Los Ríos, y Los Lagos, agrupando en tres regiones por distancias y similitudes (**Figura 2.3.9**).

El análisis estadístico no paramétrico de los nutrientes para meses, sugiere que las disparidades que reflejan un giro en sentido antihorario de los grupos de variables de nutrientes observados en la figura (**Figura 2.3.10**) durante un ciclo anual, requieren un análisis más profundo acerca de los agentes que podrían estar causándolo. En este sitio, el calentamiento y enfriamiento estacional pueden modular este comportamiento de mayor temperatura en verano y menor en invierno; mientras que las tasas de evaporación pueden hacerlo sobre la salinidad. En nuestra área de estudio, la temperatura seguiría el mismo patrón. En relación con la salinidad, ya que la mayoría de los ríos que descargan en la zona costera del área de estudio tienen una señal anual de mayor descarga en invierno, las bajas salinidades debieran ser observadas en julio, pero en este caso ocurren en enero, en la fase inversa. Así, estos resultados, sugiere que se ajuste a este modelo conceptual donde el aporte de agua dulce podría estar inversamente relacionado con los nutrientes. La búsqueda de una asociación de las variaciones estacionales de T-S y los nutrientes es un aspecto que requiere mayor estudio.

Asociación con parámetros físicos y clorofila

Las correlaciones de los nutrientes con los parámetros físico y la clorofila-a fueron exploradas mediante análisis canónico (**Figura 2.3.11**). Este análisis se ajustó utilizando los meses de octubre, noviembre y diciembre del 2018 y 2019. Debido a las condiciones favorables para el desarrollo de eventos de surgencia, en estos meses es donde se esperarían aumentos significativos de nutrientes, clorofila y gradientes de densidad.

En el CAP, se observa la asociación entre procesos físicos y las concentraciones de nutrientes por estaciones. Sugiere que las estaciones de nutrientes ubicadas en el mismo cuadrante que el PEA, MBV y HF están influenciadas por la estratificación, es decir, las estaciones de La Araucanía y Los ríos. En el caso de las estaciones ubicadas en los Lagos, se observan dos grupos; unas bajo las correlaciones de PMBV y CHLI que sugiere procesos de productividad (Cucao, Mar Brava, Estaquilla, Bahía Mansa), a diferencias de las estaciones que no tienen correlación positiva con los procesos físicos de densidades menores que son Playa Brava, Faro Corona, Carelmapu, Chepu y Caleta Zorra, por último, Biobío presenta correlación positiva con el máximo de clorofila.



Esta combinación de resultados proporciona apoyo a la premisa de los procesos costeros asociados a los aportes de nutrientes, futuras investigaciones deberían sumar las variables de sílice y estrés del viento, para realizar un análisis más detallado de los procesos de densidad en la columna de agua.

6.3 Resultados y Discusión 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.

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 la etapa IV del proyecto para las estaciones ubicadas en las 5 millas.

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 gene ribosomal para cada estación analizada expresados en valor de tasa de cambio o fold change.

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 se realizaron en triplicado (3 réplicas). Las muestras se filtraron mediante bomba de vacío, donde el material biológico quedo retenido en filtros de fibra de tamaño de poro 0.7 μ m el cual se almaceno en tubos eppendorf de 2ml a una temperatura de -20°C para evitar degradación de la muestra.

Para cada muestra se realizó una extracción de ADN mediante el método de CTAB (del ingles Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide), el cual se cuantifico mediante Qubit V4 para determinar su concentración y en geles de agarosa al 1,5% para determinar su integridad. Posteriormente el ADN extraído se conservó a -20°C para posteriores amplificaciones mediante PCR cuantitativa (qPCR).

Los ensayos realizados usando los marcadores para la especie *A. catenella* identificaron positivamente a esta especie en 72 muestras durante todo el desarrollo de la etapa IV del proyecto. Los cruceros 6 y 10 muestran los niveles más bajos de detección, donde solo se detectó a *A. catenella* en las estaciones del Bio



Bio y Los Lagos respectivamente. Los niveles mas altos de teteccion se evidencian en los cruceros 2, 3, 4, 8, 9, 10 y 11 (**Figura 3.1.1**).

Para *A. ostenfeldii* la detección mediante qPCR detectan a esta especie en 102 muestras durante toda la etapa, donde los niveles de detección son menores comparado a *A. catenella*. Los cruceros 1, 2, 3, 4 y 5 son los que evidencian mayores niveles de detección mientras que en el resto de los cruceros las estaciones presentan niveles relativamente similares. (**Figura 3.1.2**).

En *P. reticulatum* los ensayos de qPCR detectaron a esta especie en 68 muestras (**Figura 3.1.3**), donde los mayores índices de detección se muestran entre los cruceros 7 al 12, siendo en el crucero 7 y particularmente en la estación de Aysen la que presento los niveles más altos.

Metabarcoding

Para el caso de metabarcoding el número total de *reads* obtenidos en la secuenciación fue de 10.254.311. Después de los análisis bioinformáticos se detectaron un total de 2.285 ASVs los cuales fueron representados por 3.176.492 secuencias. De este total las localidades que mostraron un mayor porcentaje de variación en el numero de ASV fueron las estaciones MPAT1, MPRT2, MPRT4, MPLT6 (**Figura 3.1.4**). En términos de abundancia relativa, basándose en el número de secuencias, para la clase Dinophyceae los géneros mas abundantes fueron *Gyrodinium*, *Dinophysis*, *Alexandrium*, *Prorocentrum*, *Protoperdinium*, *Lepidodinium* y *Tripes* son los que registraron mayores niveles de detección (**Figura 3.1.5**), mientras que un porcentaje cercano al 25% delas es representado por secuencias que no puedes ser asignadas a ningún genero. Por otro lado los géneros mas abundantes de la clase *Bacillariophyta*, fueron *Thalassiosira*, *Skeletonema*, *Chaetoceros*, *Corethron*, *Pseudo-nitzschia* y *Coscinodiscus* (**Figura 3.1.5**).

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.



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 microscopía 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 ([Roose et al 2001](#); [Savelle 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 ([Savelle 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 ([de Vargas 2015](#)). Así, se ha demostrado su aplicabilidad en diferentes escenarios acuáticos como en el monitoreo de especies invasoras ([Darling and Mahon, 2011](#); [Comtet et al 2015](#)), identificar los principales organismos involucrados en el flujo de carbono en zonas de surgencia ([Gutierrez et al 2018](#)), identificación de las especies presentes en las aguas de lastre en embarcaciones marítimas ([Shaw et al 2019](#)), cuantificar los efectos de la salmonicultura en base a la carga bacteriana del sistema ([Stoeck et al 2018](#)), identificación de especies crípticas de diatomeas que no pueden ser identificadas mediante morfología, evidenciando diferencias significativas entre número de especies detectadas molecularmente versus lo identificado por microscopía ([Zimmermann et al 2015](#)) y recientemente se ha discutido sobre la aplicabilidad al monitoreo de FAN ([Sildever et al 2019](#)).

En esta etapa se describe la diversidad molecular del fitoplancton a lo largo de la Costa Pacífico entre las regiones del Bio-Bio y Aysen usando el metabarcoding como herramienta molecular con el objetivo de profundizar en la diversidad de las especies fitoplanctónicas en esta área. Los resultados muestran la



detección de especies previamente descritas por identificación morfológica en etapas anteriores del proyecto validando el uso de estos métodos como herramienta complementaria a la identificación visual. Por otro lado, el metabarcoding incrementa los niveles de detección molecular en complejos taxonómicos difíciles de identificar de forma visual y potencialmente especies no descritas hasta ahora en ninguna otra costa oceánica y que eventualmente podría generar un evento nocivo en el futuro. Se logró identificar seis de los nueve órdenes de dinoflagelados que agrupan principalmente a los flagelados planctónicos marinos de vida libre Gonyaulacales, Peridinales, Gymnodinales, Suessiales, Prorocentrales y Dinophysiales y también el principal orden que agrupa a las diatomeas, Bacillariophyta. A nivel molecular se logró identificar especies pertenecientes a estos géneros, las cuales ya han sido identificadas morfológicamente en etapas anteriores del proyecto, donde varias de estas ya han generado floraciones en Chile y otras partes del mundo con consecuencias negativas para la biodiversidad y pérdidas económicas para el sector acuícola por lo cual la complementariedad de las herramientas moleculares debe continuar implementándose de manera más frecuente y con un mayor número de sitios para lograr obtener la cobertura necesaria que nos permita identificar la biodiversidad global fitoplanctónica con potencial nocivo a lo largo de la costa chilena.

6.3.2 Actividad 2: Distribución anual de toxinas mediante LC-Masas.

En las **Tablas 1.1.9 a 1.1.12** se presentan los resultados de TML y paralizantes de los cruceros 1 al 11 de muestras de agua obtenidas en algunas estaciones seleccionadas. En las tablas se presentan las toxinas que fueron detectadas en alguna muestra tanto de filtros como de mariscos.

No se detectaron toxinas paralizantes en las muestras analizadas.

En la región de Biobío se filtraron muestras de agua de las estaciones Coliumo y Tubul (**Tabla 1.1.9**). Se detectó Ácido Domoico (DA) en ambas estaciones, Coliumo (cruceros 2 al 6 y 9, con niveles de 19 a 464 ng/L) y Tubul (cruceros 3 al 6 y 9, con niveles de < LC a 630 ng/L). Se detectó PTX2 en Coliumo (crucero 2) y en Tubul (cruceros 2, 3, 5 y 6), con niveles de < LC.

En la región de la Araucanía las muestras de agua provienen de la estación Puerto Saavedra (**Tabla 1.1.10**). Se detectó Ácido Domoico (DA) en los cruceros 1 (8 ng/L), 2 (< LC), 8 (75 ng/L), 9 (150 ng/L) y PTX2 en los cruceros 4, 5 (< LC) y 10 (8 ng/L).

En la región de los Ríos las muestras de agua filtrada son de la Estación de Niebla (**Tabla 1.1.11**). Se obtienen resultados positivos de DA en el crucero 1 (375 ng/L), 8 (88 ng/L), 9 (1500 ng/L) y PTX2 en los cruceros 2 y 5 (< LC).



En la región de Los Lagos se filtraron muestras de agua de Bahía Mansa, Carelmapu y Cucao, Al igual que en las otras regiones, las únicas ficotoxinas detectadas son DA y PTX 2 (**Tabla 1.1.12**). En la mayoría de los cruceros se detectó en al menos una estación DA ($< LC$ a 236 ng/L) o PTX 2 ($< LC$ a 3 ng/L), solamente en los cruceros 7 y 8 no se detectó alguna toxina en alguna muestra .

6.3.3 Actividad 3: Estudio de biotoxinas en tejidos de mariscos

Los resultados de esta actividad son presentados en el punto 6.1.2. Actividad 2: Muestreo transvectores y detección toxinas.

Todas las muestras de filtros analizadas son No Detectado para toxinas paralizantes, lo que está completamente de acuerdo con los resultados en mariscos, ya que los pocos casos positivos de estos últimos (GTX2) siempre es con niveles muy bajos (bajo el límite de cuantificación), que se pueden obtener debido a que los mariscos son capaces de concentrar la toxina del medio, razón por la cual en la columna de agua no es posible determinar la toxina.

