Reg. 284366

M
B517-v
2021

UNIVERSIDAD DE VALPARAÍSO

FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR Y DE RECURSOS NATURALES

ESCUELA DE BIOLOGÍA MARINA

UNIVERSIDAD DE VALPARAISO
BIBLIOTECAS Y RECURSOS PARA EL APRENDIZAJE
Cs. DEL MAR
DIBRA

Variabilidad estacional de dinoflagelados productores de toxinas lipofílicas en fiordo Puyuhuapi, Patagonia Norte

TESIS

Diner Daniel Bernal Pezoa

2021

COMISIÓN DE TESIS

Patricio Andrés Díaz Gómez
Director
Centro i~mar, Universidad de Los Lagos

Italo Massotti
Miembro de la Comisión
Universidad de Valparaíso

Claudia Aracena
Miembro de la Comisión
Universidad Austral de Chile

Gonzalo Álvarez
Miembro de la Comisión
Universidad Católica del Norte

Iván Pérez Santos
Miembro de la Comisión
Universidad de Los Lagos

TABLA DE CONTENIDOS

TABLA DE CONTENIDOS Pág.

LISTA DE TABLAS 6

LISTA DE FIGURAS 7

AGRADECIMIENTOS 10

FUENTE DE FINANCIAMIENTO 11

RESUMEN 12

ABSTRACT 14

ACRÓNIMOS 16

INTRODUCCIÓN 17

HIPÓTESIS 23

OBJETIVOS 23

Objetivo general 23

Objetivos específicos 23

MATERIALES Y MÉTODOS 24

Área de estudio 24

Hidrografía y climatología 25

Mediciones *in situ* y toma de muestras 26

Toxinas lipofílicas 28

Análisis de datos 30

RESULTADOS 31

Condiciones hidrográficas 31

Condiciones climáticas 34

Características físico-químicas de la columna de agua 36

Patrones de variabilidad estacional de especies y toxinas lipofílicas 41

DISCUSIÓN 46

Patrones de variabilidad estacional 46

Efectos de factores bióticos: Disponibilidad de presas 51

Variabilidad en la toxicidad y perfil de toxinas 51

CONCLUSIONES 53

LITERATURA CITADA 55

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Espectrometría de masas y parámetros cromatográficos.....30

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Micrografías obtenidas mediante microscopia óptica (A-B) y electrónica de las principales especies productoras de toxinas lipofílicas en Chile: A) *Dinophysis acuta*; B) *Dinophysis acuminata*; C) *Protoceratium reticulatum*. La barra corresponde a 20 µm.....19

Figura 2. Mapa del área de estudio que muestra: A) Patagonia Noroccidental señalando la zona del fiordo Puyuhuapi (recuadro negro); B) Fiordo Puyuhuapi y Seno Magdalena con sus principales tributarios de agua dulce. El círculo rojo corresponde a la estación de muestreo fija donde se desarrolló el estudio.....25

Figura 3. Diseño de muestreo realizado durante las 18 campañas entre enero de 2018 y julio de 2019. Las cruces indican las profundidades entre superficie y 30 m a las cuales se tomaron muestras de agua para análisis de fitoplancton, mientras que los círculos rojos indican las profundidades en donde se tomaron muestras para análisis de toxinas lipofílicas.....27

Figura 4. Caudal instantáneo del río Palena registrado en la estación fluviométrica río Palena en bajo Rosselot de la DGA; A) Evolución temporal del caudal instantáneo diario entre 2009 y 2021. La línea azul indica el patrón estacional, mientras que la línea roja indica la media histórica. B) Evolución temporal del caudal instantáneo diario durante entre 2018 y 2020. La línea roja muestra la media histórica, mientras que el rectángulo gris indica el período de muestreo en Seno Magdalena (enero 2018 a julio 2019); C) Media histórica mensual de los

datos de caudal de la estación río Palena en bajo Rosselot (barras grises) versus media mensual durante 2018 (línea azul) y 2019 (línea roja)..... 33

Figura 5. Anomalías de precipitación (mm) a lo largo del sur de Chile durante: A) enero-febrero; B) marzo-abril de 2018; C) enero-febrero 2016. El tono de color son las desviaciones de la media a largo plazo utilizando el conjunto de datos CR2Met que se basa principalmente en una interpolación de la estación registros. Los mapas globales en el panel inferior muestran las anomalías de temperatura superficial del mar (izquierda) y anomalías de altura geopotencial en el nivel de 700 hPa (alrededor de 3 km sobre el nivel del mar) para los mismos meses (globo central y derecha). Los colores cálidos (fríos) indican anomalías positivas (negativas).....35

Figura 6. Evolución temporal de parámetros físico-químicos entre superficie y 20 profundidad en una estación fija del fiordo Puyuhuapi entre enero 2018 y julio de 2019: A) Temperatura (°C); B) Salinidad (g/kg); C) Clorofila a ($\mu g\ L^{-1}$); D) Densidad (sigma-t); E) frecuencia de Brunt-Väisälä (ciclo/hora).....37

Figura 7. Distribución vertical de temperatura (azul), salinidad (roja) y clorofila *a* (verde) entre superficie y 30 m en la estación fija de muestreo en la cabecera del Seno Magdalena durante verano e invierno de 2018 (paneles superiores) y 2019 (paneles inferiores)..... 38

Figura 8. Distribución vertical (0-20 m) de: A) nutrientes disueltos (nitratos, nitritos, fosfatos y silicatos); B) Sigma-t (línea roja; $kg\ m^{-3}$) y frecuencia Brunt-Väisälä (línea azul; ciclos h^{-1}); y C) clorofila *a* ($\mu\ L^{-1}$) el 22 de febrero de 2018.....40

Figura 9. Micrografías de células de *Dinophysis acuta* obtenidas mediante arrastre vertical con red de plancton (20 µm) en febrero de 2018, durante una intensa floración de esta especie en la cabecera del Seno Magdalena, Región de Aysén.....41

Figura 10. Distribución vertical (0-30 m) de células de especies productoras de toxinas lipofílicas registradas en una estación fija de la cabecera del Seno Magdalena, Región de Aysén, entre enero de 2018 y julio de 2019. A) *Dinophysis acuta*; B) *Dinophysis acuminata*; C) *Protoceratium reticulatum*.....42

Figura 11. Distribución vertical de temperatura (azul), salinidad (roja), *Dinophysis acuta* (círculos amarillos), *D. acuminata* (círculos celestes) y *P. reticulatum* (círculos naranjos), entre superficie y 20 m en la estación fija localizada en la cabecera del Seno Magdalena durante en febrero de 2018 (panel izquierdo) y 2019 (panel derecho).....43

Figura 12. Distribución vertical de toxinas lipofílicas (OA, DTX-1, PTX-2, YTX) en muestras de aguas colectadas en cuatro estratos de profundidad (0,4,10 y 20 m) en la estación fija localizada en la cabecera del Seno Magdalena en el fiordo Puyuhuapi entre febrero 2018 y febrero 2019.....45

AGRADECIMIENTOS

Por el esfuerzo realizado en el transcurso de la carrera y su finalización puedo correlacionarlo con las palabras del apóstol Pablo escritas en su segunda epístola a Timoteo; "He peleado la buena batalla, he acabado la carrera, he guardado la fe" (2 Timoteo 4:7)

Agradezco profundamente y en primer lugar Dios, que por cada puerta que se cerró el abrió otra, agradezco también a mi familia por el apoyo emocional, espiritual y económico. Sin ellos no sería lo que hasta el día de hoy soy. Agradezco en forma particular a la persona responsable de mi éxito final en la carrera; mi director de tesis; Patricio Andrés Díaz Gómez, a él y a la Dra. Claudia Aracena por invitarme a participar del proyecto IGCP 681 UNESCO. Además, agradecerles por mi participación en el congreso ICHA 2021. También quisiera destacar al Dr. Iván Pérez Santos por su hospitalidad y apoyo en el centro de investigación marina i~mar. Por último y no menos importante agradecer a la facultad de Biología Marina y recursos naturales de la Universidad de Valparaíso y a cada uno de sus docentes de los cuales tuve el placer si no el privilegio de conocer y aprender de ellos.

FUENTE DE FINANCIAMIENTO

La recolección de muestras de campo y los análisis de fitoplancton y toxinas lipofílicas fueron financiados por el proyecto Fondecyt 11170684 "**Physical-biological interactions in populations of lipophilic toxic-producers from Southern Chile**", Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo (ANID), Chile.

La estadía en el Centro i~mar de la Universidad de Los Lagos y la participación en el congreso ICHA 2021 fue financiada por el proyecto IGCP 681 UNESCO "**Paleoecological history of toxic phytoplankton in Patagonia: Past context for an assesment on future aquaculture**".

RESUMEN

Las Floraciones Algales Nocivas (FAN) de microalgas productoras de toxinas son recurrentes en el sistema de fiordos chilenos. Los eventos de intoxicación diarreica por mariscos (DSP por sus siglas en inglés) causados por especies endémicas del género *Dinophysis*, principalmente *D. acuta* y *D. acuminata*, productoras de toxinas lipofílicas (ácido okadaico, OA y derivados; pectenotoxinas, PTX), constituyen una gran amenaza para la salud pública y la pesca artesanal en esa región. Sin embargo, poco se conoce sobre los factores ambientales que controlan estos brotes en los fiordos chilenos. Desde enero de 2018 hasta julio de 2019, se realizaron 18 cruceros mensuales de un día de duración en una estación de muestreo fija en el fiordo Puyuhuapi —un área de alta recurrencia (hotspot) de *Dinophysis* en el sur de Chile— con el objetivo de parametrizar las condiciones del fiordo asociadas al desarrollo de la floración y su distribución a escala fina. En cada crucero se realizaron perfiles verticales de CTD (Conductivity-Temperature-Depth), así como también se tomaron muestras de agua a intervalos de 2m desde la superficie hasta los 20m de profundidad (botellas Niskin) para análisis de microfitoplancton y toxinas. También fueron realizados lances verticales (0-20 m) con una red plancton de 20 μm para los análisis de toxinas lipofílicas. *Dinophysis acuta* estuvo presente en capas finas subsuperficiales con un máximo celular de 452.000 y 35.800 células L^{-1} en febrero (mediados del verano austral) de 2018 y 2019, respectivamente. En ambos casos, asociados a un intenso gradiente de densidad (6-8 m). Mientras que, *D. acuminata* estuvo presente en densidades más bajas, con máximos de 6.600 y 4.400 células L^{-1}. Además, la presencia de *Mesodinium rubrum* (única presa

confirmada de *Dinophysis*) no superó las 400 células L^{-1}. El análisis de toxinas mostró la presencia de OA, dinofisistoxina-1 (DTX1) y PTX2, además de yesotoxinas (YTX) asociadas a la coocurrencia de *Protoceratium reticulatum*. La presencia de células invernales fue muy escasa, pero las toxinas (principalmente OA) estuvieron presentes durante todo el año. Se discute la identificación y parametrización de los principales forzantes que promueven estos eventos excepcionales.

ABSTRACT

Harmful algal blooms (HAB) of toxin-producing microalgae are recurrent in Chilean Fjord System. Diarrheic shellfish poisoning (DSP) events caused by endemic species of the genus *Dinophysis*, mainly *D. acuta* and *D. acuminata*, producers of lipophilic toxins (okadaic acid, OA and derivatives; pectenotoxins, PTX), constitute a big threat to public health and artisanal fisheries in that region. Nevertheless, little is known about the environmental factors controlling these outbreaks in the Chilean fjords. From January 2018 to July 2019, 18 monthly one-day cruises were carried out at a fixed sampling station in Puyuhuapi Fjord — a "hotspot" area for *Dinophysis* in Southern Chile— to parameterize fjord conditions associated with bloom development and fine-scale distribution. At each cruise, vertical profiles of Conductivity-Temperature-Depth (CTD) casts as well as water samples at 2m intervals from surface to 20m depth (Niskin bottles) for microphytoplankton and toxins analyses were collected. Vertical hauls (0-20m) with a 20-μm mesh net were collected for lipophilic toxin analyses. *Dinophysis acuta* was present as a sub-surface thin layers with a cell maximum of 452,000 and 35,800 cells L^{-1} in February (austral mid-summer) 2018 and 2019, respectively. In both cases, associated with a maximum density gradient (6-8 m). While, *D. acuminata* was present in lower densities, with maximum of 6,600 and 4,400 cells L^{-1}. In addition, the presence of *Mesodinium rubrum* did not exceed 400 cells L^{-1}. Toxins analysis showed the presence of OA, dinophysistoxin-1 (DTX1) and PTX2 in addition to yessotoxins (YTX) associated with the co-occurrence of *Protoceratium reticulatum*. The presence of winter cells was very scarce, but toxins (mainly OA) were present throughout

the year. The identification and parameterization of the "driving force" that promoting these exceptional events are discussed here.

