



UNIVERSIDAD DE LOS LAGOS

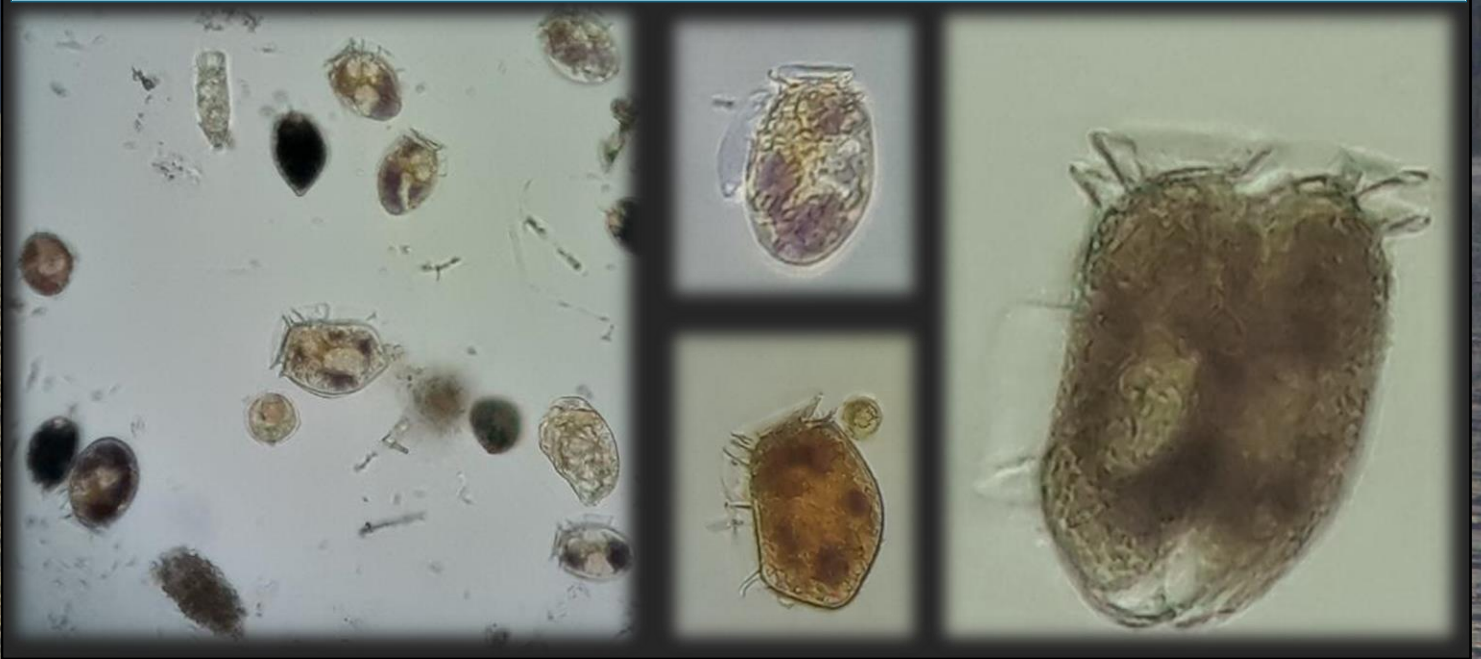
VICERRECTORÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSTGRADO
ESCUELA DE POSTGRADO

**PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS, MENCIÓN
CONSERVACION Y MANEJO DE RECURSOS NATURALES**

TESIS DOCTORAL



*PRINCIPALES EJES DE NICHOS ECOLÓGICOS DE POBLACIONES DE DINOPHYCITES SPP.
EN LA REGIÓN SUR-AUSTRAL*



Por:

Ángela María Baldrich Chaparro

2022



UNIVERSIDAD DE LOS LAGOS

VICERRECTORÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSTGRADO
ESCUELA DE POSTGRADO

**PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS, MENCIÓN
CONSERVACIÓN Y MANEJO DE RECURSOS NATURALES**

PRINCIPALES EJES DE NICHO ECOLÓGICO DE POBLACIONES DE *DINOPHYSIS*
SPP. EN LA REGIÓN SUR-AUSTRAL

Tesis presentada a la Universidad de los Lagos como parte de los requisitos para optar al grado de Doctor en Ciencias, Mención Conservación y Manejo de Recursos Naturales.