Gran cantidad de muestras de agua filtrada, dan resultados positivos a AD, pero con niveles que no son muy altos. Estas muestras positivas, seguramente se debe a la presencia de Diatomeas del género *Pseudo-Nitzschia*. En todo caso los niveles encontrados no son lo suficientemente altos como para encontrar en el mismo sector muestras de mariscos positivos a AD.

En cuanto a Toxinas Lipofílicas, solo fue posible detectar PTX2, con bajas concentraciones (de $<LC$ a 9 ng/L de agua filtrada), niveles que seguramente no son capaces de producir muestras positivas en los mariscos.

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.

Dinophysis acuminata es una especie cosmopolita que ha sido registrada a lo largo de diferentes zonas costeras alrededor del mundo ([Park et al., 2019](#)). Esta especie es responsable de la intoxicación diarreica por mariscos (DSP) debido a la producción de ácido okadaico (OA) y dinofisistoxinas (DTX). Además, algunas poblaciones pueden producir pectenotoxinas (PTX), pero no hay evidencia de que las PTX sean tóxicas para los humanos. Recientemente, las pectenotoxinas fueron removidas de los estándares de salud de moluscos vivos (reglamento de regulación delegado) de la Unión Europea ([European Commission, 2021](#)).



En Chile, *D. acuminata* se distribuye a lo largo de la costa del Océano Pacífico y dentro de los fiordos patagónicos donde se han formado floraciones que representan una amenaza para la salud pública, la pesca artesanal y la industria acuícola. A pesar de los años de estudio de esta especie y de la relevante información obtenida en relación a su ecología, por ejemplo, por medio de estudios oceanográficos, aún no se han realizado cultivos de *D. acuminata*.

El cultivo de *D. acuminata* es un proceso complejo, y hasta el momento, la única forma de realizarlo es mediante el co-cultivo con su presa *Mesodinium rubrum*. Adicionalmente, *M. rubrum* debe ser alimentado con la especie *Teleaulax* sp.. El proceso de cultivo fue implementando por [Park et al., \(2006\)](#) y desde entonces solo en algunos países han podido estimar parámetros de crecimiento y toxicológicos.

En este trabajo, y por primera vez en Chile, establecimos cultivos unicelulares de cepas de *D. acuminata* aisladas desde la costa del Océano Pacífico e investigamos su taxonomía y cómo las condiciones ambientales afectan el crecimiento y la producción de toxinas.

El análisis filogenético de las secuencias COI chilenas mostró que todas se agregaron en el clado del “complejo de especies de *Dinophysis acuminata*”. Este clado fue respaldado por una probabilidad bayesiana de 1. La distancia genética entre las secuencias chilenas fue baja y osciló entre 0,000 y 0,001. Otras especies cuyas secuencias COI que se agregaron en el mismo clado que las chilenas incluyeron a *D. sacculus* Stein 1883 y *D. ovum* Schütt, 1895 (**Figura 3.3.1**). Trabajos previos habían indicado que los genes COI eran eficaces para delinear las especies incluidas en el complejo *D. acuminata*. No obstante, nuestros resultados indicaron que el gen COI no tuvo la capacidad de distinguir entre las especies del complejo.

Las cepas aisladas desde la costa del Pacífico mostraron variación morfológica a lo largo de su fase de crecimiento. En la fase exponencial, los valores de longitud y profundidad de la hipoteca fueron mayores que después de 3 meses de cultivo sin adición de su presa (*M. rubrum*). En fase exponencial, el contorno de hipoteca de las células fue en mayor parte simétrico con respecto al eje longitudinal (**Figura 3.3.2**). También se observó un pequeño número de células con forma asimétrica. Después de tres meses de cultivo se observaron formas similares pero la forma asimétrica fue más evidente (**Figura 3.3.2**). La variación morfológica a través de las fases de crecimiento de *D. acuminata* es un fenómeno que también se ha observado en cepas cultivadas en el hemisferio norte ([Park et al., 2019](#)).

Respecto al crecimiento de *D. acuminata*, en el primer experimento se observó un bajo crecimiento a la intensidad de luz más alta utilizada, de 125 $\mu\text{mol fotón m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (**Figura 3.3.3; Tabla 3.3.1**). A su vez, en el segundo experimento diferentes niveles de luz afectaron las tasas de crecimiento, pero la temperatura no tuvo un efecto sobre el rango investigado (**Figura 3.3.4; Tabla 3.3.2**). En campo se ha observado la estratificación de esta especie, encontrando alta abundancia alrededor de la picnoclina ([Diaz et al., 2011](#)).



Quizás en la superficie, donde se produce una alta intensidad de luz, *D. acuminata* sufra una inhibición del crecimiento.

La producción de toxinas no se vio afectada sustantivamente por la intensidad de la luz ni por la temperatura (**Figura 3.3.5**). Adicionalmente, la PTX2 fue la única toxina encontrada en las tres cepas evaluadas que fueron aisladas la costa del Océano Pacífico y no se detectaron OA ni DTX. [Fux et al., \(2011\)](#) informó un patrón similar de toxina utilizando una cepa aislada del Seno de Reloncavi. Sin embargo, en el extremo sur de Chile la presencia de las dinofisistoxinas fue encontrado en mariscos, y la única especie registrada en este momento en la columna de agua fue *D. acuminata*, que fue la especie presuntamente implicada en el evento DSP ([Uribe et al., 2001](#)).

6.4 Resultados y Discusión 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 de 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 [Situación Marea Roja Pacífico 2021](#), 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 una ventana con información del área y los reportes; los cuales están agrupados en cuatro áreas de muestreo (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, se despliega una ventana con información básica de estas; que son: Región, Transecto, Estación, Código, Latitud, Longitud y Tipo de Muestreo (**Figura 4.1.3**); además de puede consultar la base de datos asociada a la entidad gráfica en la parte inferior del Web Map, mostrando la tabla asociada a esta capa de información.



- Situación de muestreo: este es un widget de consulta para conocer la información de abundancia relativa, el 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*), para esto primero se selecciona la especie a consultar y luego el crucero y/o abundancia relativa; el resultado de esta consulta se verá reflejado de manera dinámica sobre el mapa, además de un gráfico por especie consultada al costado derecho de la pantalla (**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 (generada con estándares de Infraestructura de Datos Espaciales de Chile - Ministerio de Bienes Nacionales (IDE - Chile, 2021)); por medio de servicios; los cuales están organizados por estación de muestreo según año, abundancia relativa compilada y las áreas de reportes también por años de muestreo (2020, 2021, 2022). Alojados en el siguiente url: https://sig-acuicultura.ifop.cl/arcgis/rest/services/marearoja_costa (**Figura 4.1.5**).

La difusión de los resultados de análisis de las abundancias relativas de los taxones nocivos 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 Geoespaciales 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 y además se tiene acceso al programa en curso; con el objetivo de que los usuarios tengan herramientas de análisis y de comparación entre los monitoreos por medio de la carga de información vía servicios URL, 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.



Entre 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.

Redes sociales

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

Canal de YouTube

Desde el año pasado, contamos con un canal de YouTube que es operado desde el Centro de Estudios de Algas Nocivas (CREAN), con el fin de difundir los videos, conversatorios y conferencias que se realizan durante el año en diversas actividades nacionales e internacionales. A los videos de difusión ya conocidos ¿Qué es el Plancton Marino? (<https://youtu.be/wvJ5rhCNeeQ>), Floraciones de Algas Nocivas (<https://youtu.be/uBL2joda5m0>) y Toxinas Marinas (<https://youtu.be/ymYdRFQMThw>).

Aplicación para teléfonos móviles – i-FAN

Durante esta etapa, se continuó informando las abundancias relativas de los cinco principales taxones nocivos (*Alexandrium catenella*, *Alexandrium ostenfeldii*, *Dinophysis acuta*, *Dinophysis acuminata* y *Protoceratium reticulatum*), para las nueve zonas del monitoreo (Chiloé norte, Chiloé centro, Chiloé sur, Aysén norte, Aysén sur, Tortel, Magallanes norte, Magallanes centro y Magallanes sur), sumando un total de 221 estaciones. En esta aplicación, además, se puede realizar una revisión específica del Subprograma de Fiscalización y Vigilancia, el cual incluye el subprograma de Raúl Marín Balmaceda (Alta Frecuencia). Este subprograma abarca 23 estaciones, distribuidas en el sureste y sur de la isla de Chiloé, golfo Corcovado, Melinka y Raúl Marín Balmaceda.



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

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

- **INICIO.** Es la pantalla de inicio dónde se describe de manera general el objetivo de la aplicación móvil (**Figura 4.1.6**).
- **SEMÁFOROS.** A través de una escala de colores (desde el blanco hasta el rojo), el usuario podrá diferenciar el nivel de la abundancia relativa de la microalga de interés (*A. catenella*, *A. ostenfeldii*, *D. acuminata*, *D. acuta* y *P. reticulatum*). De esta manera, y tal como se observa en la **Figura 4.1.7**, será posible encontrar:
 - **Semáforo Blanco.** Indica una “Situación de Ausencia”. La microalga no está presente en el agua.
 - **Semáforo Verde.** Indica una “Situación Normal”. Los niveles de abundancia son bajos y no representan riesgos.
 - **Semáforo Amarillo.** Indica una “Situación Moderada”. Los niveles de abundancia son intermedios, no representan alto riesgo, pero hay que estar atentos a la evolución de la Floración.
 - **Semáforo Naranja.** Indica una “Alerta Temprana”. Los niveles de abundancia son altos y potencialmente presentarían riesgo si se mantienen en el tiempo.
 - **Semáforo Rojo.** Indica una “Situación de Riesgo”. Los niveles de abundancia son muy elevados y representan riesgo.
- **ALERTAS.** En esta sección, se encuentra una bandera (banner) que permite ingresar al Programa de Marea Roja Pacífico (**Figura 4.1.8**)
- **MÁS.** En esta sección del Menú (**Figura 4.1.9**), se podrá encontrar:
 - **Monitoreo Pacífico.** Donde se explica en que consiste el Programa, principales objetivos, detalle de sus estaciones y un mapa general donde se pueden visualizar los puntos de muestreo.
 - **Noticias.** En esta sección, son publicadas las principales noticias relacionadas con el CREAM.
 - **Preguntas Frecuentes.** Se entrega información complementaria para dar a conocer aspectos básicos de las Floraciones de Algas Nocivas, a través de preguntas tales como: ¿Qué es una Floración de Algas Nocivas?, ¿Qué significa microalga?, ¿Qué puedo comer con seguridad?,



¿Por qué se trabaja tanto en Chile el tema de las Mareas Rojas?, ¿Qué síntomas causan las toxinas de los mariscos? ¿Hay antidotos para los Venenos?

- Fotos de microalgas. A través de imágenes de especies de microalgas asociadas a intoxicaciones (e.g. *Alexandrium catenella*, *Dinophysis acuta*, *D. acuminata*), se trata de acercar a las comunidades a conocer el mundo microscópico que vive en el agua.