ACRÓNIMOS

FAN : Floración Algal Nociva

DSP : Diarrhetic Shellfish Poisoning

OA : Okadaic acid

DTX : Dinofisistoxinas

PTX : Pectenotoxinas

YTX : Yesotoxinas

VPN : Veneno Paralizante de los Mariscos

VAM : Veneno Amnésico de los Mariscos

VDM : Veneno Diarreico de los Mariscos

TPG : *Teleaulax/Plagioselmis/Geminigera*

AZA : Azaspiracidos

SPX : Espirolidos

GYM : Gimnodimina

PnTX : Pinnatoxinas

ENOS : El Niño Oscilación del Sur

SAM : Modo Anular del Sur

INTRODUCCIÓN

Las Floraciones Algales Nocivas (FAN) son proliferaciones de microalgas que generan efectos adversos en la salud humana, la acuicultura y el turismo (Reguera 2003). Este tipo de eventos son producidos por una amplia variedad de especies de microalgas, siendo alrededor de 100 especies las productoras de toxinas, de las cuales el 70% pertenecen al grupo de las Dinophysiales (Moestrup *et al.* 2009). Las FANs son recurrentes en el sistema de fiordos y canales patagónicos. Dentro del grupo de especies productoras de toxinas, el dinoflagelado *Alexandrium catenella*, es la principal especie asociada al síndrome de intoxicación por veneno paralizante de los mariscos (VPM) (Anderson *et al.* 2012). Mientras, diatomeas del género *Pseudo-nitzschia* (principalmente *Pseudo-nitzschia australis*) han sido asociadas a la producción de veneno amnésico de los mariscos (VAM), debido a su capacidad de producir de ácido domoico (Lundholm 2012, Trainer *et al.* 2012). En el caso de las especies productoras de toxinas lipofílicas, antiguamente todas clasificadas como responsables del síndrome de intoxicación por envenenamiento diarreico por mariscos (VDM), las principales especies corresponden a dinoflagelados del género *Dinophysis*, principalmente *Dinophysis acuta* (Fig. 1A) y *D. acuminata* (Fig. 1B) (Reguera *et al.* 2012, 2014 , así como también *Protoceratium reticulatum* (Fig. 1C)(MacKenzie *et al.* 1998, Satake *et al.* 1997). Algunas de estas toxinas están dentro de la lista de compuestos bioactivos más potentes respecto a ficotoxinas, que corresponde a toxinas producidas por algas (van Egmond 2004).

El género *Dinophysis* se ha asociado a la presencia de VDM en gran parte del mundo (Hallegraeff *et al.* 2003, Reguera *et al.* 2012, 2014), incluido Chile (Lembeye *et al.* 1993, Muñoz *et al.* 1992, Uribe *et al.* 2001). Este género de dinoflagelados produce dos grupos de compuestos tóxicos de tipo lipofílico que corresponden al ácido okadaico (OA) y sus análogos las dinofisistoxinas (DTX) (toxinas diarreicas) y las pectenotoxinas (PTXs) (toxinas hepatotóxicas en ratones de laboratorio) (Blanco 2018, Reguera *et al.* 2014). Las toxinas lipofílicas como OA y en particular las DTX son causantes de intoxicación por consumo de mariscos que bioacumulan esta toxina, que luego de 30 min hasta 6 h después de la ingesta genera su sintomatología. Esta incluye diarrea, vómitos, náuseas y dolores abdominales severos, lo cual conlleva pérdida de la integridad epitelial, erosión e hipersecreción en los intestinos, incrementándose la permeabilidad epitelial (Campo Zaldívar 2014). Además de esto son consideradas promotores de tumores estomacales por ser potentes inhibidores de las proteínas fosfatasas, enzimas que revierten los efectos de las proteínas quinasas, removiendo grupos fosfatos (Fujiki *et al.* 1988). Las PTXs son responsables de causar efectos negativos en estadios de vida tempranos de peces (Rountos *et al.* 2019) y moluscos (Gaillard *et al.* 2020). Los bivalvos retienen y digieren las células de *Dinophysis*, bioacumulando las biotoxinas (Blanco, 2018). Se han detectado en mariscos, principalmente mitílidos, en la región de Aysén (Lembeye *et al.* 1993, Villarroel 2004, Zhao *et al.* 1993). Mientras, las yesotoxinas (YTX), corresponden a un poliéter disulfatado que fue aislada por primera vez por Murata *et al.* (1987). Estas toxinas son producidas por tres especies de dinoflagelados confirmadas hasta ahora; *Protoceratium reticulatum*, *Gonyaulax spinifera* y *Lingulodinium polyedra* (Satake *et al.* 1997, Draisci *et al.* 1999, Paz *et al.* 2004, Armstrong & Kudela 2006). Hasta ahora, esta toxina ha sido confirmada en moluscos de Japón, Noruega, Sudáfrica,

Chile, Italia y Nueva Zelanda, entre otros (Álvarez *et al.* 2011, Pitcher *et al.* 2019, Tubaro *et al.* 2010, Tubaro *et al.* 1998). Estas toxinas afectan severamente a la acuicultura, generando cierres sanitarios temporales de las actividades extractivas para evitar riesgos en la salud humana (Reguera *et al.* 2014).



Figura 1. Micrografías obtenidas mediante microscopia óptica (A-B) y electrónica (C) de las principales especies productoras de toxinas lipofílicas en Chile: A) *Dinophysis acuta*; B) *Dinophysis acuminata*; C) *Protoceratium reticulatum*. La barra corresponde a 20 µm.

Los fiordos y canales del sur de Chile se caracterizan por la presencia de una columna de agua bien estratificada, condicionado por la existencia de fuertes gradientes verticales de salinidad y temperatura (Pantoja *et al.* 2011, Pickard 1971, Silva & Palma 2006). Las bajas salinidades superficiales generan haloclinas muy marcadas, que a su vez dan origen a intensas picnoclinas, generando una alta estratificación lo que dificulta la mezcla vertical entre la capa superficial y la capa profunda (Silva *et al.* 1995). El grado de mezcla de ambas capas depende del caudal de agua dulce aportado por los ríos, la intensidad y duración del viento, el

escurrimiento costero y el deshielo de ventisqueros adyacentes (Pickard 1971, Silva *et al.* 1995).

Existe una asociación entre la estratificación de la masa de agua y la turbulencia, con la distribución de dinoflagelados (Lauria *et al.* 1999, Margalef 1978, Smayda 2002, Thomas & Gibson 1990). Algunas especies formadoras de FAN se agregan en determinadas profundidades, en estructuras denominadas "capas finas", donde los parámetros físico-químicos difieren mucho de otras profundidades (Gentien *et al.* 1995). De acuerdo con el modelo conceptual creado por el famoso ecólogo español Ramón Margalef en la década del 70' y denominado "Mandala de Margalef", los dinoflagelados son más abundantes en zonas de baja turbulencia y bajos nutrientes. Mientras, las diatomeas prefieren los ambientes más turbulentos y con elevadas concentraciones de nutrientes (Margalef 1978, Margalef *et al.* 1979). La existencia de rasgos morfológicos y batimétricos tales como constricciones y umbrales existentes en el sistema de fiordos y canales australes, generan efectos importantes sobre la circulación de las aguas, alterando el intercambio de flujos a través de estos rasgos batimétricos y costeros (Cáceres & Valle-Levinson 2004, Silva *et al.* 1995). Esto genera condiciones favorables para las floraciones de especies productoras de toxinas lipofílicas, que en Chile han sido especialmente relevantes en las regiones más australes del país (Los Lagos, Aysén y Magallanes) desde la década del 90' (Díaz *et al.* 2011, 2021; Muñoz *et al.* 1992). Sin embargo, los primeros registros de este tipo de brotes se remontan a 1970, donde una intensa floración de *Dinophysis acuta* generó la intoxicación de al menos 100 personas por consumo de cholgas (*Aulacomya atra*) en el fiordo Reloncaví, región de Los Lagos (Guzmán & Campodónico 1975).

La variabilidad de los eventos de VDM son muy complejos, debido a su toxicidad y las múltiples variables ambientales y biológicas que la promueven, por lo que es complejo replicar las condiciones en laboratorio. Recientemente se ha logrado en Chile (Paredes-Mella *et al.* 2021) el primer cultivo exitoso en laboratorio de especies del género *Dinophysis* que fue descrito por Park *et al.* (2006). Este grupo de investigadores coreanos describieron la existencia de una cadena trófica de 3 eslabones, conformada por *Dinophsyis*, un ciliado del género *Mesodinium* y un flagelado. Así, los plástidos (cleptoplástidos) que utiliza *Dinophysis* para realizar fotosíntesis, los obtiene a partir de su presa, el ciliado *Mesodinium rubrum*. Este último a su vez, obtiene sus plástidos predando sobre flagelados del clado TPG (*Teleaulax/Plagioselmis/Geminigera*). Sin embargo, presas alternativas a *Mesodinium* también han sido descritas, como es el caso de *Strombidium* en el sur de Chile (Díaz *et al.* 2020).

Los eventos previamente descritos se caracterizan además por ser difíciles de predecir, esto se debe a que son mediados por procesos de eutrofización sumado a alteraciones de la composición de nutrientes (ej. relación N:P), lo cual aumenta las posibilidades de un crecimiento acelerado en ciertas especies, que pueden llegar a generar floraciones de algas nocivas (Anderson *et al.* 2002). A estas variables se le añaden importantes efectos antropogénicos, lo que, sumado a la variabilidad climática, configuran condiciones propicias (ventana ambiental óptima) que pueden ser aprovechadas por algunas especies para generar FANs (Edwards *et al.* 2006, Wiltshire *et al.* 2008). Nitrógeno (N) y fosforo (P), son nutrientes importantes para el crecimiento de microalgas. Generalmente, el

N es un factor limitante para el crecimiento del fitoplancton en aguas oceánicas y estuarinas, aunque P también puede llegar a ser un factor limitante (Anderson *et al.* 2002).

El fiordo Puyuhuapi, localizado en la región de Aysén, es considerada una zona de alta recurrencia e intensidad (punto caliente) de floraciones productoras de toxinas lipofílicas del género *Dinophysis*, principalmente *D. acuta* (Díaz *et al.* 2021). Lo anterior, ha transformado a este fiordo en un laboratorio natural para el estudio de diferentes factores implicados en las floraciones de *Dinophysis*, como son los factores hidroclimáticos, disponibilidad de presas, nutrientes, entre otros. Además, es un excelente escenario para realizar estudios toxicológicos (perfil de toxinas de las diferentes especies). En este contexto, entre enero de 2018 y julio de 2019 se realizó un muestreo de diversas variables físico-químicas y biológicas en una estación fija en la cabecera del Seno Magdalena, un tributario del fiordo Puyuhuapi. Durante este período se detectó una floración excepcional del dinoflagelado *Dinophysis acuta* en el verano de 2018, la cual dominó la comunidad fitoplanctónica. El objetivo principal fue establecer la relación entre la presencia de toxinas lipofílicas y la presencia de especies de dinoflagelados productores de estas e identificar las variables hidroclimáticas, que definen el nicho realizado de *D. acuta*, *D. acuminata* y *P. reticulatum* para establecer sus condiciones óptimas de crecimiento.

HIPÓTESIS

Las variables hidroclimáticas modulan el desarrollo de las floraciones de dinoflagelados productores de toxinas lipofílicas favorecidos por una fuerte estatificación termohalina.

OBJETIVOS

Objetivo general

Establecer una relación entre las condiciones hidroclimáticas y los patrones de variabilidad estacional de *Dinophysis* y *Protoceratium reticulatum* y las toxinas lipofilicas asociadas.

Objetivos específicos

1. Estudiar la variabilidad estacional de *Dinophysis* y *P. reticulatum* en una estación fija del fiordo Puyuhuapi.
2. Determinar y parametrizar el efecto de las variables hidroclimáticas en el inicio, mantención y declive de una FAN de *Dinophysis*.
3. Evaluar la diversidad del perfil toxicológico y la concentración de toxinas lipofilicas en el plancton.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El fiordo Puyuhuapi, se encuentra localizado en la región de Aysén, Patagonia norte (~ 44°60′S; Fig. 2B). Este fiordo, de 100 km de largo y orientación N – NE, está conectado al Canal Moraleda en su sección sur y con el Canal Jacaf, en su extremo norte. La principal fuente de agua dulce es proporcionada por el río Cisnes, cuyo caudal medio de 218 $m^3 s^{-1}$ y desemboca en la zona media del fiordo (Schneider *et al.* 2014). Tributarios menores con aporte de agua dulce son los ríos Vestiquero, Marta y Uspallante (Calvete & Sobarzo 2011), lo que sumado a la elevada precipitación anual (~ 3500-4000 mm año− 1; Sauter 2020), generan una elevada estratificación halina. La carga de fósforo total aportada anualmente por los principales ríos al sistema de canales conformado por el seno Ventisquero y el fiordo Puyuhuapi se encuentra entre las 30 y 60 toneladas; mientras la carga de nitrógeno total se estima del orden de 8.500 toneladas anuales (Prado & Castro 2008). Las aguas al norte del fiordo Puyuhuapi son más salobres que las del sur, excepto en invierno, cuando este patrón se puede invertir a causa de la entrada de agua oceánica a través del canal Jacaf y la estratificación vertical que es muy variable (Schneider *et al.* 2014). La circulación corresponde a un estuario bicapa, con una capa superficial estuarina variable (5 - 10 m) y una capa inferior más uniforme y salada, denominada agua subantártica (>33) alcanzando 150 m de profundidad (Silva & Calvete 2002). La mezcla en la interfaz de las dos capas produce agua subantártica modificada (salinidades 31 a 33) (Schneider *et al.* 2014). Dependiendo del aporte de agua dulce, se generan masas de agua distintas en el fiordo Puyuhuapi (al igual que

en otros fiordos y canales en la Patagonia), donde pueden identificarse en la capa superior salinidades 11 a 21 y el agua salina estuarina con salinidades 21 a 31.

