



Universitat Autònoma de Barcelona

FACULTAT DE CIÈNCIES

Secció de Ciències Ambientals

Estudi del progrés d'una marea roja de *Protoceratium reticulatum* a la badia de Chipana (Xile) a través d'un cicle intensiu: Efectes del fenomen de El Niño

Memòria del Projecte Fi de Carrera de Ciències Ambientals

Presentada per Mireia Farrés Rodríguez

Dirigida per Sergio Rossi Heras

Bellaterra, juliol de 2008.

Agraïments

Al Sergi Rossi, per donar-me l'oportunitat d'introduir-me en el món de la investigació, ajudar-me en tots els problemes que han sorgit i transmetre'm tot el seu suport en tot moment. I que sense ell no hagués estat possible realitzar aquest projecte.

A tots els companys i companyes del laboratori, per ensenyar-me tot el que hi he après i saber-me respondre amb paciència als múltiples dubtes que he tingut.

Al Claudio, per ajudar-me durant el treball al laboratori i no deixar-me d'animar mai.

A la Ida, per explicar-me les experiències viscudes durant la campanya a Chipana i per deixar-me utilitzar en aquest projecte tots els resultats que prèviament va analitzar. I també per les fotos, que gràcies a aquestes he entès millor el que va ser la campanya a Xile.

A la meva germana, la Marta, que a distància sempre m'ha recolzat i animat a portar a terme tots els projectes que m'he plantejat, per ajudar-me en tots els treballs, per donar-me idees, per entendre'm, per no deixar d'opinar i per desitjar i ajudar-me a fer el que més m'agrada.

Als meus pares, que gràcies al seu recolzament i a la seva inacabable paciència he pogut estudiar Ciències Ambientals i que m'han donat sempre la oportunitat de fer el que més m'ha interessat.

A tots els companys i companyes d'ambientals, per haver-me fet gaudir de cinc anys genials i que, sens dubte, sense ells tot hauria estat molt diferent.

A l'Elisabet, per la seva impagable ajuda i per poder comptar amb ella en qualsevol moment. I a tots els de Castellví, que sempre hi són per animar-me i fer-me passar els millors moments.

ÍNDEX

Índex de Taules.....	3
Índex de Figures.....	4
1. INTRODUCCIÓ.....	7
1.1 Fenomen de El Niño.....	7
1.1.1 Desenvolupament de El Niño i la Niña.....	8
1.1.2 Efectes de El Niño.....	9
1.2 Fitoplàncton.....	10
1.2.1 Indicadors de fitoplàncton.....	11
1.2.1.1 Àcids grassos com a marcadors de fitoplàncton.....	11
1.2.2 Fluctuació de fitoplàncton al nord de Xile.....	13
1.3 Marees roges.....	14
1.3.1 Marees roges a Xile.....	14
1.3.2 Efectes de les yessotoxines en bivalves.....	15
1.4 Influència de El Niño sobre les marees rojes a la costa xilena.....	16
1.5 Descripció de la zona d'estudi.....	16
2. OBJECTIUS.....	19
3. METODOLOGIA.....	21
3.1 Mostreig d'aigua.....	22
3.2 Variables bioquímiques.....	22
3.3 Concentració de fitoplàncton.....	23
3.4 Anàlisi dels àcids grassos.....	23
3.4.1 Mostreig d'aigua i liofilització.....	24
3.4.2 Extracció sòlid-líquid.....	24
3.4.3 Separació de lípids en fraccions: lípids neutres, àcids grassos i lípids polars.....	25
3.4.4 Metilació.....	26
3.4.5 Extracció líquid-líquid i concentració.....	26
3.4.6 Anàlisi instrumental de les mostres.....	26
3.4.6.1 Funcionament de la cromatografia de gasos (GC).....	27

3.4.6.2 Components d'un cromatògraf de gasos.....	27
3.4.7 Aplicació analítica.....	29
3.4.8 Identificació i quantificació dels àcids grassos.....	29
3.5 Estadística dels resultats.....	31
4. RESULTATS.....	33
4.1 Variables bioquímiques.....	34
4.2 Concentració de fitoplàncton.....	37
4.3 Àcids grassos.....	39
5. DISCUSSIÓ.....	45
5.1 Àcids grassos presents a la marea roja de <i>Protoceratium reticulatum</i>	45
5.2 Disponibilitat d'aliment.....	46
5.3 Impacte ecològic de la marea roja.....	48
5.4 Influència de El Niño sobre les marees rojes.....	49
6. CONCLUSIONS.....	52
7. REFERÈNCIES.....	55
PRESSUPOST.....	64

Índex de Taules

Taula 1: Rampa de temperatures mètode BIOMARKERS.	24
Taula 2. Variables mostrejades en tots els punts fixats, des de les 7:00 h del 14 de febrer de 2007 fins les 7:00 h del 16 de febrer de 2007.	33
Taula 3. Principals grups de fitoplàncton a la badia de Chipana durant el cicle intensiu entre el 14-16 de febrer de 2007. El dia 15 de febrer a les 7:00 h no hi ha mostres disponibles. Les diatomees totals (*) inclouen les diatomees en cadena trobades en algunes mostres.	37
Taula 4. Composició d'àcids grassos (% del total dels àcids grassos) i número de rèpliques fetes en tots els punts fixats a la costa de la badia de Chipana (des del 14 fins el 16 de febrer de 2007).	40

Índex de Figures

Figura 1: Diagrama esquemàtic general sobre els corrents de l'oceà Pacífic, els vents alisis i el nivell de la termoclina a) en condicions normals i b) sota les condicions de El Niño.	9
Figura 2. Àrea d'estudi: badia de Chipana. Es mostra la zona exacte on s'ha mostrejat.	17
Figura 3: Esquema d'un Cromatògraf de Gasos.	28
Figura 4. Cromatograma resultant de la injecció del patró extern (estàndard que conté 37 components FAME diferents). A l'eix X hi ha representat el temps de retenció en minuts, i a l'eix Y la intensitat relativa. Cada pic representa un component FAME diferent.	30
Figura 5. Cromatograma resultant de la injecció de la mostra del dia 14 de febrer de 2007 a les 14:00 h, en l'anàlisi dels àcids grassos presents a la columna d'aigua. A l'eix X hi ha representat el temps de retenció en minuts, i a l'eix Y la intensitat relativa. Els pics representen els diferents àcids grassos presents a la mostra més el patró intern.	30
Figura 6. Evolució de la concentració de clorofil·la <i>a</i> ($\mu\text{g L}^{-1}$) i lípids totals ($\mu\text{g L}^{-1}$) al llarg del cicle intensiu entre el 14-16 de febrer de 2007.	34
Figura 7. Evolució de la concentració de POC ($\mu\text{g L}^{-1}$) i PON ($\mu\text{g L}^{-1}$) al llarg del cicle intensiu entre el 14-16 de febrer de 2007.	35
Figura 8. Correlació entre a) la concentració de clorofil·la <i>a</i> ($\mu\text{g L}^{-1}$) i POC ($\mu\text{g L}^{-1}$) b) la concentració de clorofil·la <i>a</i> ($\mu\text{g L}^{-1}$) i els lípids totals ($\mu\text{g L}^{-1}$) c) la concentració dels lípids totals ($\mu\text{g L}^{-1}$) i POC ($\mu\text{g L}^{-1}$).	36
Figura 9. Proporció dels principals grups de fitoplàncton (% del total dels grups representats) durant el cicle intensiu entre el 14-16 de febrer de 2007. El dia 15 de febrer no hi ha mostres disponibles. Les diatomees totals (*) inclouen les diatomees en cadena trobades en algunes mostres. El grup dels ciliats no està representat en el diagrama ja que representen un percentatge minoritari.	38

Figura 10. Correlació entre la concentració de les cèl·lules de fitoplàncton (cel. L ⁻¹) i els lípids totals (µg L ⁻¹).	39
Figura 11. Correlació entre a) els dinoflagel·lats totals (%) i el C18:4(n-3) (%) b) els dinoflagel·lats totals (%) i el C22:6(n-3) (%).	41
Figura 11c. Correlació entre els dinoflagel·lats totals (%) i el C20:5(n-3) (%).	42
Figura 12. Correlació entre a) les diatomees totals (%) i el C16:1(n-7) (%) b) les diatomees totals (%) i el C20:5(n-3) (%) c) les diatomees totals (%) i el C14:0 (%).	43

1. INTRODUCCIÓ

1. INTRODUCCIÓ

El fenomen de El Niño té una forta influència sobre la biodiversitat marina i, conseqüentment, sobre l'explotació de recursos marins. Aquest fenomen afecta especialment als hàbitats aquàtics i terrestres al llarg de la costa xilena i peruana del sistema d'aflorament del Corrent de Humboldt. El Niño (fase càlida) i La Niña (fase freda) tenen greus conseqüències en l'ecologia i l'economia dels països afectats, ja que la pesca local tradicional representa una activitat principal per l'economia de Xile i Perú. Al mar, El Niño té efectes negatius sobre diferents comunitats d'organismes, però també poden tenir efectes positius en ambdues fases, que els pescadors locals i la població no han sabut aprofitar del tot.

Aquest projecte de final de carrera s'emmarca dins del macroprojecte CENSOR, un projecte europeu de col·laboració amb Iberoamèrica el qual pretén fer una aportació en la detecció, la recopilació i la comprensió dels efectes de El Niño i La Niña als ecosistemes marins costaners i als seus recursos. Els resultats obtinguts beneficiaran a la pesca tradicional i a d'altres activitats relacionades, els quals també s'espera que serveixin per millorar les polítiques mediambientals i l'estabilitat social d'aquests països.

L'objectiu esmentat s'assolirà a través del treball multidisciplinari, a partir de diferents mòduls, que permetrà construir de forma comprensiva un quadre de respostes del sistema d'aflorament al fenomen de El Niño. El present estudi forma part del mòdul en el que es pretén compilar i analitzar diversos materials de comunitats bentòniques costaneres per tal d'entendre com afecten els canvis causats per El Niño a l'estructura i dinàmica de les comunitats a les zones litorals i sublitorals de Xile i Perú i, per tant, la disponibilitat de recursos per a l'ús humà.

1.1 Fenomen de El Niño

El fenomen ENSO és reconegut com un fenomen climàtic d'importància global, aquestes variacions climàtiques (Oscil·lació del Sud) i oceàniques (El Niño i La Niña) periòdiques han format part de la cultura de l'oest d'Amèrica del Sud des de que la civilització humana ha estat allà.

A Xile i Perú, l'economia de les poblacions costaneres està àmpliament basada en les pesqueries artesanals (Thatje et al 2008), doncs el terme de El Niño va néixer de la mà dels mariners i pescadors sud-americans per definir el fenomen anormal d'escalfament de l'aigua de la costa, ja que aquest

arribava pels voltants de Nadal, un esdeveniment acompanyat per la declinació de la productivitat pesquera.

Actualment es coneix que la influència de El Niño es va recopilar en textos des de principis del 1500, però no va ser fins als estudis de Carranza (1981), Carrillo (1982) i Eguiguren (1984), inspirats pel fenomen de El Niño de l'any 1981, que van publicar els primers documents en els quals registraven els períodes càlids i suggerien l'existència d'una forta influència en els patrons climàtics regionals. Des d'aleshores, el fenomen està essent estudiat des de diferents branques, és a dir, tan del punt de vista social per atendre a les conseqüències que aquest comporta a la població, com del punt de vista científic des de la física, la biologia, la meteorologia, la oceanografia i la geologia.

1.1.1 Desenvolupament de El Niño i La Niña

El fenomen ENSO a les costes de l'est del Pacífic està caracteritzat per diferents anomalies climàtiques i oceàniques. El Niño produeix alteracions a la temperatura superficial del mar, al nivell del mar i a les precipitacions, que a la vegada tenen influència sobre el canvi climàtic d'algunes regions particulars del món.

En condicions normals el nivell del mar habitualment és 0,5 m més alt a l'oest del Pacífic que a la part més oriental. La termoclina també augmenta el seu nivell al Pacífic occidental, fins a una profunditat d'aproximadament 200 m, mentre que a l'est del Pacífic puja el seu nivell i provoca la surgència d'aigües fredes. Aquesta inclinació és producte dels vents alisis. Aquests vents, de l'est del Pacífic, predominen a causa de les baixes pressions existents a l'oest del Pacífic, comparades amb les de l'est. Aquests són regulars i transporten aigua superficial de l'oceà Pacífic des de la part oriental fins a l'occidental (Fig. 1a). Però tot això canvia quan apareix El Niño, que passa quan hi ha canvis a la pressió de l'aire i això causa la debilitació dels vents alisis, o inclús que bufin a l'inrevés. Aquest canvi provoca que l'aigua de l'oest es desplaci cap a l'est del Pacífic amb la conseqüent disminució del nivell del mar a l'oest i l'increment d'aquest a les costes sud-americanes, que comporta la baixada del nivell de la termoclina a la part més oriental (Fig. 1b). Doncs mentre l'aigua, que prové de regions càlides de l'oest de l'oceà, avança pel Pacífic equatorial, les temperatures superficials del mar càlides també es mouen cap a l'est. Conseqüentment les aigües de les costes d'Equador, Perú i Xile esdevenen anormalment càlides durant el fenomen de El Niño (Fig. 1b).

Alguns mesos més tard, després de El Niño, esdevé La Niña, la qual té influència en la reducció del canvi del nivell del mar a l'est de l'oceà Pacífic i en l'increment del nivell a l'oest del Pacífic. Els

vents alisis tornen també a la normalitat. Durant el fenomen de La Niña l'activitat dels vents alisis de l'est i les aigües fredes a l'est del Pacífic, juntament amb les aigües càlides a l'oest, són més pronunciats del que és habitual.

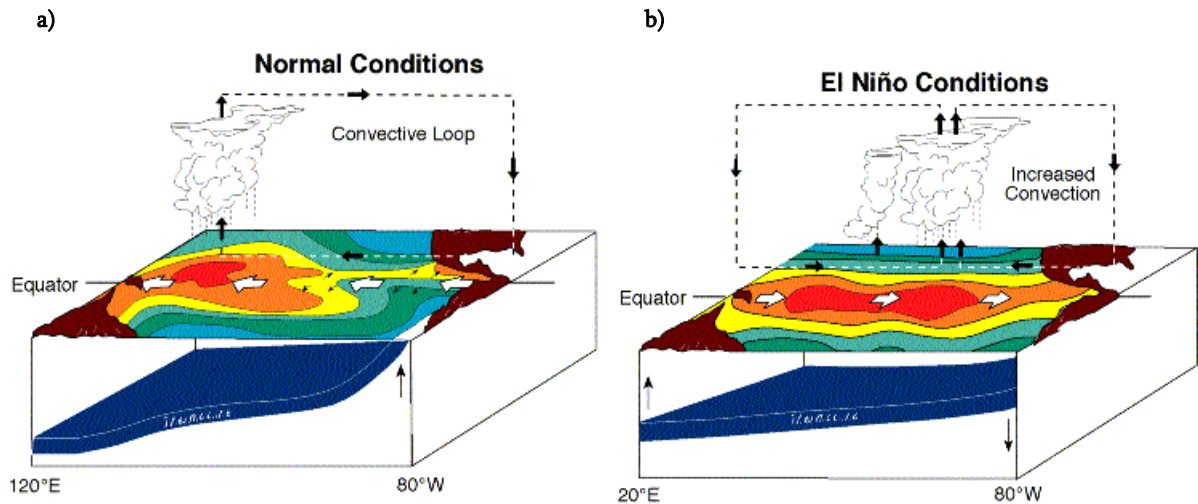


Figura 1: Diagrama esquemàtic general sobre els corrents de l'oceà Pacífic, els vents alisis i el nivell de la termoclina **a)** en condicions normals i **b)** sota les condicions de El Niño. Font: *National Oceanic and Atmospheric Administration* (NOAA).

1.1.2 Efectes de El Niño

A Sud-Amèrica, la franja costera està afectada per la presència d'aigües més ben fredes, procedents de fenòmens difusos de convergència provocats pel corrent oceànic de Humboldt (Sistema de Corrent de Humboldt), que procedeix del sud i és freda i, a més a més, com que es dirigeix cap al nord paral·lelament a la costa, arrossega les aigües càlides cap al mar obert, determinant d'aquesta manera l'aflorament d'aigües fredes riques en nutrients. Aquestes condicions estacionaries constitueixen una de les majors fonts de riquesa de la regió, la qual obté grans beneficis de la pesca de l'anxoveta i d'altres espècies de peixos i marisc.

Però quan apareix el fenomen de El Niño, a finals de desembre, la corrent d'aigües càlides que es genera enfonsa la termoclina i impedeix la surgència de les aigües profundes. Per tant, no es produeix l'alforació de nutrients i conseqüentment la disminució de la seva disponibilitat per als organismes de la columna d'aigua, això comporta conseqüències negatives per l'activitat pesquera ja que sofreix una notable reducció.

La presència anòmla de les aigües càlides dura generalment fins al març o a l'abril. No obstant, si és el cas que es produeix un fenomen molt intens, la presència d'elevades temperatures a la columna d'aigua es pot dilatar durant més d'un any, amb repercussions desastroses per l'activitat pesquera.

El conjunt de fenòmens associats a El Niño és tant important que no només influeix a l'aflorament de les aigües sud-americanes, sinó que també té conseqüències meteorològiques sobre la regió sud del Pacífic provocant inundacions, sequeres i desastres en moltes zones.

1.2 Fitoplàncton

A la zona del nord de Xile el fenomen ENSO causa canvis al fitoplàncton, entre d'altres, la disminució de la biomassa fitoplanctònica i l'aparició d'espècies oceàniques en aigües nerítiques. Segons Quinn et al (1987), aquests canvis han estat mencionats des de 1525 i existeixen nombrosos testimonis escrits sobre aquests períodes càlids i freds que han afectat a la zona oriental del Pacífic.

El plàncton vegetal comprèn els organismes autòtrofs, ja siguin procariotes o eucariotes, i aquests reben el nom de fitoplàncton. La seva principal funció al mar és la fotosíntesi clorofil·lica, és la porta d'entrada d'energia solar a l'ecosistema i, per tant, la base del seu manteniment perquè concentra en els seus teixits matèria orgànica, que és la força nutritiva que incorporà el zooplàncton o plàncton animal. Aquests vegetals microscòpics viuen en suspensió a les aigües de tots els oceans.