6.4.2. Actividad 2: Difusión de resultados y capacitación

Los programas de monitoreo en áreas afectadas por floraciones de algas nocivas y toxinas marinas, corresponden a una actividad necesaria y obligatoria, pues por ahora, no se dispone de herramientas predictivas y de mitigación que permitan anticipar y controlar o inhibir los efectos sobre los sistemas sociales y económicos que derivan de estos eventos. Dado que las floraciones son nocivas desde la perspectiva de los seres humanos, los grupos responsables del desarrollo de estos programas requieren una permanente y continua comunicación con las comunidades ribereñas y los grupos objetivos de mayor riesgo de ser afectados, como con la comunidad en general, con la finalidad, por una parte de transmitir e informar acerca del estado del ambiente en su comunidad local, como también realizar esfuerzos orientados a educar en torno a las floraciones nocivas y sus efectos. La comprensión de estos eventos, más allá del conocimiento local, requieren estrategias de largo plazo, y acciones continuas, de manera de lograr cambios graduales de la población tendientes a lograr una mejor comprensión de estos eventos, y al mismo tiempo lograr, en el largo plazo una conducta responsable por parte de la comunidad, a fin de evitar intoxicaciones indeseadas y facilitar la aplicación de las medidas que aplica la autoridad, tanto para proteger la salud pública, como para minimizar los efectos sobre las actividades productivas.

Por ello, este cuarto objetivo, al igual que en etapas previas considera la difusión de los resultados del programa y vinculación con el medio, a distintos públicos objetivo, incluyendo seminario o taller de cierre, además de acciones de actualización de conocimientos orientadas a profesionales del sector público ligadas al tema central de este programa. Pero también considera contribuciones en conferencias, seminarios, simposios, y otras actividades permanentes como el reporte periódico de resultados a autoridades sectoriales y la comunidad en general, en distintos formatos y medios, como página web, aplicación i-FAN, correo electrónico, y otros medios electrónicos de difusión social.



Difusión de los Resultados.

Congresos nacionales e internacionales.

Durante el periodo junio 2021 a agosto 2022, se asistió de manera remota, como presencial, a congresos nacionales e internacionales, relacionados con las Ciencias del Mar y las Floraciones de Algas Nocivas. De esta manera, se presentaron los siguientes trabajos:

International Conference Harmful Algae (ICHA), 10th to the 15th of October 2021, México.

Participación remota

a) Contribuciones CREAAN como institución principal:

1. Harmful Algal Blooms in a changing environment: *Alexandrium catenella* and Paralytic Shellfish Toxin for the past 50 years in Chile. **Leonardo Guzmán**; Gemita Pizarro, Oscar Espinoza-González, Javier Paredes-Mella, Pamela Carbonell, Cristina Hernández, María Angélica Tocornal, María Isabel Banciella.
2. Physiological, genetic and toxicological variabilities in *Alexandrium catenella* strains from southern Chile (41°–55°S). **Pamela Carbonell**, Leonardo Guzmán, Marcela Astorga, Jaime Vargas, Gonzalo Fuenzalida, Luis Norambuena, Pablo Salgado.
3. Dinoflagellate cyst assemblages in the south central coast of Chile (~36° – 43° S). **Pablo Salgado**, Héctor Tardón, Oscar Espinoza-González.
4. Historical Blooms of *Pseudo-nitzschia* and outbreaks of domoic acid in the inner sea of Chiloe island, Southern Chile, 2020 – 2021. **Oscar Espinoza-González**, Leonardo Guzmán, David Opazo, Elías Pinilla, Cristina Hernández, Luis Norambuena, Loreto López, Mauricio Palma.
5. First culture of *Dinophysis acuminata* from southern Chile: Ecophysiology, toxin production and phylogeny. **Javier Paredes-Mella**, Jorge I. Mardones, Luis Norambuena, Gonzalo Fuenzalida and Satoshi Nagai.
6. Chile: Causes impact and management of a “hot spot” for toxic algal blooms. **Jorge I. Mardones**.
7. Spatial distribution of harmful species along Chilean coast using metabarcoding. **Gonzalo Fuenzalida Del Río**, Leonardo Guzmán, Oscar Espinoza-González, Alejandro Montecinos, Roland Sánchez.



8. Phylogeny, lipid composition, pigments signature, ichthyotoxicity and growth of the fishkiller *Heterosigma akashiwo* from Chilean Patagonia. **Ana Flores-Leñero**, Javier Paredes-Mella, Valentina Vargas, Maximiliano Vergara, Luis Norambuena, Gonzalo Fuenzalida, Kim Lee Chang, Jorge I. Mardones.
9. An extraordinary 2021 *Heterosigma akashiwo* (Rhodophyta) bloom in Chile: large-scale farmed salmon mortality associated to unusual environmental conditions. **Maximiliano J. Vergara-Jara**, Javier Paredes-Mella, Ana Flores-Leñero, Osvaldo Artal, Elías Pinilla, Andrea Corredor and Jorge I. Mardones.

b) Contribuciones CREAN en colaboración con otras instituciones:

10. Seasonal variability of lipophilic toxin events at a “hotspot” in Chilean fjords. Diner Bernal, Iván Pérez-Santos, Gonzalo Álvarez, Beatriz Reguera, **Loreto López**, Alondra Sandoval, Camila Schweter, Claudia Aracena, Manuel Díaz, Michael Araya, Francisco Álvarez and Patricio Díaz.
11. What factors control *Dinophysis* acuta population dynamics in the Chilean fjords?. Patricio Díaz, Iván Pérez-Santos, Gonzalo Álvarez, René Garreaud, Francisco Rodríguez, **Gemita Pizarro**, Ángela Baldrich, Alondra Sandoval, Camila Schweter, Robinson Altamirano, Manuel Díaz, Facundo Barrera, Sara Arenas, Elías Pinilla, **Loreto López**, Beatriz Reguera.
12. Genetic analysis revealed large genetic breaks among Pacific Rim populations in *Alexandrium catenella*. Satoshi Nagai, Mizuki Horoiwa, Nina Yasuna, Satoshi Tazawa, Sirje Sildever, Masafumi Natsuike, Keigo Yamamoto, Hiroshi Yamauchi, Kim Chang-Hoom, Vera Trainer, Daniel Varela, **Jorge Mardones**, **Javier Paredes-Mella** and Ichiro Ichiro Imai.
13. Insights into the toxic potential of the Chilean strains fish-killing microalgae *Karenia selliformis* and *Heterosigma akashiwo*. Alejandra Rivera, Ambbar Aballay, Sandra Jara, Juan José Gallardo, **Jorge Mardones**, Viviana Ulloa and Allison Astuya.
14. Harmful Algae Monitoring on San Jorge Bay in Antofagasta, Chile. Kyoko Yarimizu, Carlos Riquelme, Henry Cameron, Vladimir Ávalos, Stephanie Barría, So Fujiyoshi, Joaquín-Ignacio Rilling, **Emma-Karin Cascales**, **Jonnathan Vilugrón**, **Oscar Espinoza-González**, **Leonardo Guzmán**, Milko A. Jorquera, Satoshi Nagai and Fumito Maruyama.

XLI versión del Congreso de Ciencias del Mar, 23-27 de mayo 2022, Concepción, Chile.

Exposiciones

a) Contribuciones CREAN como institución principal:



1. Diversidad, abundancia y distribución de quistes de dinoflagelados en sedimentos superficiales de Magallanes (Patagonia, Chile) en relación a parámetros ambientales **Pablo Salgado**, Gemita Pizarro, Carolina Toro, Marco Pinto, Karen Manríquez, Roberto Raimapo, Rodrigo Torres, Emilio Alarcón, Leonardo Guzmán, Emma Cascales.
2. Distribución de quistes de resistencia de *Scrippsiella precaria* (Dinoflagellata) en sedimentos del Biobío previo a la floración de enero 2022. **Pablo Salgado**, Héctor Tardón, Oscar Espinoza-González.
3. Dinámicas comunitarias del fitoplancton en ambientes contrastantes de la costa sur de Chile. **Gonzalo Fuenzalida**, Roland Sánchez, Andrea Silva, Oscar Espinoza-González, Leonardo Guzmán.
4. Comportamiento contrastante de los dinoflagelados tóxicos más frecuentes en la Patagonia Chilena: *A. catenella* y *D. acuminata*. **Javier Paredes-Mella**, Jorge I. Mardones, Luis Norambuena, Gonzalo Fuenzalida, Gissela Labra, Oscar Espinoza-González, Leonardo Guzmán.

Contribuciones CREAN en colaboración con otras instituciones:

5. Potential use of a novel all-in microfluid dielectrophoresis integrated chip for cell living separation in aquatic microbiology research. Jacqueline Acuña, Milko A. Jorquera, Joaquín-Ignacio Rilling, Marco Campos, Tay Ruiz-Gil, Andrés Ávila, Mariela González, Henry Cameron, Carlos Riquelme, Karen Vergara, Gonzalo Gajardo, **Jonnathan Vilugrón**, **Gonzalo Fuenzalida**, **Oscar Espinoza-González**, **Leonardo Guzmán**, Kyoko Yarimizu, So Fujiyoshi, Fumito Maruyama.
6. Comunidad fitoplanctónica del sistema estuarino Reloncaví. Cambios espacio temporales debido a condiciones oceanográficas e hidroclimáticas. Sara Uribe, Camila Schwerter, Pilar Navarro, Guido Mancilla-Gutierrez, Pamela Linford, Elías Pinilla, Sergio Contreras, **Oscar Espinoza-González**, Patricio Díaz, Iván Santos-Pérez, Facundo Barrera.
7. Spatiotemporal variability of lipophilic toxin producers from a “hotspot” in Chilean fjords system. Diner Bernal, Iván Pérez-Santos, Gonzalo Álvarez, Beatriz Reguera, **Loreto López**, Alondra Sandoval, Camila Schweter, Claudia Aracena, Manuel Díaz, Michael Araya, Francisco Álvarez and Patricio Díaz.
8. Small-scale biophysical interactions in *Dinophysis* populations in a high stratified Chilean fjord. Patricio Díaz, Iván Pérez-Santos, Gonzalo Álvarez, René Garreaud, Francisco Rodríguez, Ángela Baldrich, Michael Araya, Francisco Álvarez, Manuel Díaz, **Oscar Espinoza-González**, Beatriz Reguera.



9. Atributos biológicos de poblaciones de *Durvillaea incurvata* distribuidas desde Chiloé hasta Valparaíso: proporción sexo, crecimiento y comunidad asociada. Alfonso Gutierrez, Lucía De la Fuente, Luis Henríquez-Antipa, Cristian Valenzuela, Andrea Zuñiga, **Javier Paredes-Mella**.
10. Floración de alta biomasa del dinoflagelado *Lepidodinium chlorophorum* en Patagonia Noroccidental: Mecanismos de iniciación, mantención y disipación. Guido Mancilla-Gutierrez, Iván Pérez-Santos, René Garreaud, Gonzalo Saldías, Carlos Lara, **Loreto López**, Facundo Barrera, Paula Aguayo, Camila Schwerter, Ángela Baldrich, Patricio Díaz.
11. Suitcase Lab: new, portable, and deployable equipment for rapid detection of specific harmful algae in Chilean coastal waters. Tay Ruiz-Gil, Milko A. Jorquera, Jacqueline Acuña, Joaquín-Ignacio Rilling, Marco Campos, Andrés Ávila, Mariela González, Henry Cameron, Carlos Riquelme, Karen Vergara, Gonzalo Gajardo, **Jonnathan Vilugrón**, **Gonzalo Fuenzalida**, **Oscar Espinoza-González**, **Leonardo Guzmán**, Kyoko Yarimizu, So Fujiyoshi, Fumito Maruyama, Satoshi Nagai, Shoko Ueki, Mikihiro Kawai.