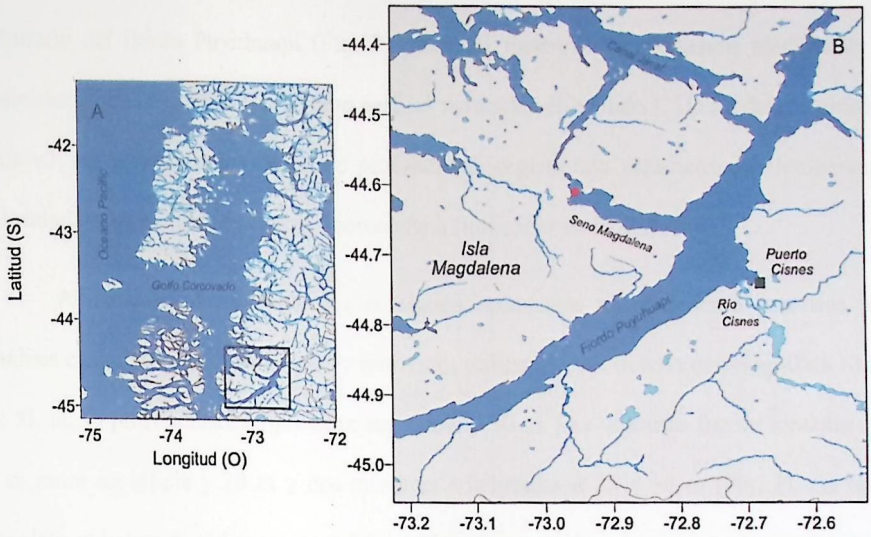


Figura 2. Mapa del área de estudio: A) Patagonia Noroccidental señalando la zona del fiordo Puyuhuapi (recuadro negro); B) Fiordo Puyuhuapi y Seno Magdalena con sus principales tributarios de agua dulce. El círculo rojo corresponde a la estación de muestreo fija donde se desarrolló el estudio.

Hidrografía y climatología

Para el periodo de estudio (2018 -2019) los datos de caudal instantáneo diario del río Palena; el más cercano a la zona de estudio con datos continuos desde 2009 a 2021; fueron obtenidos desde la Dirección General de Aguas (www.dga.cl). Por otra parte, y para el mismo periodo los datos de precipitaciones que fueron obtenidos desde el Centro de Resiliencia y Clima (CR2; http://explorador.cr2.cl/).

Mediciones *in situ* y toma de muestras

Durante el periodo enero de 2018 y julio de 2019, se realizaron muestreos mensuales a bordo de la embarcación *Queen* en una estación fija en la cabecera del Seno Magdalena, un tributario del fiordo Puyuhuapi (Fig. 2). En cada muestreo se realizaron mediciones de variables físicas y químicas mediante perfiles verticales utilizando CTD modelo Seabird 19 plus v2, entre superficie y 50 m de profundidad, registrando parámetros de temperatura, salinidad, oxígeno disuelto, pH y fluorescencia (indicador de la clorofila *a*).

Adicionalmente, durante los muestreos mensuales se obtuvieron muestras para análisis cuantitativo de fitoplancton y nutrientes utilizando una botella oceanográfica Niskin de 5L en 13 profundidades fijas entre superficie y 30 m. Las muestras fueron tomadas cada 2 m entre superficie y 20 m y dos muestras adicionales a 25 y 30 m (Fig. 3). En forma paralela, arrastres de red entre superficie y 30 m fueron realizados para análisis cualitativos de fitoplancton y de toxinas lipofílicas. Las muestras colectadas con botella fueron analizadas a través del método Uthermöhl (Utermöhl 1958) utilizando columnas de 10 mL.

Además, se tomaron muestras para la determinación de clorofila *a* y nutrientes, fue posible en el muestreo de febrero de 2018, que coincidió con una intensa floración de *Dinophysis acuta*, principal productor de toxinas lipofílicas en la región de Aysén.

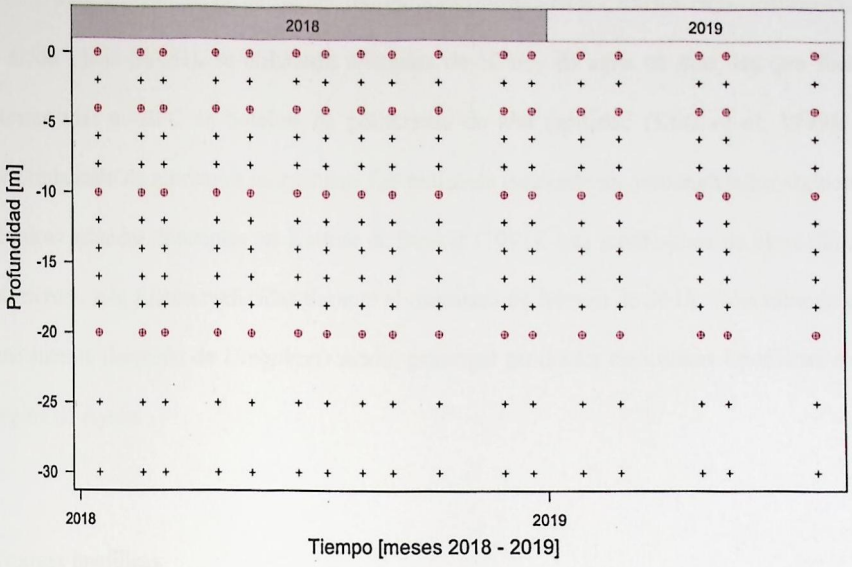


Figura 3. Diseño de muestreo realizado durante las 18 campañas entre enero de 2018 y julio de 2019. Las cruces indican las profundidades entre superficie y 30 m, en las cuales se tomaron muestras de agua para análisis de fitoplancton, mientras que los círculos rojos indican las profundidades en donde se tomaron muestras para análisis de toxinas lipofílicas.

Para la determinación de clorofila-*a*, 1000 mL de agua de mar fueron filtradas utilizando filtros GF/F Whatman de 0.7 µm de poro y posteriormente conservadas a -20 °C hasta su análisis. La extracción de muestras de clorofila-*a* y feopigmentos se realizó en 10 mL de acetona al 90% durante 24 horas a 4°C en la oscuridad. Las concentraciones de clorofila-*a* y feopigmentos se cuantificaron mediante fluorometría, y luego estimadas de acuerdo a la metodología descrita en Parsons et al. (1984). Se utilizó un estándar de clorofila-*a* pura (Anacystisnidulans). La corrección de feopigmentos se realizó mediante acidificación con HCl (0,1 N).

Para la medición de nutrientes inorgánicos (nitrato-NO_3-, nitrito-NO_2- fosfato-PO_4^{3-} y ácido silicio $Si(OH)_4$ se utilizaron alícuotas de 50 mL de agua de mar, las que fueron conservadas a -20°C en botellas de polietileno de alta densidad (Katz *et al.* 1999). La determinación de nutrientes inorgánicos fue realizada mediante un autoanalizador siguiendo técnicas estándar descriptas en Kattner & Becker (1991). Las mediciones de clorofila *a* y nutrientes, sólo fueron realizadas durante el muestreo de febrero de 2018, coincidiendo con una intensa floración de *Dinophysis acuta*, principal productor de toxinas lipofílicas en la región de Aysén.

Toxinas lipofílicas

Para la determinación de toxinas lipofílicas en la columna de agua, muestras de 1000 mL de agua de mar fueron tomadas con botellas Niskin a 4 profundidades fijas (0, 4, 10 y 20 m; ver Fig. 3). Las muestras fueron filtradas utilizando un filtro GF/F microfibra WHATMAN (25 mm; 0.7µm). Los filtros fueron preservados en tubos de 2 mL a -20°C, con adición de 1 mL de metanol 100% hasta su análisis.

El análisis de toxinas se realizó mediante Cromatografía Liquida de Ultra Alta Presión (UHPLC) utilizando un sistema cromatográfico Dionex Ultimate 3000 y detección por espectrometría de masas de alta resolución con tecnología Orbitrap (HR-MS) siguiendo el protocolo descrito por Regueiro *et al.* (2011). En cada análisis, se realizó la detección y cuantificación de ácido okadaico (OA), Dinofisistoxinas (DTX1 y DTX2), Yesotoxina (YTX), homo-YTX, Azaspirácidos (AZA1, AZA2 y AZA3), Espirólidos (SPX1), Gimnodimina (GYM), Pinatoxinas (PnTX) y Pectenotoxina 2 (PTX2). La separación

cromatográfica, fue realiza utilizando una columna Gemini NX C18 (150 x 2.1 mm; 2.6 µm) (Phenomenex) protegida con una pre-columna C18 (4x3 mm) (Phenomenex). La elución de los compuestos fue en modo gradiente con un flujo de 350 µL min^{-1} de Fase A constituida por agua y amoniaco (6,7 µm) y Fase B compuesta por acetonitrilo y amoniaco (6,7 µm). El volumen de inyección de las muestras fue de 10 µL. Para la detección de cada toxina, el espectrómetro de masas fue operado en modo positivo y negativo, con un voltaje de spray de 3,5 y 4,5 kV, respectivamente, temperatura del capilar de 350 °C y utilizando modo SIM. La confirmación de cada toxina fue realizada mediante la comparación de los tiempos de retención, la detección del ion molecular $[M-H]^-$ en el caso del OA, DTX1, DTX2, YTX y homoYTX y en $[M+H]^+$ para AZA1-3, GYM, SPX-1, PnTX y PTX2 y del espectro de fragmentación con los obtenidos del material de referencia adquiridos en la NRC de Canadá (Tabla 1). Todos los análisis de toxinas se realizaron en el Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Algas y otros Recursos Hidrobiológicos (CIDTA) de la Universidad Católica del Norte, Coquimbo.

Tabla 1. Espectrometría de masas y parámetros cromatográficos.

Compuesto	Abreviación (inglés)	Formula Química	Ion Molecular	m/z calculada	RT	CE
Ácido Okadaico	OA	$C_{44}H_{68}O_{13}$	$[M-H]^-$	803.4587		55
Dinophysistoxina-1	DTX-1	$C_{45}H_{70}O_{13}$	$[M-H]^-$	817.4744		55
Dinophysistoxina-2	DTX-2	$C_{44}H_{68}O_{13}$	$[M-H]^-$	803.4587		55
Yesotoxina	YTX	$C_{55}H_{82}O_{21}S_2$	$[M-2H]^{2-}$	570.2322		34
homo-Yesotoxina	homo-YTX	$C_{56}H_{84}O_{21}S_2$	$[M-2H]^{2-}$	577.2401		34
Azaspiracido-1	AZA-1	$C_{47}H_{71}NO_{12}$	$[M+H]^+$	842.5049		34
Azaspiracido-2	AZA-2	$C_{48}H_{73}NO_{12}$	$[M+H]^+$	856.5206		34
Azaspiracido-3	AZA-3	$C_{46}H_{69}NO_{12}$	$[M+H]^+$	828.4893		40
Gymnodimina	GYM	$C_{32}H_{45}NO_7$	$[M+H]^+$	508.3421		34
Pinatoxina-G	PnTX	$C_{42}H_{63}NO_7$	$[M+H]^+$	694.4677		50
13-desMe-SPX C	SPX-1	$C_{42}H_{61}NO_7$	$[M+H]^+$	692.4521		
Pectenotoxina-2	PTX2	$C_{47}H_{70}O_{14}$	$[M+H_2O]^+$	876.5104		30

Análisis de datos

Los datos obtenidos con el perfilador CTD junto a los datos de muestreo fitoplanctónico y toxicológico fueron organizados mediante Microsoft Excel en planillas y tablas de datos, para ser procesados posteriormente en el sistema de programación estadística R 3.5.3 (R Development Core Team 2018). De la misma forma, todas las representaciones gráficas fueron realizadas utilizando el mismo programa.