L'estratificació vertical del fitoplàncton està relacionada amb una distribució no uniforme de certs paràmetres físics: intensitat de llum, concentració d'elements nutritius, turbulència i existència de discontinuïtats de tipus de la termoclina i de la superfície de l'aigua. La turbulència i els nutrients defineixen l'estratègia de les espècies en la seva adaptació a la vida planctònica. Els factors limitadors de la producció de fitoplàncton són, fonamentalment, els elements nutritius i la llum; per això, la densitat més gran de fitoplàncton es troba sobretot als 50 m immediatament inferiors a la superfície. Pel que fa a la composició de fitoplàncton, predominen els petit flagel·lats, esquizofícies, feofícies, dinoflagel·lats i diatomees, essent els dos darrers els més importants respecte al volum de biomassa.

1.2.1 Indicadors del fitoplàncton

L'estudi del comportament de la massa fitoplanctònica és important per tal de descriure els canvis existents en aquesta, i per això és essencial conèixer la composició del fitoplàncton a la columna d'aigua.

La presència de fitoplàncton només es detectable al microscopi (microscopi invertit), tot i que per veure al detall les seves característiques morfològiques s'han d'aplicar tècniques de microscòpia electrònica. Les característiques bioquímiques, incloses la naturalesa i la quantitat de pigments, han permès la classificació dels organismes del fitoplàncton. La clorofil·la *a* ($C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$) és utilitzada per determinar la biomassa del fitoplàncton, ja que és l'únic pigment responsable de la transformació de l'energia lluminosa en energia química, i està present a totes les algues, amb excepció d'algunes formes heteròtrofes.

Altres variables bioquímiques com la matèria orgànica particulada: Carboni Orgànic Particulat (POC) i Nitrogen Orgànic Particulat (PON), formen part tan d'organismes vius com dels detrits, que provenen de la descomposició de fonts orgàniques i minerals. A la capa superficial de l'oceà, on hi ha una major producció a causa de la major incidència de la llum solar, el fitoplàncton representa la fracció més alta de les partícules orgàniques. Els fluxos de carboni i nitrogen juguen un paper important a la regulació de la producció oceànica (Walsh 1991).

Per altra banda, la quantificació de fitoplàncton pot ser determinada per la quantitat de determinats lípids presents a la columna d'aigua, aquests són importants en l'ecosistema marí perquè constitueixen una part significativa del flux total de carboni entre els diferents nivells tròfics (Lee et al 1971, Sargent et al 1977). Entre els lípids, els àcids grassos juguen un paper important com a marcadors de la producció primària.

1.2.1.1 Àcids grassos com a marcadors de fitoplàncton

Els organismes autotròfics biosintetitzen tots els seus constituents cel·lulars *de novo*, incloent una gran diversitat d'àcids grassos (Sargent and Henderson 1995, Cook 1996). Els àcids grassos són sintetitzats als cloroplasts, de forma predominant consisteixen en cadenes de 12 a 24 àtoms de carboni, i constitueixen la principal part dels lípids en organismes aquàtics.

Els àcids grassos són una eina per a la determinació del fitoplàncton, ja que les plantes són els únics organismes capaços de biosintetitzar alguns àcids grassos (com per exemple C18:2(n-6) i C18:3(n-3)) *de novo*. Aquests particulars àcids grassos poliinsaturats (PUFA) i els seus derivats són constituents essencials dels organismes heterotròfics, això col·loca a les algues en una posició central a la cadena alimentària marina (Pohl and Zurheide 1979, Gurr and Harwood 1991, Cook, 1996, Smith and Fitzpatrick, 1996).

L'ús d'àcids grassos com a biomarcadors s'ha estat aplicant des de que Lee et al (1971) va demostrar la conservació en la seva transferència des del fitoplàncton als copèpodes a través de la cadena alimentària a l'oceà.

Les diferents classes d'algues mostren diversos perfils d'àcids grassos (Pohl and Zurheide 1979, Sargent et al 1987, Kayama et al 1989). Els àcids grassos saturats (SAFA) C14:0 i C16:0 són els components majoritaris del conjunt d'àcids grassos de moltes classes d'algues, mentre molts dels àcids grassos poliinsaturats (PUFA) mostren una distribució característica entre les classes d'algues. Un dels biomarcadors més comuns utilitzat per a la identificació de la dominància de diatomees és l'alta proporció de C16:1(n-7)/C16:0 (Reus and Poulsen 2002). En relació als flagel·lats, en els quals s'engloben diversos grups d'organismes, demostren una tendència general en la seva composició d'àcids grassos, com per exemple l'abundància de C18.

La composició d'àcids grassos del fitoplàncton no només depèn de la composició d'espècies, sinó que també té relació amb els factors ambientals i l'estat fisiològic del plàncton (Ackman et al 1968, Chuecas and Riley 1969, Jeffries 1970, Sargent et al 1987, Kayama et al 1989, Roessler 1990). Els factors ambientals que condicionen el creixement de les algues són la temperatura, la llum i la disponibilitat de nutrients, essent aquests els tres factors clau que afecten a la composició d'àcids grassos de les comunitats locals (Dalsgaard et al 2003).

Generalment, les temperatures baixes de l'aigua resulten en un increment del nivell d'àcids grassos insaturats (Ackman et al 1968, Pohl and Zurheide 1982), mentre que l'impacte de la llum és ambigu i específic segons el tipus d'espècies presents. Els àcids grassos poliinsaturats també incrementen en condicions no limitants de llum i quan la intensitat de la llum es redueix es detecta en l'enriquiment d'àcids grassos saturats i monoinsaturats (MUFA) (Cohen et al 1988, Harrison et al 1990, Mayzaud et al 1990, Thompson et al 1990, Sukenik and Wahnou 1991, Smith et al 1993, Parrish et al 1994).

1.2.2 Fluctuació del fitoplàncton al nord de Xile

Les variacions de biomassa, distribució i composició d'espècies de microalgues i, per tant, de la composició d'àcids grassos a l'ecosistema marí, en última instància estan determinades pels processos hidrodinàmics de l'oceà. La raó d'aquest fet és que aquests processos hidrodinàmics afecten tan a la disponibilitat d'aliments com a la llum, i influeixen en la distribució de microalgues a través dels patrons de circulació verticals i horitzontals, juntament amb les característiques de comportament o flotabilitat d'aquestes. Les aigües amb un alt índex de turbulència, com és el cas de la costa xilena que forma part del Corrent de Humboldt, estan mesclades, o bé dèbilment estratificades, amb un conseqüent influx de nutrients (Dalsgaard et al 2003).

A la zona nord de Xile, que és on es desenvolupa el treball, els processos de surgència són permanents, amb especial intensitat en períodes càlids (primavera i estiu), en contrast amb els períodes freds (tardor i hivern), la qual cosa depèn de factors locals com la topografia del fons, de puntes i de caps (Fuenzalida 1992). Les àrees de surgència costaneres del nord de Xile, són de les regions amb més surgència del Sistema de Corrent de Humboldt. Aquesta regió es caracteritza per tenir una alta producció com a resultat de la fertilització de les aigües superficials pels nutrients transportats des del fons gràcies als esdeveniments de surgència (Thomas et al 1994, Morales et al 1996).

El vent exerceix estrès sobre la superfície de l'oceà, de forma que introdueix energia a la dimensió vertical i horitzontal, cosa que pot afectar a la producció planctònica ja sigui per la turbulència que genera fluctuacions a la capa de barreja, com per la transformació de la capa superficial a conseqüència del moviment des de la costa cap enfora d'aquesta massa (Santander et al 2001).

Des del punt de vista de la biomassa fitoplanctònica, estimada per la concentració de la clorofil·la *a*, s'ha assenyalat que la distribució d'aquesta està relacionada amb l'enriquiment de nutrients durant un esdeveniment de surgència, indicant que la seva càrrega afavoreix el creixement de fitoplàncton, a la qual cosa s'hi ha de sumar l'estabilitat de la columna d'aigua (Ahumada et al 1991). S'ha de tenir en compte que cada esdeveniment de surgència condueix a canvis en les propietats físiques i químiques locals de la capa superficial de l'oceà, això modularia la distribució i magnitud de la biomassa de fitoplàncton (Santander et al 2001)

1.3 Marees roges

Un canvi en la composició de la biomassa de fitoplàncton és la proliferació massiva d'algues unicel·lulars (principalment dinoflagel·lats i diatomees), la pigmentació de les quals aporta al mar una coloració rogenca o bé groguenca, per això a aquest fenomen se l'anomena marea roja. Les marees roges són ben conegudes en àrees estuàries, desembocadures de rius i zones que, en general, reben estacionalment aportacions massives de nutrients. Per això, les marees roges són fenòmens molt comuns en àrees de surgència i de forma més intensa a la costa, en condicions estiuenques (Pitcher and Calder 2000, Uribe and Espejo 2003).

Algunes espècies de dinoflagel·lats contenen biotoxines liposolubles i hidrosolubles que a l'acumular-se als teixits dels bivalves les converteixen en un vehicle perillós per l'home.

1.3.1 Marees roges a Xile

A Xile, on l'economia del litoral està àmpliament basada en pesqueries artesanals (Thatje et al 2008), les marees roges són conegudes com un esdeveniment negatiu per al consum de peix i marisc, el qual acumula toxines fitoplanctòniques filtrades de l'aigua de mar (Masó and Garcés 2006).

Les proliferacions de fitoplàncton tenen diferents impactes sobre les poblacions bentòniques costaneres, depenen principalment de la concentració de cèl·lules i de les espècies d'algues presents. De les 4000 algues marines planctòniques només 200 són considerades perjudicials (Zingone and Enevoldsen 2000), fins i tot algunes espècies són perilloses a baixes concentracions (10^2 - 10^4 cel. L^{-1}) a l'aigua marina (Reguera et al 1993). Concentracions moderades i baixes d'alguns dinoflagel·lats (p.e. *Alexandrium catenella*, *Dinophysis acuta*, *Protoceratium reticulatum*) són les responsables de l'acumulació de toxines, que no només poden causar efectes negatius a les pesqueries (Sekiguchi et al 2001, Blanco et al 2003), sinó que també poden tenir efectes sobre la fisiologia i producció de marisc (Luckenbach et al 1993, Li et al 2002). S'ha comprovat que el cas particular de *Protoceratium reticulatum* conté nivells elevats de yessotoxines (Finch et al 2005, Miles et al 2005), les quals poden ser altament tòxiques i provocar un efecte a llarg termini a les poblacions de marisc (MacKenzie et al 2002, Aasen et al 2005). L'efectivitat d'aquestes molècules depèn de les condicions ambientals en les que creix l'espècie *P. reticulatum* (Guerrini et al 2007), però aquestes condicions ambientals i

biològiques poden ser molt complexes en aigües costaneres (Fegley et al 1992, Ribes et al 1999, Rossi and Gili 2005, Dauvin and Vallet 2006).

1.3.2 Efectes de les yessotoxines en bivalves

A les costes xilenes existeixen registres de, com a mínim, 133 successos d'afloraments algals (1827-1996), essent la majoria d'ells innocus tan per a animals marins com per als humans (Instituto de Salud Pública de Chile, ISP 2004).

Les yessotoxines formen part del grup de toxines diarrièques (DSP o VDM) de mol·luscs bivalves, aquestes són neurotòxiques i cardiotòxiques.

El dinoflagel·lat *P.reticulatum* va ser el primer organisme identificat com a productor de la yessotoxina, i es va fer 11 anys més tard del descobriment de la yessotoxina (Paz 2007). Tan la forma mòbil com el quist dels dinoflagel·lats productors de toxines són concentrats en els mol·luscs durant el procés de filtració característic dels bivalves, de forma que s'acumulen preferentment als òrgans digestius. Els bivalves són espècies essencialment micròfagues, és a dir, s'alimenten de partícules petites. L'aliment ingressa a través del sífo pel qual incorpora l'aigua o de forma directa per les obertures de les valves.

Els mol·luscs bivalves més coneguts i els quals es veuen involucrats en aquests episodis a Xile són: *ostras*, *choros*, *cholgas*, *choritos*, *almejas*, *culengues*, *ostiones*, *navajuelas* i *machas*. També s'ha detectat presència de toxines en altres mariscs com *loco*, *picorocos*, *caracoles* i *lapas* (ISP 2004).

La simptomatologia de la intoxicació per consum de mariscs contaminats està condicionada per alguns factors com la quantitat de marisc consumit, el nivell de toxines d'aquest, l'edat, el contingut estomacal al moment de la ingesta, etc. Però l'efecte tòxic i els símptomes que les yessotoxines provoquen als humans són relativament desconeguts, ja que fins a l'actualitat no s'ha donat cap cas d'intoxicació en humans, i les dades existents sobre toxicitat en ratolins per administració oral són escasses (Paz 2007).

1.4 Influència de El Niño sobre les marees roges a la costa xilena

El Sistema de Corrent de Humboldt, on està situada la zona d'estudi, està subjecte a una variabilitat interanual causada per El Niño i l'Oscil·lació del Sud. S'han realitzat estudis on es tracten les variables físiques (Enfield and Allen 1980, Smith 1983, Huyer et al 1987, Enfield 1989, Fahrbach et al 1991) i les conseqüències biològiques del fenomen de El Niño al sistema pelàgic (Barber and Chavez 1983, 1986; Thomas et al 2001), a les comunitats bentòniques (Arntzet al, 1987, Tarazona et al 1988, Arntz and Tarazona 1990) i a les pesqueries (Alamo and Bouchon 1987, Arntz and Tarazona 1990). En termes generals, tota aquesta recerca suggereix que la surgència marina es redueix durant la fase càlida del fenomen ENSO, conseqüentment causa una notable reducció de la producció primària i un empobriment important de tot l'ecosistema marí (Escribano et al 2004).

Els processos físics com la surgència d'aigües al litoral i el fenomen de El Niño, tenint en compte diferents escales espaials i temporals, afecten de forma significativa a l'abundància i estructura (composició taxonòmica i mida) dels organismes de la zona fòtica. S'han observat notables reduccions en la producció primària i de la biomassa de clorofil·la *a* a conseqüència dels impactes causats per El Niño en comunitats planctòniques (Barber and Chavez 1983, Fiedler et al 1992, Murray et al 1994, Barber et al 1996).

Yang and Hodgkiss (2004) van portar a terme un estudi en el que es va realitzar el seguiment d'una marea roja a Port Shelter (Hong Kong, Xina) entre març i abril de 1998, període el qual va ser més càlid i sec del que és habitual a causa del fenomen del Niño (1997/98). El bloom es va accentuar quan hi va haver la intrusió d'un corrent d'aigües càlides que va produir l'augment de les temperatures i de la salinitat amb un rang de 18,8 – 26,5 °C i 32,8 – 33,1, respectivament. Aquests nivells són favorables per als blooms d'algunes espècies de dinoflagel·lats.

1.5 Descripció de la zona d'estudi

L'estudi s'ha portat a terme a la costa de Chipana (21.32° S-70.07° O, Nord de Chile, Fig. 2). La badia està situada a 120 km al sud de Iquique, una de les àrees més productives del Sistema de Corrent de Humboldt. La badia està orientada al nord, i sustenta un poblat que presenta una petita influència antropogènica. Deu quilòmetres al sud de Chipana hi ha la desembocadura del riu Loa, el qual no té influència a la zona estudiada, excepte durant el fenomen de El Niño, que és quan la descàrrega del

riu augmenta a causa de les intenses precipitacions (Palma et al 2006). Aquesta zona ha estat descrita com una àrea altament productiva (Herrera and Escribano 2006) i també com un lloc on els petits peixos pelàgics ponen els seu ous (Oliva et al 2000, Herrera and Escribano 2006, Palma et al 2006). A prop de la costa hi ha una elevada concentració de matèria orgànica i nutrients, de la mateixa manera que al fons sorrenc hi ha una altra densitat d'organismes i biomassa (Quiroga et al 2005). Aquest sistema costaner alberga una comunitat molt rica de microalgues bentòniques a la zona d'aigües poc profundes, igual que nombroses poblacions d'equinoderms, bivalves i gasteròpodes les quals són intensament recol·lectats (Villegas et al 2007).

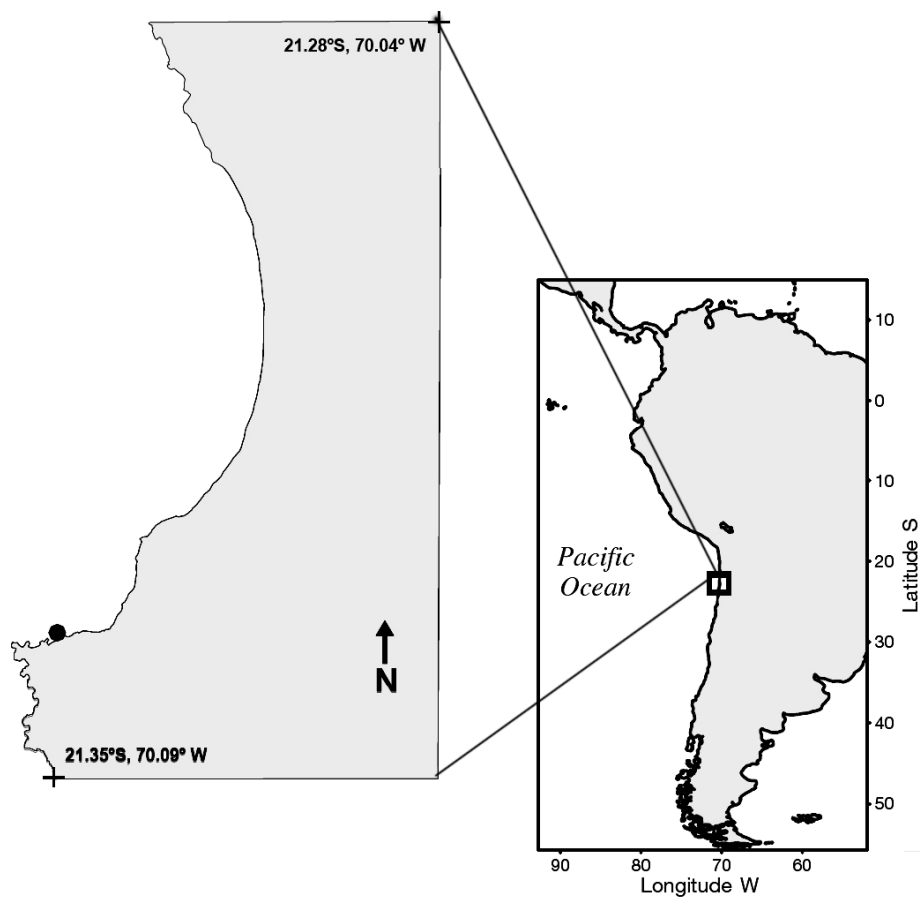


Figura 2. Àrea d'estudi: badia de Chipana. Es mostra la zona exacte on s'ha mostrejat.
Font: elaboració pròpia.