Los resúmenes presentados en el “International Conference Harmful Algae 2021”, y en el “Congreso de Ciencias del Mar 2022”, pueden ser revisados en el **Anexo 2.1**, respectivamente.

Simposio de Marea Roja

Otra actividad realizada en el Congreso de Ciencias del Mar, fue la realización de un Simposio de Mareas Rojas, titulado “**Floraciones de Algas Nocivas en Chile: 50 años de historia, construyendo un camino hacia ICHA 2025**”, organizado por el Centro de Estudios de Algas Nocivas (CREAN) del Instituto de Fomento Pesquero (IFOP), convocando a otras instituciones relacionadas con el estudio de las mareas rojas en distintas regiones del país. El objetivo de este simposio fue integrar el estado del conocimiento en nuestro país sobre las FAN, evaluar el nivel de comprensión de los procesos que las gatillan o inhiben, e identificar las brechas de conocimiento y de tecnologías para mitigar o controlar las floraciones y sus impactos, y dar cuenta de los desafíos en términos de gobernanza basadas en evidencia científica y con participación comunitaria.

Las charlas presentadas en este Simposio fueron:



1. Toxinas lipofílicas en Chile: Historia, productores e impactos. Patricio Díaz; Universidad de Los Lagos.
2. Distribución y abundancia de *Alexandrium catenella* en los fiordos de Chile. Leonardo Guzmán Méndez; Instituto de Fomento Pesquero.
3. Estacionalidad de la detección y la distribución de la contaminación por ácido domoico (VAM) en mariscos de la Región de Los Lagos (2000 – 2021). Benjamín A. Suárez-Isla, Universidad de Chile.
4. Factores oceanográficos y atmosféricos vinculados a FAN: una mirada integrativa desde el CR2. Laura Farías & Martín Jacques-Coper. Universidad de Concepción.
5. Floraciones Algales Nocivas en el norte de Chile y las islas oceánicas: hallazgos recientes en dinoflagelados bentónicos potencialmente tóxicos. Gonzalo Álvarez Vergara; Universidad Católica del Norte.
6. Desafíos en el estudio de toxinas marinas emergentes, potenciales blancos moleculares y el aporte de modelos in vitro. Allison Astuya Villalón; Universidad de Concepción.
7. Percepciones locales de las FAN en zonas costeras y desafíos para la gobernanza climática. Ana María Ugarte & Rodolfo Sapiains. Universidad de Chile.
8. Usefulness and limitations of DNA metabarcoding for monitoring of harmful algal bloom in Chilean coastal waters. Milko Jorquera; Universidad de La Frontera.
9. Roles y proyecciones del CREAN en la investigación y acciones operacionales en torno a las FAN. CREAN-IFOP.

El programa y resúmenes presentados en este simposio pueden ser revisados en el **Anexo 2.1**.

6.4.3 Actividad 3: Fortalecer la vinculación con el medio.

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. “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.)
2. “Desafío Floraciones Algales Nocivas en la región de Aysén Conversatorio: Desafío Floraciones Algales Nocivas en la región de Aysén”, organizado por la Secretaria Regional Ministerial de Ciencia, Tecnología, Conocimiento e Innovación. Macrozona Austral, 19 de marzo de 2021 (Dr. Oscar Espinoza G.)
3. “Variabilidad climática y ambientes oceanográficos asociados a Floraciones Algales Nocivas excepcionales en la región de los Lagos”, presentado en VII Seminario de Investigación Aplicada a la Mitilicultura-SIAM 2021, organizado por Intemit, 25 de noviembre de 2021 (Dr. Oscar Espinoza G.)

Congresos nacionales e internacionales

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

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:

2. “Aproximaciones y desafíos del estudio de las Floraciones Algales Nocivas y toxinas marinas en el centro-sur de Chile: Explorando nuevos ambientes”.
3. 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.



4. Caracterización morfológica, filogenética, perfil de toxinas y distribución de quistes de resistencia del dinoflagelado nocivo *Alexandrium ostenfeldii* de la región del Biobío, Chile.
5. Desarrollo de una herramienta molecular para la detección y cuantificación de *Alexandrium ostenfeldii* y *Protoceratium reticulatum*.

Durante los días 10 al 15 de octubre 2021, se desarrolló la 19 versión de la Conferencia Internacional de Algas Nocivas (ICHA 2021), realizado en La Paz, Mexico de manera virtual, en la cual se presentaron siete trabajos de manera remota, titulados:

1. Harmful Algal Blooms in a changing environment: *Alexandrium catenella* and Paralytic Shellfish Toxin for the past 50 years in Chile.
2. Physiological, genetic and toxicological variabilities in *Alexandrium catenella* strains from southern Chile (41°S - 55°S).
3. Dinoflagellate cyst assemblages from the central south coast of Chile (~36°–43° S).
4. Historical Blooms of *Pseudo-nitzschia* and outbreaks of domoic acid in the inner sea of Chiloé island, Southern Chile, 2020 – 2021.
5. Spatial distribution of harmful species along Chilean coast using metabarcoding.
6. First culture of *Dinophysis acuminata* from southern Chile: Ecophysiology, toxin production and phylogeny
7. Chile: Causes, impact and management of a 'hot spot' for toxic algal blooms.

Taller de cierre – Programa de Marea Roja Fiordos

A través de un taller de cierre, se entregaron los principales resultados del Monitoreo de Marea Roja Fiordos, en conjunto con el Programa de Monitoreo por las costas del Pacífico. Este taller, se realizó el día martes 23 de agosto 2022, entre las 09:00 a 13:30h de forma remota a través de la Plataforma Meet (**Figura.4.2.1**).



El taller se dividió en tres bloques, con un total de nueve presentaciones realizadas por los investigadores del CREA de la región de Los Lagos y Magallanes. De esta forma, en el “bloque 1”, a través de cuatro presentaciones, se dieron a conocer los principales resultados del Programa Fiordos, abordando la floración de *Heterosigma akashiwo* en fiordo Comau, floraciones de *Alexandrium catenella* presentadas en estero Quitralco (región de Aysén) y canal Beagle (Magallanes), y la entrega de los principales resultados sobre experimentos multifactoriales para evaluar el comportamiento fisiológico de *A. catenella*. Por otra parte, el “bloque 2”, a través de tres presentaciones, dio a conocer los principales resultados de programa Pacífico, respecto a la distribución de nutrientes inorgánicos, ensambles de fitoplancton y microalgas nocivas en la costa centro-sur del Pacífico. Finalmente, en el “bloque 3”, se presentaron estudios transversales, que involucran a los dos programas de monitoreo con estudios de metabarcoding, y distribución e identificación de quistes. El taller presentó una convocatoria de investigadores nacionales e internacionales, instituciones públicas y privadas, y estudiantes de pre y post-grado, alcanzando un total de 140 personas.

BLOQUE 1: PROGRAMA FIORDOS

1. Jorge Mardones: “Floraciones algales extremas, cambio climático y potencial eutroficación: Nuevas perspectivas de la floración de *Heterosigma akashiwo* en 2021”.
2. Leonardo Guzmán: “Floración de *Alexandrium catenella* y brote de toxina paralizante en Aysén sur (estero Quitralco y sectores adyacentes 2022)”.
3. Gemita Pizarro: “Dinámica espacio-temporal del fitoplancton, *Alexandrium catenella* y toxina paralizante en el canal Beagle”.
4. Rodrigo Martínez “Efecto de estresores múltiples sobre tasas ecofisiológicas y toxicidad del dinoflagelado nocivo *Alexandrium catenella*”.

BLOQUE 2: PROGRAMA PACIFICO

5. Emma Cascales: “Patrones de distribución espacial y temporal de nutrientes inorgánicos en la zona centro sur de Chile, y su asociación con parámetros físicos y clorofila-a”.
6. Javier Paredes: “Dinámica e identificación formal de *Alexandrium catenella* en la costa del océano Pacífico”.
7. Oscar Espinoza: “Variabilidad espacio-temporal de los ensambles de fitoplancton y microalgas nocivas en el sistema costero del centro-sur de Chile (36° - 44°S)”.

BLOQUE 3: TRANSVERSALES (PROGRAMAS FIORDO-PACIFICO)

8. Gonzalo Fuenzalida: “Monitoreo de fitoplancton mediante metabarcoding”.
9. Pablo Salgado: “Monitoreo de quistes de dinoflagelados en la costa centro-sur de Chile (~36-49°S)”.



10. Pamela Carbonell: “Estrategias de Difusión: ¿Cómo abordamos las Floraciones de Algas Nocivas en nuestra comunidad?”.

Capacitación orientada al sector público.

El día martes 30 de agosto 2022, entre las 09:00h a 12:00h, se realizó un taller de actualización de conocimiento para profesionales del sector público sobre microalgas y toxinas marinas, participando profesionales de la Subsecretaría de Pesca y Acuicultura (SUBPESCA), Subsecretaría Regional Ministerial de Salud (SEREMI de Salud), y el Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (SERNAPESCA) (**Fig. 4.2.2**).

El programa, se dividió en dos bloques, contando con siete presentaciones en total. En el “bloque 1”, se abordaron temas sobre el monitoreo de las microalgas, y su posterior análisis cuantitativo y cualitativo, además de dar cuenta sobre las principales especies de diatomeas y dinoflagelados. Posteriormente, en el “bloque 2”, se continuó con el análisis de otros grupos de fitoplancton presentes en los análisis, para cambiar a temas sobre métodos químicos para la detección de toxinas marinas, y finalmente, resaltar la importancia en la modelación de Floraciones de Algas Nocivas. Para esta actividad, se contó con la participación del grupo de trabajo del CREAN de Puerto Montt, Putemún, Aysén y Magallanes.

PRIMER BLOQUE

1. Gissela Labra. “Monitoreo de microalgas: análisis cualitativo y abundancia relativa”
2. Karen Correa & Loreto López. “Fitoplancton cuantitativo: la ruta del mar al microscopio”.
3. Julia Cáceres & Verónica Muñoz. “Diatomeas: El llamativo mundo microscópico del medio acuático”.
4. Gissela Labra & Julia Cáceres. “Dinoflagelados: La riqueza secreta de las aguas chilenas”.

SEGUNDO BLOQUE

5. Leandro Lincoqueo & César Alarcón. “Otras microalgas, flagelados y ciliados, nuevos actores de interés”.
6. Luis Norambuena. “Métodos químicos de detección y cuantificación de toxinas: ficotoxinas mediante espectrometría de masas (HPLC MS).”
7. Valentina Besoian & Carolina Medel. “Los desafíos de modelar floraciones de algas nocivas”.



Actividad 3. Vinculación con el Medio.

Charlas

Durante el periodo comprendido entre junio 2021 – agosto 2022, se han realizado actividades de forma presencial y *on-line*, las cuales nos permiten continuar en una constante vinculación con diferentes públicos objetivos e instituciones. De esta forma, se han realizado diversas actividades en colegios de la ciudad de Castro, Osorno y Puerto Montt, para conversar de manera general sobre las Floraciones de Algas Nocivas en nuestro país. Por otra parte, participamos en diversas radios nacionales para dar a conocer los Programas de Monitoreo de Mareas Rojas, conversar sobre las mareas rojas, toxinas marinas, transvectores, síntomas, factores que contribuyen a una FAN, etc.