Por:

Ángela María Baldrich Chaparro

Profesor Guía: Dr. Patricio Andrés Díaz Gómez

Profesor Co-Guía: Dr. Daniel Abraham Varela Zapata

Comisión de Tesis: Dra. Paulina Gebauer

Dr. Iván Pérez

Dr. Carlos Molinet

Julio, 2022

CONTENIDO GENERAL

CONTENIDO DE TABLAS	xiii
RESUMEN	xxi
ABSTRACT.....	xxiii
1. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
2. HIPÓTESIS.....	17
3. OBJETIVOS	18
<i>Chapter 1</i>	19
Niche differentiation of <i>Dinophysis acuta</i> and <i>D. acuminata</i> in a stratified fjord	19
Resumen.....	20
Supplementary Information	37
<i>Chapter 2</i>	42
Small-scale distribution of lipophilic toxin-producers <i>Dinophysis acuminata</i> and <i>D. acuta</i> in two stratified fjord systems: A realized niche approach.....	42
Resumen.....	43
Abstract	45
1. Introduction.....	46
2. Material and Methods	48
2.1. Study area	48
2.2. Field sampling.....	49
2.3. Nutrients.....	51
2.4. Phytoplankton analysis	51
2.5. Division rates	51
2.6. Lipophilic toxin analysis.....	52

2.6.1. Toxins sample extraction	52
2.6.2. Toxin detection and quantification	53
2.7. Niche analysis	54
3. Results.....	55
3.1. Vertical distribution of thermo-haline properties	55
3.2. Distribution of <i>Dinophysis acuminata</i> , <i>D. acuta</i> and <i>Mesodinium</i>	57
3.3. Distribution of other potential ciliate prey	57
3.4. Physiological status: in situ division rates and cellular toxin content	58
3.5. Niche analysis	59
4. Discussion	61
4.1. Oceanographic settings may filter <i>D. acuminata</i> / <i>D. acuta</i> dominance	62
4.2. Toxins diversity	63
4.3. Niche analysis	64
Conclusions.....	66
Acknowledgements.....	66
References.....	67
<i>Chapter 3</i>	86
Window of opportunity for <i>Dinophysis acuminata</i> in a fjord system: insights of its realized niche	86
Resumen.....	87
Abstract	89
1. Introduction	90
2. Materials and Methods	94
2.1. Study area	94
2.2. Field sampling	95

2.3. Nutrient and phytoplankton analyses.....	96
2.4. Data and niche analysis	96
3. Results.....	98
3.1. Meteorological and hydrographical conditions	98
3.2. Annual dynamic of <i>Dinophysis acuminata</i> and potential micro ciliate prey.....	100
3.3. Summer environmental conditions favouring <i>Dinophysis acuminata</i>	101
3.3.1. Niche analysis	101
4. Discussion.....	103
4.1. Environmental conditions and seasonal distribution of <i>D. acuminata</i>	103
4.1.2. Nutritional sources for <i>Dinophysis acuminata</i>	106
4.2. Summer window of opportunity for <i>Dinophysis acuminata</i>	108
Acknowledgments	109
References.....	110
Supplementary Information	126
Resultados no publicados: muestreos mensuales fiordo Puyuhuapi.....	127
<i>Chapter 4</i>	135
Seasonal distribution of <i>Dinophysis acuminata</i> in the Chiloé Inland Sea: Implications for the Chilean mussel aquaculture	135
Resumen.....	136
Abstract	138
1. Introduction.....	139
2. Materials and Methods	143
3. Results.....	144
4. Discussion.....	145
4.1. Spatio-temporal distribution of <i>Dinophysis acuminata</i>	145