2. OBJECTIUS

2. OBJECTIUS

Els canvis ambientals poden tenir lloc molt ràpidament en els ecosistemes costaners marins, per tant, entendre la variabilitat de l'ecosistema en els canvis que succeeixen a un temps a molt curt termini és una eina essencial (Marrasé et al 1992, Taylor and Howes 1994), i aquests poden estar fortament influïts pel desenvolupament de fenòmens externs, com és el cas de El Niño. Els pics de producció dels ecosistemes costaners passen desapercebuts si no es mostreja amb una freqüència suficientment elevada i, conseqüentment, no es pot aconseguir una interpretació adequada del cicle estacional (Taylor and Howes 1994, Rossi and Gili 2007). Els cicles intensius són evidents per tal d'entendre millor les proliferacions d'algues i els seus efectes a les comunitats de marisc i a d'altres espècies bentòniques, a partir de l'estimació de la variabilitat d'aquestes comunitats algals i la disponibilitat matèria orgànica particulada per als organismes bentònics (Rossi and Gili 2007).

L'objectiu principal d'aquest treball és estudiar el desenvolupament d'una marea roja en aigües costaneres a prop del fons a través de l'aplicació d'un mostreig intensiu, és a dir, d'elevada freqüència, amb la finalitat d'entendre millor la biologia i l'ecologia d'una marea roja de *P.reticulatum*, i estudiar quins són els efectes que el fenomen de El Niño té sobre marees roges d'aquestes característiques.

Per tal d'assolir l'objectiu general plantejat, s'han desenvolupat els següents objectius específics:

- Posar a punt el mètode d'àcids grassos i anàlisi dels àcids grassos junt amb d'altres paràmetres bioquímics i biològics .
- Determinar la composició d'espècies de la columna d'aigua i els organismes dominants de la marea roja.
- Conèixer la disponibilitat d'aliment a les aigües superficials costaneres per a nivells tròfics superiors en presència de la marea roja.
- Veure quin és l'impacte ecològic i econòmic que suposa el desenvolupament d'una marea roja a la zona estudiada.
- Corroborar la importància d'aplicar un cicle intensiu en el mostreig per a l'estudi de la marea roja.
- Determinar quins són els efectes que pot tenir el fenomen de El Niño sobre la proliferació de les marees roges a les costes situades en el Sistema de Corrent de Humboldt.

3. METODOLOGIA

3. METODOLOGIA

En aquest estudi, el progrés de la marea roja de *Protoceratium reticulatum* s'ha monitoritzat durant 48 hores a prop del fons d'aigües costaneres a través d'un mostreig intensiu, cada 7 hores, en període estiuenc, el qual el van portar a terme la Ida Fiorillo i el Sergi Rossi el febrer de 2007.

Per a la caracterització de les mostres d'aigua recollides s'han escollit diferents paràmetres a analitzar: variables bioquímiques (clorofil·la *a*, Carboni Orgànic Particulat, Nitrogen Orgànic Particulat i lípids totals), la concentració de fitoplàncton a través de l'observació dels principals grups (el dinoflagel·lat *P. reticulatum*, altres dinoflagel·lats, diatomees, etc) i els àcids grassos; essent el darrer paràmetre l'únic que he analitzat al laboratori de l'Institut de Ciència i Tecnologia Ambientals (ICTA). Els altres resultats han estat generosament cedits per Ida Fiorillo (ICM-CSIC). En l'anàlisi al laboratori dels àcids grassos el mètode seguit consta de diferents parts, té l'inici en la liofilització de les mostres, és a dir, dels filtres amb fitoplàncton per a eliminar tota l'aigua restant (3.4.1), seguit de l'extracció de la matèria orgànica amb dissolvents en un microones (3.4.2). Posteriorment es separen les diferents fraccions de lípids per a obtenir els àcids grassos (3.4.3), els quals es sotmeten a una metilació (3.4.4) seguit d'una extracció líquid-líquid i, finalment, es concentren (3.4.5) per a l'anàlisi instrumental de la mostra (3.4.6) a través de la cromatografia de gasos per tal d'obtenir els corresponents resultats.

A l'anàlisi al laboratori de l'ICTA, tot el material utilitzat per a la manipulació de les mostres és de vidre i ha estat prèviament embolicat amb paper d'alumini i escalfat a 450°C durant un mínim de 5 hores per tal d'eliminar-ne tots els components orgànics presents. El material de vidre nou passa directament per aquest procés, en canvi, el material de vidre que es reutilitza es neteja abans, de forma que es submergeix durant 24 hores en una solució d'àcid nítric (HNO₃) a l'1%, després es submergeix durant 24 hores més en una solució de *BioSel*, el qual és un detergent sense fosfats, al 2%. Seguidament s'eliminen les restes de detergent amb aigua destil·lada i s'asseca en una estufa a 105°C. El material volumètric, un cop netejat, només s'aclareix amb aigua destil·lada i acetona, s'embolica amb paper d'alumini i es guarda per al següent ús.

Els dissolvents orgànics utilitzats en tot el procés han estat solvents per a cromatografia de gasos, Suprasolv®, Merck.

3.1 Mostreig d'aigua

El mostreig per a la caracterització bioquímica del sèston es va portar a terme entre el 14 i el 16 de febrer de 2007. L'aigua marina (22-24 L) es va recollir a les 7:00, a les 14:00 i a les 21:00 els dies 14 i 15 de febrer, i a les 7:00 el dia 16 del mateix mes. Les mostres es van agafar de la superfície, a 20 metres de les roques, i es van utilitzar botelles de PVC de 10 L de capacitat (a 2,5-3 m per sobre de la comunitat bentònica, principalment formada per sorra i l'alga *Macrocystis integriflora*). Les botelles es van guardar amb gel (6-10°C) fins a l'arribada al laboratori a la costa (el temps màxim transcorregut entre la recollida i l'arribada era de 10 min.). Aquestes es van netejar amb aigua desionitzada després de cada ús. Les mostres d'aigua marina es van guardar entre 6-10°C a la foscor fins a la seva filtració (màxim 1 hora). Les mostres van ser prefiltrades amb una malla de 200-µm per quantificar el microsèston i així evitar les partícules més grans i els organismes planctònics (Rossi and Gili 2007).

3.2 Variables bioquímiques

Per a la determinació de la concentració de la clorofil·la *a*, es van filtrar tres rèpliques de 200 mL amb filtres de fibra de vidra GF/F precalcinats. Els filtres es van congelar immediatament amb nitrogen líquid i es van guardar a -80°C per el seu posterior processament. L'extracció de la clorofil·la *a* es va portar a terme esmicolant els filtres amb 6 mL d'acetona al 90%, homogeneïtzat deixant-ho a la foscor a 4°C durant 30 min. (veure Rossi & Gili, 2005). Després de centrifugar-ho a 2000 revolucions per minut (rpm) a 4°C durant 10 min., el sobrenedant va ser llegit al fluorímetre Turner seguint el protocol de Parsons et al (1985).

Per a la deteminació del Carboni Orgànic Particulat (COP) i el Nitrogen Orgànic Particulat (PON), es van filtrar 500 mL cada vegada que es mostrejava amb filtres GF/F precalcinats (450°C, 5h) i immediatament congelats amb nitrogen líquid. Posteriorment es van assecar els filtres durant 24 h a 60°C. Aquests es van deixar en una atmosfera saturada d'HCl durant 48 h, per tal de destruir qualsevol material inorgànic (Ribes et al 1999, Rossi and Gili 2005, Rossi and Gili 2007). Es van necessitar 24 h més per a completar l'assecamment dels filtres (60°C) abans de l'anàlisi amb l'autoanalitzador C:N (Perkin-Elmer 240).

Els lípids totals de la columna d'aigua es van determinar a partir de la filtració de 3 rèpliques de 1500 mL a través de filtres GF/F precalcinats (450°C, 5h) i immediatament congelades amb nitrògen líquid. Posteriorment, els filtres van ser liofilitzats durant 24 h i guardats a -20°C. Els lípids totals es van analitzar utilitzant el procediment Barnes and Blastock (1973) afegint colesterol com a estàndard (Isla et al).

3.3 Concentració de fitoplàncton

Per a la quantificació del fitoplàncton, per cada mostra es van guardar 150 mL d'aigua marina amb Lugol (0.1% de concentració final) de cada punt mostrejat. Posteriorment es van agafar submostres de 50 mL cada una, les quals es van dipositar en càmeres de sedimentació per a la determinació i quantificació del grups de microfitoplàncton majoritaris utilitzant un microscopi invertit. Els grups quantificats són el de dinoflagel·lats, dividit en *Protoceratium reticulatum*, altres dinoflagel·lats i quists, el de diatomees dividit segons la seva mida, majors o menors de 50 µm, i els ciliats. La mida de les cèl·lules (llargada i amplada) es va mesurar utilitzant un micròmetre ocular.

3.4 Anàlisi dels àcids grassos

Per a l'anàlisi i identificació dels àcids grassos s'han utilitzat dos patrons. Un patró intern, també anomenat de recuperació, format per uns components (2-Àcid Octildodecanoic i 5β-Àcid Colànic) dels quals es coneix la seva proporció i quantitat exacta. A l'inici del procés, abans de l'extracció, s'afegeix una quantitat coneguda de patró intern a cada mostra, excepte en el blanc, per tal que al finalitzar l'anàlisi es pugui quantificar la quantitat de mostra perduda durant el procés, a través del càlcul del percentatge recuperat de la quantitat de patró injectada a l'inici.

El segon patró és un patró extern format per èsters metílics d'àcids grassos (Fatty Acid Methyl Ester, FAME), el qual és utilitzat per a la identificació dels àcids grassos presents a les mostres. Per a l'anàlisi d'aquest es porten a terme un seguit de dilucions conegudes del patró original. Específicament una dilució 1:10, tres de 1:20 i dos de 1:100 amb la finalitat de corroborar la replicació entre els pics, és a dir, la fracció que presenten cada un respecte del total i el seu temps de retenció. Seguidament es porta a terme l'anàlisi instrumental d'aquestes.

3.4.1 Mostreig d'aigua i liofilització

Per a l'anàlisi dels àcids grassos del fitoplàncton es van filtrar mostres d'aigua (1500 L, amb 1 o 2 rèpliques a cada mostreig) a través de filtres de fibra de vidre GF/F precalcinats i immediatament es van congelar amb nitrogen líquid. Posteriorment es van liofilitzar els filtres durant 12 h a -20°C a punt per a l'anàlisi.

3.4.2 Extracció sòlid-líquid

Per a l'extracció del fitoplàncton dels filtres s'ha utilitzat un microones (MARS 5, CEM) el qual està equipat amb 14 vasos de tefló. El principi bàsic del microones és la capacitat de produir canvis a la rotació molecular i a la mobilitat iònica del medi sense alterar la mostra.

El primer vial, on hi van connectades les sondes de temperatura i pressió, s'ha utilitzat com a blanc per controlar la possibilitat de contaminació de les mostres durant el procés de tractament. El blanc consisteix en 15 mL de dissolució Diclorometà:Metanol (DCM:OH) en proporció 3:1 i els 13 vials restants s'omplen amb la mateixa quantitat de dissolució juntament amb els filtres amb fitoplàncton tallats per a un millor contacte amb el dissolvent i 500 µL de patró intern.

A cada vas se li afegeix un agitador magnètic (imant recobert de tefló) a fi d'obtenir una bona homogeneïtzació del contingut, i es tanca hermèticament per assegurar la pressió i temperatura adequades.

El mètode utilitzat s'anomena BIOMARKERS, i funciona a partir d'una rampa de temperatures descrites a la Taula 1.

Temps	Temperatura
2 min. 30 s.	70°C
5 min.	Es manté a 70°C
22-25 min.	Baixa de 70°C a 30°C

Taula 1: Rampa de temperatures mètode BIOMARKERS.
Font: elaboració pròpia.

Posteriorment a l'extracció, els vasos amb les mostres es vortegen a 1800 rpm durant 10 min per a barrejar el contingut. Seguidament les mostres s'aboquen a tubs de centrífuga i es centrifuguen 10 min. a 2400 rpm. D'aquesta manera s'aconsegueix separar els trossos de filtre del sobrenedant, el qual és decantat a un tub d'assaig amb l'ajuda de pipetes de vidre Pasteur. Els tubs amb la mostra es deixen sota la campana durant una nit per a l'evaporació d'1/3 part del reactiu.

El següent pas és l'evaporació completa de la mostra i s'aconsegueix posant els tubs d'assaig a l'evaporador centrífug a una temperatura constant i durant un temps aproximat de 100 min. Fins a l'evaporació total de la mostra.

3.4.3 Separació dels lípids en fraccions: lípids neutres, àcids grassos i lípids polars

Per aconseguir les diferents fraccions dels lípids del fitoplàncton (lípids neutres NL, àcids grassos FFA i lípids polars PL) s'ha aplicat el protocol de Ruiz et al (2004) amb algunes modificacions.

La mostra evaporada i concentrada de fitoplàncton dels tubs d'assaig es recupera posant 0,5 mL de cloroform i es vorteja durant 1 min. a 1800 rpm.

La separació de les diferents fraccions dels lípid s'aconsegueix utilitzant columnes de 500 mg d'amino-propil (Waters Sep-Pak® Cartridges), que s'acondicionen amb 4 mL d'hexà. Seguidament se li afegeix cloroform. Una vegada activada la columna es retira el tub amb el dissolvent de rebuig i es col·loca el que recollirà els NL. S'aboca la mostra i a continuació 3 mL de Cloroform- 2-Propanol en proporció 2:1. Després de col·locar un nou tub sota la columna, s'aboquen 8,5 mL (4,5 + 4 mL) per a recollir la fracció dels àcids grassos. I per últim, es canvia el tub pel que recollirà els lípids polars i s'afegeix a la columna 4 mL de metanol. És essencial que no es deixi assecar la columna mentre duri aquest procés.

3.4.4 Metilació

La preparació de la mostra per a la metilació consisteix en evaporar-la completament a l'evaporador centrífug, a una temperatura constant i durant uns 90 min. Posteriorment, s'afegeixen 500 µL de trifluor-bor-metanol (MeBoF₃) al 20% al tub d'assaig amb la mostra concentrada i es col·loca a la placa calefactora, tapats amb taps de tefló per evitar la contaminació de la mostra. La placa ha d'estar a una temperatura de 90°C, durant 1 hora exacta per a la correcta metilació de la mostra.

3.4.5 Extracció líquid-líquid i concentració

Per a l'extracció líquid-líquid, s'afegeix 4 mL d'aigua amb clorur de sodi (NaCl) i 3 mL d'hexà a la mostra metilada, aquesta es vorteja durant 1 min. a 1800 rpm i s'agita 4 vegades. Per tal de separar les dos fases, hexà i aigua amb sal, es centrifuga la mostra durant 3 min. a 2800 rpm. La fase superior, hexà, s'extreu amb una pipeta i s'aboca a un nou tub d'assaig. Aquest procés es repeteix dues vegades, acumulant un total aproximat de 6 mL d'hexà que ha extret els àcids grassos a analitzar.

A l'últim pas del tractament de la mostra, que és la concentració dels àcids grassos del fitoplàncton, es centrifuga al buit la fracció d'hexà, durant aproximadament 40 min. La mostra que resta al tub d'assaig es recull netejant les seves parets amb cloroform, es repeteix la operació 3 vegades fins un màxim de 1,5 mL de cloroform. La mostra es passa per una columna de sulfat de sodi (Na₂SO₄), que ha estat prèviament netejada amb cloroform, i la mostra queda recollida en un petit vial. Aquesta s'evapora totalment sota una campana amb nitrogen gas (N₂), i es torna a recuperar netejant les parets del vial amb cloroform dipositant el dissolvent en un insert, el qual es tornarà a evaporar amb N₂ fins a deixar una quantitat residual que es redissol amb 30 µL d'isooctà. I així la mostra queda preparada ja per a la injecció al cromatògraf de gasos (GC).

3.4.6 Anàlisi instrumental de les mostres

L'anàlisi dels metil esters dels àcids grassos s'ha efectuat aplicant la tècnica de cromatografia de gas-sòlid.

Per a l'anàlisi instrumental de les mostres s'ha utilitzat el cromatògraf de gasos Thermo Finnigan Trace GC ultra, equipat amb un injector splitless i un detector de ionització de flama (FID). La

columna utilitzada ha estat una DB-5 Agilent de 30 m de longitud, amb un diàmetre intern de 0,25 mm, recobert per poli(fenilmetil)siloxà com a fase estacionària, de 0,25 μm de gruix. L'heli ha actuat com a gas portador a 33 cm s^{-1} . La rampa de temperatura del forn ha estat programada per incrementar de 50°C a 320°C amb una velocitat de 10°C min^{-1} . La temperatura de l'injector i el detector han estat de 300°C i 320°C, respectivament.

El resultat de l'anàlisi dels metil esters dels àcids grassos és un cromatograma que mostra de forma gràfica l'abundància relativa de cada component.

3.4.6.1 Funcionament de la cromatografia de gasos (GC)

La cromatografia de gasos és una tècnica de separació que es desenvolupa en una columna tancada on es troba retinguda la fase estacionària (generalment un líquid de massa molecular molt elevada i de volatilitat molt baixa), per la qual es fa passar un gas inert com a fase mòbil (gas portador).

Quan s'inicia el procés cromatogràfic, els components de la mescla es distribueixen entre la fase estacionària i la fase mòbil, l'elució té lloc forçant el pas del gas portador a través de la columna. La fase mòbil no interacciona amb l'analit i la seva única funció és la de transportar la mostra.