RESULTADOS

Condiciones hidrográficas

Los datos del caudal instantáneo histórico diario del río Palena presentan una estacionalidad marcada por dos máximos anuales, el primero de ellos en invierno (régimen pluvial) y un segundo, más intenso que el anterior durante primavera, este último producto del derretimiento nival (régimen nival). Esto se evidenció en la fluctuación de los caudales máximos, a partir de 2013, presentaron aumentos de los caudales instantáneos máximos, llegando en algunos periodos a valores entre 4000 y 7000 $m^3 s^{-1}$ (Fig. 4A). También se observa una tendencia a la reducción de los caudales durante primavera. Al observar el caudal instantáneo correspondiente al período de este estudio (Fig. 4B), se evidencia que durante 2018 se presentaron tres aumentos de caudal importantes, el primero de ellos en otoño con valores por sobre los 2000 $m^3 s^{-1}$, el segundo en invierno con un caudal cercano a 4000 $m^3 s^{-1}$ y un último a fines de año, cercano al término de primavera, teniendo intervalos de bajas de caudal que se encontraron por debajo de la media histórica (Fig. 4B). Se observó una disminución importante en los caudales instantáneos de 2019, principalmente entre enero y julio cuyos valores cercanos a 2000 $m^3 s^{-1}$ e intervalos de tiempo donde los caudales se mostraron por debajo de la media histórica. Hacia fines de 2019, se registró un aumento importante con máximos que superaron los 3000 $m^3 s^{-1}$ (Fig. 4B). Dicha diferencia entre los años 2018 y 2019 se ve reflejada en conjunto con las medias de los datos históricos del río Palena. Para el 2018, el mes de enero presenta valores por sobre la media histórica, mientras que en febrero este se encuentra por debajo de esta (Fig. 4C). La diferencia importante entre

los años 2018 y 2019, respecto de la media histórica se registra en marzo, donde los valores del año 2019 fueron bastante menores a la media histórica, a diferencia del 2018 en el que fueron muy superiores, siendo aún más marcada esta diferencia para el mes de abril (Fig. 4C). Durante el periodo mayo a agosto, los años 2018 y 2019, presentaron caudales inferiores a la media histórica. En septiembre y octubre, el caudal de 2018 fue superior a la media histórica, mientras que en 2019 fue menores a esta. Finalmente, para los meses de octubre, noviembre y diciembre de 2018 y 2019, los caudales fueron superiores a la media histórica (Fig. 4C).

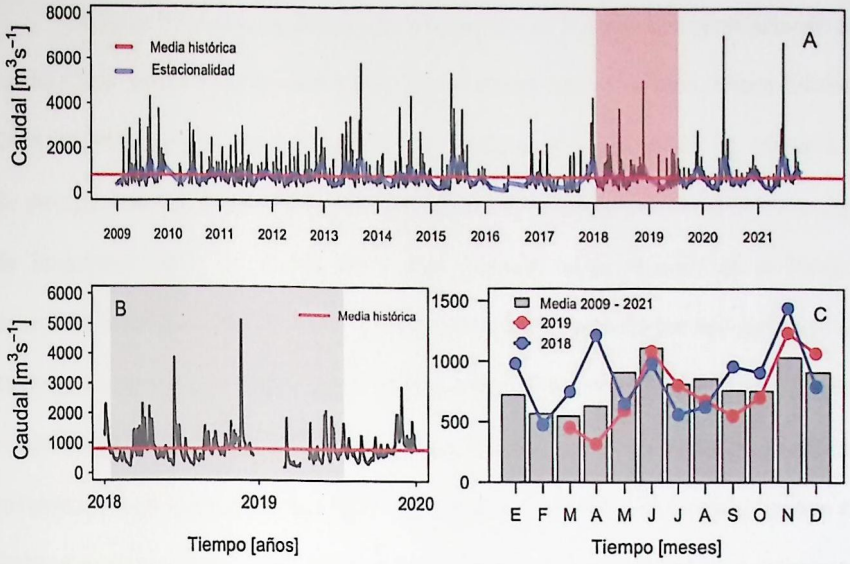


Figura 4. Caudal instantáneo de río Palena registrado en la estación fluviométrica río Palena en bajo Rosselot de la DGA; A) Evolución temporal del caudal instantáneo diario entre 2009 y 2021. La línea azul indica el patrón estacional, mientras que la línea roja indica la media histórica. B) Evolución temporal del caudal instantáneo diario durante entre 2018 y 2020. La línea roja muestra la media histórica, mientras que el rectángulo gris indica el período de muestreo en Seno Magdalena (enero 2018 a julio 2019); C) Media histórica mensual de los datos de caudal de la estación río Palena en bajo Rosselot (barras grises) versus media mensual durante 2018 (línea azul) y 2019 (línea roja).

Condiciones climáticas

La figura 5 muestra las anomalías pluviométricas bimensuales (desviaciones de la media a largo plazo) sobre el sur de Chile para el verano austral de 2018. Enero-febrero de 2018 (JF 2018) fueron secos en las regiones de Los Lagos y Aysén (40-47°S), con un déficit de precipitaciones de hasta el 50%, pero por encima de la media más al sur sobre la región de Magallanes (48-55°S). Condiciones secas similares sobre el norte de la Patagonia ocurrieron en diciembre de 2017 y también estuvieron acompañadas por una radiación solar superior a la media que llegó a la superficie durante la mayor parte del verano (datos no mostrados). Dado el tamaño relativamente pequeño de la cuenca en esta región, el déficit de precipitaciones se tradujo rápidamente en anomalías en la descarga de los ríos (Aguayo *et al.* 2019) disminuyendo así severamente el aporte de agua dulce a los fiordos y estuarios del norte de la Patagonia durante la mitad del verano de 2018 (Fig. 5C).

Sin embargo, a principios de marzo de 2018, volvieron las precipitaciones copiosas al sur de Chile dando lugar a un otoño húmedo (MA 2018) (Fig. 5B). Esta brusca transición en el régimen de lluvias estuvo asociada a un cambio concurrente en las condiciones atmosféricas a gran escala (ver mapas globales en la Fig. 5). Durante el verano, una banda persistente de altas presiones se extendió desde el Pacífico hasta el Atlántico en torno a los 45°S, dificultando el paso de los sistemas meteorológicos de latitudes medias y debilitando los vientos del oeste contra el sur de los Andes, lo que provocó el déficit de precipitaciones (Fig. 5B). Por el contrario, una anomalía ciclónica se posicionó cerca del extremo sur del continente durante marzo-abril aumentando los vientos del oeste en latitudes medias lo que provocó el exceso de precipitaciones en la Patagonia.

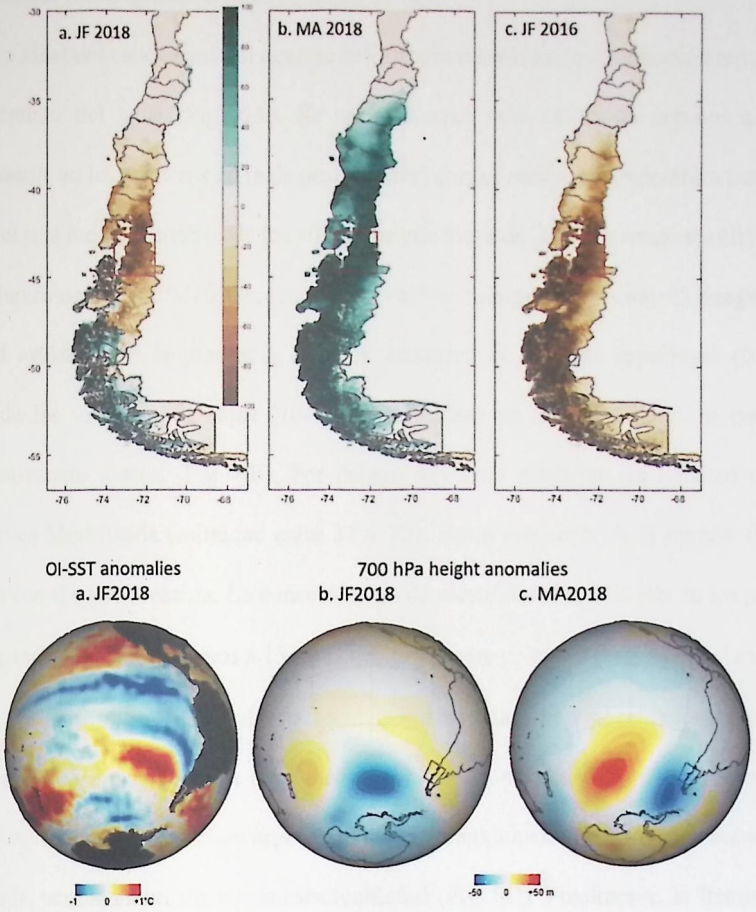


Figura 5. Anomalías de precipitación (mm) a lo largo del sur de Chile para A) enero-febrero y B) marzo-abril de 2018; C) enero-febrero 2016. El tono de color son las desviaciones de la media a largo plazo utilizando el conjunto de datos CR2Met que se basa principalmente en una interpolación de la estación de registros. Los mapas globales en el panel inferior muestran las anomalías de temperatura superficial del mar (izquierda) y anomalías de altura geopotencial en el nivel de 700 hPa (alrededor de 3 km sobre el nivel del mar) para los mismos meses (globo central y derecha). Los colores cálidos (fríos) indican anomalías positivas (negativas).

Características físico-químicas de la columna de agua

La señal del ciclo anual del agua se detectó claramente en la distribución temporal de la temperatura del agua (Fig. 6A). Se registró agua más cálida de octubre a marzo, especialmente en los primeros 10 m de profundidad, con un rango de temperatura entre 14°C y 18° C, el cual fue registrado hasta los 30 m. Durante mayo de 2018 comenzó el enfriamiento de la columna de agua (8°C10°C), alcanzando valores mínimos en agosto. Los registros de salinidad evidenciaron la presencia de agua estuarina en la capa superficial (0-20 m), detectando los valores más bajos (10-15 de salinidad) en los primeros 5 m durante la primavera-verano austral (Fig. 6B). Por debajo del agua estuarina, se localizó el Agua Subantártica Modificada (salinidad entre 31 y 33), como respuesta de la mezcla del agua estuarina con el agua oceánica. La concentración de clorofila-*a* fue más alta en los primeros 10 m llegando a valores cercanos a 15 $\mu g\ L^{-1}$ en primavera y verano (Fig. 6C). Esta variable, también presentó una clara señal estacional caracterizada por concentraciones más baja durante el otoño-invierno y más altas durante primavera-verano (Fig. 6C). Respecto a la densidad, esta evidenció una clara separación entre la capa superficial y el Agua Subantártica Modificada, también marcada por la estacionalidad (Fig. 6D). Finalmente, la frecuencia de Brunt-Väisälä presentó mayor mezcla (100 y 125 ciclos / hora) en la capa superior (0-5m) durante el verano de 2018 e invierno de ambos años (Fig. 6E).

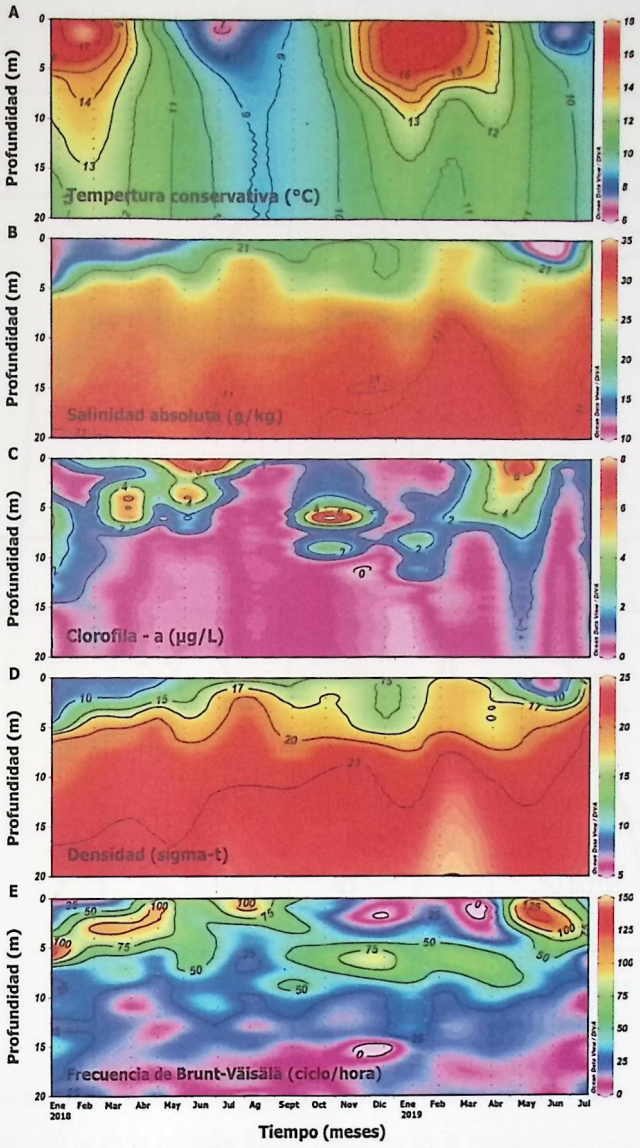


Figura 6. Evolución temporal de parámetros físico-químicos entre superficie y 20 profundidad en una estación fija del fiordo Puyuhuapi entre enero 2018 y julio de 2019. A) Temperatura (°C); B) Salinidad (g/kg); C) Clorofila a (µg L^{-1}); D) Densidad (sigma-t); E) frecuencia de Brunt-Väisälä (ciclo /hora).