4.2. Implications for management	148
Founding information	150
References.....	150
<i>Chapter 5</i>	161
Interannual variability in mesoscale distribution of <i>Dinophysis acuminata</i> and <i>D. acuta</i> in Northwestern Patagonian fjords	161
Resumen.....	162
Supplementary Information	176
4. DISCUSIÓN GENERAL.....	178
Referencias.....	190
5. CONCLUSIONES GENERALES.....	194
ANEXOS	196

CONTENIDO DE FIGURAS

Introducción, **Figura 1.** Esquema representativo (basado en Park et al., 2006) que describe la interacción trófica entre (a) *Dinophysis* spp.; (b) *Mesodinium* spp.; (c) *Teleaulax* spp.; (d) proceso de Mizocitosis a través del cual *Dinophysis* perfora al ciliado *Mesodinium* (única presa confirmada) y succiona su contenido mediante un pedúnculo de alimentación, “secuestrando” los plástidos que éste a su vez ha tomado del flagelado *Teleaulax*..... 6

Introducción, **Figura 2.** Adaptación del esquema propuesto por Escalera & Reguera (2008) de los pasos confirmados (línea continua) e hipotéticos (línea discontinua) del ciclo de vida de *Dinophysis* spp. (a) célula vegetativa desarrollada; (b) pareja de células dimórficas resultado de una división depauperante; (c) células pequeñas recientemente divididas; (d) pareja de células dimórficas que dan lugar a (e) células intermedias recientemente divididas. (La línea discontinua en b y en d, indica los bordes de las placas hipotecales maternas); (f) par de gametos anisógamos conectados por un tubo de acoplamiento en el área del poro flagelar; (g) engullimiento de la célula pequeña (gameto masculino) a través del cíngulo de la célula grande (gameto femenino) (aquí la célula pequeña conserva su núcleo); (h) planocigoto (2n) con dos flagelos longitudinales; (i) quiste sexual (2n) hipotético; (j) hipotética división meiótica; (k) tétrada; (l) dos células (n) formadas por división planocigótica..... 7

Chapter 2, **Figure 1.** Map of the study area showing (A) Chilean coastline (shaded box indicaes the Aysén region) and Patagonian channels and fjords (black boxes delimit Pitipalena (PIT) and Puyuhuapi (PUY) fjords; (B) PIT Fjord and (C) PUY Fjord with their main connections with the open sea, and freshwater sources (Palena and Cisnes River, respectively). The red and orange circles delimit the fixed sampling station in Pitipalena and Puyuhuapi fjords for the high resolution 24-h studies..... 77

Chapter 2, **Figure 2.** Vertical distribution (0 – 20 m) of (A, D) Temperature (°C); (B, E) Salinity; (C, D) Brunt-Väisälä frequency at the fixed station in PUY (left panels) and PIT (right panels) fjords during the 24-h cycle experiments (hourly) in February and March 2020, respectively. Acronyms for water layers in the fjords were classified according to Pérez-

RESUMEN

Dinophysis acuminata y *D. acuta* son dinoflagelados capaces de formar Floraciones Algales Nocivas (FAN) a partir de bajas densidades (1×10^3 cel. L⁻¹). Estas especies productoras de toxinas lipofílicas, algunas de las cuales son causantes del síndrome de envenenamiento diarreico por mariscos (DSP, por sus siglas en inglés), en las últimas décadas se han convertido en una de las principales amenazas para la acuicultura y la salud pública a nivel mundial. En la región sur-austral de Chile las FAN de estas especies son recurrentes, principalmente en las regiones de Los Lagos (~41°S) y Aysén (~45°S), donde ocasionan considerables pérdidas económicas para la pesca artesanal y la acuicultura de bivalvos.