- Radio Congreso, Valparaíso, 17 de noviembre 2021. Invitada: Pamela Carbonell A.
<https://www.ifop.cl/entrevista-pamela-carbonell-investigadora-ifop-en-radio-congreso-de-valparaiso-17-de-noviembre-tema-marea-roja-y-proyecto-mach/>
- Radio Congreso, Valparaíso, 04 de abril 2022. Invitado: Leonardo Guzmán M.
<https://www.ifop.cl/entrevista-a-leonardo-guzman-sobre-marea-roja-radio-congreso/>
- TwitterCafé, Radio Congreso, Valparaíso, 04 de abril 2022. Invitada: Pamela Carbonell A.
- Radio Amiga, Calbuco, 09 de abril 2021. Invitada: Pamela Carbonell A.
<https://fb.watch/cgIip7Hrlm/>
- Radio UACH, Valdivia, 20 de mayo 2022. Invitada: Pamela Carbonell A.

Conversatorios y actividades colaborativas

Exposición Interactiva MACH-IFOP.

Entre el 16 al 20 de mayo 2022, se realizó en el Centro de Creación (CECREA), ubicado en la ciudad de Castro, Chiloé, una exposición interactiva que contó con la participación de variados colegios de la zona, orientados a alumnos de enseñanza básica (5to y 8vo básico) y media (II° y IV° medio), donde participaron investigadores del centro de Putemún – IFOP, CREAN-IFOP y Proyecto MACH.

Objetivos

- Presentar conceptos básicos sobre las Floraciones de Algas Nocivas en la comunidad de Castro.
- Observación de la diversidad de formas y tamaños de las microalgas a través de microscopía óptica.



- Realizar diversas actividades prácticas (oceanografía física) para comprender como estos procesos ocurren en el océano.
- Conocer técnicas de detección de microalgas, a través de herramientas moleculares.
- Comprender los procesos de las FAN a nivel ecosistémico (variables físicas, biológicas y químicas).

Actividades

La exposición se dividió en dos secciones; una en el salón principal del centro, enfocada en oceanografía física y la otra en el segundo piso enfocada en oceanografía biológica, ambas secciones se armaron con actividades prácticas, que permiten a los niños, niñas y adolescentes, así como al público en general, aprender conceptos básicos de oceanografía y cómo se realiza la investigación científica en el área de las ciencias marinas, así como conocer los equipos que se utilizan para la toma y análisis de muestras oceánicas.

La organización contó con diferentes espacios de difusión e interacción con temas relacionados con las Floraciones Algaes Nocivas (FAN) y su estudio: hall de acceso, espacio de laboratorio multipropósito y sala multimedia, en las cuales, se pudieron establecer varias áreas temáticas para introducir temas científicos relacionados con las FAN.

Hall de acceso:

En el hall de acceso (**Figura 4.3.1**), se montó la exposición de oceanografía física, compuesta por cinco stands con diferentes instalaciones:

- Stand 1: Columna de agua a escala para desplegar una botella Niskin y ejemplificar ¿Cómo? se toma una muestra de agua en el océano. También se instalaron otros equipos junto a la columna de agua, consistentes en una estación meteorológica, un amarre ADCP y una red de plancton.
- Stand 2: Explicación de la salinidad y ¿Cómo? las capas del océano se mezclan, afectando la distribución de las microalgas.
- Stand 3: Simulador de mareas, que simuló la generación de mareas, tsunamis y el impacto en el borde costero.
- Stand 4: Acidificación del Océano. El stand presentó el concepto de pH y ¿Cómo? este parámetro es fundamental para los microorganismos en el Océano. Además, se explicó el proceso de acidificación.
- Stand 5: Exposición de Mitilidos. Instalación con una línea de cultivo para mitilidos y una demostración de ¿Cómo? funciona el órgano de filtración en estos organismos, recogiendo y concentrando las microalgas (**Figura. 4.3.2**)



Espacio de Laboratorio Multipropósito

- Se implementó el espacio de laboratorio disponible y equipado con seis microscopios ópticos, con objetivos entre los 4 a 40X. A través de ellos, los estudiantes, pudieron observar la diversidad de formas y tamaños de variadas especies de microalgas inocuas y nocivas. Las muestras fueron obtenidas en las distintas estaciones de Monitoreo del Programa de Marea Roja Fiordos. Se trabajó con grupos entre 10 a 15 estudiantes, conversando sobre las principales especies de microalgas, y su distribución. A través de imágenes en 3D, se reforzó en aquellas especies productoras de toxinas marinas (*Alexandrium*, *Dinophysis* y *Pseudo-nitzschia*). Por otra parte, se instaló en una sala contigua, el "laboratorio de maletas" para realizar una actividad demostrativa sobre las herramientas moleculares y sus proyecciones para la identificación de algunos taxones nocivos. Cada actividad, tuvo una duración aproximada de 20 minutos por grupo (**Figura 4.3.3**).

Sala de música y ensayo

- La sala de música y ensayo, diseñada para tener una buena acústica y con una pantalla grande, se adecuó para proyectar videos sobre HABs, los cuales se mostraban en loop, permitiendo que las personas pudieran acceder a ellos en cualquier momento (**Figura 4.3.4**).

Participantes

- Diez colegios de diferentes localidades de la isla de Chiloé participaron de nuestra exposición durante la semana, con más de 400 alumnos de 7 a 18 años, cubriendo la mayor parte de cursos del sistema educativo (Cuadro 1).

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

La difusión de los estimadores de abundancia relativa, ha continuado a través de las diversas plataformas del CREAM-IFOP. Una de las principales herramientas, es la aplicación móvil, IFAN, disponible de forma gratuita para su descarga en sistemas operativos Android e iOS, la cual entrega de forma inmediata del estado de abundancia relativa de los principales géneros de dinoflagelados, que han sido descritos como especies productoras de toxinas en nuestro país.

Actividad 2. Difusión de resultados y capacitación.

Hace poco más de un año, ya es cotidiano, que las diversas reuniones y/o actividades que se realizaban de manera presencial, tomaron un formato de conectividad en línea a través de diversas plataformas (Meet, Zoom, etc), las cuales han permitido la continuidad de múltiples actividades de difusión. Este tipo de conexión, ha permitido, además, una oportunidad de conectar con investigadores de múltiples puntos, a nivel nacional e internacional, con alta concurrencia, que, sin duda, era muy complejo lograr este grado de



participación en actividades presenciales por el alto costo que demandaba el trasladarse a diversos puntos. Así, investigadores de nuestro centro, participaron de actividades (i.e. Congresos), relacionadas con las ciencias del mar, a través de presentaciones con los principales resultados del monitoreo de fiordos, líneas de investigación, simposios de mareas rojas, etc.

Otra de las alternativas que se realiza para dar a conocer los principales resultados del Monitoreo, es el Taller de Difusión, que, por tercer año consecutivo, se realizó de forma on-line, y nuevamente, se presentó en conjunto con el Programa de Monitoreo por el Pacífico, entregando información relevante sobre el estudio de los principales taxones nocivos en Fiordos, y una mirada general de los ensambles fitoplanctónicos, microalgas nocivas y nutrientes inorgánicos para el monitoreo por el Pacífico. Dado que existen temas transversales (quistes, genética y difusión), se presentaron los resultados de manera conjunta. Este taller tuvo una alta participación, alcanzando más de 140 asistentes, contando con investigadores nacionales e internacionales, alumnos de pre y post-grado, representantes del rubro mitilicultor, salmonicultor e instituciones gubernamentales como SUBPESCA, MINSAL y SERNAPESCA.

Por segundo año consecutivo, se realizó una ronda de capacitaciones para profesionales de instituciones públicas (SUBPESCA, MINSAL y SERNAPESCA), vinculados a las FAN. Este año, participaron integrantes del Centro de Estudios de Algas Nocivas (CREAN) de las regiones de Los Lagos, Aysén y Magallanes, dando cuenta, de la importancia del muestreo del fitoplancton (cuantitativo y cualitativo), y el trabajo taxonómico que hay detrás de cada muestra analizada. Por otra parte, se incorporaron temas sobre la detección de toxinas marinas a través de HPLC-MS y la importancia de la modelación en temas FAN. Gran parte de nuestro equipo, entregaron a través de sus presentaciones, diversos contenidos que son fundamentales para comprender la complejidad de este tema.

Actividad 3. Vinculación con el Medio.

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



estos temas a un público general, además de llegar a un público masivo que de una u otra forma demuestran un interés en estos temas contingentes.

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

El trabajo con alumnos de enseñanza básica, representa un desafío complejo y un universo muy amplio, donde se requieren herramientas distintas del nivel de escolaridad. Este año, se trabajó con alumnos desde 5to a 8vo básico. La dinámica de trabajo fue que a través de imágenes en 3D de los principales taxones nocivos de microalgas, se iba relatando su distribución en el país, principales toxinas marinas, síntomas de intoxicación, respuestas frente a una intoxicación, formas de vidas (quistes y células vegetativas) y cómo, los factores ambientales, pueden dar un escenario ideal para el desarrollo de una FAN. Además, estas conversaciones, eran respaldadas por muestras de fitoplancton, donde los niños, podían dimensionar las escalas de tamaños y diversidad de formas. Los alumnos de este grupo, mostraron un alto grado de conocimiento de las mareas rojas, donde mostraban manejo en conceptos de microalgas, producción de toxinas, y algunos síntomas de intoxicación. Sin duda, el conocimiento de los alumnos de colegios y/o zonas rurales se sustentan en experiencias familiares y que son sociabilizadas en las comunidades.

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



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

Sin duda, el trabajo de difusión debe ser constante, y cada año, es necesario incorporar material interactivo y transversal, y así lograr la atención e interés de todo público. Por otra parte, el trabajo de educación y capacitación estará condicionado por la comunidad objetivo que se deba abordar, haciendo evidente que la temática no puede ser tratada de manera homogénea y que no existe una estrategia predefinida para lograr los cambios conductuales y de conocimiento relativos al tema de las FAN y sus efectos.



7. CONCLUSIONES

A continuaci3n se presentan las conclusiones del proyecto para cada objetivo espec3fico:

7.1 Conclusiones Objetivo espec3fico 1.

Monitorear y analizar las variaciones espacio-temporales de microalgas nocivas, biotoxinas marinas, fitoplancton, quistes de dinoflagelados y variables hidrogr3ficas y meteorol3gicas en la zona de estudio.

- La caracterizaci3n hidrogr3fica con CTD-OF dentro del periodo de estudio, permiti3 identificar la presencia del Agua Ecuatorial SubSuperficial (AESS) en toda la macro-regi3n de estudio con un marcado comportamiento estacional, donde fue posible observar un desplazamiento hacia sur del AESS en el tiempo. La expresi3n superficial de esta masa de agua (indicador de eventos de surgencia) s3lo fue observada al norte de $\sim 40^{\circ}$ - 41° S durante el periodo primavera – verano.
- En t3rminos de estratificaci3n por salinidad, los mayores aportes de agua dulce fueron observados durante primavera e invierno vinculados a descargas de r3os, con una mayor (menor) estratificaci3n al norte (sur) de los $\sim 41^{\circ}$ S.
- La fluorescencia, como indicador de la presencia de clorofila, present3 m3ximos superficiales y subsuperficiales concentrados en el periodo primavera – verano. As3 mismo, estos incrementos de fluorescencia se encontraron vinculados a 3 mecanismos de acoplamiento f3sico - biol3gico: 1) eventos de surgencia, 2) aportes de agua dulce y, 3) estructuras mesoescalares (i.e. remolinos).
- La composici3n fitoplanct3nica estuvo dominada por diatomeas, las cuales dominaron num3ricamente a lo largo de todo el a3o, con un aporte menor de los dinoflagelados.
- Siete potenciales especies nocivas fueron detectadas en este estudio mediante microscopia 3ptica (*A. catenella*, *A. ostenfeldii*, *D. acuminata*, *D. acuta*, *P. reticulatum*, *P. cf. australis* y *P. cf. pseudodelicatissima*).
- Todas las muestras de sedimento presentaron quistes de resistencia de dinoflagelados.
- Un total de 63 tipos de quistes de dinoflagelados fueron registrados, asignados en su mayor3a a 20 g3neros y 47 especies de los 3rdenes de Gonyaulacales, Suessiales, Peridinales y Gymnodinales.



