



*Escuela Técnica Superior de
Ingenieros de Caminos,
Canales y Puertos.*
UNIVERSIDAD DE
CANTABRIA



RELACIÓN ENTRE CAPAS FINAS Y DENSIDAD DE FITOPLANCTON TÓXICO EN LAS RÍAS DE PONTEVEDRA Y VIGO

Trabajo realizado por:

Esperanza Broullón Mandado

Dirigido:

Beatriz Mouriño Carballido

Araceli Puente Trueba

Titulación:

**Máster Universitario
en Gestión Integrada
de Sistemas Hídricos**

Santander, Septiembre de 2018

TRABAJO FINAL DE MASTER

ÍNDICE

ABSTRACT	3
KEY WORDS	3
RESUMEN	4
PALABRAS CLAVE	4
1. INTRODUCCIÓN	5
2. MÉTODOS	9
<i>2.1. Zona de estudio y datos a utilizar</i>	9
<i>2.2. Procesado y análisis de datos</i>	11
<i>2.2.1. Detección de capas finas de fitoplancton</i>	11
<i>2.2.2. Relación entre CFF y principales géneros/especies de fitoplancton tóxico</i>	12
3. RESULTADOS	13
4. DISCUSIÓN	21
<i>4.1. Variabilidad estacional en la abundancia de Pseudo-nitzschia spp. y D. acuminata</i>	21
<i>Detección de CFF y su relación con la abundancia de Pseudo-nitzschia spp. y D. acuminata</i>	22
5. CONCLUSIONES	24
AGRADECIMIENTOS	26
BIBLIOGRAFÍA	27

ABSTRACT

Due to the fertilization effect of the upwelling and the increase in primary production, the Rías Baixas sustain an intense shellfishing activity which, every year, faces the menace of harmful phytoplankton blooms. It is believed that the aggregation of phytoplankton in thin layers, less than 5 meters thick, might explain why traditional monitoring programs are often unable to detect and predict toxic events. Nowadays, we have a limited understanding about the role that these features may have in the growth of toxic phytoplankton in this region. Aiming to investigate the relationship between the occurrence of thin layers and the abundance of toxic phytoplankton, weekly data obtained by the INTECMAR at 20 stations placed in the Ría de Pontevedra and Ría de Vigo, between 2012-2015, were analyzed. A total number of 73 thin layers were detected (2% frequency occurrence), higher frequency (6%) was observed at stations P4-Boca Norte y P2-Bueu, placed in Ría de Pontevedra. Among the eight phytoplankton genera/species quantified, *Pseudo-nitzschia* spp. and *Dinophysis acuminata* were the most frequently (~ 80 % of cases) present in the detected thin layers. In order to investigate the seasonal variability in the abundance of both genera/species, as well as to establish the threshold values used to identify the abundance increases linked to thin layers, a longer 6-year (2012-2017) dataset was analyzed. The seasonal cycles of both species exhibited higher cell density during the upwelling season. Whereas *D. acuminata* showed two maxima, in April and August, higher abundances of *Pseudo-nitzschia* spp. were quantified in the summer. P2-Bueu was characterized by higher averaged abundance of *D. acuminata* (469 [251-653] cel L⁻¹), whereas for *Pseudo-nitzschia* spp. higher values were computed at station P6-Tambo (66619 [41296-106702] cel L⁻¹). In Ría de Vigo, high values of *D. acuminata* were quantified at station V2-Moaña (443 [251, 725] cel L⁻¹), whereas the averaged abundance of *Pseudo-nitzschia* spp. was higher at V5-Boca Sur (45375 [21958, 73336] cel L⁻¹). 45% of the thin layers were associated with cell density of *D. acuminata* above the median, 18% with values above the third quartile, and 10% with outliers. For *Pseudo-nitzschia* spp. these values were 47, 22 and 16%, respectively. These results suggest that, at least for the Ría de Pontevedra and Ría de Vigo, the occurrence of thin layers could be related with the growth or accumulation of toxic phytoplankton species.

KEY WORDS

Thin layers of phytoplankton, *Dinophysis acuminata*, *Pseudo-nitzschia* spp., Ría de Pontevedra, Ría de Vigo.