La complejidad de *D. acuminata* y *D. acuta*, en términos de su naturaleza mixotrófica, ha representado una dificultad para el establecimiento de sus cultivos en laboratorio. Por ello, aún existen vacíos en el conocimiento de los factores ambientales que subyacen su abundancia y distribución, que permitan entender la dinámica espacial y temporal de sus floraciones. En la última década, el concepto de nicho ecológico propuesto por Hutchinson, (1957) ha resurgido como una aproximación que permite estudiar la relación entre las especies y las características fisicoquímicas y biológicas de su entorno natural. En el caso del fitoplancton, se ha utilizado en el análisis de respuestas de los individuos en un contexto de cambio global. En la presente tesis se abordó el estudio de las especies *D. acuminata* y *D. acuta* incorporando un enfoque de nicho ecológico (*sensu* Hutchinson, 1957), considerando distintas escalas de variabilidad espacial y temporal (*sensu* Dickey, 2003). Este enfoque se realizó con el fin de identificar y parametrizar sus principales “ejes de nicho” que involucran dimensiones abióticas (e.g., temperatura, salinidad) y bióticas (disponibilidad de presa), que permiten explicar su abundancia, distribución y los posibles factores que desencadenan sus floraciones en la región sur-austral.

La presente investigación reunió diferentes fuentes de información, a partir de colaboraciones interdisciplinarias, para comprender los factores ambientales (ejes de nicho) involucrados en la dinámica espaciotemporal de estas especies y sus consecuencias para los recursos bentónicos de los fiordos de la Patagonia noroccidental. La información aquí contenida abarcó:

i) La identificación de los ejes de nicho más relevantes para ambas especies, a través de campañas oceanográficas llevadas a cabo en los fiordos Reloncaví, Pitipalena y Puyuhuapi. En este contexto, se describen y analizan, por primera vez, los resultados de muestreos de alta resolución espacial y temporal de variables fisicoquímicas de la columna de agua, y densidades celulares de las especies

objetivo y la comunidad de ciliados acompañante. Se estableció una clara respuesta especie-específica en la distribución y migración verticales y tasas de división *in situ*, frente a las condiciones ambientales, y disponibilidad de presa, reflejada en una diferenciación en el nicho realizado de ambas especies. Se identificó la estratificación, fuertemente influenciada por la salinidad, la temperatura y la turbulencia, como variables clave en dicha diferenciación. Los resultados además refuerzan la hipótesis de la existencia de presas alternativas, distintas a las ya descritas (i.e. ciliados del género *Mesodinium* spp.) para estas especies.

ii) El análisis de información mensual recolectada por el Laboratorio de Salud Pública de la Secretaría Regional Ministerial de Salud (SEREMI) de la Región de Los Lagos, durante el año 2018 (enero – agosto), que permitió identificar una amplia distribución de *D. acuminata* en la región. Esta distribución involucra ambientes con condiciones contrastantes, abarcando meses de verano, otoño e invierno. Se alcanzaron altas densidades celulares en esta última estación, destacándose la potencial amenaza de esta especie para la zona más productiva del país en términos de explotación de recursos bentónicos.

iii) El análisis de información mensual recopilada por el programa de monitoreo de marea roja del Instituto de Fomento Pesquero (IFOP) durante un periodo de 12 años (2006 – 2018). A través de resultados de muestreos de fitoplancton e información abiótica, se identificaron las condiciones ambientales locales de los fiordos de la Patagonia noroccidental, que modulan las respuestas especie-específicas de la abundancia y distribución de *Dinophysis acuminata* y *D. acuta*.

Los resultados encontrados proporcionaron nueva información que permitió la identificación de las principales condiciones ambientales que favorecen la abundancia (en términos de densidad celular y crecimiento *in situ*) y distribución de *D. acuminata* y *D. acuta*, así como el desarrollo de sus floraciones en los fiordos de la Patagonia noroccidental. Se discuten las implicaciones de las respuestas especie-específicas encontradas en cada una de las áreas estudiadas y se proponen mejoras en los protocolos de monitoreo, todo con el fin de contribuir a una mejor comprensión de estas especies y, en consecuencia, un mejor manejo de sus distintos efectos en el sur de Chile.