- La mayor diversidad de especies fue registrada en Biobío, seguida de Los lagos, La Araucanía y Los Ríos.
- Quistes del orden Peridiniales dominaron los ensambles, siendo el género *Protoperidinium* el más diverso.
- Las especies más abundantes del área de estudio fueron *Scrippsiella precaria* y No identificado 44, ambas predominantes en ensambles de la región del Biobío, particularmente en Colcura (5 y 10 millas) la primera, y en Coliumo (2 millas) la segunda.
- Se identificaron por primera vez en el área de estudio los quistes de las especies *Dactylodinium arachnoides* y *Niea torta*.
- Las abundancias totales de quistes fueron más altas en el Biobío, seguido por Los Lagos, La Araucanía y los Ríos.
- De todos los quistes contabilizados en el área de estudio, el 50% de ellos se presentó con protoplasma.
- Los valores promedio de riqueza de especies mostraron una disminución de norte a sur.
- Quistes de *A. catenella* fueron poco frecuentes y con bajas abundancias, siendo restringidos exclusivamente a la región de Los Lagos.
- Los quistes de *A. ostenfeldii* fueron registrados en una sola estación del Biobío en baja abundancia.
- Quistes de *P. reticulatum* se presentaron solo en Los Lagos en baja abundancia.
- 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 MS se detectó la presencia de GTX-1, GTX-2, GTX-3, GTX-4 y GTX-5 además de C1 y C2 y SXT, esta última asociada a la estación de Cucao en la región de los Lagos.
- Las muestras positivas a toxinas paralizantes por HPLC-MS MS, 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.



- Las detecciones de toxinas AD fueron más importantes, en términos de concentración, en las estaciones de la región de Los Lagos, donde se han registrado floraciones importantes de *Pseudo-nitzschia cf. australis* y *P. cf. pseudodelicatissima*, especialmente durante el periodo de verano (verano 2021).

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.

- A partir de la composición del fitoplancton, en términos de presencia y densidad celular y de la variabilidad ambiental, se observaron importantes diferencias entre las estaciones ubicadas en la región del Biobío y el resto de las estaciones de muestreo, confirmado lo informado por este estudio previamente.
- Se requiere conocer con más detalle acerca de la interacción de los procesos atmosféricos – oceanográficos que pueden determinar las condiciones favorables para el desarrollo de diatomeas y/o dinoflagelados y sus patrones de ocurrencia temporales.
- Un total de 104 especies de dinoflagelados fueron identificados en el plancton y 63 especies en los sedimentos mediante quistes de resistencia.
- El listado consolidado de dinoflagelados identificados (plancton y bentos) resultó de 127 especies, de las cuales 23 (18,1%) de ellas fueron registradas sólo mediante quistes.
- Un total de 20 especies fueron registradas tanto como célula móvil (plancton) y como quiste.
- Los resultados indican la existencia de un gradiente latitudinal de las concentraciones de nutrientes, cuyos promedios y variabilidad decrecen de norte a sur entre las regiones de Biobío y Los Lagos.
- Como resultado del análisis multivariado, hay evidencia que sugiere diferencias significativas entre los datos de nutrientes observados en los años 2018 y 2019, lo cual puede asociarse a una disminución severa de las precipitaciones durante el año 2019.



- En la escala estacional, hay evidencia que sugiere incremento de nutrientes en la capa superficial durante los meses de aumento de caudal de ríos costeros y durante los meses de primavera y verano, típicamente asociados a viento favorable a la surgencia. Estas asociaciones son particularmente evidentes en las estaciones de las regiones de la Araucanía y Los Ríos.
- En las estaciones de la región de Los Lagos, durante los meses de finales de otoño e invierno, hay predominio de condiciones de homogeneidad vertical de los nutrientes y condiciones de columna de agua mezclada.
- En la escala estacional, el análisis multivariado sugiere ordenamiento de los índices de nutrientes en doce agrupaciones correspondientes a los meses del año, dispuestas secuencialmente en un esquema antihorario. Esta disposición antihoraria de los grupos coincide con las distribuciones de temperatura y salinidad superficial esperable en diagramas T-S, lo que sugiere asociación de los nutrientes con las variaciones estacionales de temperatura y salinidad superficial.
- Se observaron correlaciones entre las distribuciones de nutrientes en primavera-verano, con tres parámetros asociados a la estratificación (PEA, MBV y HF), en las estaciones de Puerto Saavedra, Niebla, Queule, Nehuentué y Mehuín; mientras que la profundidad de la picnoclina (PMBV) y la Clorofila Integrada (CHLI) se asociaron con las estaciones de Bahía Mansa, Cucao, Mar Brava y Estaquilla.
- Desde Estaquilla al sur, la columna de agua se presenta mezclada o parcialmente mezclada en todo el período de estudio, sin la formación de picnoclina, nutriclina y MSC.

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 con el conocimiento y comprensión de los eventos nocivos.

- Este trabajo presenta por primera vez un estudio realizado en Chile de la ecofisiología, identificación genética, morfología y producción de toxinas de cepas de *D. acuminata* aisladas de la costa del Océano Pacífico. Respecto al crecimiento este fue afectado por la intensidad de luz más que la temperatura, sugiriendo que una alta intensidad de luz podría ejercer una inhibición. Adicionalmente, las cepas mostraron solamente la presencia de pectenotoxinas cuya presencia en mariscos actualmente no es considerada como nociva para el consumo humano. Sin embargo, se necesita



realizar más experimentos utilizando más factores y niveles ambientales, y cepas aisladas a lo largo de la costa de Chile, para conocer con mayor precisión los efectos ambientales sobre el crecimiento y la posible variación de los perfiles de toxinas a nivel latitudinal.

7.4 Conclusiones Objetivo Específico 4:

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

- Los resultados de los estimadores de abundancias relativas de los taxones nocivos, en una plataforma S.I.G. online, permite como institución llegar a muchos potenciales usuarios con información rápida, disponible desde el momento de su publicación.
- El S.I.G. online es una herramienta de actualización constante y multiplataforma, que amplía las oportunidades de trabajo multidisciplinario e interinstitucional, por medio de información accesible tanto desde la plataforma institucional como importable directamente a otros S.I.G. online o S.I.G. de escritorios.
- Las estadísticas de uso de la aplicación S.I.G. on-line de los últimos 12 meses (14 de abril de 20021 - 14 de abril de 2022), presenta 1653 visitas al sitio con un promedio diario de 4,53 visitas, lo que demuestra que es consultada regularmente, cumpliendo su objetivo como herramienta para la difusión de la información generada en el Programa de Manejo y Monitoreo de las Floraciones Algales Nocivas y Toxinas Marinas en el Océano Pacífico.



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.
- Ahumada Bermúdez, R., & Chuecas Muñoz, L. (1979). Algunas Características Hidrográficas de La Bahía de Concepción (36°40's; 73°02'w) y áreas adyacentes. Chile. Gayana Miscelanea, 8(1), 3-56. <https://doi.org/10.29393/gm8-1acrl20001>
- 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
- 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.
- 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
- 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.
- Barber R y R Smith. 1981. Coastal Upwelling Ecosystems: 31-68. En A. Longhurst (ed) Analysis of Marine Ecosystems. Academic Press.
- Biblioteca del Congreso Nacional (BCN). 2022.
- Bates, C. 2008. Multivariate analysis of community structure data. Banfield Marine Science Centre. www.zoology.ubc.ca/~srivast/biol404/Eco%20Methods%20multivariate.ppt
- Bravo, I., Figueroa, R., 2014. Towards an ecological understanding of dinoflagellate cyst functions. Microorganisms 2, 11–32.
- 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



- Bringué, M., Pospelova, V., Pak, D. 2013. Seasonal production of organic-walled dinoflagellate cysts in an upwelling system: A sediment trap study from the Santa Barbara Basin, California. *Marine Micropaleontology* 100: 34-51.
- Cáceres M y D Arcos. 1991. Variabilidad en la estructura espacio - temporal de un área de surgencia frente a la costa de Concepción, Chile. *Investigaciones Pesqueras*. 36: 2738 pp.
- Cáceres M. 1992. Vórtices y filamentos observados en imágenes de satélite frente al área de surgencia de Talcahuano, Chile central. *Investigaciones Pesqueras*. 37: 55 - 66.
- Candelario Cruz Gómez R, M Monreal Gómez y S Nicolaevich Bulgakov. (2008). Efectos de los vórtices en sistemas acuáticos y su relación con la química, biología y geología. *Interciencia*, 33(10), 741-746. Recuperado en 31 de agosto de 2022, de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442008001000008&lng=es&tlng=es.
- 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.
- Clarke, K.R. 1993. Non – parametric multivariate analyses of changes in community structure. *Australian Journal of Ecology*, 18: 117 – 143.
- Clarke, K.R. & R.N. Warwick. 2001. Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation, 2nd edition. PRIMER-E, Plymouth, UK, 172pp.
- 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.
- 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.
- 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
- 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.
- Dale, B., 1996. Dinoflagellate cyst ecology: modelling and geological applications. In: Jansonius, J., McGregory, D.C. (Eds.), *Palynology: principles and applications*. The American Association of Stratigraphic Palynologists Foundation, vol. 3. Publishers Press, Salt Lake City, pp. 1249–1276
- 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.
- De Vargas, C. et al. 2015. Eukaryotic plankton diversity in the sunlit ocean. *Science* **348**. 1261605.
- Díaz, P., Álvarez, G., Pizarro, G., Blanco, J., Reguera, B. 2022. Lipophilic Toxins in Chile: History, Producers and Impacts. *Marine Drugs* 20, 122. <https://doi.org/10.3390/md20020122>
- Díaz, P., Molinet, C., Cáceres, M.A., Valle-Levinson, A., 2011. Seasonal and intratidal distribution of *Dinophysis* spp. in a Chilean fjord. *Harmful Algae* 10, 155–164. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2010.09.001>
- 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.
- Díaz, P., Molinet, C., Seguel, M., Díaz, M., Labra, G., Figueroa, R.I. 2018. Species diversity and abundance of dinoflagellate resting cysts seven months after a bloom of *Alexandrium catenella* in two contrasting coastal systems of the Chilean Inland Sea. *European Journal of Phycology*, <https://doi.org/10.1080/09670262.2018.1455111>
- 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.
- Escribano, R., Daneri, G., Farías, L., Gallardo, V. A., González, H. E., Gutiérrez, D., Lange, C. B., Morales, C. E., Pizarro, O., Ulloa, O., & Braun, M. (2004). Biological and chemical consequences of the