RESUMEN

Debido a la elevada producción primaria asociada al afloramiento, las Rías Baixas sostienen una intensa actividad marisquera que, cada año, se ve amenazada por la aparición de toxinas de origen fitoplanctónico. Se cree que la agregación de fitoplancton en estructuras de capas finas, con un espesor <5 m, podría explicar que los sistemas tradicionales de muestreo frecuentemente no sean capaces de detectar y predecir los eventos de toxicidad. A día de hoy, el conocimiento de la influencia que estas estructuras tienen en el crecimiento del fitoplancton tóxico en esta región es muy limitado. Con el fin de investigar la relación entre la presencia de capas finas y la abundancia de fitoplancton tóxico, se analizaron los datos obtenidos con frecuencia semanal por el INTECMAR en 20 estaciones localizadas en las Rías de Pontevedra y Vigo, en el periodo 2012-2015. El número total de capas finas detectadas fue de 73, lo que equivale a una frecuencia de aparición del 2%, que fue superior (6%) en las estaciones P4-Boca Norte y P2-Bueu, localizadas en la Ría de Pontevedra. De los ocho géneros/especies de fitoplancton cuantificados, *Pseudo-nitzschia* spp. y *Dinophysis acuminata* fueron los que con mayor frecuencia (~80 % de los casos) estuvieron presentes en los muestreos donde se detectaron capas finas. Con el fin de determinar los ciclos estacionales en la abundancia de ambos géneros/especies, y establecer valores umbrales para la determinación de incrementos asociados a las capas finas, se analizaron los datos obtenidos durante un periodo más largo de 6 años (2012-2017). Los ciclos estacionales de ambas especies se caracterizaron por altas densidades celulares durante la estación de afloramiento. Mientras que *D. acuminata* presentó dos máximos en los meses de abril y agosto, *Pseudo-nitzschia* spp. se caracterizó por valores más elevados en los meses de verano. La estación P2-Bueu se caracterizó por valores promedio ligeramente más elevados de abundancia de *D. acuminata* (469 [251-653] cél L⁻¹), mientras que para *Pseudo-nitzschia* spp. los valores más elevados se determinaron en la estación P6-Tambo (66619 [41296-106702] cél L⁻¹). El 45% de las capas finas estuvieron asociadas con densidades celulares de *D. acuminata* superiores al valor de la mediana, un 18% superior al tercer cuartil, el 10% se asociaron con valores *outliers*. Para *Pseudo-nitzschia* spp. estos valores fueron del 47, 22 y 16%, respectivamente. Estos resultados sugieren que, al menos en las Rías de Pontevedra y Vigo, podría existir una relación entre la aparición de capas finas y el crecimiento o acumulación de especies de fitoplancton tóxico.

PALABRAS CLAVE

Capas finas de fitoplancton, *Dinophysis acuminata*, *Pseudo-nitzschia* spp., Ría de Pontevedra, Ría de Vigo.

1. INTRODUCCIÓN

Las Rías Baixas, situadas en el NO de la Península ibérica, están influenciadas por el sistema de afloramiento de Canarias, que provoca el ascenso a la superficie de aguas profundas, frías y ricas en nutrientes (Aristegui *et al.*, 2009; Fraga, 1981). Este sistema de afloramiento, localizado en el extremo oriental del giro subtropical del Atlántico Norte, se extiende desde el noroeste de la Península Ibérica hasta las Islas de Cabo Verde. En la costa Ibérica el fenómeno tiene carácter estacional, intensificándose en la época de primavera-verano debido a la influencia de los vientos de componente norte. En invierno, por el contrario, predominan vientos del sur y condiciones de hundimiento (Wooster *et al.*, 1076). A pesar de que en los meses cálidos (abril-septiembre) predomina el patrón de vientos del norte, éste no es constante. Las variaciones de viento hacen que, tanto durante la época de afloramiento como en la de hundimiento, se produzcan episodios contrarios a lo habitual en cada época, pero de menor duración (Álvarez *et al.*, 2012).