El que es pretén és una distribució desigual dels analits entre les dues fases per aconseguir la seva separació cromatogràfica. Aquells compostos que tenen una retenció més gran a la fase estacionària es prenen més temps per sortir que aquells que presenten una retenció menor. L'equilibri de distribució és controlat per les pressions de vapor (P_v) dels components que conté la mostra i per la seva solubilitat (S) en la fase estacionària.

3.4.6.2 Components d'un cromatògraf de gasos

Els principals components d'un cromatògraf de gasos són (Fig. 3)

- Font de gas portador (botella a pressió). El gas portador (fase mòbil) és un gas inert, generalment heli, nitrogen o argó, d'elevat grau de puresa. El cabal del qual que passa per la columna ha de ser conegut i ha d'estar controlat.
- Sistema de regulació de cabals (vàlvula reguladora i manòmetre).

- Sistema d'injecció, per introduir els soluts a la corrent del gas portador i vaporitzar les mostres. La temperatura de l'injector ha de ser superior a la del punt d'ebullició del component de la mescla menys volàtil.
- Columna, que pot ser amb recobriment, a la qual la fase estacionària líquida està retinguda sobre un sòlid inert o bé pot ser capil·lar, on la fase estacionària es fixa sobre les parets interiors del capil·lar. La temperatura de la columna depèn dels punts d'ebullició dels components de la mescla.
- Detector, que té la finalitat de mesurar la variació d'alguna propietat física del gas portador originada per l'elució dels compostos. La temperatura del detector ha de ser major o igual que la de la columna per evitar la condensació d'algun compost eluït.
- Registre gràfic de les mesures del detector.

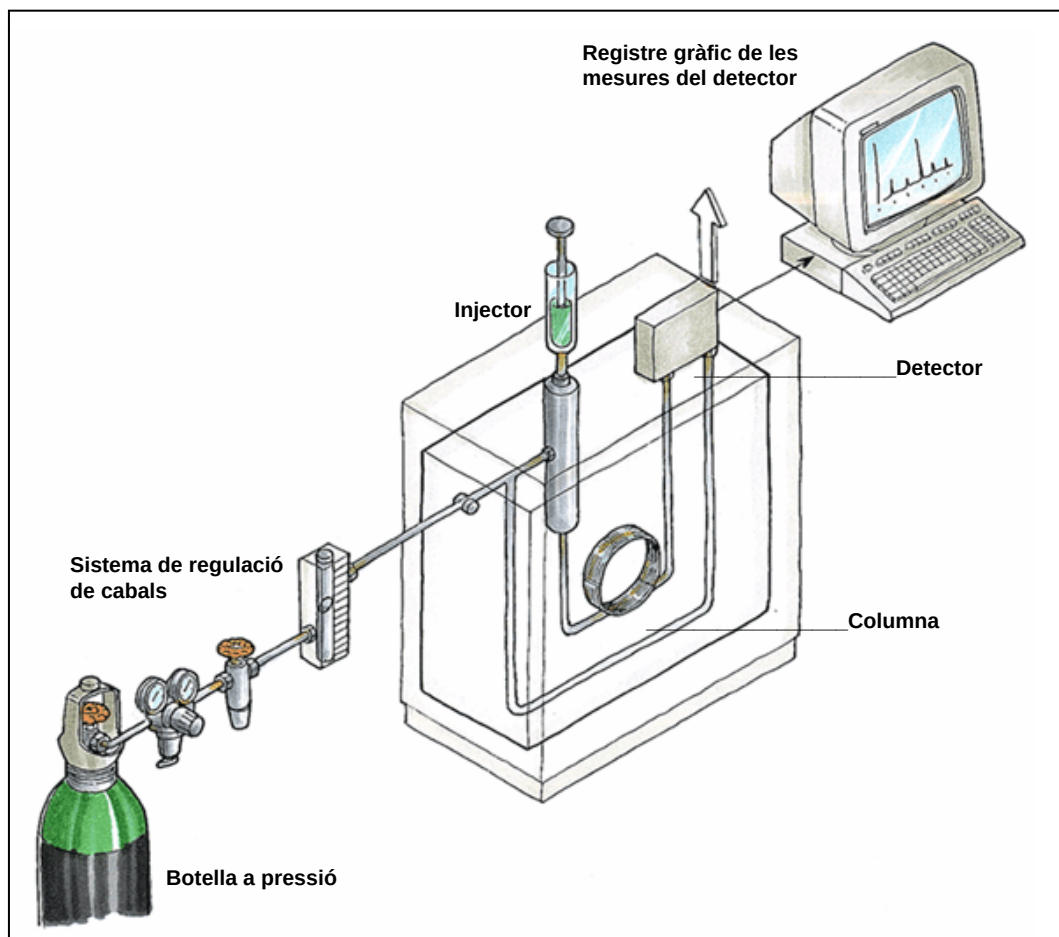


Figura 3: Esquema d'un Cromatògraf de Gasos. Font: modificat a partir de HiQ®.

3.4.7 Aplicació analítica

El cromatograma resultant de l'anàlisi químic té una aportació analítica en dos vessants. La primera és una informació qualitativa, fruit de la capacitat del cromatògraf de gasos de separar els compostos, en aquest cas orgànics, és a dir, cada compost analitzat presenta un temps de retenció diferent segons l'afinitat que tingui cada analit amb la fase estacionària i això queda representat a el cromatograma en forma de pics. Els components que presenten un temps de retenció major són aquells que resten més temps en eludir de la fase estacionària i, per tant, triguen més en arribar al detector, aquests pics estaran situats a la part final del cromatograma. Per altra banda, la segona aportació és una informació quantitativa proporcionada per l'àrea que presenta cada pic, indica quina quantitat de cada analit hi ha a la mostra.

En un anàlisi, els diferents temps de retenció depenen de les següents variables: temperatura de la columna, velocitat de flux i composició de la fase estacionària, això fa que li resti fiabilitat al mateix. Per aquest motiu s'utilitza un patró, és a dir, un conjunt de substàncies conegudes, per tal d'injectar-lo al mateix temps que les mostres a analitzar i així es mantenen les mateixes condicions d'operació. A partir del programa *ChromQuest 4.1* s'han tractat tots els cromatogrames resultants. En primer lloc s'han identificat tots els principals pics que formen els cromatogrames i, a continuació, s'ha determinat l'àrea de cada un.

3.4.8 Identificació i quantificació dels àcids grassos

Els àcids grassos presents a les mostres s'han identificat a partir del patró extern injectat (Fig. 4), aquest és un estàndard que conté en total 37 components FAME diferents (Supelco® Mix C4-C24), del qual s'han descrit els seus pics amb els seus temps de retenció i el corresponent ordre.

Tots els components FAME, determinats per pics en els cromatogrames, que no superaven una àrea major al 0,5% del total, han estat descartats per a no ser marcadors rellevants.

A partir de la semblança de temps de retenció i ordre entre els pics de la mostra (Fig. 5) i els del patró s'ha establert una relació, a més a més de la consulta de literatura per tal d'identificar els que no formen part del grup de 37.

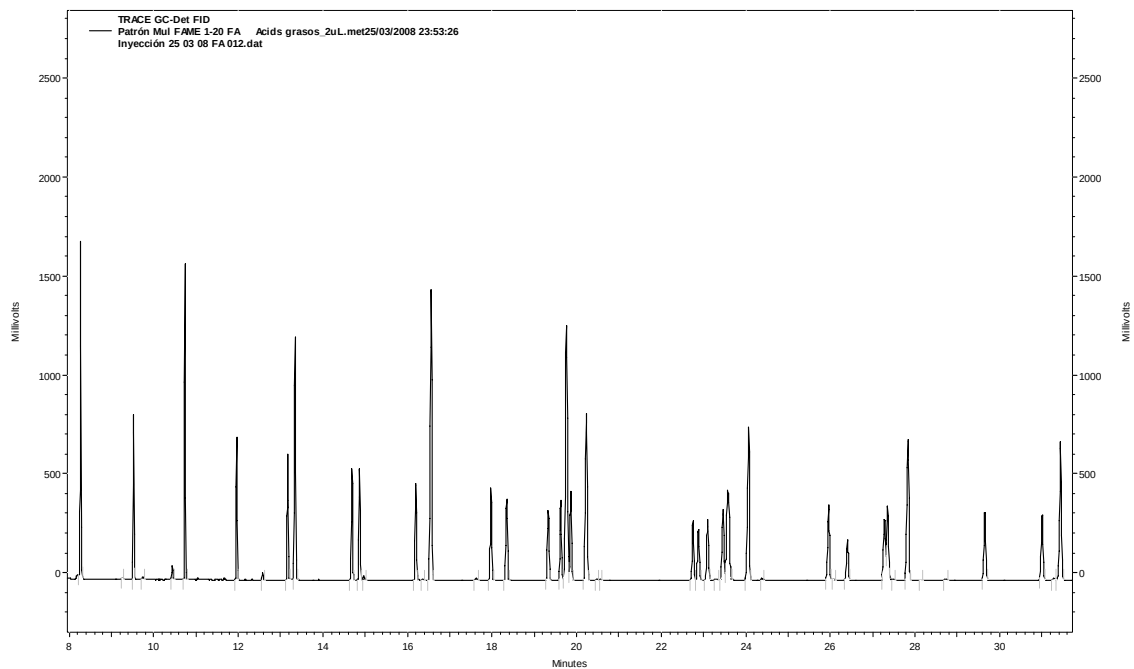


Figura 4. Cromatograma resultant de la injecció del patró extern (estàndard que conté 37 components FAME diferents). A l'eix X hi ha representat el temps de retenció en minuts, i a l'eix Y la intensitat relativa. Cada pic representa un component FAME diferent. Font: elaboració pròpia.

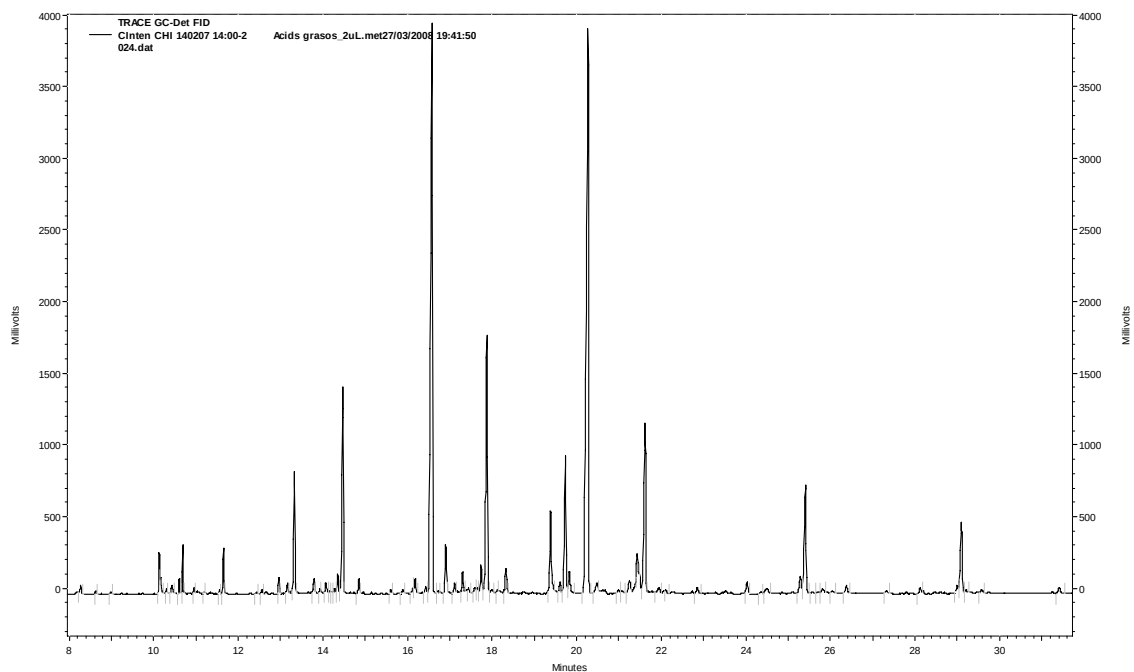


Figura 5. Cromatograma resultant de la injecció de la mostra del dia 14 de febrer de 2007 a les 14:00 h, en l'anàlisi dels àcids grassos presents a la columna d'aigua. A l'eix X hi ha representat el temps de retenció en minuts, i a l'eix Y la intensitat relativa. Els pics representen els diferents àcids grassos presents a la mostra més el patró intern. Font: elaboració pròpia.

3.5 Estadística dels resultats

Els resultats de tots els paràmetres analitzats, tan els bioquímics com els de biomassa, s'han tractat a través del paquet estadístic STATISTICA 6.0, utilitzant diferents models de regressió (p.ex. lineal, exponencial, polinòmic, etc.) per tal de determinar en primer lloc les possibles relacions existents entre paràmetres i, en segon lloc, quin tipus de relació és la que explica més i millor la variància total.

4. RESULTATS

4. RESULTATS

En aquest apartat es descriuen els resultats obtinguts del total de mostres analitzades, descrites a la Taula 2. Els diferents paràmetres analitzats han estat: clorofil·la *a*, carboni orgànic particulat (POC), nitrogen orgànic particulat (PON), lípids totals, grups de fitoplàncton i àcids grassos.

Tal i com es pot apreciar a la Taula 2, no s'han pogut obtenir els resultats de fitoplàncton del dia 15 de febrer a les 7:00 h, ni els valors dels àcids grassos del mateix dia a les 14:00 h.

Dia	Hora	Clorofil·la <i>a</i>	Lípids totals	POC-PON	Grups de fitoplàncton	Àcids grassos
14/02/07	7:00	3	3	1	3	2
14/02/07	14:00	3	3	1	3	1
14/02/07	21:00	3	3	1	3	1
15/02/07	7:00	3	3	1	-	2
15/02/07	14:00	3	3	1	3	-
15/02/07	21:00	3	3	1	3	1
16/02/07	7:00	3	3	1	3	2

Taula 2. Variables mostrejades en tots els punts fixats, des de les 7:00 h del 14 de febrer de 2007 fins les 7:00 h del 16 de febrer de 2007. Font: elaboració pròpia.

4.1 Variables bioquímiques

La concentració de la clorofil·la *a* presenta un pic a la primera tarda del cicle intensiu (14:00 h del 14 de febrer, Fig. 6). La concentració d'aquesta en totes les mostres és gairebé constant durant tot el període mostrejat i presenta uns valors d'entre 4 i 5 $\mu\text{g Chl } a \text{ L}^{-1}$ a l'àrea estudiada, excepte el dia 14 de febrer (14:00 h) que és quan la concentració dobla els valors esmentats, de forma que arriba fins a 8 $\mu\text{g Chl } a \text{ L}^{-1}$. Després d'aquest resultat puntual, la concentració de la clorofil·la *a* baixa fins a establir-se en un valor constant (Fig. 6).

Els lípids totals, seguint el mateix patró que la clorofil·la *a* en els resultats, presenten un pic el 14 de febrer a les 14:00 h (Fig. 6) que és quan la concentració arriba gairebé als 300 $\mu\text{g Lip L}^{-1}$, però a diferència de la clorofil·la *a*, la posterior disminució de la concentració és més esglaonada fins a arribar als 50 $\mu\text{g Lip L}^{-1}$ al final del cicle (Fig. 6). Aquest valor representa una sisena part del pic aconseguit a la tarda del 14 de febrer.

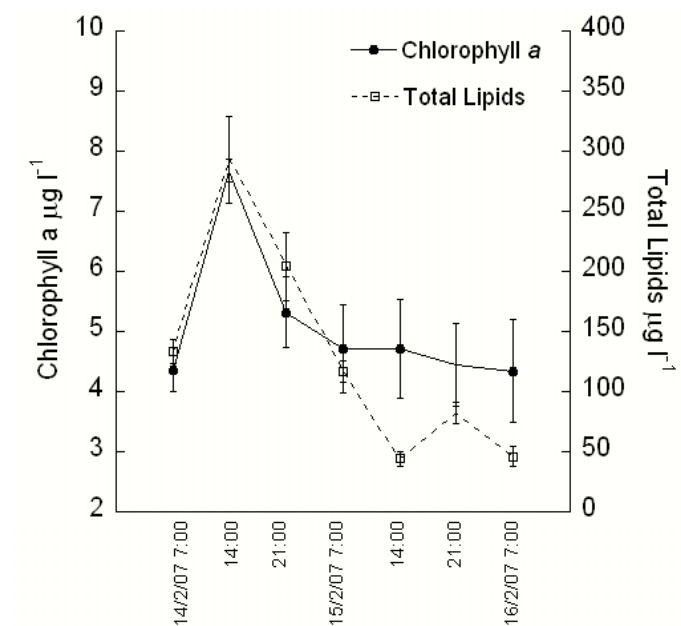


Figura 6. Evolució de la concentració de clorofil·la *a* ($\mu\text{g L}^{-1}$) i lípids totals ($\mu\text{g L}^{-1}$) al llarg del cicle intensiu entre el 14-16 de febrer de 2007. Font: elaboració pròpia.

La concentració de carboni i nitrogen orgànic particulat (POC I PON) durant el cicle intensiu es mostra a la Figura 7. Els valors més alts s'aconsegueixen el dia 14 de febrer a les 14:00 h, aquests gairebé arriben als 3500 $\mu\text{g POC L}^{-1}$ i 400 $\mu\text{g PON L}^{-1}$. Els valors previs i posteriors a aquest pic s'estimen entre 1200 i 2000 pel POC i 130 i 250 pel PON. La relació C/N és similar en tota la durada del cicle intensiu a les aigües costaneres, els valors resultants oscil·len entre 6,9 i 8,3.