Palabras clave: *Dinophysis acuminata*, *Dinophysis acuta*, interacciones físico-biológicas; nicho realizado; escalas de variabilidad; fiordos chilenos

ABSTRACT

Dinophysis acuminata and *D. acuta* are dinoflagellates forming Harmful Algal Blooms (HABs) at low cell densities (1×10^3 cell L⁻¹). These lipophilic toxin-producing species, some of which cause Diarrhetic Shellfish Poisoning (DSP), have become one of the main global threats to aquaculture and public health in recent decades. In the south-austral region of Chile the HABs of these species are recurrent, mainly in the Los Lagos (~41°S) and Aysén (~45°S) regions, where they cause considerable economic losses for artisanal and industrial shellfish aquaculture.

The mixotrophic nature of *D. acuminata* and *D. acuta*, difficult their cultures in the laboratory. Therefore, there are still gaps in knowledge of the environmental factors that underlie their abundance and distribution, which allows for understanding the spatial and temporal dynamics of their blooms. In the last decade, the ecological niche concept proposed by Hutchinson, (1957) has reemerged to study the relationship between species and the physicochemical and biological characteristics of their natural environment. This concept has also been used in analyzing phytoplankton responses in a global change context. In this thesis the ecological niche approach (*sensu* Hutchinson, 1957), considering different spatio-temporal variability scales (*sensu* Dickey, 2003), was used to identify and parameterize its main “niche axes”. This involved the study of abiotic (e.g., temperature, salinity) and biotic (availability of prey) dimensions to explain abundance and distribution of these two *Dinophysis* species, and the possible drivers of its blooms in southern Chile.

In this context, the present research included different sources of information from interdisciplinary collaborations to understand the environmental factors (niche axes) involved in the spatio-temporal dynamics of *D. acuminata* and *D. acuta* and their consequences on the benthic resources in the northwestern Patagonian fjords. The information contained herein covered:

i) The identification of the most relevant niche axes for both species through oceanographic surveys conducted in the Reloncaví, Pitipalena, and Puyuhuapi fjords. In this context, results of high spatial and temporal resolution sampling of physicochemical variables of the water column, and cell densities of the target species and the accompanying ciliate community, are described and analyzed for the first time. A clear species-specific response in

vertical distribution, vertical migration, and *in situ* division rates in response to the environmental conditions and prey availability was established, reflecting an evident differentiation in the realized niche of both species. Stratification, strongly influenced by salinity, temperature, and turbulence, were identified as key variables in *Dinophysis* species niche differentiation. In addition, the results support the hypothesis of the existence of alternative prey for these species.

ii) The analysis of monthly information collected during 2018 (January – August) by the Public Health Laboratory of the Regional Ministerial Secretariat of Health (SEREMI) of the Los Lagos Region, that allowed identifying a wide distribution of *D. acuminata* throughout the region. The species thrives in environments with quite different conditions, in summer, autumn, and winter months, even reaching high cell densities in winter season. In this context, the potential *D. acuminata* threat for the most productive area of the country, in terms of exploitation of benthic resources, is highlighted.

iii) The analysis of monthly information collected by the Chilean Fisheries Development Institute, “Instituto de Fomento Pesquero” monitoring program for 12 years (2006-2018). Through phytoplankton counts and abiotic information, it was identified that the site-specific environmental conditions of the northwestern Patagonia fjords modulate species-specific responses in the abundance and distribution of *Dinophysis acuminata* and *D. acuta*.

The results provide new information that allowed the identification of the main environmental conditions that favour the abundance (in terms of cell density and *in situ* growth) and distribution of *D. acuminata* and *D. acuta*, as well as the development of their HABs in the Patagonian fjords. The implications of the species-specific responses in each studied areas are discussed, and changes to ongoing monitoring protocols to improve the understanding of these species and, consequently, better management of their different effects in southern Chile.

Keywords: *Dinophysis acuminata*, *Dinophysis acuta*, Physical-biological interactions; realized niche; scales of variability; Chilean fjords