La entrada de nutrientes asociada a la intensificación del viento del norte, y el incremento en las condiciones de luz durante las estaciones cálidas estimulan el crecimiento del fitoplancton (Tilstone *et al.*, 1999). Aunque esta región no presenta la mayor influencia dentro de la zona del afloramiento de Canarias, ya que está localizada en el límite, los procesos de remineralización dentro de las Rías proporcionan un suministro extra de nutrientes que intensifica la producción primaria (Aristegui *et al.*, 2009), y sostiene una elevada actividad pesquera y creciente producción acuícola. Concretamente, el recurso que mayor beneficio económico aporta a la región es el cultivo del mejillón *Mytilus galloprovincialis*, que se realiza en las 3300 bateas existentes en las Rías Baixas. En 2015 este cultivo representó el 77% de la producción nacional (225000 T), alcanzando un beneficio de ~ 115 M€ (Figuera, 2017).

Cada año esta industria se ve amenazada por la aparición de toxinas de origen fitoplanctónico a las que el mejillón, como organismo filtrador, se ve expuesto. Las vedas en la extracción de mejillón se producen principalmente por episodios de tres tipos de toxinas: diarreicas (*Diarrhetic Shellfish Poisoning* o DSP), amnésicas (*Amnesic Shellfish Poisoning* o ASP) y, en menor medida, paralizantes (*Paralytic Shellfish Poisoning* o PSP). La mayor parte de los cierres de polígonos de bateas en las Rías Baixas se producen por la presencia de toxina diarreica (Reguera *et al.*, 2003), especialmente en la Ría de Pontevedra donde los elevados niveles de dicha toxina originan largos periodos de cierre, y grandes pérdidas económicas en el sector (Correa *et al.*, 2008).

Varias especies de dinoflagelados del género *Dinophysis* (*Dinophysis acuminata*, *Dinophysis acuta* y *Dinophysis caudata*, entre otras) son capaces de generar toxinas DSP, a pesar de las bajas densidades poblacionales que caracterizan a este género (10^2 - 10^4 cél

L⁻¹) (Reguera *et al.*, 2014; Díaz *et al.*, 2015). Entre ellas destaca, por su mayor abundancia y persistencia, *D. acuminata* (Fig. 1), presente en aguas tropicales, templadas y boreales, cuya época idónea para proliferar se puede extender durante toda la estación de afloramiento (Reguera *et al.*, 2012; Reguera *et al.*, 2014). Las especies de este género son mixótrofas. Su comportamiento nutricional implica una cadena trófica de tres eslabones: el ciliado *Mesodinium rubrum* que, a su vez, depende de criptofíceas a partir de las cuales obtiene sus cloroplastos para poder realizar la fotosíntesis (Park *et al.*, 2006). El hecho de que las presas de *D. acuminata* habiten en la superficie del agua, donde llega mayor cantidad de luz (Crawford, 1989), conlleva que este dinoflagelado generalmente también se localice en esa posición de la columna de agua.

Pseudo-nitzschia spp. es una diatomea pennada de distribución ubicua, que tiene la capacidad de producir ácido domoico, una neurotoxina que puede dar lugar al envenenamiento por toxina amnésica (ASP) al consumir moluscos bivalvos que las hayan filtrado (Hasle, 1994; Lelong *et al.*, 2012) (Fig. 1). Esta diatomea se caracteriza por agruparse en colonias con forma de cadenas escalonadas, donde cada célula alargada está en contacto con la anterior y la posterior por los extremos, de manera que transmiten el movimiento de una célula a otra (Hasle 1994). Las proliferaciones de esta diatomea alcanzan altas densidades, del orden de 10⁵-10⁶ cél L⁻¹ (Trainer *et al.*, 2012), y son frecuentes en épocas de afloramiento, donde el ascenso de aguas profundas mantiene a las colonias en las capas superiores, iluminadas y ricas en nutrientes (Fryxell *et al.*, 1997; Anderson *et al.*, 2006; Lelong *et al.*, 2012). De las 37 especies conocidas de *Pseudo-nitzschia* en el mundo (Lelong *et al.*, 2012), al menos 7 están presentes en Galicia: *P. australis* (Míguez *et al.*, 1996), *P. delicatissima* (Fraga, 1998), *P. fraudulenta* (Míguez *et al.*, 1996), *P. pungens* (Hasle, 1972; Míguez *et al.*, 1996), *P. multiseriata* (Hasle, 1995), *P. pseudodelicatissima* (Míguez *et al.*, 1996) y *P. cuspidata* (Fraga, 1998). Los eventos de toxicidad de esta diatomea en las Rías se asocian principalmente a la especie *P. australis* (Míguez *et al.*, 1996).