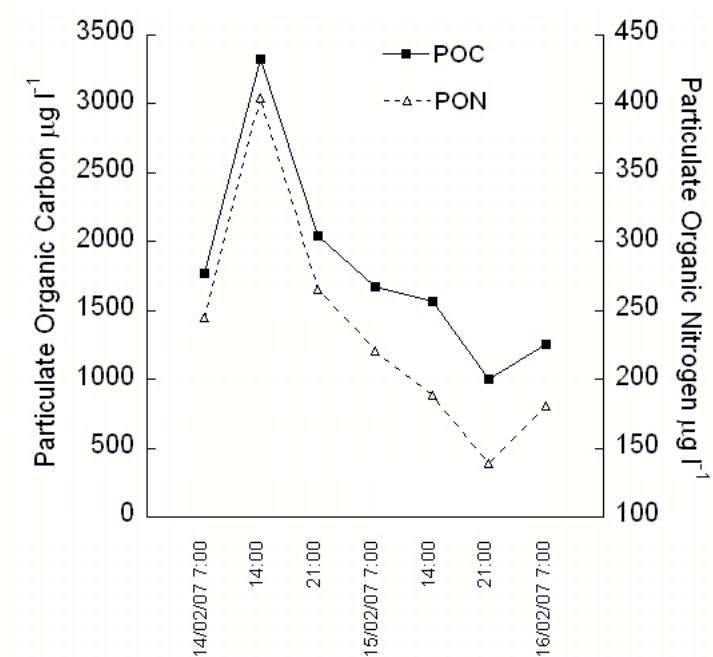


Figura 7. Evolució de la concentració de POC ($\mu\text{g L}^{-1}$) i PON ($\mu\text{g L}^{-1}$) al llarg del cicle intensiu entre el 14-16 de febrer de 2007. Font: elaboració pròpia.

Entre les variables bioquímiques, tal i com es pot observar a la Figura 8a, la major correlació la protagonitzen el POC-clorofil·la *a*. Els lípids totals també mantenen una estreta relació amb la clorofil·la *a* (Fig. 8b). En canvi la relació establerta entre els lípids i el POC no és gaire significativa, tal i com es pot estimar a la Figura 8c. En els tres casos l'equació més adequada per a la representació de les diferents relacions és la logarítmica.

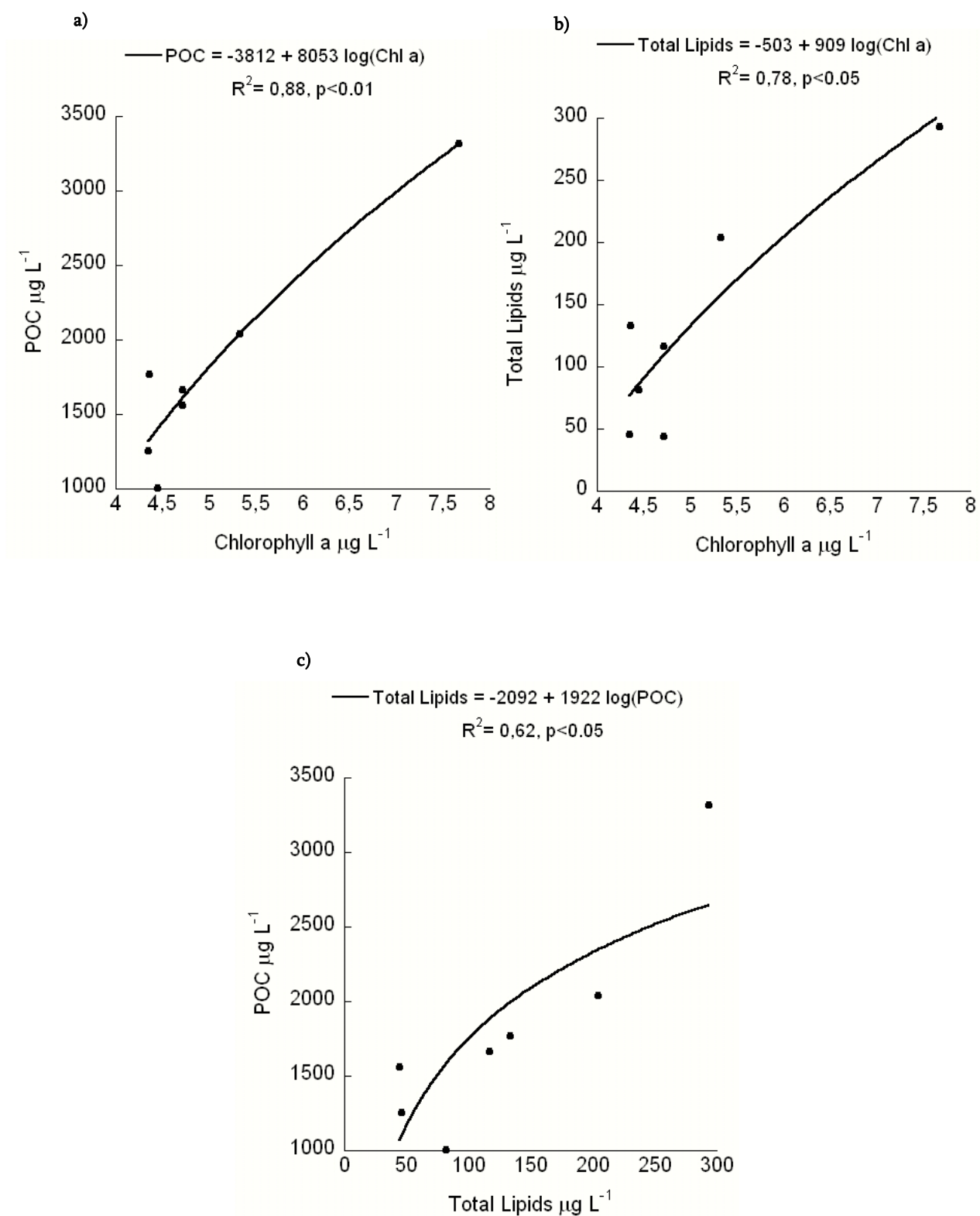


Figura 8. Correlació entre a) la concentració de clorofil·la a ($\mu\text{g L}^{-1}$) i POC ($\mu\text{g L}^{-1}$) b) la concentració de clorofil·la a ($\mu\text{g L}^{-1}$) i els lípids totals ($\mu\text{g L}^{-1}$) c) la concentració dels lípids totals ($\mu\text{g L}^{-1}$) i POC ($\mu\text{g L}^{-1}$). Font: elaboració pròpia.

4.2 Concentració de fitoplàncton

La comunitat de fitoplàncton està absolutament dominada per dinoflagel·lats, i amb especial èmfasi a l'espècie *Protoceratium reticulatum* (Taula 3, Fig. 9). La concentració màxima de *P.reticulatum* coincideix amb els pics més alts de clorofil·la *a*, lípids totals, carboni orgànic particulat i nitrogen orgànic particulat el dia 14 de febrer de 2007 a les 14:00 h. La concentració d'aquesta espècie és quatre vegades més gran que set hores abans (7:00 h), el valor es torna a restablir similar a l'inicial set hores després (21:00 h). Les concentracions a la resta del cicle intensiu són constants, tot i que el valor resultant torna a tenir un lleuger increment a l'últim mostreig, el dia 16 de febrer a les 7:00 h (Taula 3).

La resta d'espècies de dinoflagel·lats manté concentracions similars durant tot el cicle intensiu. Per altra banda, els quists de dinoflagel·lats i els altres grups d'organismes quantificats presenten un pic que coincideix amb la major concentració de *P.reticulatum* el dia 14 de febrer a les 14:00 h, en tots aquests grups, la concentració en el pic màxim és més de tres vegades major que la concentració en el primer mostreig (Taula 3).

Dia	Hora	<i>Protoceratium reticulatum</i>	Altres dinoflagel·lats	Quists	Diatomees > 50 µm	Diatomees < 50 µm	Diatomees totals*	Ciliats	Total cel. L ⁻¹
14.02.07	7:00 h	92680	12060	9480	2420	5360	7840	60	139440
14.02.07	14:00 h	383520	11040	28320	9520	17600	27120	320	505760
14.02.07	21:00 h	129200	12300	13200	4400	9100	13500	100	195000
15.02.07	7:00 h	-	-	-	-	-	-	-	-
15.02.07	14:00 h	54800	6800	14600	5400	15400	21100	200	133200
15.02.07	21:00 h	88200	18800	15600	4100	9700	13800	100	136500
16.02.07	7:00 h	125300	17700	16000	3000	4500	7600	100	146700

Taula 3. Principals grups de fitoplàncton a la badia de Chipana durant el cicle intensiu entre el 14-16 de febrer de 2007. El dia 15 de febrer a les 7:00 h no hi ha mostres disponibles. Les diatomees totals (*) inclouen les diatomees en cadena trobades en algunes mostres. Font: elaboració pròpia.

De forma general, les diatomees són menys abundants que el grup de dinoflagel·lats i, dintre d'aquestes, les diatomees menors a 50 µm presenten especial predominança durant aquest cicle intensiu respecte les diatomees majors a 50 µm. Tal i com ja s'ha esmentat anteriorment, la màxima concentració dels dos grups de diatomees és present durant el dia 14 de febrer a les 14:00 h. En hores posteriors, la concentració de diatomees disminueix paulatinament fins a restablir-se en un valor pròxim a l'inicial, excepte la concentració del 15 de febrer a les 14:00, que és quan presenta un

altre pic pròxim al primer pic descrit anteriorment (Taula 3). Aquest segon pic coincideix amb el valor de concentració més baix de *P.reticulatum*.

En la identificació i quantificació de fitoplàncton també s'han detectat cadenes de diatomees, però la seva concentració, la qual presenta valors entre 60-300 cadenes L^{-1} , és negligible respecte les cèl·lules lliures de diatomees.

Els quists i el ciliats també presenten un pic durant el dia 14 de febrer a les 14:00 h, i en les posteriors mostres els valors d'ambdós disminueixen i es mantenen més o menys constants.

El conjunt de cèl·lules totals oscil·la entre $1,33 \cdot 10^8$ cel. L^{-1} i $5,05 \cdot 10^8$ cel. L^{-1} (Taula 3). El dinoflagel·lat *P.reticulatum* manté la major proporció del total de cèl·lules durant tot el cicle intensiu (Figura 9), i presenta un pic màxim de dominància el 14 de febrer a les 14:00. Vint-i-quatre hores més tard del pic més concentrat (15 de febrer a les 14:00 h) la proporció de diatomees creix, però tornen a ser desplaçades per *P.reticulatum*, tot i que la seva concentració no és tan alta com a les mostres prèvies, i també pel lleuger increment de la proporció d'altres dinoflagel·lats (Figura 9).

Per altra banda, la proporció de quists també augmenta notablement vint-i-quatre hores després del pic màxim de *P.reticulatum* (Figura 9).

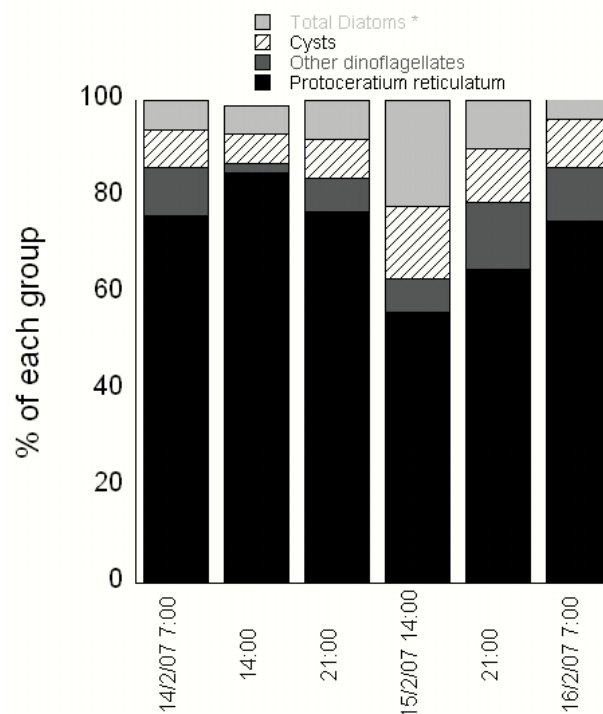


Figura 9. Proporció dels principals grups de fitoplàncton (% del total dels grups representats) durant el cicle intensiu entre el 14-16 de febrer de 2007. El dia 15 de febrer no hi ha mostres disponibles. Les diatomees totals (*) inclouen les diatomees en cadena trobades en algunes mostres. El grup dels ciliats no està representat en el diagrama ja que representen un percentatge minoritari. Font: elaboració pròpia.

La Figura 10 mostra la relació existent entre la concentració total de cèl·lules per litre i la concentració de lípids totals. Els dos paràmetres presenten una correlació significativa, doncs la confiança és del 70%, amb una probabilitat d'error molt baixa (<0.01).

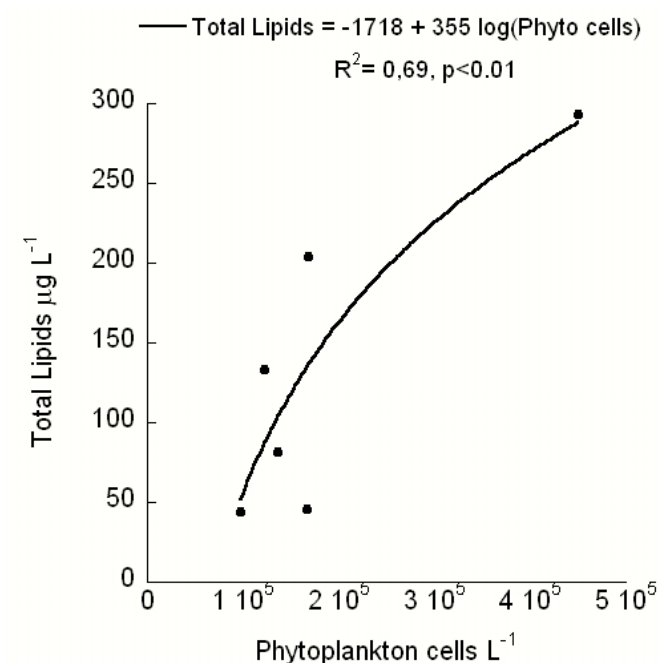


Figura 10. Correlació entre la concentració de les cèl·lules de fitoplàncton (cel. L^{-1}) i els lípids totals ($\mu g L^{-1}$). Font: elaboració pròpia.

4.3 Àcids grassos

Els àcids grassos saturats (SAFA) són els àcids grassos més abundants en tot el cicle intensiu (Taula 4). El C18:0 i el C16:0 presenten proporcions estables de forma notable durant tot el període estudiat (24,9%-28,3% en el C18 i 21,9%-25% en el C16). El C14:0 també és força abundant, i els altres àcids grassos com el C12:0, C13:0, C15:0, C17:0 o el C20:0 també són presents durant tot el cicle. Els SAFA de cadena mitjana i llarga, en aquest cas el C22:0, C23:0 i C24:0; també adquireixen protagonisme en aquest cicle, especialment el C23:0 el qual presenta una proporció elevada durant pic de màxima concentració de cèl·lules de fitoplàncton, és a dir, un 3% del total (el 14 de febrer a les 14:00 h).

Els àcids grassos monoinsaturats (MUFA) presenten baixes concentracions al llarg de tot el cicle (Taula 4). El MUFA més abundant és el C18:1(n-9), però també el C16:1(n-9), el qual és considerat

un bon marcador de la presència de diatomees (Reuss and Poulsen 2002, Daalsgard et al 2003) té valors moderats durant el cicle intensiu. També hi ha altres MUFA presents (C18:1(n-7) i C20:1(n-9), però no tenen rellevància en tot el cicle.

Els àcids grassos poliinsaturats (PUFA) presenten concentracions força més elevades que els MUFA tal i com s'aprecia a la Taula 4. Els PUFA més importants respecte al seu percentatge són el C18:4(n-3) (en un rang de 5,1-11,4%), el C20:5(n-3) (en un rang de 5,2-9,2%) i el C22:6(n-3) (en rang de 1,4-3,3%). Els altres PUFA estan menys concentrats, tot i això presenten valors significatius, com són els casos del C18:3(n-3) o del C20:4(n-6).

	14/02/07 7:00 h N=2 %	14/02/07 14:00 h N=1 %	14/02/07 21:00 h N=1 %	15/02/07 7:00 h N=2 %	15/02/07 21:00 h N=1 %	16/02/07 7:00 h N=2 %
Àcids grassos						
C12:0	1,08	1,01	1,04	0,13	0,84	0,89
C13:0	0,47	1,02	1,27	0,56	1,00	0,80
C14:0	8,43	3,44	6,38	5,81	9,21	4,77
C15:0	0,69	0,54	0,55	0,58	0,67	0,65
C16:0	21,97	24,34	24,05	25,04	23,12	23,22
C16:1 (n-7)	2,36	2,71	2,27	3,09	8,81	4,08
C17:0	0,97	0,95	0,86	0,83	1,04	0,90
C18:0	25,49	24,93	25,41	28,30	28,01	28,06
C18:1 (n-9)	1,84	6,13	7,01	5,69	4,04	5,82
C18:1 (n-7)	0,93	1,17	1,78	2,07	1,59	1,80
C18:2 (n-6)	0,71	0,39	1,66	0,21	0,45	0,30
C18:3 (n-3)	1,25	3,54	2,29	1,82	0,76	0,71
C18:4 (n-3)	11,37	10,54	8,43	8,49	5,15	9,89
C20:0	1,20	0,46	0,77	0,66	0,54	0,56
C20:1 (n-9)	0,81	0,00	0,00	0,57	0,00	0,99
C20:4 (n-6)	2,95	1,80	0,55	0,58	1,59	1,91
C20:5 (n-3)	9,18	6,00	7,65	6,43	5,25	5,68
C22:0	0,33	0,97	0,41	0,63	0,35	0,96
C22:6 (n-3)	5,93	5,31	3,87	4,19	3,37	3,95
C24:0	1,50	3,61	2,63	2,81	2,27	3,24
Altres	0,50	1,10	1,12	1,56	2,00	0,87
SAFA	62,1	61,3	63,4	65,3	67,1	64,0
MUFA	6,0	10,0	11,1	11,4	14,4	12,7
PUFA	31,4	27,6	24,5	21,7	16,6	22,4
Total	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Taula 4. Composició d'àcids grassos (% del total dels àcids grassos) i número de rèpliques fetes en tots els punts fixats a la costa de la badia de Chipana (des del 14 fins el 16 de febrer de 2007). Font: elaboració pròpia.