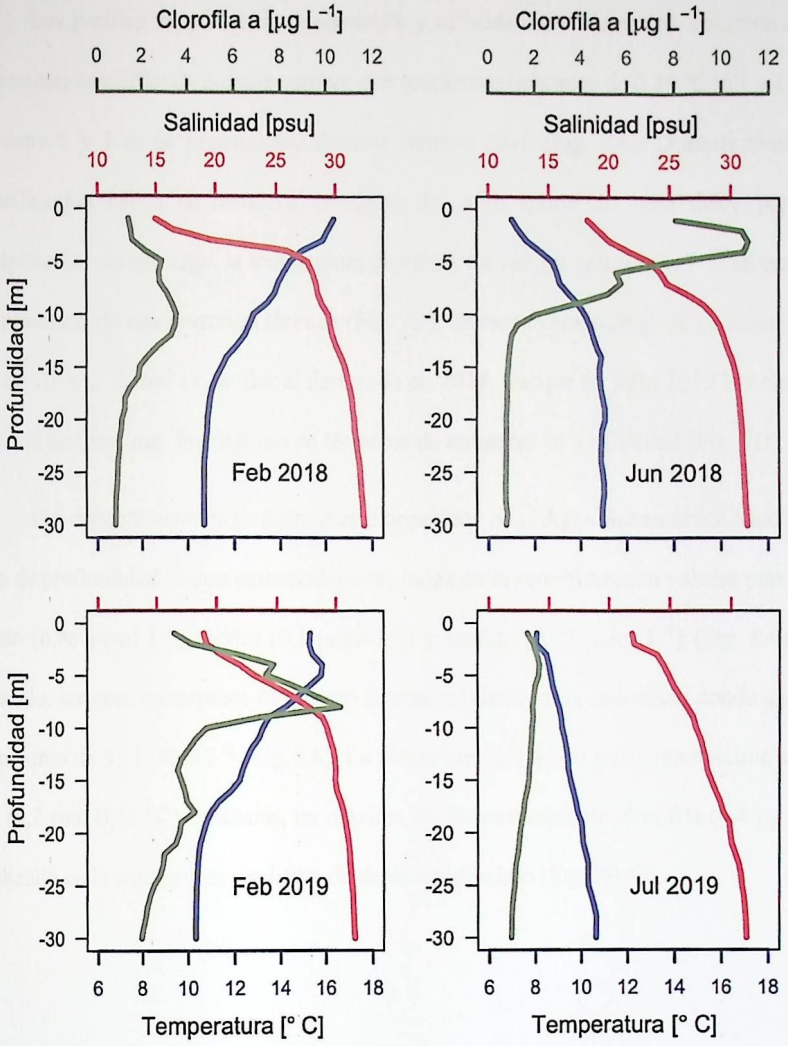


Figura 7. Distribución vertical de temperatura (azul), salinidad (roja) y clorofila *a* (verde) entre superficie y 30 m en la estación fija de muestreo en la cabecera del Seno Magdalena durante verano e invierno de 2018 (paneles superiores) y 2019 (paneles inferiores), respectivamente.

Los perfiles verticales de temperatura y salinidad mostraron una columna de agua fuertemente estratificada durante verano, con gradientes máximos de 0,49 °C m^{-1} y 1,64 g/kg m^{-1} entre 6 y 7 m de profundidad durante febrero 2018 (Fig. 7A). Durante invierno, la estratificación halina se mantuvo, producto del gran aporte de agua dulce por ríos y precipitación, sin embargo, la temperatura disminuyó a valores cercanos a 7 °C en superficie, con presencia de una inversión térmica (Fig. 7B). Durante verano (Fig. 7C) e invierno (Fig. 7D) de 2019 el patrón es similar al detectado en 2018, aunque en julio 2019 la columna de agua fue bastante más homogénea en términos de temperatura y salinidad (Fig. 7D).

Las concentraciones de nutrientes inorgánicos en el Agua Subantártica Modificada a 20 m de profundidad fueron extremadamente bajas en la superficie, con valores máximos de nitrato (0,86 µmol L^{-1}), nitrito (0,1 µmol L^{-1}) y fosfato (0,42 µmol L^{-1}) (Fig. 8A). Por el contrario, las concentraciones de silicato fueron máximas en la superficie donde se detectó un máximo de 5,11 µmol L^{-1} (Fig. 8A). La picnoclina mostró un gradiente máximo entre 8 y 9 m (2,2 psu; 0,33 °C). Mientras, un máximo de fluorescencia de clorofila (6,4 µg L^{-1}) fue localizado en la capa con el gradiente de densidad máximo (Fig. 8B-C).

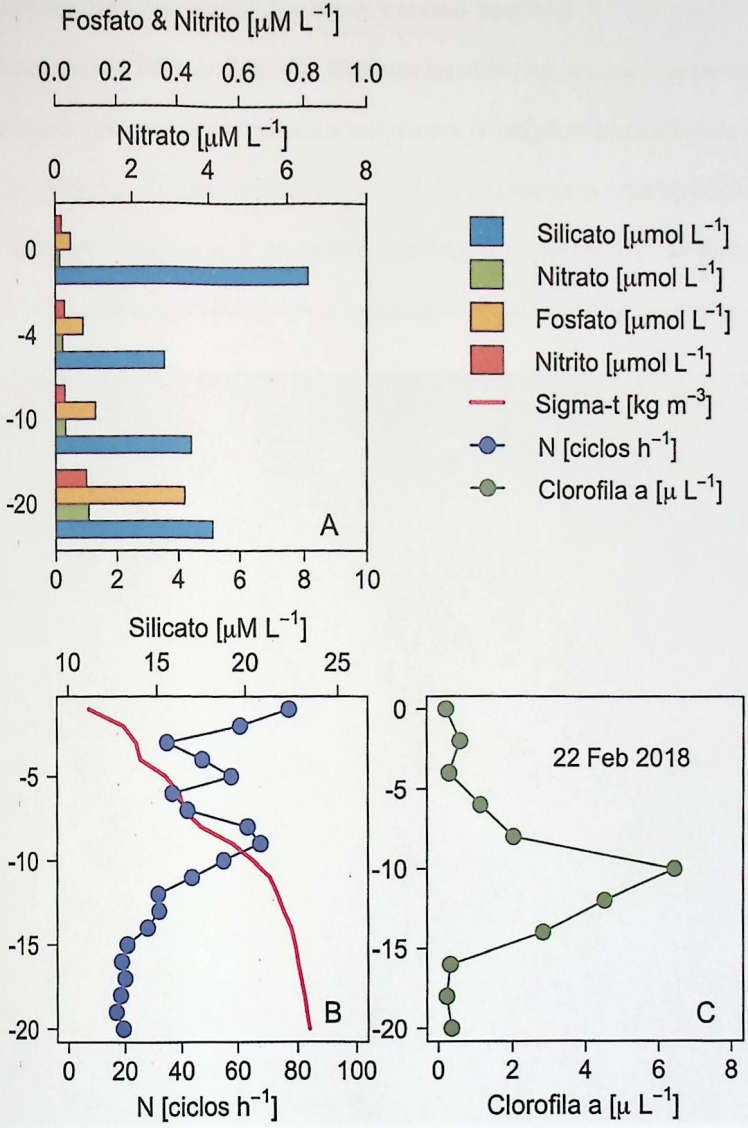


Figura 8. Distribución vertical (0-20 m) de: A) nutrientes disueltos (nitratos, nitritos, fosfatos y silicatos); B) Sigma-t (línea roja; kg m^{-3}) y frecuencia de Brunt-Väisälä (línea azul; ciclos h^{-1}); y C) clorofila *a* (µ L^{-1}) el 22 de febrero de 2018.

Patrones de variabilidad estacional de especies y toxinas lipofílicas

La comunidad fitoplanctónica fue dominada mayoritariamente por *Dinophysis acuta*, como se aprecia en la micrografía tomada a una muestra de red plancton recolectada el 22 de febrero de 2018 (Fig. 9). Los resultados evidenciaron una marcada estratificación termo-halina y densidades máximas de *D. acuta* detectadas bajo la picnoclina a 8 m de profundidad (Figs. 10-11). Esta densidad corresponde a la densidad máxima registrada a nivel mundial.

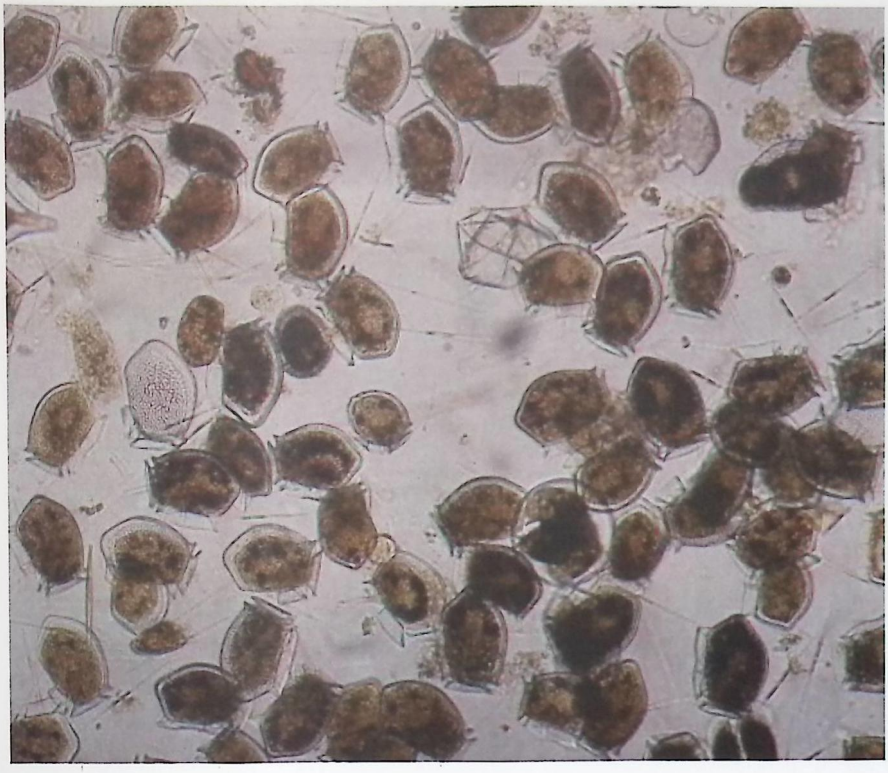


Figura 9. Micrografías de células de *Dinophysis acuta* obtenidas mediante arrastre vertical con red de plancton (20 μm) en febrero de 2018, durante una intensa floración de esta especie en la cabecera del Seno Magdalena, Región de Aysén.

Los resultados de los análisis fitoplanctónicos evidenciaron un marcado patrón estacional en las tres especies objetivo del presente estudio, *Dinophysis acuta*, *D. acuminata*, *Protoceratium reticulatum* (Fig. 10).

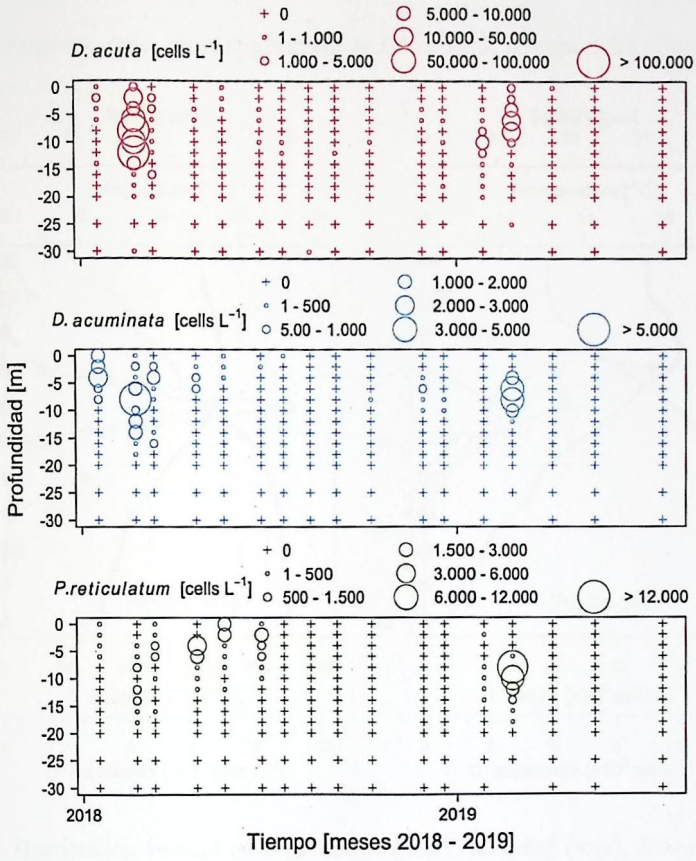


Figura 10. Distribución vertical (0-30 m) de células de especies productoras de toxinas lipofílicas registradas en una estación fija de la cabecera del Seno Magdalena, Región de Aysén, entre enero de 2018 y julio de 2019. *Dinophysis acuta* panel superior; *Dinophysis acuminata* panel central; *Protoceratium reticulatum* panel inferior.

Dinophysis acuta estuvo presente en capas finas subsuperficiales principalmente en verano, con un máximo celular de 452.000 y 35.800 células L^{-1} en febrero de 2018 y 2019, respectivamente. En ambos casos, asociados a un intenso gradiente de densidad máxima (6-8 m; Fig. 11). Mientras que, *D. acuminata* estuvo presente en densidades más bajas, con máximos de 6.600 células L^{-1} en 2018 y 4.400 células L^{-1} en 2019. Además, la presencia de *Mesodinium rubrum*, única presa confirmada de *Dinophysis*, no superó las 400 células L^{-1}.