Figura 1. *Dinophysis acuminata* (izquierda) y *Pseudo-nitzschia* (derecha) obtenidas mediante arrastre de red en la Ría de Pontevedra. Imágenes cedidas por Beatriz Reguera (IEO-Vigo).

Por último, dos dinoflagelados, *Alexandrium* spp. y *Gymnodinium catenatum*, son los principales responsables de la producción de toxinas paralizantes (PSP) en las Rías, aunque esto sucede con menor frecuencia. *Alexandrium* spp. prolifera durante la época de afloramiento y, a diferencia del resto de las especies, en zonas restringidas a grandes aportes de agua dulce (Bravo *et al.*, 2010). Por el contrario, *G. catenatum* comienza su época de proliferación en el otoño coincidiendo con el fin de la temporada de afloramiento y por tanto, con el cese de los vientos del norte. Esto hace que los vientos del sur transporten el agua superficial de plataforma, que es donde se encuentra este dinoflagelado, hacia el interior de las Rías (Fraga, 1998; Bravo *et al.*, 2010).

Por tanto, las proliferaciones de algas nocivas en este sistema presentan una variabilidad estacional. En primavera se produce un primer máximo, debido a la estabilización de la columna de agua y al aumento de la irradiancia, seguido de un segundo pulso en otoño, atribuido principalmente al transporte de células por advección desde la plataforma, debido a la entrada de agua superficial durante condiciones de hundimiento (Figueiras *et al.*, 2008; Barton *et al.*, 2016). En términos generales, la proliferación de grandes diatomeas, entre las que se incluye *Pseudo-nitzschia* spp., se extiende desde la primavera al verano. Esta época coincide además con la proliferación de diferentes especies del género *Dinophysis*. Por último, con la llegada de la transición de otoño y el predominio de las condiciones de hundimiento, la comunidad de fitoplancton pasa a estar dominada por dinoflagelados, entre los que se encuentra *Gymnodinium catenatum* (Figueiras *et al.*, 2002).

A pesar del conocimiento de la variabilidad estacional en la composición de la comunidad de fitoplancton en esta región, el desconocimiento de los factores responsables de la formación de proliferaciones impide, a día de hoy, la predicción de eventos de toxicidad y, en consecuencia, la alerta temprana de los sectores implicados.

Numerosas especies productoras de toxinas son capaces de proliferar en forma de capas finas de fitoplancton (CFF) (Deksheniaks *et al.*, 2001; McManus *et al.*, 2003; McManus *et al.*, 2008; Velo-Suárez *et al.*, 2008; Ryan *et al.*, 2008; Rines *et al.*, 2010; Sullivan *et al.*, 2010a; Steinbuck *et al.*, 2010; Díaz *et al.*, 2014), estructuras que se caracterizan por acumular la mayor parte de la biomasa en una capa de pequeño espesor (de varios centímetros a pocos metros), que puede extenderse horizontalmente a lo largo de varios kilómetros y persistir durante varios días (Durham y Stocker, 2012; Deksheniaks *et al.*, 2001). Estudios recientes han propuesto que la formación de estas estructuras podría explicar la detección tardía de eventos de toxicidad asociados a determinadas especies de fitoplancton (McManus *et al.*, 2008). El hecho de que la mayor parte de la biomasa se acumule en un pequeño intervalo de profundidad, podría explicar que los sistemas

tradicionales de muestreo, generalmente con insuficiente resolución vertical, muy frecuentemente submuestran estas estructuras (Sullivan *et al.*, 2010b). Habitualmente la detección de CFF se basa en la observación de los perfiles de fluorescencia bajo tres premisas: 1) persistencia temporal (deben aparecer al menos en dos perfiles verticales consecutivos), 2) el espesor de la capa no debe exceder 5 metros y, 3) el máximo de fluorescencia debe superar un determinado valor umbral (por ejemplo, tres veces el nivel de referencia) (Durham y Stocker, 2012; Deksheniaks *et al.*, 2001; Sullivan *et al.*, 2010b) (Fig. 2). Se ha propuesto que, en la formación de estas estructuras, que muy frecuentemente están asociadas con la presencia de picnoclinas, intervienen una variedad de mecanismos físicos y biológicos, así como una combinación de ambos (Deksheniaks *et al.*, 2001; Rines *et al.*, 2010).