- 1997–1998 El Niño in the Chilean coastal upwelling system: a synthesis. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 51(20-21), 2389-2411. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2004.08.011>
- 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., Ramírez, 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.
- European Commission, 2021. Commission Implementing Regulation (EU) 2021/1709 of 23 September 2021 amending Implementing Regulation (EU) 2019/627 as regards uniform practical arrangements for the performance of official controls on products of animal origin. In. Off J Eur Union L 339, 84–87
- Farías, L., Tenorio, S., Sanzana, K., & Faundez, J. (2021a). Temporal methane variability in the water column of an area of seasonal coastal upwelling: A study based on a 12 year time series. *Progress in Oceanography*, 195. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2021.102589>
- Farías, L., Troncoso, M., Sanzana, K., Verdugo, J., & Masotti, I. (2021b). Spatial Distribution of Dissolved Methane Over Extreme Oceanographic Gradients in the Subtropical Eastern South Pacific (17° to 37°S). *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 126(5). <https://doi.org/10.1029/2020jc016925>
- Fedorov K N. 1985. The physical nature and structure of oceanic fronts. Springer-Verlag, Berlin, New York, London, Paris, Tokyo. 333 pp.
- Fernandez, C., González, M. L., Muñoz, C., Molina, V., & Farias, L. (2015). Temporal and spatial variability of biological nitrogen fixation off the upwelling system of central Chile (35-38.5°S). *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 120(5), 3330-3349. <https://doi.org/10.1002/2014jc010410>



- 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
- Fonseca TR y M Farías. 1987. Estudio del proceso de surgencia en la costa chilena utilizando percepción remota. *Investigaciones Pesqueras* 34: 33-46.
- 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 dinoflagelato mediterráneo *Alexandrium catenella* y *Alexandrium taylori*: Implicaciones para los métodos cuantitativos de monitoreo basados en PCR en tiempo real. *Diario de Fisiología Aplicada* 22(1):1-9
- Garreaud, R., Alvarez-Garretón, C., Barichivich, J., Boisier, J. P., Christie, D., Galleguillos, M., LeQuesne, C., McPhee, J., & Zambrano-Bigiarini, M. (2017). The 2010-2015 mega drought in Central Chile: Impacts on regional hydroclimate and vegetation. *Hydrol. Earth Syst. Sci. Discuss.*, doi:10.5194/hess-2017-191, 2017 Manuscript under review for journal *Hydrol. Earth Syst. Sci.* Discussion started: 26 April 2017. <https://doi.org/10.5194/hess-2017-191>
- 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.
- Green, J. A. M. (2004). Hydrographic response of Hølandsfjord to changed freshwater runoff. *Journal of Geophysical Research*, 109(C7). <https://doi.org/10.1029/2004jc002295>
- Gu, H., Liu, T., Mertens, K.N. 2015. Cyst-theca relationship and phylogenetic positions of *Protoperidinium* (Peridiniales, Dinophyceae) species of the sections Conica and Tabulata, with description of *Protoperidinium shanghaiense* sp. nov. *Phycologia* 54(1): 49-66.
- Guillard, R.R., Hargraves, P., 1993. Divisions rates. In: Stein, J.R (Ed), *Handbook of Phycological Methods Culture Methods and Growth Measurements*. Cambridge University Press, New York, pp.290-311. pp. 290–311.
- Gurdebeke, P.R., Pospelova, V., Mertens, K.N., Dallimore, A., Chana, J., Louwye, S. 2018. Diversity and distribution of dinoflagellate cysts in surface sediments from fjords of western Vancouver Island (British Columbia, Canada). *Marine Micropaleontology* 143: 12–29



- Gutiérrez-Rodríguez, A.E., Stukel, M.R., Santos, A.L., Biard, T., Scharek, R., Vaultot, D., Landry, M.R., & Not, F. (2018). High contribution of Rhizaria (Radiolaria) to vertical export in the California Current Ecosystem revealed by DNA metabarcoding. *The ISME Journal*, 13, 964-976.
- Guzmán, L., G. Vidal, X. Vivanco, V. Arenas, L. Iriarte, S. Mercado, C. Alarcón, H. Pacheco, M. Palma, C. Espinoza, P. Mejías, E. Fernandez-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.
- 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.
- Holland, S., 2008. Non-Metric Multidimensional Scaling. Department of Geology, University of Georgia. Athens, GA. 30602-2501. www.uga.edu/~strata/software/pdf/mdsTutorial.pdf
- Hosoi S & Y Sako. 2005. Species-specific detection and quantification of toxic marine dinoflagellates *Alexandrium tamarense* and *A. catenella* by real-time PCR assay. *Marine Biotechnology* 7: 506-514.
- 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 13 Abril 2022].
- Jacobson, D.M., & Anderson, D.M. 1986. Thecate heterotrophic dinoflagellates: feeding behavior and mechanics. *J. Phycol.* 22: 249-258.
- Jacobson, D.M., & Anderson, D.M. 1993. Growth and grazing rates of *Protoperidinium hirobis* Abé, a thecate heterotrophic dinoflagellate. *J. Plankton Res.* 15: 723-736.
- Jeong, H.J. 1994. Predation by the heterotrophic dinoflagellate *Protoperidinium* cf. *divergens* on copepod eggs and early naupliar stages. *Mar. Ecol. prog. Ser.* 114: 203-208.
- Jeong, H.J. 1999. The ecological roles of heterotrophic dinoflagellates in marine planktonic community. *J. Eukaryot. Microbiol* 46: 390-396.
- Joyce, L. 2004. Dinoflagellate cysts in recent marine sediments from Scapa Flow, Orkney, Scotland. *Botanica Marina* 47: 173–183.



- 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.
- 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.
- 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.
- Larkin, M.A., Blackshields, G., Brown, N.P., Chenna, P.A., McGettigan, H. McWilliam, F., Valentin, I.M., Wallace, A., Wilm, R., Lopez, J.D., Thompson, T.J., Gibson, D.G., Higgins, Notes, A., 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics* 23, 2947–2948.
- Letelier J, O Pizarro y S Nuñez. 2009. Seasonal variability of coastal upwelling and the upwelling front off central Chile. *Journal of Geophysical Research*. doi:10.1029/2008JC005171.
- Lewis, J. 1991. Cyst-theca relationships in *Scrippsiella* (Dinophyceae) and related orthoperidinioid genera. *Botanica Marina* 34: 91-106.
- Lewis, J., & Dodge, J.D. 1987. The cyst-theca relationship of *Protoperidinium americanum* (Gran & Braarud) Balech. *J. micropaleontol.*, 6(2): 113-121.
- Lewis, J., Harris, A.S.D., Jones, K.J., Edmonds, R.L. 1999. Long-term survival of marine planktonic diatoms and dinoflagellates in stored sediment samples. *Journal of Plankton Research* 21(2): 343-354.
- 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.
- Lomas, M. W., & Lipschultz, F. (2006). Forming the primary nitrite maximum Nitrifiers or phytoplankton. *Limnology Oceanography*.



- Marret, F., Zonneveld K.A.F. 2003. Atlas of modern organic-walled dinoflagellate cyst distribution. Review of Palaeobotany and Palynology 125: 1-200.
- Masotti, I., Aparicio-Rizzo, P., Yevenes, M. A., Garreaud, R., Belmar, L., & Farías, L. (2018). The Influence of River Discharge on Nutrient Export and Phytoplankton Biomass Off the Central Chile Coast (33°–37°S): Seasonal Cycle and Interannual Variability. *Frontiers in Marine Science*, 5. <https://doi.org/10.3389/fmars.2018.00423>
- 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., 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 Gymnodinales and Peridinales from the Northern Hemisphere. *Marine Micropaleontology* (In Press, Corrected Proof, Available online 26 August 2019).
- Moestrup, Ø., Lindberg, K., Daugbjerg, N. 2009. Studies on woloszynskioid dinoflagellates IV: The genus *Biecheleria* gen. nov. *Phycological Research* 57: 203-220.
- Montecinos, A. A., Patricio (2003). Seasonality of the ENSO-Related Rainfall Variability in Central Chile and Associated Circulation Anomalies. *Journal of Climate*, 16.
- Montero, P., Daneri, G., Cuevas, L.A., González, H.E., Jacob, B., Lizarraga, L., Menschel, E. 2007. Productivity cycles in the coastal upwelling area off Concepción: The importance of diatoms and bacterioplankton in the organic carbon flux. *Progress in Oceanography* 75: 518–530.
- Montresor, M., Zingone, A., Sarno, D. 1998. Dinoflagellate cyst production at a coastal Mediterranean site. *J. Plankton Res.* 20(12): 2291-2312.
- Morales C y C. Lange. 2004. Oceanographic studies in the Humboldt current system off Chile: an introduction Centro de Investigación Oceanográfica en el Pacífico Sur Oriental.
- 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.



- Mun Lum, W., Takahashi, K., Benico, G., Takayama, H., Iwataki, M. 2019. *Dactylodinium arachnoides* sp. nov. (Borghiellaceae, Dinophyceae): a new marine dinoflagellate with a loop-shaped apical structure complex and tubular membranous extrusomes. *Phycologia* 58(6): 661-674.
- Murray S, R Ruindy, 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.
- Naustvoll, L.J., 2000. Prey size spectra and food preferences in thecate heterotrophic dinoflagellates. *Phycologia* 39: 187-198.
- 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.
- Park, J.H., Kim, M., Jeong, H.J., Park, M.G., 2019. Revisiting the taxonomy of the “*Dinophysis acuminata* complex” (Dinophyta). *Harmful Algae* 88, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2019.101657>
- Park, M.G., Kim, S., Kim, H.S., Myung, G., Kang, Y.G., Yih, W., 2006. First successful culture of the marine dinoflagellate *Dinophysis acuminata*. *Aquat. Microb. Ecol.* 45, 101–106. <https://doi.org/10.3354/ame045101>
- Pérez, C. A., DeGrandpre, M. D., Lagos, N. A., Saldías, G. S., Cascales, E.-K., & Vargas, C. A. (2015). Influence of climate and land use in carbon biogeochemistry in lower reaches of rivers in central southern Chile: Implications for the carbonate system in river-influenced rocky shore environments. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*, 120(4), 673-692. <https://doi.org/10.1002/2014jg002699>
- Persson, A., Godhe, A. & Karlson, B. 2000. Dinoflagellate cysts in recent sediments from the West coast of Sweden. *Botanica Marina* 43: 69-79.
- Persson, A., Smith, B.C., Wikfors, G.H., Alix, J.H. 2008. Dinoflagellate gamete formation and environmental cues: Observations, theory, and synthesis. *Harmful Algae* 7: 798-801.
- Pitcher, G.C., Joyce, L.B. 2009. Dinoflagellate cyst production on the southern Namaqua shelf of the Benguela upwelling system. *Journal of Plankton research* 31(8): 865-875.