A la Figura 11a,b,c es poden observar les correlacions presents entre la proporció de dinoflagel·lats (%) i la proporció d'alguns àcids grassos (%) que funcionen com a biomarcadors de dinoflagel·lats per ser sintetitzats per ells (C18:4(n-3), C22:6(n-3) i C20:5(n-3)) (Reuss and Poulsen 2002, Daalsgard et al 2003).

Els dos primers biomarcadors (C18:4(n-3) i C22:6(n-3)) mostren una bona relació exponencial (Fig. 11a,b), però en el tercer cas (C20:5(n-3)) no s'aprecia cap correlació significativa (Fig. 11c). En aquest cicle intensiu, el PUFA C18:4(n-3) presenta el millor ajust a una corba exponencial, resultat d'un 93% de variància i un alt grau de significança. Malauradament, hi ha dos punts en els que s'ha perdut o bé la mostra de fitoplàncton o bé la mostra d'àcids grassos, per tant, només s'han pogut ajustar a la corba 5 punts mostrejats (Fig. 11).

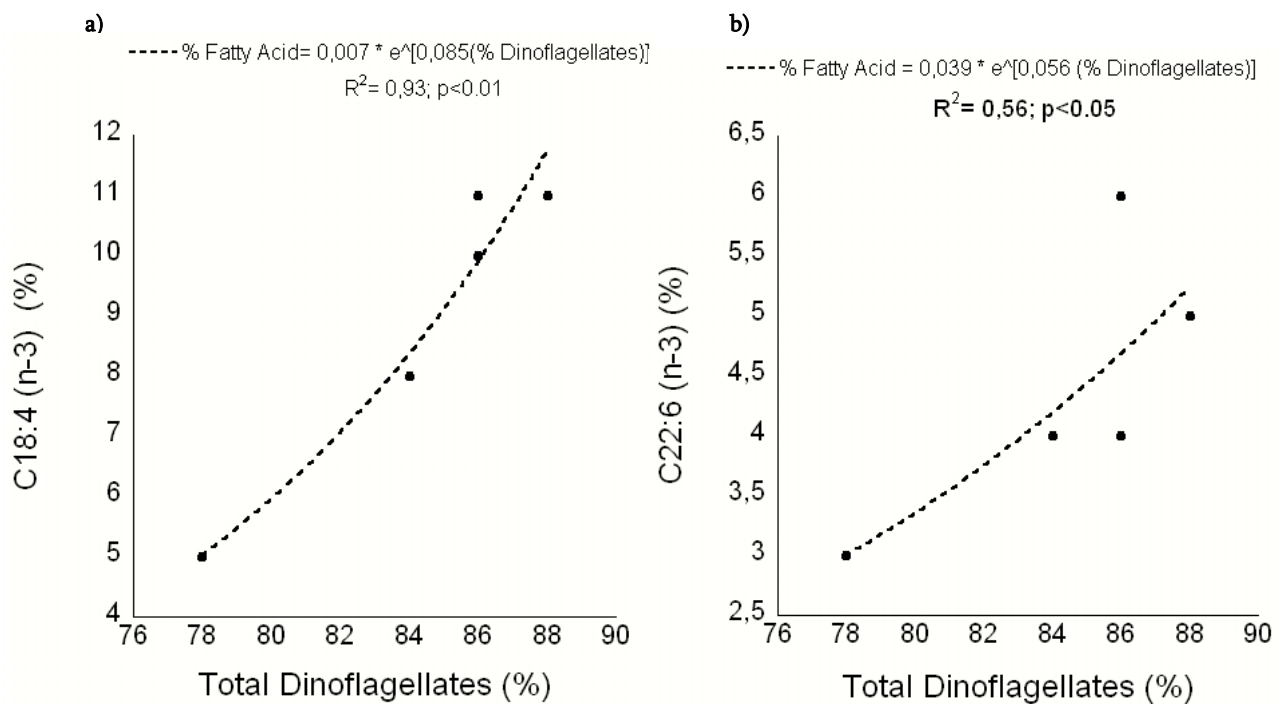


Figura 11. Correlació entre **a)** els dinoflagel·lats totals (%) i el C18:4(n-3) (%) **b)** els dinoflagel·lats totals (%) i el C22:6(n-3) (%). Font: elaboració pròpia.

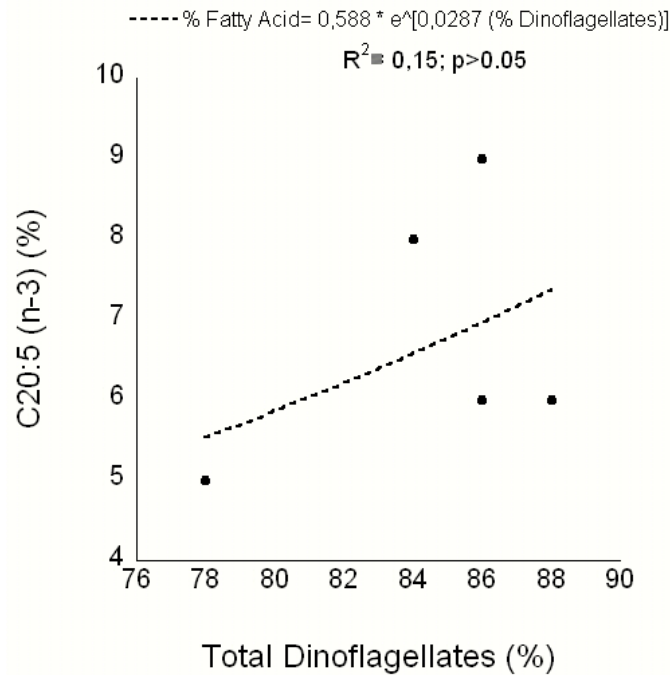


Figura 11c. Correlació entre els dinoflagel·lats totals (%) i el C20:5(n-3) (%). Font: elaboració pròpia.

La Figura 12a,b,c mostra les relacions existents entre els considerats marcadors tròfics, l'origen del qual està en les diatomees (C16:1(n-7), C20:5(n-3) i C14:0) (Reuss and Poulsen 2002 and Daalsgard et al 2003), i el percentatge representat pel total de diatomees.

La corba més definida s'aconsegueix quan es comparen el percentatge de PUFA C16:1(n-7) i el de diatomees (Fig. 12a), però tot i ser significant, la corba sembla estar dispersada. El dia 15 de febrer a les 21:00 h, el marcador C16:1(n-7) és notablement rellevant, ja que gairebé abasteix un 9% del total (Taula 4), que és quan les diatomees són bastant abundants (Taula 3). Però, desafortunadament, quan les diatomees presenten una elevada proporció el dia 15 de febrer a les 14:00, la mostra d'àcids grassos del mateix moment s'ha perdut, per això no es pot observar si hi ha una correlació estreta entre ambdues variables.

Respecte la relació entre les diatomees i els C20:5(n-3) i C14:0 representada a la Figura 12b,c, en el primer cas no existeix, i en el segon cas no es pot afirmar cap relació estreta ja que la correlació no és significativa.

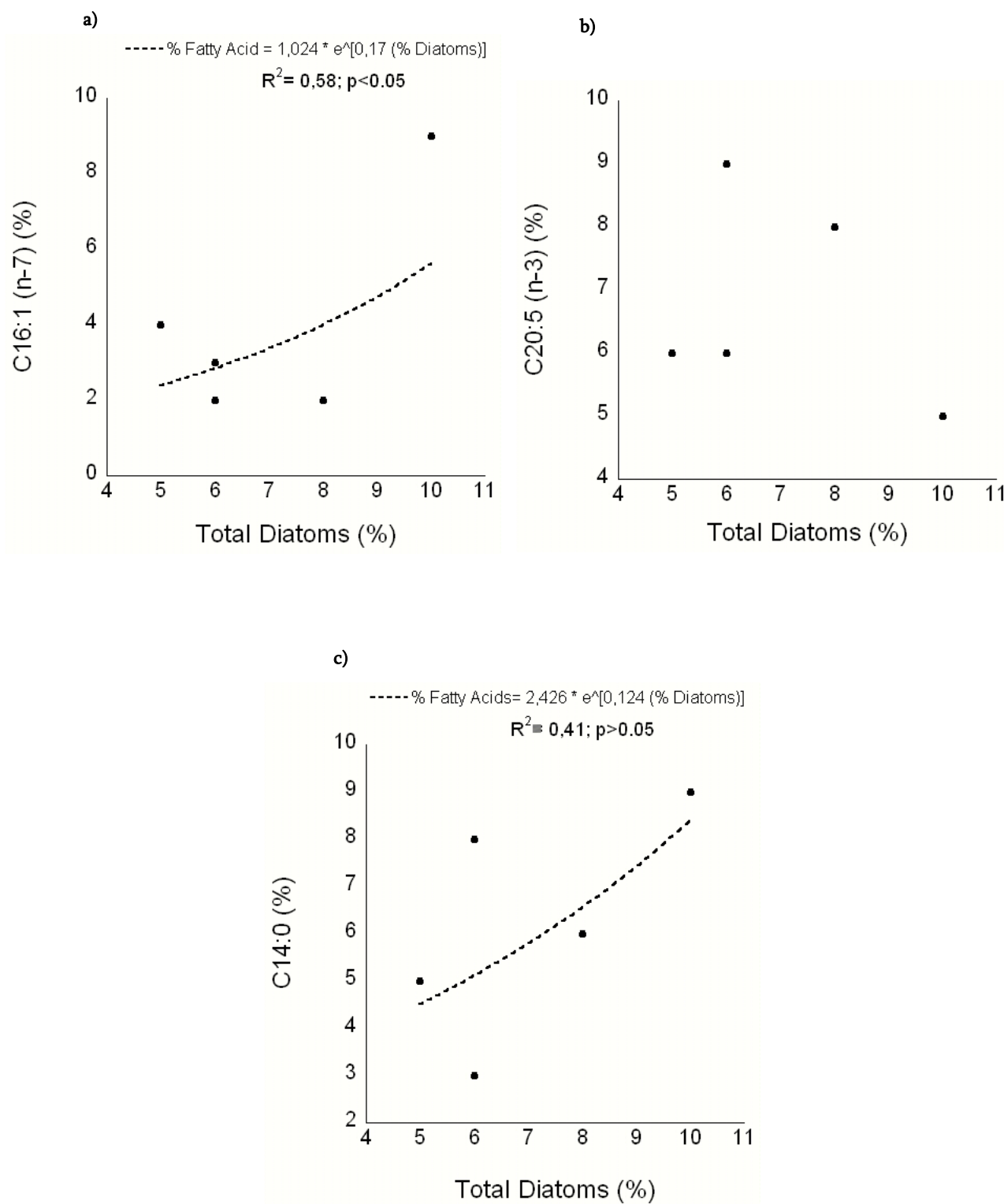


Figura 12. Correlació entre **a)** les diatomees totals (%) i el C16:1(n-7) (%) **b)** les diatomees totals (%) i el C20:5(n-3) (%) **c)** les diatomees totals (%) i el C14:0 (%). Font: elaboració pròpia.

5. DISCUSSIÓ

5. DISCUSSIÓ

5.1 Àcids grassos presents a la marea roja de *Protoceratium reticulatum*

La gran abundància de diferents biomarcadors (àcids grassos) corrobora que a les aigües analitzades hi ha una evident dominància dels organismes dinoflagel·lats, i tenint en compte el percentatge d'abundàncies dels diferents organismes, es confirma que hi ha present un gran bloom protagonitzat per la dinofícia *P.reticulatum*.

La dominància del *P.reticulatum* es veu per la combinació de diferents àcids grassos (C18:0, C18:4(n-3), C20:5(n-3) i C22:6(n-3)) que funcionen com a marcadors per ser sintetitzats pels dinoflagel·lats (Reuss and Polusen 2002, Daalsgard et al. 2003) i tenir una notable abundància, doncs cada un d'ells representa un mínim del 3% del total d'àcids grassos (Taula 4), durant el cicle intensiu.

La proporció d'àcids grassos representada per *P.reticulatum* i els altres dinoflagel·lats (el dos grups en conjunt representen més del 80% de les cèl·lules en tot el cicle, excepte en un punt específic) encaixen amb la majoria de resultats obtinguts en experiments anteriors, tan al camp com al laboratori (Hallegraeef et al 1991, Shamsudin 1996, Mansour et al 1999, Leblond and Chapman 2000, Broglio et al 2003). Per tal de corroborar aquesta premissa, a la Figura 11a, s'observa una evident relació exponencial entre la concentració dels dinoflagel·lats totals i la presència de C18:4(n-3), el qual ha estat proposat com a marcador de dinoflagel·lats per altres autors (Reuss and Poulsen 2002). I la Figura 11b també presenta una correlació significativa entre el volum de dinoflagel·lats i el marcador C22:6(n-3), el qual està considerat com un àcid gras essencial per no estar sintetitzat es abundants quantitats i estar limitat pel catabolisme i la pèrdua en nivells tròfics superiors (Sargent and Whittle 1981, Brett and Müller-Navarra 1997, Arts et al. 2001).

Un dels marcadors més utilitzats per determinar la dominància de les diatomees és la proporció existent entre C16:1(n-7)/C16:0, la proporció de 1 s'aplica generalment per indicar l'abundància de diatomees a la mostra (Reuss and Polusen 2002), però en tot el cicle el valor més alt obtingut és de 0,38 del dia 15 de febrer a les 21:00 h, per tant, lluny de la dominància. Per a corroborar aquesta afirmació, en altres estudis s'han determinat valors d'entre 0,5-1,5 en grups de diatomees i valors per sota de 0,5 en comunitats dominades per flagel·lats (Viso and Marty 1993).

Per altra banda, quan les diatomees són abundants, però en cap cas dominants, el marcador C16:1(n-7), l'origen del qual es pot atorgar a les diatomees (Reuss and Poulsen 2002 and Daalsgard et al 2003)

és també superior, això pot ser explicat per la correlació significativa existent entre aquests dos paràmetres (Fig. 12a). També hi són presents altres marcadors, l'origen dels quals es pot considerar compartit entre diatomees i dinoflagel·lats, però en el cas del C20:5(n-3) no presenta correspondència amb cap dels dos grups, ni amb les diatomees (Fig. 12b) ni amb els dinoflagel·lats (Fig. 11c).

En referència a la correlació positiva entre el marcador de diatomees C16:1(n-7) i la concentració de diatomees (Fig. 12a), podria ser resultat de l'elevada proporció de lípids de determinades espècies de bacil·lariofícies respecte altres grups (Claustre et al 1990, Fahl and Kattner 1993, Kuwata et al 1993, Rossi et al 2006). La baixa proporció de cèl·lules de diatomees comparada amb la de dinoflagel·lats, i amb especial protagonisme les de *P.reticulatum*, no emmascara totalment els lípids de les diatomees.

A l'hora d'interpretar els àcids grassos com a marcadors, s'han de considerar els vincles existents en la cadena tròfica entre els organismes bentònics i pelàgics (Dalsgaard and St John 2004), ja que els àcids grassos es poden acumular en nivells tròfics superiors i, per tant, no ser-hi presents en apreciables proporcions als sèston analitzat (Klungsøyr et al 1989, St John and Lund 1996, Rossi et al 2006, Rossi et al 2008).

Els àcids grassos saturats (SAFA) són predominants a la present marea roja de *P.reticulatum*, i de forma notòria el C16:0 i el C18:0. Però també hi ha presents altres àcids grassos marcadors que es poden considerar d'origen bacterià, o bé tenen una proporció significant en aquesta marea roja (C13:0, C15:0, C22:0, C24:0, majoritàriament d'origen terrestre) (Budge et al 2001). Però això és degut a: 1) La zona de mostreig està situada a la línia costanera, a prop de la platja, i hi pot haver entrada de materials del riu Loa (Palma et al 2006, Herrera and Escribano 2006); 2) Els blooms de dinoflagel·lats han estat associats a una alta concentració de biomassa bacteriana a ambients costaners (Gasol et al 2005).

5.2 Disponibilitat d'aliment

Per a la descripció de la disponibilitat de fitoplàncton i sèston en aquest sistema de surgència, el qual és una de les regions del Sistema de Corrent de Humboldt amb un dels fenòmens de surgència més destacable, s'han utilitzat els valors resultants dels següents paràmetres tròfics: clorofil·la *a*, lípids totals, POC i PON. Aquesta àrea és una regió amb una alta producció, com a resultat de la fertilització de les aigües superficials per part dels nutrients transportats del fons durant l'aflorament (Thomas et al 1994).

Els resultats obtinguts (Fig. 6 i 7) en el present cicle intensiu encaixen respecte estudis previs ja desenvolupats (Navarro et al 1993, Vargas et al 2006, Isla et al I, Isla et al II).

L'existència d'una alta concentració de lípids a les aigües costaneres de l'àrea mostrejada és indicadora d'una elevada disponibilitat d'aliment per als organismes bentònics filtradors. La correlació existent entre la concentració de lípids totals i la de cèl·lules totals (Fig. 10) porta a la deducció que molts dels lípids presents (i en aquest cas també clorofil·la *a*, POC i PON) provenen de les cèl·lules que componen la marea roja, és a dir, de les cèl·lules que conformen el microfitoplàncton. Els valors de C/N són baixos (7-8), això suggereix que la majoria de carboni particulat prové del fitoplàncton (Atkinson and Smith 1991).

Però, en el present treball, la comunitat dominant són els dinoflagel·lats, i més específicament l'espècie *P.reticulatum*, els quals poden esdevenir tòxics en altes concentracions (veure 5.3), alguns organismes filtradors presents a les aigües costaneres superficials se'n beneficien, en canvi d'altres surten perjudicats per la presència del bloom algal.

Si es tenen en compte dos exemples, ambdós comportaments de les dues espècies de bivalves: *Argopecten purpuratus* i *Aulacomya ater* (Avedaño and Cantillánez 2003, Villegas et al 2008) són ben diferents amb la presència d'una marea roja de *P.reticulatum*. *A. Prupuratus*, activament filtrador, no mostra cap símptoma d'inhibició mentre dura el bloom algal, en canvi, *A.ater* no porta a terme la filtració durant els bloom (observació personal de Fiorillo i Rossi). A partir d'aquests exemples s'intueix que hi ha bivalves especialment sensibles a les marees roges, però d'altres que presenten un comportament tolerant davant d'aquestes.