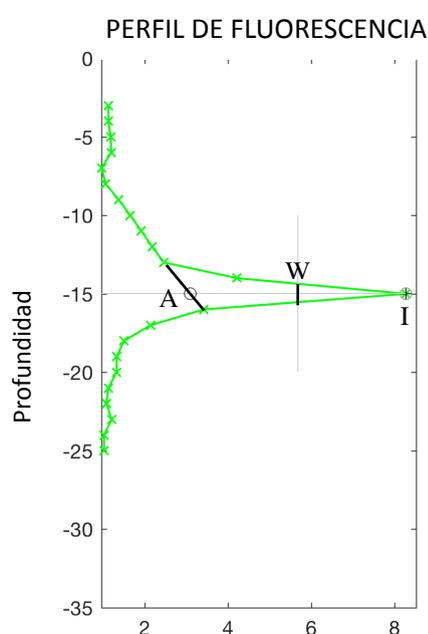


Figura 2. Capa fina de fitoplancton registrada en la campaña REMEDIOS-TLP en julio de 2018. Criterios para definir una capa fina: W representa el espesor, I la intensidad, y A el nivel basal o nivel de referencia.

Por el momento, el conocimiento de la presencia de CFF, y su relación con los eventos de toxicidad en las Rías Gallegas, se limita a un par de observaciones realizadas en una estación localizada en Bueu, en la Ría de Pontevedra. Durante la primavera de 2005, Velo-Suárez *et al.* (2008) describieron la formación de capas finas de *Pseudo-nitzschia* spp. en esta estación, asociadas con picnoclinas durante condiciones de afloramiento. Un estudio posterior realizado en la misma estación en la primavera de 2007, mostró que estas estructuras están sujetas a una importante variabilidad de corta escala, observándose cómo el ciclo de mareas modula la formación y disipación de CFF de poblaciones de

Pseudo-nitzschia spp. (Díaz *et al.*, 2014).

A pesar de las evidencias presentadas, por el momento se desconoce la relación existente entre la presencia de CFF y las proliferaciones de fitoplancton tóxico en esta región. Con el fin de verificar la hipótesis de que, en esta región, las CFF frecuentemente se encuentran asociadas con proliferaciones de fitoplancton tóxico, se plantean los siguientes objetivos:

1. Cuantificar la frecuencia de aparición de CFF en las Rías de Pontevedra y Vigo durante el periodo 2012-2015.
2. Describir la variabilidad espacial y temporal, a escala estacional, de las principales especies de fitoplancton potencialmente tóxico presentes durante los eventos de CFF detectados.
3. Investigar la relación entre la aparición de CFF y la densidad de las principales especies de fitoplancton productoras de toxinas.

2. MÉTODOS

2.1. Zona de estudio y datos a utilizar

Este trabajo se centra en las Rías de Pontevedra y Vigo, localizadas en el NO de la Península Ibérica en el sector de las Rías Baixas. Cada Ría constituye un valle fluvial inundado donde en la parte interior, menos profunda, tiene lugar el intercambio de agua oceánica con agua de origen terrestre, mientras que en la parte externa tiene lugar el intercambio de agua entre la Ría y la plataforma adyacente (Evans y Prego, 2003).

Para el desarrollo del estudio se han utilizado los datos recopilados en la red de control de las zonas de producción de Galicia por el INTECMAR (Instituto Tecnológico para el Control del Medio Mariño, <http://www.intecmar.gal>). En dicha red se lleva a cabo un seguimiento con frecuencia semanal, de variables físicas, químicas y biológicas en 11 estaciones de muestreo de la Ría de Pontevedra y 9 de la Ría de Vigo, distribuidas de tal forma que cubren las principales zonas de producción de mejillón (Fig. 3). En la Ría de Pontevedra cuatro de ellas se encuentran en la zona más interna y estrecha (P0-Combarro, P3-Raxó, P6-Tambo y P9-Festiñanzo), dos en la zona central (P2-Bueu y P8-Cabalo) y otras cinco en la zona más externa y próxima a las islas Ons (P5-Boca Norte, P4-Boca Sur, P1-Aldán, P7-Aldán Interior y PA-Ons). En la Ría de Vigo están establecidas tres estaciones en la zona interna (V2-Moaña, V3-Rande y V4-Chapela), tres en la zona central (V1-Limens, V7-Samil y EF-Estación Fija) y tres en la boca de la Ría (V5-Boca Sur, V6-Boca Norte y B1-Baiona). La Estación Fija de la zona central, se ha incorporado en los últimos años por lo que la cantidad de datos recogidos en ese punto es menor.