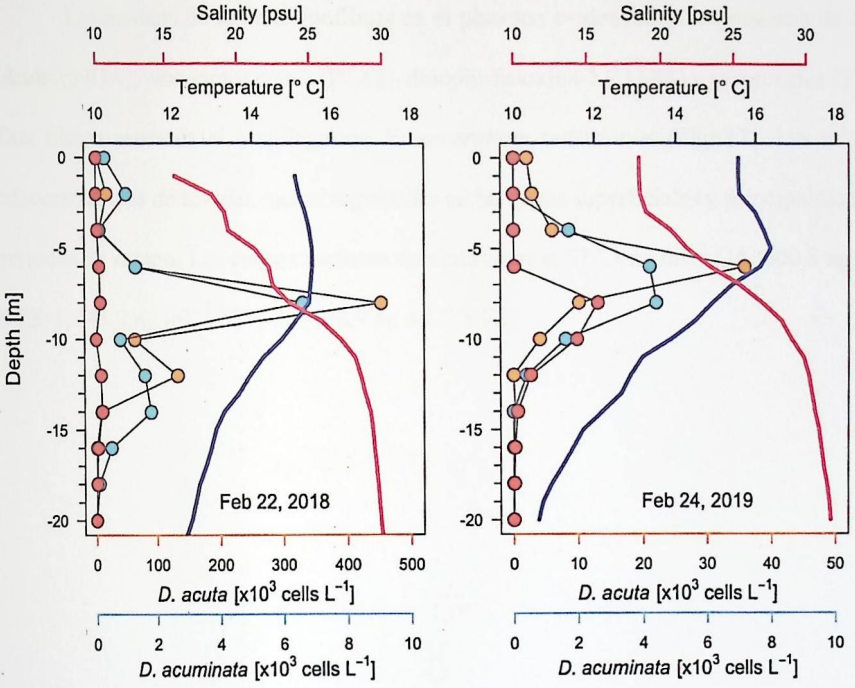


Figura 11. Distribución vertical de temperatura (azul), salinidad (roja), *Dinophysis acuta* (círculos amarillos), *D. acuminata* (círculos celestes) y *P. reticulatum* (círculos naranjos), entre superficie y 20 m en la estación fija localizada en la cabecera del Seno Magdalena durante en febrero de 2018 (panel izquierdo) y 2019 (panel derecho).

Protoceratium reticulatum estuvo presente durante ambos años de muestreo, aunque restringido principalmente al periodo de verano. Durante 2018, se registró principalmente en la capa superficial (0-6 m) sin superar las 3.500 células L^{-1}, mientras que, durante el verano de 2019, estuvo restringido a capas subsuperficiales de 8-10 m alcanzando las 13.100 células L^{-1} (Figs. 10-11). En cuanto a *M. rubrum*, este ciliado presentó densidades bajas, sin superar las 400 células L^{-1}.

Los análisis de toxinas lipofílicas en el plancton evidenciaron la presencia de ácido okadaico (OA), pextenotoxinas-2 (PTX2), dinophysistoxina-1 (DTX1) y yesotoxinas (YTX). Esta última asociada al dinoflagelado *Protoceratium reticulatum* (Fig. 12). Las mayores concentraciones de toxinas fueron registradas en las capas superficiales y principalmente en periodos de verano. Las concentraciones máximas fueron 577,3 ng mL^{-1} OA, 600,8 ng mL^{-1} DTX-1, 541,9 ng mL^{-1} PTX-2, 1408,9 ng mL^{-1} YTX.

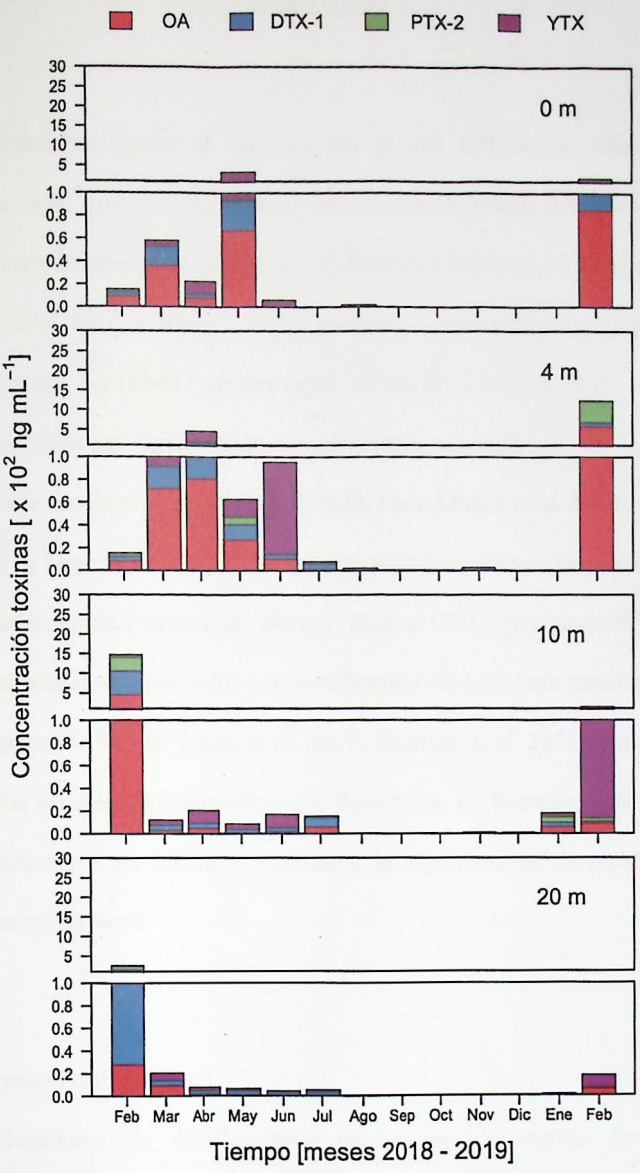


Figura 12. Distribución vertical de toxinas lipofílicas (OA, DTX-1, PTX-2, YTX) en muestras de aguas colectadas en cuatro estratos de profundidad (0,4,10 y 20 m) en la estación fija localizada en la cabecera del Seno Magdalena entre febrero 2018 y febrero 2019.

DISCUSIÓN

Las floraciones algales de especies del género *Dinophysis*, como la de otros dinoflagelados, son eventos estacionales estrechamente relacionados con parámetros fisicoquímicos e hidroclimáticos que actúan a diferentes escalas espaciotemporales (Díaz *et al.* 2013, Díaz *et al.* 2016, GEOHAB 2005). Procesos climáticos de largo término como El Niño Oscilación del Sur (ENSO por sus siglas en inglés) o bien el Modo Anular del Sur (SAM por sus siglas en inglés) están estrechamente relacionados con la ocurrencia e intensidad de este tipo de eventos (Díaz *et al.* 2021, León-Muñoz *et al.* 2018). De esta forma, la variabilidad de largo termino (macro-escala) modula los procesos de meso- (variabilidad estacional) y microescala (variabilidad diurna) (Dickey 1991), generando diferentes nichos ecológicos que pueden ser explotados por las diferentes especies para proliferar, como es el caso de *Dinophysis* (Alves de Souza *et al.* 2019, Baldrich *et al.* 2021). En este trabajo se identificaron las variables hidroclimáticas que determinan las floraciones de las principales microalgas productoras de toxinas lipofílicas y la superposición de nicho en el fiordo Puyuhuapi, Patagonia Norte.

Patrones de variabilidad estacional

Las floraciones de dinoflagelados productores de toxinas lipofílicas como *Dinophysis*, principalmente *Dinophysis acuta* y *D. acuminata,* así como también, *P. reticulatum* en altas densidades han sido reportadas con anterioridad por otros estudios, particularmente en los meses de verano en los fiordos del sur de Chile (Alves de Souza *et al.*

2014, Baldrich *et al.* 2021, Díaz *et al.* 2021); formando capas finas (Dekshenieks *et al.* 2001) por encima o en la base de la picnoclina (Alves de Souza *et al.* 2019, Díaz *et al.* 2021). En febrero de 2018 se desarrolló una intensa floración de *Dinophysis*, en la cual dos especies de este género; *D. acuminata* y *D. acuta*, en conjunto con *Protoceratium reticulatum* coexistieron durante los meses de verano (Díaz *et al.* 2021). Sin embargo, a pesar de la coexistencia espaciotemporal. *D. acuta* fue la especie que proliferó mayoritariamente con densidades excepcionalmente altas ya mencionadas, nunca registradas a nivel mundial para esta especie (Fig. 11).

La variabilidad estacional de *Dinophysis* es influenciada por factores bióticos y abióticos, siendo estos últimos determinantes. La estratificación por temperatura favorece la alta densidad y acumulación de *Dinophysis* spp (Delmas *et al.* 1992). Durante el periodo de estudio se presentaron condiciones climáticas anómalas (régimen pluvial y SAM positivo) registradas en toda la Patagonia Noroccidental (centrado en la región de Aysén) durante primavera de 2017 y verano de 2018, caracterizado por aumentos de temperatura y disminución en la precipitación (Fig. 5). Así, durante el mes de febrero 2018 las bajas precipitaciones (<100mm) afectaron a gran parte de la Patagonia Norte y en particular el fiordo Puyuhuapi, mientras que durante marzo la presencia de un sistema frontal permanente generó precipitaciones sobre lo normal (>100mm). Ambos factores, fueron los responsables del inicio, mantención y declive de la floración de *Dinophysis*, particularmente *D. acuta*, durante verano de 2018 en fiordo Puyuhuapi. Estas anomalías vienen ocurriendo con mayor frecuencia en los últimos años, como ejemplo es el año 2016 que en febrero las bajas

precipitaciones afectaron al fiordo Puyuhuapi y a lo largo de Chile (Aguayo *et al.* 2019; Díaz *et al.* 2021, Garreaud 2018).

Las anomalías climáticas, como las registradas durante el periodo de estudio del presente trabajo, generan condiciones óptimas para el desarrollo de poblaciones fitoplanctónicas, entre ellas especies formadoras de floraciones algales nocivas. Los potenciales impactos de la variabilidad climática sobre las fluctuaciones multidecadales en la composición y abundancia de los diferentes grupos funcionales y niveles tróficos ha recibido gran atención en las últimas décadas ante la amenaza del cambio climático y el calentamiento global (Edwards & Richardson 2004). De esta forma, las variaciones climáticas de largo término en algunas especies fitoplanctónicas han sido asociadas con eventos oceanográficos anómalos que ocurren periódicamente sobre escalas de tiempo decadal (Edwards *et al.* 2002). La gran diversidad de respuestas que pueden presentar las especies FAN frente a determinadas condiciones ambientales, distintas incluso entre especies del mismo género (Escalera *et al.* 2006), hace que la predicción de los impactos del cambio climático global sobre este tipo de especies sea muy compleja. En este sentido, Hallegraeff (2010) sugirió algunas respuestas que se pueden esperar frente al escenario del cambio climático global y plantea la hipótesis de que algunas especies de FAN pueden llegar a ser más competitivas, mientras que otras pueden disminuir considerablemente en áreas donde generalmente son recurrentes, es decir, que habrá "ganadores" y "perdedores".

La variación estacional de *P. reticulatum* fluctuó en función de los gradientes de temperatura, principalmente a fines del verano y otoño. Respecto a esto, algunos autores han propuesto a través de experimentos de laboratorio que esta especie estaría restringida a

temperaturas superficiales entre 16°C y 18°C (Paz *et al.* 2006, Röder *et al.* 2012). Esto difiere con lo observado durante el presente estudio ya que se registraron temperaturas dentro del rango sugerido, sin gran presencia de *P. reticulatum*. Esto es contrastado por las densidades máximas registradas en temperaturas más bajas, entre los 12°C y 14 °C, en la capa subsuperficial de 8-10 m (Figs. 7-11) fuera del rango sugerido.

La variabilidad estacional de estas especies está estrechamente relacionada con las condiciones hidroclimáticas presentadas en febrero de 2018, el cual fue anormalmente más seco e influenciado por una Niña moderada (fase fría del ENOS) y un SAM positivo, un factor abiótico que pudo marcar el desface en la densidad máxima de *P. reticulatum* como el desplazamiento de la termoclina, influenciada por la a la entrada de agua dulce al sistema. Así, en febrero 2018 *P. reticulatum* alcanzó una densidad máxima de 1.000 células L^{-1} a los 14 m de profundidad, con una temperatura de 11,7 °C, mientras en abril fue de 3.500 células L^{-1} su máxima densidad en 2018. Esta densidad fue registrada a 4 m con una temperatura de 11,6 °C. Esta segregación espaciotemporal de las tres especies estudiadas responde a parámetros específicos del nicho de cada una ellas (Alves de Souza *et al.* 2019, Baldrich *et al.* 2021). Esto se corrobora con los datos obtenidos el 22 de febrero de 2018 en los cuales la densidad de *D. acuta* es mayor a la de *D. acuminata* y *P. reticulatum* ya que generalmente aparece a fines del verano cuando la termoclina es más profunda y tiene una temporada de crecimiento más corta (Moita *et al.* 2006, Reguera *et al.* 1995). Además, *D. acuminata* está asociada a un bajo caudal y tiende a agregarse en estrechas capas superficiales (Alves de Souza *et al.* 2014, Baldrich *et al.* 2021, Díaz *et al.* 2019).