En el cicle intensiu, la concentració de cèl·lules dominades per *P.reticulatum* es pot considerar moderada (Taula 3) si es compara amb altres proliferacions algals (Garcés et al 1999, Vila et al 2001). En aquesta mateixa àrea, s'han observat més de $2,5 \cdot 10^6$ cel. L^{-1} , principalment diatomees (Herrera and Escribano 2006), doncs és possible que, tot i tenint en compte el potencial efecte tòxic de les cèl·lules flagel·lades, els valors trobats en aquest estudi no col·lapsin completament l'activitat dels organismes filtradors. En aquest cas, la disponibilitat potencial d'aliment esdevindria elevada, i donaria resposta a part de la riquesa disponible per a la fauna bentònica en aquesta zona de surgència (Arntz et al 2006).

5.3 Impacte ecològic de la marea roja

Protoceratium reticulatum (= *Gonyaulax grindleyi*) és un dinoflagel·lat nociu identificat a diferents països, a Xile entre d'altres (Yasumoto and Takizawa 1997, Satakate et al 1999, Samdal et al 2004). L'espècie *P. reticulatum* és planctònica i fotosintètica i forma quists esfèrics amb espines. Tenint en compte les diferents localitzacions on s'ha trobat, es dedueix que *P. reticulatum* es pot adaptar a un ampli rang de condicions de temperatura, salinitat, llum, pH i nutrients (Paz 2007).

A la Figura 9 es pot observar com en l'esdeveniment de la marea roja, l'espècie *P. reticulatum* desplaça als demés grups i alhora impedeix la seva disponibilitat a la cadena alimentària, perjudicant d'aquesta manera als nivells tròfics superiors. Tal i com s'ha discutit a l'anterior punt, algunes espècies de bivalves en surten perjudicades però també n'hi ha d'altres que presenten tolerància a aquests tipus d'esdeveniments, com és l'*A. purpuratus*. Doncs moltes de les pesqueries artesanals basades en els organismes bentònics, poden arribar a estar greument perjudicades per bloom algals d'aquestes característiques.

A les costes del sud de Noruega, a Flødevigen, un bloom de *P. reticulatum* va causar contaminació a través de les yessotoxines a l'espècie *Mytilus edulis*, coneguda com a musclo atlàntic, l'any 2001 (Sambdal et al 2004). I els resultats obtinguts en els experiments de contaminació per yessotoxines realitzats per Aasen et al al 2005, d'una altra marea roja de *P. reticulatum*, mostraven que l'exposició dels musclos atlàntics a un bloom de dinoflagel·lats d'una densitat relativament baixa ($2,2 \cdot 10^3$ cel.L⁻¹) era suficient per a causar contaminació als musclos a través de les yessotoxines amb uns nivells superiors al límit regulat. Per altra banda, *P. reticulatum* ha estat identificat de forma reiterada al mar Adriàtic, la seva presència sovint acaba amb el tancament dels viviers de marisc durant llargs períodes de temps. Els mol·luscs poden contenir un alt grau de toxicitat tot i la presència de baixes concentracions en el nombre de cèl·lules, això passa per l'alt contingut en yessotoxines en moltes comunitats algals (Guerrini et al 2007).

En el cas que ocupa aquest treball, la marea roja ocorreguda a la costa de Chipana el febrer de 2007, la concentració màxima de *P. reticulatum* ha estat de $3,8 \cdot 10^5$ cel. L⁻¹ (Taula 3), i tenint en compte el referent noruec, la marea es pot caracteritzar d'altament tòxica. Però per confirmar aquesta premissa és imprescindible el valor de la concentració de toxines durant el cicle intensiu, i aquest paràmetre no s'ha analitzat.

En els episodis de marea roja, els mol·luscs bivalves estan directament afectats per la presència de toxines a la columna d'aigua i, conseqüentment, les pesqueries surten perjudicades d'aquest

fenomen. El temps de depuració de les toxines dels diferents organismes dependrà principalment de la naturalesa d'aquests. En els experiment esmentats anteriorment de Aasen et al (2005), es donava a conèixer que el temps de vida mitja de les diferents yessotoxines filtrades pels mol·luscs es situaven entre 20 i 60 dies després del pic de màxima concentració de dinoflagel·lats. També s'ha d'indicar que aproximadament tres mesos després del pic de concentració, la depuració de les toxines començava a disminuir notablement a causa de l'entrada a l'hivern i, per tant, de la reducció de l'activitat metabòlica acompanyada per una disminució de les temperatures. És important també considerar que en els mateixos experiments, la depuració de les yessotoxines no va estar afectada per la disponibilitat de biomassa algal, ja que la taxa de depuració es va mantenir constant tot i la variació de la biomassa a les aigües

A les aigües costaneres de Chipana, el pic màxim de concentració de *P.reticulatum* és el dia 14 de febrer a les 14:00 h (Taula 3), que és quan hi ha les màximes concentracions de clorofil·la *a*, POC, PON i lípids totals (Fig. 6 i 7). És en aquest punt quan la columna d'aigua conté la màxima concentració de toxines, per tant, durant les següents hores es desenvoluparà el procés de depuració d'aquestes per part dels mol·luscs bivalves. Per aquest motiu, és important efectuar una monitorització de la marea roja en intervals curts de temps, és a dir, realitzar el mostreig intensiu amb la finalitat de detectar els blooms algals i les hores de màxima concentració, perquè si no és així el bloom podria passar desapercebut i dels perjudicis ecològics que aquest comporta no se'n podria detectar l'origen específic.

5.4 Influència de El Niño sobre les marees rojes

De forma genèrica, les principals repercussions del fenomen de El Niño a la columna d'aigua del Pacífic oriental són l'increment de la temperatura de les aigües superficials i la disminució del nivell de la termoclina i, per tant, una considerable reducció del fenomen de surgència.

En relació a la temperatura de l'oceà, aquesta té una considerable influència sobre la biogeografia de les microalgues i la dinàmica dels blooms algals. Guerrini et al (2007) va investigar els efectes de la temperatura a un bloom de *P.reticulatum* al mar Adriàtic, tot i considerar un rang estret de temperatures, es va observar clarament que la màxima taxa de creixement i el rendiment cel·lular del dinoflagel·lat es va obtenir amb les temperatures més baixes (16-20 °C) i valors intermedis de salinitat (32) , mentre que els 26 °C de temperatura de l'aigua determinava l'inici de la fase de

decadència i l'increment del volum cel·lular. Aquest últim fet dona explicació a l'observació dels pics dels blooms de dinoflagel·lats en aigües càlides.

A l'àrea estudiada, en aigües costaneres, la temperatura superficial era de 18 °C i la salinitat de 34 (Islla observació personal), aquestes dades són molt similars a les observacions experimentals de Guerrini et al (2007).

Tenint el compte l'efecte de la temperatura a la marea roja de *P.reticulatum*, l'increment de temperatura de les aigües oceàniques superficials sota els efectes de El Niño podria induir a la formació de pics en la concentració dels organismes que protagonitzen les marees roges i desembocar en un efecte negatiu a nivells tròfics superiors. A més a més, l'increment de la temperatura del mar (26 °C) també resulta en un increment de la toxicitat de les cèl·lules de *P.reticulatum*, registrada per una elevada concentració de yessotoxines. Les aigües càlides, presumptivament, tenen un efecte en l'increment de l'activitat metabòlica de les cèl·lules, fet que estimula la biosíntesi de les yessotoxines (Guerrini et al 2007).

Per altra banda, és important també remarcar que a l'àrea nord de Xile que forma part del Sistema de Corrent de Humboldt, en concret a Antofagasta (23° S), mentre dura la surgència a les aigües costaneres hi ha una maximització de la producció primària i de la biomassa, la comunitat present està dominada per diatomees (majoritàriament les diatomees que formen cadenes). Però quan arriben els períodes càlids induïts per el fenomen de El Niño i la isoterma incrementa de profunditat, el resultat és una supressió de l'aflorament costaner, la disminució de la biomassa i de la producció primària i la comunitat d'organismes pelàgics es troba dominada per algues petites, entre elles inclosos els dinoflagel·lats i alguns de forma massiva (Iriarte and González 2004). Aquest fet pot resultar problemàtic, tan des del punt de vista ecològic com econòmic, a les zones costaneres afectades, tenint en compte els efectes d'un bloom algal.

6. CONCLUSIONS

6. CONCLUSIONS

A les costes de Xile i Perú, l'economia del litoral està basada en pesqueries artesanals distribuïdes al llarg de la costa. Les marees roges esdevenen un fenomen cada vegada més freqüent, però no només en aquestes costes, sinó també a nivell mundial. Aquests blooms desemboquen en un impacte àmpliament reconegut a les pesqueries locals, ja que tan la quantitat com la qualitat de peix i marisc disminueixen notablement durant els períodes primaverencs i estiuencs, que és quan les marees roges tenen una presència més extensa i freqüent.

El fenomen de El Niño pot influir també en aquests esdeveniments, de forma que pot incrementar encara més la freqüència i la intensitat de les marees roges.

Les principals conclusions a les que s'ha arribat en aquest estudi sobre una marea roja de *P.reticulatum* a la badia de Chipana i dels efectes que pot tenir El Niño són:

- Els àcids grassos són bons marcadors per a la detecció, classificació i quantificació de fitoplàncton quan són combinats amb altres paràmetres i quan es troben de forma combinada entre sí. El C18:4(n-3) és un marcador per a la presència de dinoflagel·lats i el C16:1(n-7) ho és per a la detecció de diatomees.
- La marea roja de la costa de Chipana present al febrer de 2007 està dominada per l'espècie de dinoflagel·lats *P.reticulatum*. De forma que les diatomees totals passen a un segon lloc en termes de dominància. Hi ha un pic màxim de gairebé tots els organismes identificats el dia 14 de febrer de 2007 a les 14:00 h, essent la concentració, en el cas de *P.reticulatum*, quatre vegades més elevada que set hores abans.
- L'àrea estudiada, situada en un sistema de surgència molt important, presenta una elevada disponibilitat d'aliment per als organismes filtradors, principalment bivalves. Però l'existència de la marea roja és perjudicial per algunes d'aquestes espècies, en canvi, d'altres mostren tolerància. Tot i que la concentració d'organismes que formen el bloom no col·lapsen l'activitat dels filtradors.
- El dinoflagel·lat *P.reticulatum* sintetitza yessotoxines, tòxiques per als bivalves. L'elevada concentració de *P.reticulatum* en la marea roja estudiada es pot traduir en un nivell molt elevat de yessotoxines presents a les aigües superficials costaneres de la zona estudiada. Això comporta efectes

molt negatiu sobre l'economia basada en la recol·lecció de peix i marisc, ja que el producte està malmès.

- El mostreig a través d'un cicle intensiu, és a dir, amb una elevada freqüència en un període curt de temps, és essencial per tal de detectar les fluctuacions a curt termini que desenvolupa la marea roja.

- L'efecte de El Niño sobre la proliferació dels blooms algals es pot manifestar a través de l'increment de temperatures en les aigües superficials, i causar l'augment de la biomassa dels organismes dominants de la marea roja. I, per altra banda, elevar els nivells de toxicitat que aquestes marees generen.

7. REFERÈNCIES

7. REFERÈNCIES

- Aasen J, Samdal IA, Miles CO, Dahl E, Briggs LR, Aune T (2005) Yessotoxins in the Norwegian blue mussels (*Mytilus edulis*): uptake from *Protoceratium reticulatum*, metabolism and depuration. *Toxicon* 45: 265-272.
- Ackman RG, Tocher CS and McLachlan J (1968) Marine phytoplankter fatty acids. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 25, 1603-1620.
- Ahumada R, Matrai P, Silva N (1991). Phytoplankton biomasa distribution and relationship to nutrient enrichment during an upwelling event off Concepción Bay Chile. *Bol. Soc. Biol. Concepción, Chile*. Tomo 62: 7-19.
- Alamo A, Bouchon M (1987) Changes in the food and feeding of the sardine (*Sardinops sagax*) during the years 1980–1984 off the Peruvian coast. *Journal of Geophysical Research* 92, 411–415.
- Allan R, Lindesay J, Parker D (1996) *El Niño Southern Oscillation & Climatic Variability*. CSIRO.
- Arntz WE, Gallardo VA, Gutiérrez D, Isla E, Levin LA, Mendo J, Neira C, Rowe GT, Tarazona J, Wolff M (2006) En Niño and similar perturbation effects on the benthos of the Humboldt, California, and Benguela current upwelling ecosystems. *Adv. Geoscience* 6: 243-265.
- Arntz WE, Tarazona J (1990) Effects of the El Niño on benthos, fish and fisheries off the South American Pacific coast. In: Glynn, P.W. (Ed.), *Global Ecological Consequences of the 1982–83 El Niño—Southern Oscillation*. Elsevier Oceanography Series, Amsterdam, pp. 323–360.
- Arntz WE, Brey T, Tarazona J, Roble A (1987) Changes in the structure of a shallow sandy-beach community in Peru during an El Niño event. In: Payne, A.I.L., Gulland, J.A., Brink, K.H. (Eds.), *The Benguela and Comparable Ecosystems*. *South African Journal of Marine Sciences* 5, 645–658.
- Arts MT, Ackman RG, Holub BJ (2001) “Essential fatty acids” in aquatic ecosystems: a crucial link between diet and human health and evolution. *Can J Fish Aquat Sci* 58:122–137.
- Atkinson, MJ & SV Smith (1983) C:N:P ratios of benthic marine plants. *Limnology and Oceanography* 28: 568-574.
- Avendaño M, Cantillán M (2003) Population estimates, extraction, and translocation of pectinid *Argopecten purpuratus* within Mejillones Bay, Chile. *Sci Mar* 67(3) 285-292.
- Barber RT Chavez FP (1983) Biological consequences of El Niño. *Science* 22, 1203–1210.
- Barber RT, Chavez FP (1986) Ocean variability in relation to living resources during the 1982–83 El Niño. *Nature* 319, 279–285.

- Barber RT, Sanderson MP, Lindley ST, Chai F, Newton J, Trees CC, Foley DG, Chavez FP (1996)** Primary productivity and its regulations in the equatorial Pacific during and following the 1991–1992 El Niño. *Deep-Sea Res.* 43, 933–969.
- Barnes H, Blackstock J (1973)** Estimation of lipids in marine animals tissues: detailed investigation of the sulphophosphovanillin method for “total” lipids. *J.Exp.Mar.Biol.Ecol* 12: 103–118.
- Brett MT, Müller-Navarra DC (1997)** The role of highly unsaturated fatty acids in aquatic foodweb processes. *Freshw Biol* 38:483–499.
- Broglia E, Jónasdóttir SH, Calbet A, Jakobsen HH and Saiz E (2003)** Effect of heterotrophic versus autotrophic food on feeding and reproduction of the calanoid copepod *Acartia tonsa*: relationship with prey fatty acid composition. *Aquat. Microb. Ecol.*, **31**, 267–278.
- Budge SM, Parrish CC, McKenzie CH (2001)** Fatty acid composition of phytoplankton, settling particulate organic matter and sediments at a sheltered bivalve aquaculture site. *Mar Chem* 2001: 285–303.
- Chuecas L, Riley JP (1969)** Component fatty acids of the total lipids of some marine phytoplankton. *J Mar Biol Assoc UK* 49:97–116.
- Cohen Z, Vonshak A and Richmond A (1988)** Effect of environmental conditions on fatty acid composition of the red alga *Porphyridium cruentum*: correlation to growth rate. *Journal of Phycology* 24, 328–332.
- Cook HW (1996)** Fatty acid desaturation and chain elongation in eukaryotes. In “Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes” (D. E. Vance and J. E. Vance, eds.), pp. 129–152, Elsevier Science, Amsterdam.
- Dalsgaard J and St John M (2004)** Fatty acid biomarkers: validation of food web and trophic markers using ¹³C–labeled fatty acids in juvenile sandeel (*Ammodytes tobianus*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 61: 1671–1680.
- Dalsgaard J, St. John M, Kattner G, Müller-Navarra D, Hagen W (2003)** Fatty Acid Trophic Markers in the Pelagic Marine Environment. *Advances in Marine Biology* Vol. 46: 225–340.
- Dauvin JC, Vallet C (2006)** The near-bottom layer as an ecological boundary in marine ecosystems : diversity, taxonomic composition and community definitions. *Hydrobiologia* 555 : 49–58.
- Enfield DB (1989)** El Niño, past and present. *Review Geophysical* 27, 159–187.
- Enfield DB, Allen JS (1980)** On the structure and dynamics of monthly mean sea level anomalies along the Pacific coast of North and South America.
- Escribano R, Danieri G, Farías L, Gallardo VA, González HE, Gutiérrez D, Lange CB, Morales CE, Pizarro O, Ulloa O, Braun M (2004)** Biological and Chemical consequences of the 1997–1998 El Niño in the Chilean coastal upwelling system: a synthesis. *Deep Sea Res part II* 51: 2389–2411.