En cada una de las estaciones se realiza un perfil de CTD (*Conductivity, Temperature and Depth*) con un SeaBird 25 equipado con un sensor de fluorescencia WETStar. Por otro lado, se recogen muestras para la determinación de densidades celulares e identificación de géneros/especies de fitoplancton potencialmente tóxico (*Pseudo-nitzschia* spp., *Alexandrium* spp., *Gymnodinium catenatum*, *Dinophysis acuminata*, *Dinophysis acuta*, *Dinophysis caudata*, *Dinophysis diegensis* y *Dinophysis* spp., que incluye otras especies de *Dinophysis*), y al que a partir de aquí referiremos como fitoplancton tóxico. Los datos, tanto de fluorescencia como de densidad celular, son de acceso público y están disponibles en la página web del INTECMAR (www.intecmar.gal), de la cual se obtuvieron a partir de su publicación semanal.

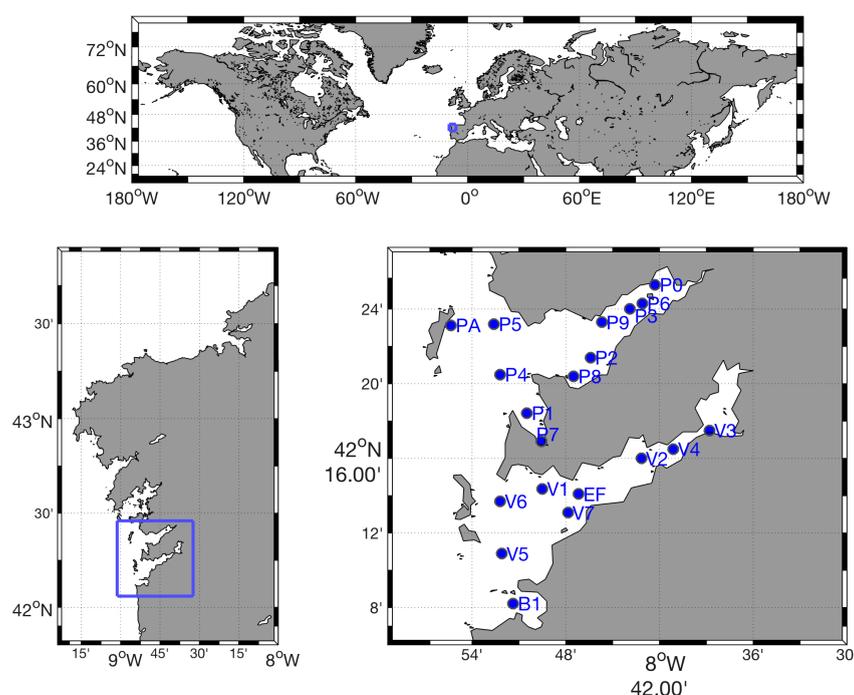


Figura 3. Estaciones de muestreo establecidas por el INTECMAR en las Rías de Vigo y Pontevedra.

Para la toma de muestras de fitoplancton, se realiza un arrastre vertical con una manga de fitoplancton de 10 μm de apertura de malla, desde aproximadamente 15 m de profundidad hasta la superficie. De este modo se recoge en el colector una muestra concentrada de microplancton representativa de la parte superficial de la columna de agua (de 0 a 15 m). La mitad de la muestra se conserva *in vivo*, lo que facilita la posterior identificación al microscopio de algunas especies delicadas que no toleran los fijadores, o de aquellas con un comportamiento natatorio o pigmentación característicos. La otra mitad se fija con formaldehído neutro al 4% de concentración final. Ambas muestras se emplean para el análisis cualitativo de las especies de fitoplancton presente (mencionadas anteriormente). También pueden dar una alerta temprana de la presencia de especies

tóxicas en densidades por debajo del nivel de detección de los contajes convencionales. Por otra parte, con una manguera de jardinería con llaves de paso se recogen muestras integradas de la columna de agua (en contraposición con los muestreos a profundidades concretas que se realizarían con botellas oceanográficas). De estas muestras tomadas con la manguera, se extraen submuestras que se fijan con una solución de lugol. Una alícuota de la muestra integrada se deja sedimentar en cámaras de sedimentación de 25 mL de capacidad durante la noche, o durante un mínimo de 12 h. A continuación, se hace el recuento celular mediante microscopios ópticos invertidos, según el método Utermöhl (1958) (Morono *et al.*, 2008).