Los resultados del presente trabajo siguieren que las tres especies estudiadas comparten un mismo nicho fundamental, no así el nicho realizado, ya que respondieron de forma distinta a las condiciones ambientales a pesar de que su distribución espacial y temporal fueran muy similares. Esto, a diferencia de lo que propone Hutchinson (1957) en donde el nicho realizado de dos especies determinadas (ej. *Dinophysis*) difiere no solo en su respuesta a las mismas variables ambientales y biológicas, sino que también es su distribución espacial y temporal. Como se mencionó antes, ambas especies de *Dinophysis* compartieron una distribución espaciotemporal similar. Baldrich *et al.* (2021) también afirma que *D. acuminata* puede proliferar coexistiendo con *D. acuta*, pero sus nichos están segregados verticalmente lo que se correlaciona con lo observado en este trabajo. De esta forma, una superposición de nicho donde ambas especies coexistieron en las distintas estacionalidades de forma muy similar fue claramente observada.

La temperatura y la salinidad registradas durante febrero, dentro de los primeros 10 m de profundidad fueron factores claves en la distribución vertical de las especies productoras de toxinas lipofílicas (Fig. 10). Lo anterior, genera que las densidades de cada especie aumenten en profundidades distintas según el gradiente termohalino, a pesar de que autores como Cassis *et al.* (2002) y Lembeye *et al.* (1993) propusieron que *D. acuta* pudiera estar restringida a masas de agua de baja salinidad en el sur de Chile (<26 psu). Sin embargo, las mayores densidades celulares se registraron con salinidades más altas a lo sugerido previamente (>28 psu).

Efectos de factores bióticos: Disponibilidad de presas

Referente a los factores bióticos, se ha descrito que las especies del género *Dinophysis* son mixótrofos obligados que requieren presas vivas (ciliado *Mesodinium rubrum*), para poder obtener sus cloroplastos, denominados cleptoplastidos por la forma de obtenerlos (Hansen *et al.* 2013, Park *et al.* 2006). Sin embargo, *Dinophysis* puede estar sujeto a una limitación de presas la mayor parte del tiempo y las densidades máximas están precedidas o coexisten con altas densidades de *M. rubrum* (González-Gil *et al.* 2010, Velo-Suárez *et al.* 2014). En contraste con otros estudios en que la presencia de *Mesodinium* es factor precursor de floraciones, difiere de lo observado, debido a que la presencia de *M. rubrum* fue muy baja (200 células L^{-1}) en los primeros meses de 2018 en que *D. acuta* y *D. acuminata* proliferaron generando grandes densidades. *Mesodinium rubrum* no superó la densidad de 400 células L^{-1} en la columna de agua en 2018. Lo anterior, posiblemente sea explicado por la existencia de presas alternativas a *Mesodinium*, como ha sido sugerido en estudios previos (Reguera *et al.* 2012). En este sentido, Díaz *et al.* (2020) lograron determinar la existencia de presas alternativas que son utilizadas por diferentes especies de *Dinophysis* en el sur de Chile, entre ellas ciliados del género *Strombidium*.

Variabilidad en la toxicidad y perfil de toxinas

En cuanto al perfil toxicológico en el plancton se detectó la presencia de ácido okadaico (OA), dinophysistoxina-1 (DTX-1), pectenotoxina-2 (PTX-2) y yesotoxinas (YTX). Dentro de las cuales, las PTX-2 han sido identificadas como un componente dominante del perfil de toxinas en muestras de plancton en el norte y sur de Chile (Blanco *et*

al. 2007, Fux *et al.* 2011). Las concentraciones de toxinas detectadas son muy superiores a las reportadas en trabajos previos, desarrollados en otras partes del país. Las toxinas se concentraron mayormente en profundidades de 6 y 10 m, muy correlacionados con las profundidades donde se registraron las máximas densidades de *D. acuta* y *D. acuminata*. A pesar de todos los estudios desarrollados en Chile, aún existe desconocimiento sobre el perfil de toxinas de las diferentes especies productoras de toxinas lipofílicas.

En el caso de *D. acuminata* se le atribuye la producción de DTX1 y/o PTX2. Recientemente cultivos laboratorio de otro estudio sugieren la existencia de cepas con diferentes perfiles algunas productoras de PTX y otras con un perfil en el que incluyen la producción de ambas toxinas; DTX1 y PTX (Díaz *et al.* 2022). Muestras de cultivo también evidenciaron la producción únicamente de PTX2 y ausencia de OA (Fux *et al.* 2011). También se reportó la presencia de OA y PTX2 producida por *D. acuminata*, de la cual habría dos morfotipos distintos (Uribe *et al.* 2001). Díaz *et al.* (2022) destacan que *D. acuminata* estaría presente a lo largo de Chile, distinguiéndose entre cepas productoras únicamente de PTX2 en la costa norte y central de Chile y una mezcla de ambas cepas; productoras de PTX2 y productoras de PTX2 y OA, en la región de Los Lagos y Aysén, Patagonia Norte. La presencia de las cepas que producen solo PTX en la Patagonia ha sido demostrada recientemente por Paredes-Mella *et al.* (2021) en cultivos establecidos a partir de especímenes aislados de Los Lagos, Aysén y Magallanes. Dentro del género, *D. acuta* presenta la mayor amenaza en el sur de Chile. Las floraciones de esta siempre están asociadas con la presencia de OA y PTX en los mariscos y se a asociado a frentes de densidad en la desembocadura del Fiordo Aysén (Muñoz *et al.* 1992). *Protoceratium reticulatum*, productor

de YTX, ha sido detectada no sólo en Chile (Álvarez *et al.* 2011, Yasumoto & Takizawa 1997), sino que se ha reportado la presencia y su asociación con YTX en varias partes del mundo como España (Paz *et al.* 2004), Estados Unidos (Paz *et al.* 2007), Japón (Satake *et al.* 1997), Noruega (Ramstad *et al.* 2001), Groenlandia (Sala-Pérez *et al.* 2022), Italia (Ciminiello *et al.* 2003), Argentina (Akselman *et al.* 2015), entre otros. Es por esto también que el estudio tanto *Dinophysis* como *P. reticulatum* es tan preponderante, ya que el perfil toxicológico que puede presentar una floración de dinoflagelados productores de toxinas lipofílicas tiene directa implicancia a la salud humana y la economía de la industria acuícola. Sumado a esto, evidencias reciente sobre la capacidad de la YTX de producir mortalidades masivas de invertebrados en el norte de Chile (Álvarez *et al.* 2020), hace muy necesario profundizar en el estudio de esta especie.

CONCLUSIONES

La variabilidad estacional de *Dinophysis acuta* y *D. acuminata* está definida por la estratificación termohalina, mientras la variabilidad estacional de *P. reticulatum* tiene directa relación con la temperatura superficial. Esto a su vez, es responsable de que las densidades celulares registradas se correspondan al perfil toxicológico. La superposición de nicho fundamental fue establecida por variables abióticas, que podemos parametrizar en las siguientes variables, la estratificación termohalina, que como se mencionó anteriormente son a su vez influenciadas por las entradas de agua dulce al sistema y los gradientes de densidad,

siendo el rango temperatura óptimo entre los 11°C y 14°C, que fue el rango en que *Dinophysis* registró sus mayores densidades, acompañado de un estrecho rango de salinidad; 28-29 psu. La escasa presencia de *Mesodinium rubrum* durante el periodo de estudio, que contrasta significativamente con las densidades excepcionalmente altas de *Dinophysis*, sugieren la existencia de presas alternativas, como ya fue descrito previamente para esta zona del país. De esta forma, el desarrollo de una floración de *D. acuta* y/o *D. acuminata* no está limitada por la presencia de *M. rubrum* como factor biótico. Estas especies a su vez se asocian directamente al perfil toxicológico registrado, dominado principalmente por OA, DTX-1 y PTX-2. En el caso de la presencia de YTX fue explicado por la presencia de *P. reticulatum*. Finalmente, es importante enfatizar la importancia de continuar con este tipo de estudios, considerando los impactos socioeconómicos y ecológicos que generan a nivel nacional. Dada la naturaleza de estos eventos, y su escala es compleja su predicción, pero un constante monitoreo de las áreas más vulnerables puede ayudar a contar con mejores y mayores herramientas de manejo, a fin de poder mitigar y/o reducir los impactos.

LITERATURA CITADA

Aguayo R, J León-Muñoz, J Vargas-Baecheler, A Montecinos, R Garreaud, M Urbina, D Soto & JL Iriarte. 2019. The glass half-empty: climate change drives lower freshwater input in the coastal system of the Chilean Northern Patagonia. Climatic Change: doi:10.1007/s10584-10019-02495-10586

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

Álvarez G, J Rengel, F Álvarez, R Pino, P Muñoz, S Rosales, V Hevia, M Araya, PA Díaz, A Rivera & J Blanco. 2020. Mass mortality of marine invertebrates associated by the presence of yessotoxins in northern Chile. Harmful Algae News 64: 6-7.

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

Alves de Souza C, JL Iriarte & JI Mardones. 2019. Interannual variability of *Dinophysis acuminata* and *Protoceratium reticulatum* in a Chilean fjord: Insights from the realized niche analysis. Toxins 11(1): 19.

Alves de Souza C, D Varela, C Contreras, P de la Iglesia, P Fernández, B Hipp, C Hernández, P Riobó, B Reguera, JM Franco, J Diogene, C García & N Lagos. 2014. Seasonal variability of *Dinophysis* spp. and *Protoceratium reticulatum*

associated to lipophilic shellfish toxins in a strongly stratified Chilean fjord. Deep Sea Research II 101: 152-162.

Armstrong M & R Kudela. 2006. Evaluation of California isolates of *Lingulodinium polyedrum* for the production of yessotoxin. African Journal of Marine Science 28(2): 399-401.

Anderson DM, T Alpermann, AD Cembella, Y Collos, E Masseret & M Montesori. 2012. The globally distributed genus *Alexandrium*: multifaceted roles in marine ecosystems and impacts on human health. Harmful Algae 14: 10-35.

Anderson DM, PM Glibert & JM Burkholder. 2002. Harmful algal blooms and eutrophication: nutrient sources, composition, and consequences. Estuaries 25(4): 704-726.

Baldrich A, I Pérez-Santos, G Álvarez, B Reguera, C Fernández-Pena, C Rodríguez-Villegas, M Araya, F Álvarez, F Barrera, S Karasiewicz & PA Díaz. 2021. Niche differentiation of *Dinophysis acuta* and *D. acuminata* in a stratified fjord. Harmful Algae 103: 102010.

Blanco J. 2018. Accumulation of *Dinophysis* toxins in bivalve molluscs. Toxins 10(11): 453.

Blanco J, G Álvarez & E Uribe. 2007. Identification of pectenotoxins in plankton, filter feeders, and isolated cells of a *Dinophysis acuminata* with an atypical toxin profile, from Chile. Toxicon 49: 710-716.

Cáceres M & A Valle-Levinson. 2004. Transverse variability of flow on both sides of a sill/contraction combination in a fjord-like inlet of southern Chile. Estuarine, Coastal and Shelf Science 60: 325-338.

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

Campo Zaldívar M. 2014. Toxinas del veneno diarreico de mariscos favorecen un ambiente tumorigénico en células gástricas epiteliales. Tesis doctoral, Facultad de Ciencias Quimicas y Farmaceuticas, Universidad de Chile, Santiago, 95pp.

Cassis D, S Avaria & P Muñoz. 2002. Ciclo anual del fitoplancton y floraciones de algas nocivas entre 1993 y 1998 en una estación fija del Seno Aysén, XI Región (45°26'S ; 73°W). Universidad de Valparaíso, Vaparaíso.

Ciminiello P, C Dell'Aversano, E Fattorusso, M Forino, S Magno, F Guerrini & L Boni. 2003. Complex yessotoxins profile in *Protoceratium reticulatum* from north-western Adriatic sea revealed by LC–MS analysis. Toxicon 42(1): 7-14.

Dekshenieks M, P Donaghay, J Sullivan, J Rines, T Osborn & M Twardowski. 2001. Temporal and spatial occurrence of thin phytoplankton layers in relation to physical processes. Marine Ecology Progress Series 223: 61-71.

Delmas D, A Herbland & S Maestrini. 1992. Environmental conditions which lead to increase in cell density of the toxic dinoflagellates *Dinophysis* spp. in nutrient-rich and nutrient-poor waters of the French Atlantic coast. Marine Ecology Progress Series 89: 53-61.

Díaz P, C Molinet, M Cáceres & A Valle-Levinson. 2011. Seasonal and intratidal distribution of *Dinophysis* spp in a Chilean fjord. Harmful Algae 10(2): 155-164.

Díaz PA, A Álvarez, D Varela, I Pérez-Santos, M Díaz, C Molinet, M Seguel, A Aguilera-Belmonte, L Guzmán, E Uribe, J Rengel, C Hernández, C Segura &

RI Figueroa. 2019. Impacts of harmful algal blooms on the aquaculture industry: Chile as a case study. Perspectives in Phycology 6(1-2): 39-50.

Díaz PA, G Álvarez, G Pizarro, J Blanco & B Reguera. 2022. Lipophilic toxins in Chile: History, producers and impacts. Marine Drugs 20 (2): 122.

Díaz PA, C Fernández-Pena, I Pérez-Santos, A Baldrich, M Díaz & F Rodríguez. 2020. *Dinophysis* Ehrenberg (Dinophyceae) in Southern Chile harbours red cryptophyte plastids from *Rhodomonas/Storeatula* clade. Harmful Algae 99: 101907.