- Pizarro, G., Ar3valo, F., Moro3o, A., Riob3, P., Franco, J., Zamora, C. & Guzm3n, L. 2014. Emergent lipophilic toxins in the Magellan region (47-55 3S), Chile. The 16th International Conference on Harmful Algae. 27 October-01 November 2014, Wellington, New Zealand. Abstract Book, p. 124.
- Price, A., & Pospelova, A. 2011. High-resolution sediment trap study of organic-walled dinoflagellate cyst production and biogenic silica flux in Saanich Inlet (BC, Canada). *Marine Micropaleontology* 80:18-43.
- Quijano-Scheggia, S., E. Garc3s, N. Sampedro, K. van Lenning, E. Flo, K. Andree, J.M. Fortu3o, 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, Paris.
- Reguera, B., L. Velo-Su3rez, R. Raine, M. G. Park. 2012. Harmful Dinophysis species: A review. *Harmful Algae* 14: 87-106.
- Ribeiro, S., Amorim, A. 2008. Environmental drivers of temporal succession in recent dinoflagellate cyst assemblages from a coastal site in the North-East Atlantic (Lisbon Bay, Portugal). *Marine Micropaleontology* 68: 156-178.
- Rodr3guez-Villegas, C., Lee, M.R., Salgado, P., Figueroa, R.I., Baldrich, A., P3rez-Santos, I., Tomasetti, S.J., Niklitschek, E., D3az, M., 3lvarez, G., Mar3n, S.L., Seguel, M., Far3as, L., D3az, 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.
- Ronquist, F., Huelsenbeck, J.P., 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19, 1572-1574.
- 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.
- Sald3as, G. S., Largier, J. L., Mendes, R., P3rez-Santos, I., Vargas, C. A., & Sobarzo, M. (2016). Satellite-measured interannual variability of turbid river plumes off central-southern Chile: Spatial patterns



- and the influence of climate variability. *Progress in Oceanography*, 146, 212-222. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2016.07.007>
- Salgado, P., 2011. Distribución espacio-temporal de ensambles de quistes de dinoflagelados productores de floraciones algales nocivas en sedimentos costeros del sur de Chile (Región de Los Lagos) durante los últimos ~150 años. Tesis para optar al grado de Magíster. Universidad de Concepción. 130 pág.
- 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 major pathway for long-lived eddies in the subtropical North Atlantic. *Deep-Sea Res. I*, 56: 2100–2114.
- Sato, M., Hirata, K., Shiozaki, T., & Takeda, S. (2022). Effects of iron and light on microbial nitrogen cycles in the primary nitrite maxima of the eastern Indian Ocean. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 185. <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2022.103808>.
- Satta, C., Anglés, S., Garcés, E., Luglié, A., Padedda, B., Sechi, N., 2010. Dinoflagellate cysts in recent sediments from two semi-enclosed areas of the Western Mediterranean Sea subject to high human impact. *Deep Sea Research II* 57 (3–4), 256–267.
- Savelle H, K Harju, L Spoof, E Lindehoff, J Meriluoto, M Vehniäinen & A Kremp. 2016. Quantity of the dinoflagellate sxtA4 gene and cell density correlates with paralytic shellfish toxin production in *Alexandrium ostenfeldii* blooms. *Harmful Algae* 52: 1-10.
- Shannon CE, Weaver W (1949) The mathematical theory of communication. University of Illinois Press. Urbana, IL, EEUU. 144 pp.
- Shaw, J.L., Weyrich, L.S., Hallegraeff, G., & Cooper, A. (2019). Retrospective eDNA assessment of potentially harmful algae in historical ship ballast tank and marine port sediments. *Molecular ecology*, 28 10, 2476-2485.
- Sievers H. y N Silva. 1982. Masas de agua y circulación geostrófica frente a La costa de Chile entre latitudes 18° S y 33° S (Operación Oceanográfica MARCHILE VII). *Cienc. y Tec Del mar*, CONA 61-99 pp.



- 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. 1983. Masas de agua y circulación en la región norte de Chile. Latitudes 18°S-32°S. (Operación Oceanográfica Marchile XI- Erfen II). *Cienc. Tecnol. Mar*, 47-84 pp.
- 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.
- Simpson, J. H., Crisp, D. J., & Hearn, C. (1997). The shelf-sea fronts: implications of their existence and behaviour. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series A, Mathematical and Physical Sciences*, 302(1472), 531-546. <https://doi.org/10.1098/rsta.1981.0181>
- Smayda, T.J. 1997. Harmful algal blooms: their ecophysiology and general relevance to phytoplankton blooms in the sea. *Limnol. Oceanogr.* 42:1137–1153.
- Smayda, T.J., 2002. Turbulence, watermass stratification and harmful algal blooms: an alternative view and frontal zones as “pelagic seed banks”. *Harmful Algae* 1, 95–112.
- Smayda, T.J., Reynolds, C.S., 2003. Strategies of marine dinoflagellate survival and some rules of assembly. *Journal of Sea Research* 49, 95–106.
- Smith R. 1968. Upwelling. En. *Oceanography, Marine Biology, Annual Review* H. Barnes (Eds.). George Allen and Unwin Ltd., London. 11-46 pp.
- Sobarzo M y D Figueroa. 2001b. The physical structure of a cold filament in a Chilean upwelling zone (Península de Mejillones, Chile, 23°S). *Deep Sea Res. I.* 48 (2001): 2699-2726.
- Sobarzo, M., Bravo, L., Donoso, D., Garcés-Vargas, J., & Schneider, W. (2007). Coastal upwelling and seasonal cycles that influence the water column over the continental shelf off central Chile. *Progress in Oceanography*, 75(3), 363-382. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2007.08.022>
- Soto-Mardones L, A Pares, R Durazo, S Hormazabal y J Garcia. 2004. Analysis of the mesoscale structure in the IMECOCAL region (off Baja California) from hydrographic, ADCP and altimetry data. *Deep Sea Research II.* 51: 785-798.
- 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 .



- Strub P, J Mesías, V Montecino, J Rutland & S Salinas. 1998. Coastal ocean circulation off western south America. Chapter 10. En. The sea: The global coastal ocean, regional studies and synthesis. vol.11 A. R. Robinson, & K. H. Brink (Eds.). John Wiley and Sons, Inc., New York pp. 273-313.
- Testa, G., Masotti, I., & Farías, L. (2018). Temporal Variability in Net Primary Production in an Upwelling Area off Central Chile (36°S). *Frontiers in Marine Science*, 5. <https://doi.org/10.3389/fmars.2018.00179>
- Thiel et al. 2007. The Humboldt Current System of northern and central Chile. *Oceanography and Marine Biology Vol.* 45.
- Thomas, A. C., Blanco, J. L., Carr, M. E., Strub, P. T., & Osses, J. (2001). Satellite-measured chlorophyll and temperature variability off northern Chile during the 1996-1998 La Niña and El Niño. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 106(C1), 899-915. <https://doi.org/10.1029/1999jc000052>
- Turner, A. D., Dhanji-Rapkova, M., Fong, s. y. T., Hungerford, J., McNabb, P. S., Boundy, M. J., Harwood, D. T. & Collaborators 2020. Ultrahigh-Performance Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometry Method for the Determination of Paralytic Shellfish Toxins and Tetrodotoxin in Mussels, Oysters, Clams, Cockles, and Scallops: Collaborative Study. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 103, 533-562.
- Uribe, C., Garcia, C., Rivas, M., Lagos, N., 2001. First Report of Diarrhetic Shellfish Toxins in Magellanic Fiords, Southern Chile. *J. Shellfish Res.* 20, 69–74.
- 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).
- 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.



- Verleye, T., Louwye, 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.
- 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.
- Wright, J. L. C., & Quilliam, M. A. (1995). Methods for domoic acid, the amnesic shellfish poisons. Manual on Harmful Marine Microalgae. IOC Manuals and Guides, 33, 113-127.
- 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.



INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO / DIVISIÓN INVESTIGACIÓN EN ACUICULTURA



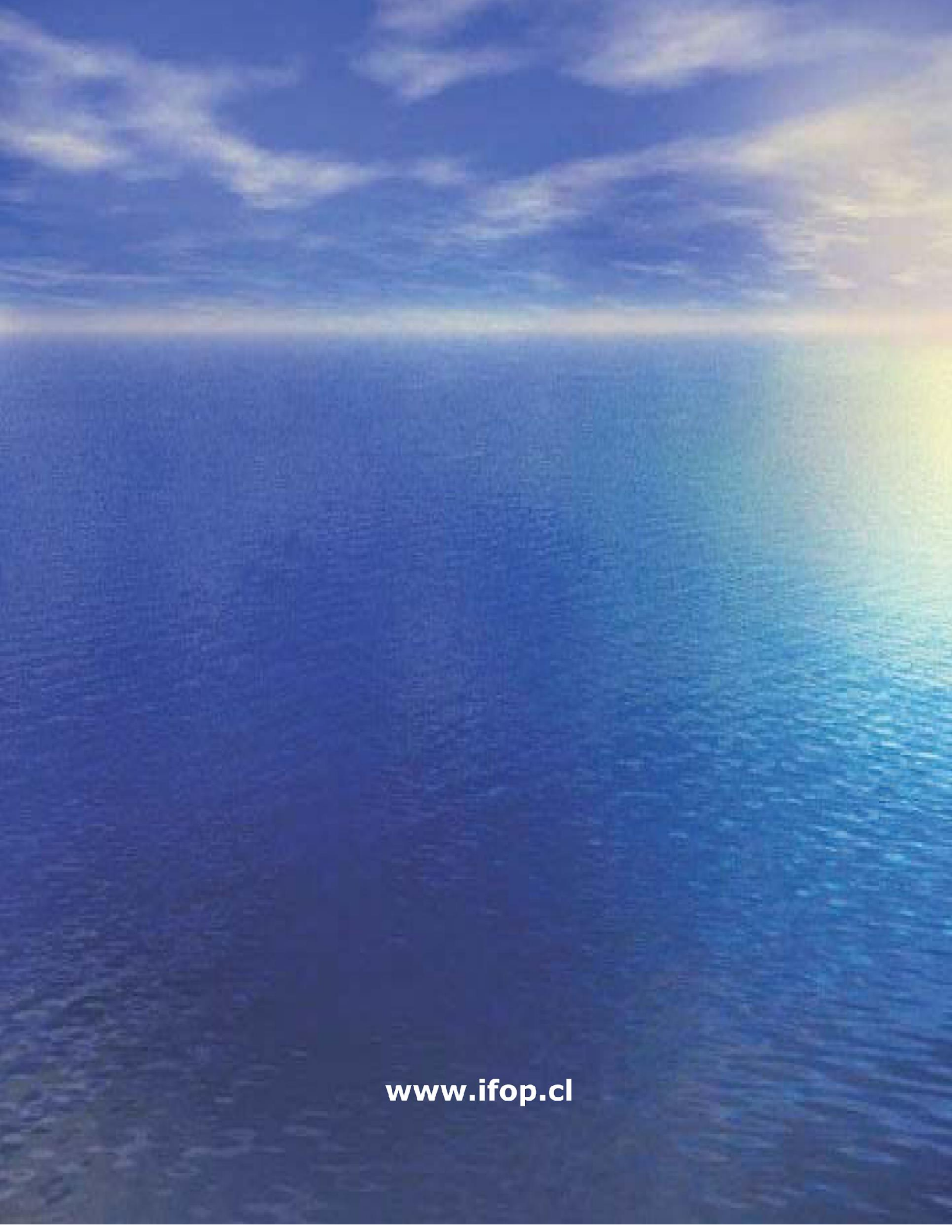
INSTITUTO DE FOMENTO PESQUERO

Sección Ediciones y Producción

Blanco 839, Fono 56-32-2151500

Valparaíso, Chile

www.ifop.cl



www.ifop.cl