- Fahrback E, Trillmich F, Arntz WE (1991)** The time sequence and magnitude of physical effects of the El Niño in the eastern Pacific. In: Trillmich F., Ono, K.A. (Ed.), Pinnipeds and El Niño Responses to Environmental Stress. Springer, Berlin, pp. 8–21.
- Fegley SR, MacDonald BA, Jacobsen TR (1992)** Short-term variation in the quantity and quality of seston available to benthic suspension feeders. *Est Coast Shel Res* 34: 393–412.
- Fiedler P, Chavez F, Behringer DW, Reilly SB (1992)** Physical and biological effects of Los Niños in the eastern tropical Pacific, 1986–1989. *Deep-Sea Res.* 39, 199–219.
- Finch SC, Wilkins AL, Hawkes AD, Jensen DJ, MacKenzie AL, Beuzenberg V, Quilliam MA, Olseng CD, Samdal IA, Aasen J, Selwood AI, Cooney JM, Sandvik M, Miles CO (2005)** Isolation and identification of (44-R,S)-44,55-dihydroxyyessotoxin from *Protoceratium reticulatum*, and its occurrence in extracts of shellfish from New Zeland, Norway and Canada. *Toxicon* 46: 160–170.
- Fuenzalida R (1992)** Procesode surgencia en la región norte de Chile, 20°30'S – 21°45'S. *Invest. Cient. y Tec., Serie: Ciencias del Mar* 2: 79–104.
- Graces E, Masó M, Camp J (1999)** A recurrent and localized dinoflagellate bloom in Mediterranean beach. *J Plank Res* 21: 2373–2391.
- Gasol JM, Garcés E, Vila M (2005)** Strong small-scale temporal bacterial changes associated with the migrations of bloom-forming dinoflagellates. *Harm Algae* 4: 771–781.
- Guerrini F, Ciminiello P, Dell'Aversano C, Tartaglione L, Fattorusso E, Boni L, Pistocchi R (2007)** Influence of temperature, salinity and nutrient limitation on yessotoxin production and release by the dinoflagellate *Protoceratium reticulatum* in batch cultures. *Harm Algae* 6: 707–717.
- Gurr MI and Harwood JL (1991)** Lipid Biochemistry, an introduction. Chapman and Hall, London.
- Hallegraeff GM, Nichols PD, Volkman JK, Blackburn SI, Everitt DA (1991)** Pigments, fatty acids, and sterols of the toxic dinoflagellate *Gymnodinium catenatum*. *J Phycol* 27: 591–599.
- Harrison PJ, Thompson, PA and Calderwood GS (1990)** Effects of nutrient and light limitation on the biochemical composition of phytoplankton. *Journal of Applied Phycology* 2, 45–56.
- Herrera L, Escribano R (2006)** Factors structuring the phytoplankton community in the upwelling site off El Loa River in northern Chile. *J Mar Sys* 61: 13–38.
- Huyer A, Smith RL, Paluszkiwicz T (1987)** Coastal upwelling off Peru during normal and El Niño times, 1981–1984. *Journal of Geophysical Research* 92, 297–308.
- Iriarte JL, González HE (2004)** Phytoplankton size structure during and alter the 1997/98 El Niño in a coastal upwelling area of the northern Humbolt Current System. *Marine Ecology Press*. Vol 269: 83–90.

- Isla E, Homs P, Sañé E, Jacob B, Escribano R (submitted I)** Biochemical characteristics of the suspended particulate matter in two upwelling sites within the Humboldt Current System (21°S to 23°S): summer conditions. *Cont Shelf Res.*
- Isla et al (submitted II)** Biochemical characteristics of the suspended particulate matter in two upwelling sites within the Humboldt Current System (21°S to 23°S): summer conditions. *Cont Shelf Res.*
- Jeffries HP (1970)** Seasonal composition of temperate plankton communities: fatty acids. *Limnol Oceanogr* 15:419–426.
- Kayama M, Araki S, Sato S (1989)** Lipids of marine plants. In: Ackman RG (ed) *Marine biogenic lipids, fats, and oils*, vol 2. CRC, Boca Raton, Fla., pp 3–48.
- Klungsoyr J, Tilseth S, Wilhelmsen S, Falk-Petersen S and Sargent JR (1989)** Fatty acid composition as an indicator of food intake in cod larvae *Gadus morhua* from Lofoten, Northern Norway. *Mar. Biol.*, **102**, 183–188.
- Leblond JD, Chapman PJ (2000)** Lipid class distribution of highly unsaturated long chain fatty acids in marine dinoflagellates. *J Phycol* 36: 1103–1108.
- Lee RF, Nevenzel JC, Paffenhöfer GA (1971)** Importance of wax esters and other lipids in the marine food chain: phytoplankton and copepods. *Mar Biol* 9:99–108.
- Li SC, Wang WX, Hsie DPH (2002)** Effects of toxic dinoflagellate *Alexandrium tamarese* on the energy budgets and growth of two marine bivalves. *Mar Envir Res* 53: 145–160.
- Luckenbach MW, Sellner KG, Shumway SE, Greene K (1993)** Effects of two bloom-forming dinoflagellates, *Prorocentrum minimum* and *Gymnodinium uncatenum*, on the growth and survival of the eastern oyster, *Crassostrea virginica* (Gmelin 1791) *J Shell Res* 12: 411–415.
- MacKenzie L, Holland P, McNabb P, Beuzenberg V, Selwood A, Suzuki T (2002)** Complex toxin profiles in phytoplankton and greenshell mussels (*Perna canaliculus*), revealed by LC-MS/MS analysis. *Toxicon* 40: 1321–1330.
- MacKenzie L, Suzuki T, Adamson J (2001)** Elimination and differential transformation of yessotoxin by the greenshell mussel *Perna canaliculus* and the blue mussel *Mytilus galloprovincialis*. In: Hallegraeff, G.M., Blackburn, S.I., Bolch, C.J., Lewis, R.J. (Eds.), *Harmful Algal Blooms 2000*. Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Paris, pp. 371–374.
- Mansour MP, Volkman JK, Jackson AE, Blackburn SI (1999)** The fatty acid and sterol composition of five marine dinoflagellates. *J Phycol* 35: 710–720.
- Marrasé C, E Lin Lim & DA Caron (1992)** Seasonal and daily changes in bacterivory in a coastal plankton community. *Marine Ecology Progress Series* 82: 281–289.
- Masó M, Garcés E (2006)** Harmful microalgae blooms (HAB): problematic conditions that induce them. *Mar Poll Bull* 53: 620–630.

- Mayzaud P, Claustre H and Augier P (1990)** Effect of variable nutrient supply on fatty acid composition of phytoplankton growth in an enclosed experimental ecosystem. *Marine Ecology Progress Series* 60, 123-140.
- Miles CO, Samdal IA, Aasen JAG, Jensen DJ, Quilliam MA, Petersen D, Briggs LM, Wilkins AL, Rise F, Cooney JM, MacKenzie AL (2005)** Evidence for numerous analogs of yessotoxin in *Protoceratium reticulatum*. *Harm Algae* 4: 1075-1091.
- Morales C, Blanco J, Braun M, Reyes H, Silva N (1996)** Chlorophyll-*a* distribution and associated oceanographic conditions in the upwelling region of northern Chile during the winter and spring 1993. *Deep-Sea Res* 43:267-289.
- Navarro JM, Thompson RJ (1995)** Seasonal fluctuations in the size spectra, biochemical composition and nutritive value of the seston available to a suspension-feeding bivalve in a subarctic environment. *Mar Ecol Prog Ser* 125: 95-106.
- Oliva J, Barría P, Braun M, Castati V, Claramunt G, Díaz E, Escribano R, Herrera G, Montenegro C, Oliva M, Pizarro J, Pizarro P, Serra R, Rojas O, Reyes H (2000)** Evaluación del stock desovante de anchoveta en la I y II Regiones. Informe Final FIP (Chile) 2000-2006, 114 pp.
- Palma W, Escribano R, Rosales SA (2006)** Modeling study and inter-annual variability of circulation in the coastal upwelling site of the El Loa River off northern Chile. *Est Coast Shelf Science* 67: 93-107.
- Parrish CC, Bodennec G and Gentien P (1994)** Time courses of intracellular and extracellular lipid classes in batch cultures of the toxic dinoflagellate, *Gymnodium* cf. *nagasakiense*. *Marine Chemistry* 48, 71-82.
- Parsons TR, Maita Y, Lalli CM (1985)** Fluorometric determination of Chlorophylls. In: *A manual of chemical and biological methods for sea water analysis*. Pergamon Press, Oxford: 201-203.
- Paz B (2007)** Producción de YTX por cultivos de *Protoceratium reticulatum*: Variabilidad en el perfil de toxinas de diferentes cepas. Univ. Vigo. Dep. Quim. Analítica e Alimentaria.
- Pitcher GC, Calder D (2000)** Harmful algal blooms of the southern Benguela Current: a review and appraisal of monitoring from 1989 to 1997. *South Afr J Mar Sci* 22: 255-271.
- Pohl P and Zurheide F (1979)** Fatty acids and lipids of marine algae and the control of their biosynthesis by environmental factors. In "Marine algae in pharmaceutical science", Vol. 1 (H. A. Hoppe, T. Levring and Y. Tanaka, eds.), pp. 473-523. Walter de Gruyter, Berlin.
- Pohl P and Zurheide F (1982)** Fat production in freshwater and marine algae. In "Marine algae in pharmaceutical science", Vol. 2 (H. A. Hoppe and T. Levring, eds.), pp. 65-80. Walter de Gruyter and Co., Berlin.
- Quiroga E, Quiñones R, Palma M, Sellanes J, Gallardo VA, Gerdes D, Rowe G (2005)** Biomass size-spectra of macrobenthic communities in the oxygen minimum zone off Chile. *Est Coast Shelf Sci* 62: 217-231.

- Quinn WH, Neal VT, Antunez De Mayolo SE (1987)** El Niño Occurrences Over the Past Four and a Half Centuries. *Journal of Geophysical Research*, vol. 92, No. C13: 14449-14461.
- Reguera B, Bravo I, Mariño J, Campos MJ, Fraga S, Carbonell A (1993)** Trends in the occurrence of *Dinophysis* spp in Galician coastal waters. In: Samyda TJ, Shimizu Y (Eds.) *Toxic phytoplankton blooms in the sea*. Elsevier, Amsterdam, pp. 559-564.
- Reuss N, Poulsen LK (2002)** Evaluation of fatty acids as biomarkers for a natural plankton community. A field study of a spring bloom and a post-bloom period off West Greenland. *Mar Biol* 141: 423-434.
- Ribes M, Coma R, Gili JM (1999)** Seasonal variations of particulate organic carbon, dissolved organic carbon and the contribution of the microbial communities to the live particulate organic carbon in a shallow near-bottom ecosystem at the North-western Mediterranean Sea. *J Plank Res* 21: 1077-1100.
- Roessler PG (1990)** Environmental control of glycerolipid metabolism in microalgae: commercial implications and future research directions. *J Phycol* 26:393-398.
- Rossi S, Gili JM (2005)** Composition and temporal variation of the near-bottom seston in a Mediterranean coastal area. *Est Coast Shelf Sci* 65: 385-395.
- Rossi S, Gili JM. (2007)** Short-time-scale variability of near bottom seston composition during spring in a warm temperate sea. *Hydrobiologia* 557: 373-388.
- Rossi S, Sabatés A, Latasa M, Reyes E (2006)** Lipid biomarkers and trophic linkages between phytoplankton, zooplankton and anchovy (*Engraulis encrasicolus*) larvae in the NW Mediterranean. *Journal of Plankton Research* 28: 551-562.
- Rossi S, Youngbluth M, Jacoby C, Pagès F, Garrofé X (2008)** Fatty acid composition and trophic links among seston, crustacean zooplankton and the siphonophore *Nanomia cara* in Georges Basin and Oceanographer Canyon (NW Atlantic). *Scientia Marina* 72(2): 403-416.
- Ruiz J, Antequera T, Andres AI, Petron MJ, Muriel E (2004)** Improvement of a solid phase extraction method for analysis of lipid fractions in muscle foods. *Anal Chim Acta* 520: 201-205.
- Samdal IA, Naustvoll LJ, Olseng CD, Briggs LR, Miles CO (2004)** Use of ELISA to identify *Protoceratium reticulatum* as a source of yessotoxin in Norway. *Toxicon* 44, 75-82.
- St. John MA and Lund T (1996)** Lipid biomarkers: linking the utilization of frontal plankton biomass to enhanced condition of juvenile North Sea cod. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **131**, 75-85.
- Santander E, Herrera L, Pizarro J (2001)** Fluctuación diaria del fitoplancton en la capa superficial del océano durante la primavera de 1997 en el norte de Chile (28°18'S): I. Biomasa Pigmentaria. *Rev. Biol. Mar. y Oceanogr.* 36 (2): 141-153.
- Sargent JR, Bell JG, Bell MV, Henderson R J and Tocher DR (1995a)** Requirement criteria for essential fatty acids. *Journal of Applied Ichthyology* 11, 1833-198.

- Sargent JR, Bell MV, Bell JG, Henderson RJ and Tocher DR (1995b)** Origins and functions of n-3 polyunsaturated fatty acids in marine organisms. In "Phospholipids: characterization, metabolism and novel biological applications", Vol. III (G. Cevc and F. Paltauf, eds.), pp. 248259, American Oil and Chemical Society Press, Champaign, USA.
- Sargent JR, Gatten RR, McIntosh R (1977)** Wax esters in the marine environment – their occurrence, formation, transformation and ultimate fates. *Mar Chem* 5:573–584.
- Sargent JR, Parkes RJ, Mueller-Harvey I, Henderson RJ (1987)** Lipid biomarkers in marine ecology. In: Sleight MA (ed) *Microbes in the sea*. Harwood, Chichester, pp 119–138.
- Sargent JR, Whittle KJ (1981)** Lipids and hydrocarbons in the marine food web. In: Longhurst AR (ed) *Analysis of marine ecosystems*. Academic, London, pp 491–533.
- Satakate M, Ichimura T, Sekiguchi K, Yoshimatsu S, Oshima Y (1999)** Confirmation of yessotoxin and 45,46,47-trinoryessotoxin production by *Protoceratium reticulatum* collected in Japan. *Nat Toxins* 7: 147-150.
- Shamsudin L (1996)** Lipid and fatty acid contents in red tides from tropical fish ponds of the coastal water of south China sea. *Arch Physiol Biochem* 104: 36-42.
- Smith RL (1983)** Peru coastal current during El Niño: 1976 and 1982. *Science* 221, 1397–1399.
- Smith REH, Cavaletto JF, Eadie BJ and Gardner WS (1993)** Growth and lipid composition of high Arctic ice algae during the spring bloom at Resolute, Northwest Territories, Canada. *Marine Ecology Progress Series* 97, 19-29.
- Smith WL and Fitzpatrick FA (1996)** The eicosanoids: cyclooxygenase, lipoxygenase, and epoxigenase pathways. In "Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes" (D. E. Vance and J. E. Vance, eds.), pp. 283-308, Elsevier Science, Amsterdam.
- Sukenik A and Wahnou R (1991)** Biochemical quality of marine unicellular algae with special emphasis on lipid composition. I. *Isochrysis galbana*. *Aquaculture* 97, 61-72.
- Tarazona J, Salzwedel H, Arntz WE (1988)** Oscillations of macrobenthos in shallow water off the Peruvian central coast induced by El Niño 1982–83. *Journal of Marine Research* 46, 593–611.
- Taylor CD & BL Howes (1994)** Effect of sampling frequency on measurements of seasonal primary production and oxygen status in near-shore coastal ecosystems. *Marine Ecology Progress Series* 108: 193-203.
- Thatje S, Heilmayer O, Laudien J (2008)** Climate variability and El Niño Southern Oscillation: implications for natural coastal resources and management. *Hel Mar Res* 62(supp.1): S5-S14.
- Thomas A, Strub T, Huang F, James C (1994)** A comparison of the seasonal and interannual variability of phytoplankton pigment concentration in the Peru and California Current systems. *J Geophys Res* 99:7355–7370.

- Thomas AC, Blanco, JL, Carr ME, Strub PT, Osses J (2001).** Satellite-measured chlorophyll and temperature variability off northern Chile during the 1996–1998 La Niña and El Niño. *Journal of Geophysical Research* 106 (C1), 899–915.
- Thompson PA, Harrison PJ and Whyte JNC (1990)** Influence of irradiance on the fatty acid composition of phytoplankton. *Journal of Phycology* 26, 278–288.
- Uribe P, Espejo RT (2003)** Effect of associated bacteria on the growth and toxicity of *Alexandrium catenella*. *Appl Environm Micro* 69: 659–662.
- Vargas CA, Escribano R, Poulet S (2006)** Phytoplankton food quality determines time windows for successful zooplankton reproductive pulses. *Ecology* 87: 2992–2999.
- Vila M, Garcés E, Masó M, Camp J (2001)** Is the distribution of the toxic dinoflagellate *Alexandrium catenella* expanding along the NW Mediterranean coast? *Mar Ecol Prog Ser* 222: 73–83.
- Villegas MJ, Laudien J, Sielfeld W, Arntz WE (2008)** *Macrocystis integriflora* and *Lessonia trabeculata* (Laminarales; Phaeophyceae) kelp habitat structures and associated macrobenthic community off northern Chile. *Hel Mar Res* 62(1): 33–43.
- Viso A, Marty J (1993)** Fatty acids from 28 marine microalgae. *Phytochemistry* 34:1521–1533.
- Walsh JJ (1991)** Importance of continental margins in the marine biogeochemical cycling of carbon and nitrogen. *Nature* 350, 53–55.
- Yang ZB, Hodgkiss IJ (2004)** Hong Kong's worst “red tide” – causative factors reflected in a phytoplankton study at Port Shelter station in 1998. *Harmful Algae* 3, 149–161.
- Yasumoto T, Takizawa A (1997)** Fluorometric measurements of yessotoxins in shellfish by high-pressure liquid chromatography. *Biosci Biotechnol Biochem* 61: 1775–1777.
- Zingone A, Enevoldsen HO (2000)** The diversity of harmful algal blooms: a challenge for science and management. *Ocean Coast Manag* 43: 725–748.

PRESSUPOST

PRESSUPOST

Seguidament és presentat el pressupost aproximatiu de les despeses que ha involucrat la realització del projecte: *Estudi del progrés d'una marea roja de Protoceratium reticulatum a la badia de Chipana (Xile) a través d'un cicle intensiu: Efectes del fenomen de El Niño*, des del treball de camp portat a terme a Chipana (Xile) fins a l'enquadernació final del treball.

Quantitat	Concepte	Preu unitari	Subtotal
	<u>Treball de camp</u>		
1	- Recursos materials	1250 €	1250 €
2	- Recursos humans: · Desplaçament · Allotjament · Mesos de treball	3345 €	6690 €
	<u>Anàlisi de les mostres</u>		
1	- Recursos materials	1560 €	1560 €
14	- Preparació mostres àcids grassos	5 €	70 €
14	- Anàlisi mostres àcids grassos	10 €	140 €
42	- Preparació mostres clorofil·la <i>a</i> , POC, PON i lípids totals.	2 €	84 €
42	- Anàlisi mostres clorofil·la <i>a</i> , POC, PON i lípids totals.	5 €	210 €
2	- Recursos humans: · Mesos de treball	1356 €	2712 €
	<u>Recursos materials</u>		
3	- Impressió	6 €	18 €
3	- Enquadernació	2 €	6 €
3	- Disc Compacte	1,20 €	3,6 €
Total			12743,60 €
IVA (16 %)			2038,98 €
Total + IVA			14782,58 €