Díaz PA, I Pérez-Santos, G Álvarez, R Garreaud, E Pinilla, M Díaz, A Sandoval, M Araya, F Álvarez, J Rengel, P Montero, G Pizarro, L López, L Iriarte, G Igor & B Reguera. 2021. Multiscale physical background to an exceptional harmful algal bloom of *Dinophysis acuta* in a fjord system. Science of the Total Environment 773: 145621.

Díaz PA, B Reguera, M Ruiz-Villarreal, Y Pazos, L Velo-Suárez, H Berger & M Sourisseau. 2013. Climate variability and oceanographic settings associated with interannual variability in the initiation of *Dinophysis acuminata* blooms. Marine Drugs 11(8): 2964-2981.

Díaz PA, M Ruiz-Villarreal, Y Pazos, MT Moita & B Reguera. 2016. Climate variability and *Dinophysis acuta* blooms in an upwelling system. Harmful Algae 53: 145-159.

Dickey TD. 1991. The emergence of concurrent high resolution physical and bio-optical measurements in the upper ocean and their applications. Reviews of Geophysics 29(3): 383-413.

Draisci R, E Ferretti, L Palleschi, C Marchiafava, R Poletti, A Milandri & M Pompei. 1999. High levels of yessotoxin in mussels and presence of yessotoxin and homoyessotoxin in dinoflagellates of the Adriatic Sea. Toxicon 37(8): 1187-1193.

Edwards M, G Beaugrand, PC Reid, AA Rowden & MB Jones. 2002. Ocean climate anomalies and the ecology of the North Sea. Marine Ecology Progress Series 239: 1-10.

Edwards M, DG Johns, SC Leterme, E Svendsen & AJ Richardson. 2006. Regional climate change and harmful algal blooms in the northeast Atlantic. Limnology and Oceanography 51(2): 820–829.

Edwards M & AJ Richardson. 2004. Impact of climate change on marine pelagic phenology and trophic mismatch. Nature 430: 881-884.

Escalera L, B Reguera, Y Pazos, A Moroño & JM Cabanas. 2006. Are different species of *Dinophysis* selected by climatological conditions? African Journal of Marine Science 28(2): 283-288.

Fujiki H, M Suganuma, H Suguri, S Yoshizawa, K Takagi, T Sassa, N Uda, K Wakamatsu, K Yamada, T Yasumoto, Y Kato, N Fusetani, K Hashimoto & T Sugimura. 1988. New tumor promoters from marine sources: The okadaic class, In: Natori A, T Hashimoto & Y Ueno (Eds.), Mycotoxins and Phytotoxins. Elsevier Science Publishers B.V. Amstermdam, The Netherlands, pp. 453-460.

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

Gaillard S, N Le Goïc, F Malo, M Boulais, C Fabioux, L Zaccagnini, L Carpentier, M Sibat, D Réveillon, V Séchet, P Hess & H Hégaret. 2020. Cultures of *Dinophysis sacculus*, *D. acuminata* and pectenotoxin 2 affect gametes and fertilization success of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. Environmental Pollution 265: 114840.

Garreaud R. 2018. Record-breaking climate anomalies lead to severe drought and environmental disruption in western Patagonia in 2016. Climate Research 74: 217-229.

Gentien P, M Lunven, M Lehaitre & JL Duvent. 1995. In situ depth profiling of particles sizes. Deep Sea Research I 42: 1297-1312.

GEOHAB. 2005. Global Ecology and Oceanography of Harmful Algal Blooms, In: Pitcher G, T Moita, V Trainer, R Kudela, F Figueiras & T Probyn (Eds.), IOC and SCOR, GEOHAB Core Research Project: HABs in Upwelling Systems. 88, Paris and Baltimore.

González-Gil S, L Velo-Suárez, P Gentien, I Ramilo & R Reguera. 2010. Phytoplankton assemblages and characterization of a *Dinophysis acuminata* population during an upwelling-downwelling cycle. Aquatic Microbial Ecology 58: 273 - 286.

Guzmán L & I Campodónico. 1975. Marea roja en la región de Magallanes. Publicaciones del Instituto de la Patatagonia, Series Monopgráficas 9: 3-44.

Hallegraeff G. 2010. Ocean climate change, phytoplankton community responses, and harmful algal blooms: A formidable predictive challenge. Journal of Phycology 46(2): 220-235.

Hallegraeff G, DM Anderson & AD Cembella. 2003. Manual on Harmful Marine Microalgae. Monographs on Oceanographic Methodology. UNESCO Publishing.

Hansen PJ, LT Nielsen, M Johnson, T Berge & KR Flynn. 2013. Acquired phototrophy in *Mesodinium* and *Dinophysis* - A review of cellular organization, prey selectivity, nutrient uptake and bioenergetics. Harmful Algae 28: 126-139.

Hutchinson GE. 1957. Population studies-animal ecology and demography-concluding remarks. En: Bungtown RD (ed). In Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology 22: 415-427. Cold Spring Harbor Lab Press, Nueva York.

Kattner G & H Becker. 1991. Nutrients and organic nitrogenous compounds in the marginal ice zone of the Fram Strait. Journal of Marine System 2: 385-394.

Katz J, PL Donaghay, J Zhang, S King & K Russell. 1999. Submersible holocamera for detection of particle characteristics and motions in the ocean. Deep Sea Research I 46: 1455-1481.

Lauria ML, D Purdie & J Sharples. 1999. Contrasting phytoplankton distributions controlled by tidal turbulence in an estuary. Journal of Marine Systems 21(1-4): 189-197.

Lembeye G, T Yasumoto, J Zhao & R Fernández. 1993. DSP outbreak in Chilean fjords, In: Smayda TJ & Y Shimizu (Eds.), Toxic Phytoplankton Blooms in the Sea, Elsevier, Ámsterdam, pp. 525-529.

León-Muñoz J, MA Urbina, R Garreaud & JL Iriarte. 2018. Hydroclimatic conditions trigger record harmful algal bloom in western Patagonia (summer 2016). Scientific Reports 8: 1330.

Lovegrove T. 1960. An improved form of sedimentation apparatus for use with an inverted microscope. Journal du Conseil Permanent International pour l'Exploration de la Mer 25(3): 279-284.

Lundholm N. 2012. IOC-UNESCO Taxonomic Reference List of Harmful Micro Algae. Available online at http://www.marinespecies.org/HAB (accessed 15 February 2013).

MacKenzie L, P Truman, M Satake, T Yasumoto, J Adamson, D Mountfort & D White. 1998. Dinoflagellate blooms and associated DSP-toxicity in shellfish in New Zealand, In: Reguera B, J Blanco, ML Fernández & T Wyatt (Eds.), Harmful Algae. Xunta de Galicia and Intergovermental Oceanographic Commission of UNESCO, pp. 74-77.

Margalef R. 1978. Life forms of phytoplankton as survival alternatives in an unstable environment. Oceanologica Acta 1: 493-509.

Margalef R, M Estrada & D Blasco. 1979. Functional morphology of organisms involved in red tides, as adapted to decaying turbulence In: Taylor D & H Seliger (Eds.), Toxic Dinoflagellate Blooms. Elsevier, New York, pp. 89-94.

Moestrup Ø, R Akselman, G Cronberg, M Elbraechter, S Fraga, Y Halim, G Hansen, M Hoppenrath, J Larsen, N Lundholm, LN Nguyen & A Zingone. 2009. IOC-UNESCO Taxonomic Reference List of Harmful Micro Algae. Accessed at http://www.marinespecies.org/hab on 2015-04-20

Moita MT, L Sobrinho-Goncalves, PB Oliveira, S Palma & M Falcao. 2006. A bloom of *Dinophysis acuta* in a thin layer off North-West Portugal. African Journal of Marine Science 28(2): 1-5.

Muñoz P, S Avaria, H Sievers & R Prado. 1992. Presencia de dinoflagelados toxicos del genero *Dinophysis* en el seno Aysén, Chile. Revista de Biologia Marina 27(2): 187-212.

Murata M, M Kumagai, JS Lee & T Yasumoto. 1987. Isolation and structure of yessotoxin, a novel polyether compound implicated in diarrhetic shellfish poisoning. Tetrahedron Letters 28: 5869–5872.

Pantoja S, JL Iriarte & G Daneri. 2011. Oceanography of the Chilean Patagonia. Continental Shelf Research 31: 149-153.

Paredes-Mella J, J Mardones, L NorambuEna, G Fuenzalida & S Nagai. 2021. First culture of *Dinophysis acuminata* from southern Chile: Ecophysiology, toxin production and phylogeny. The 19th International Conference on Harmful Algae. 10 - 15 October 2021, La Paz, Mexico. Abstract Book, p. 161.

Park M, S Kim, H Kim, G Myung, Y Kang & W Yih. 2006. First successful culture of the marine dinoflagellate *Dinophysis acuminata*. Aquatic Microbial Ecology 45: 101-106.

Parsons TR, Y Maita & CM Lalli. 1984. A manual of chemical and biological methods for seawater analysis. Pergamon Press, Oxford.

Paz B, P Riobó, M Fernández, S Fraga & J Franco. 2004. Production and release of yessotoxins by the dinoflagellates *Protoceratium reticulatum* and *Lingulodinium polyedrum* in culture. Toxicon 44: 251-258.

Paz B, P Riobó , I Ramillo & JM Franco. 2007. Yessotoxins profile in strains of *Protoceratium reticulatum* from Spain and USA. Toxicon 50: 1-17.

Paz B, JA Vázquez, P Riobó & JM Franco. 2006. Study of the effect of temperature, irradiance and salinity on growth and yessotoxin production by the dinoflagellate *Protoceratium reticulatum* in culture by using a kinetic and factorial approach. Marine Environment Research 62: 286–300.

Pickard GL. 1971. Some physical oceanographic features of inlets of Chile. Journal of Fisheries Research Board of Canada 28: 1077-1106.

Pitcher GC, CJ Foord, BM Macey, L Mansfield, A Mouton, ME Smith, SJ Osmond & L van der Molen. 2019. Devastating farmed abalone mortalities attributed to yessotoxin-producing dinoflagellates. Harmful Algae 81: 30-41.

Pizarro G, F Arévalo, A Moroño, P Riobó, J Franco, C Zamora & L Guzmán. 2014. Emergent lipophiclic toxins in the Magellan region (47-55 °S), Chile. The 16th International Conference on Harmful Algae. 27 October - 1 November 2014, Wellington, New Zealand. Abstract Book, p. 124.

Prado RF & JS Castro. 2008. Aporte fluvial y pluvial de nitrógeno y fósforo al fiordo Aysén y canales Jacaf-Ventisquero-Puyuhuapi. Ciencia y Tecnología del Mar 31(2): 75-95.

R Development Core Team. 2018. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL http://www.r-project.org/.

Ramstad H, JL Shen, S Larsen & T Aune. 2001. The validity of two HPLC methods and a colorimetric PP2A assay related to the mouse bioassay in quantification of diarrhetic toxins in blue mussels (*Mytilus edulis*). Toxicon 39: 1387-1391.

Regueiro J, A Rossignoli, G Álvarez & J Blanco. 2011. Automated on-line solid-phase extraction coupled to liquid chromatography–tandem mass spectrometry for determination of lipophilic marine toxins in shellfish. Food Chemistry 129: 533-540.

Reguera B. 2003. Biología, Autoecología y toxinología de las principales especies del genero *Dinophysis* asociadas a episodios de intoxicación diarreogénica por bivalvos (DSP) Departamento de Ecología, Universidad de Barcelona, p. 298.

Reguera B, I Bravo & S Fraga. 1995. Autoecology and some life history stages of *Dinophysis acuta* Ehrenberg. Journal of Plankton Research 17(5): 999-1015.

Reguera B, P Riobó, F Rodríguez, PA Díaz, G Pizarro, B Paz, JM Franco & J Blanco. 2014. *Dinophysis* toxins: causative organisms, distribution and fate in shellfish. Marine Drugs 12(1): 394-461.

Reguera B, L Velo-Suárez, R Raine & M Park. 2012. Harmful *Dinophysis* species: A review. Harmful Algae 14: 87-106.

Röder K, FM Hantzsche, C Gebühr, C Miene, T Helbig, B Krock, M Hoppenrath, B Luckas, G Gerdts & C Harding. 2012. Effects of salinity, temperature and nutrients on growth, cellular characteristics and yessotoxin production of *Protoceratium reticulatum*. Harmful Algae 15: 29-70.

Rountos K, J Kim, T Hattenrath-Lehmann & CJ Gobler. 2019. Effects of the harmful algae, *Alexandrium catenella* and *Dinophysis acuminata*, on the survival, growth, and swimming activity of early life stages of forage fish. Marine Environment Research 148: 46-56.

Sala-Pérez M, TJ Alpermann, B Krock & U Tillmann. 2022. Growth and bioactive secondary metabolites of arctic *Protoceratium reticulatum* (Dinophyceae). Harmful Algae 55: 85-96.

Satake M, L MacKenzie & T Yasumoto. 1997. Identification of *Protoceratium reticulatum* as the biogenetic origin of yessotoxin. Natural Toxins 5(4): 164-167.

Sauter T. 2020. Revisiting extreme precipitation amounts over southern South America and implications for the Patagonian Icefields. Hydrology and Earth System Sciences 24: 203-2016.