La densidad mínima que aparece en los informes es de 40 cél L⁻¹, que equivale al nivel de detección del método si se utilizan columnas de 25 mL. Sin embargo también se indica si hay presencia de especies tóxicas (RED) sin llegar a alcanzar esta densidad, es decir, entre 0 y 40 cél L⁻¹, si es que se han observado previamente en la muestra de arrastre de red. Para este estudio únicamente se consideraron aquellas densidades superiores a 40 cél L⁻¹.

Los informes, publicados en formato PDF, se digitalizaron con el programa Aiseesoft PDF Converter Ultimate (www.aiseesoft.com) el cual, mediante la técnica de OCR (*Optical Character Recognition*), descifró la mayoría de los datos para su posterior análisis.

El periodo de tiempo utilizado fue de 6 años (2012-2017) para los contajes celulares, mientras que para los perfiles de fluorescencia y detección de CFF el periodo fue de 4 años (2012-2015).

2.2. Procesado y análisis de datos

2.2.1. Detección de capas finas de fitoplancton

La detección de capas finas de fitoplancton se realizó para el periodo 2012-2015. Para ello se utilizó un programa creado en MatLab basado en el criterio establecido por Sullivan *et al.* (2010) (Figura 4): el espesor de la capa medido en el punto medio (FWHM) no debe superar los 3 metros, y la intensidad (I) de la capa (es decir, el máximo de fluorescencia del perfil) debe ser, al menos, dos veces superior al nivel basal de referencia (B). Para cada muestreo el programa creado representó cinco figuras correspondientes a las distribuciones verticales de salinidad, temperatura, fluorescencia, derivada primera de la fluorescencia, y frecuencia de Brunt-Väisälä (indicador de estratificación o gradiente vertical de densidad). El programa permitió delimitar con el cursor las intersecciones del perfil de la derivada primera de la fluorescencia con las líneas que indicaron el 30% del valor máximo y mínimo de la derivada cuando ésta tiende a cero. Estas intersecciones delimitaron los límites superior e inferior de la capa fina. Estos límites permiten a su vez

definir el nivel de referencia o *background* (B, calculado a partir de la extrapolación lineal entre los dos límites marcados anteriormente), la intensidad (I, diferencia entre el valor máximo de fluorescencia y el *background*) y la anchura en el punto medio (FWHM, espesor de la capa calculada en el punto medio entre el *background* y el valor máximo de fluorescencia).

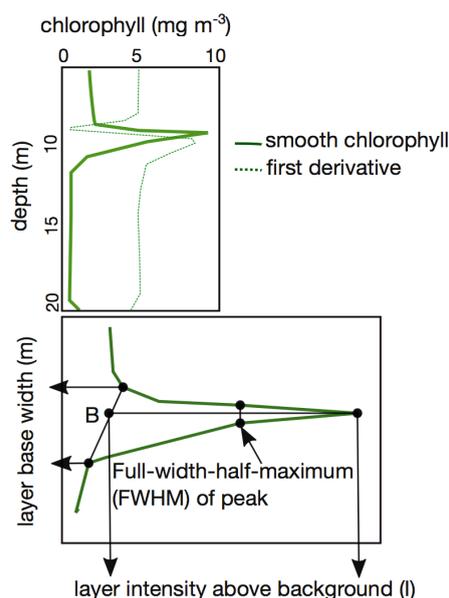


Figura 4. Criterios establecidos para la detección de capas finas $FWHM < 3m$; $I > 2B$.

2.2.2. Relación entre CFF y principales géneros/especies de fitoplancton tóxico

En primer lugar, se determinaron qué especies de los ocho grupos de fitoplancton cuantificados se encontraron presentes en la columna de agua en los días en los que se detectaron capas finas. Una vez identificados los principales grupos, se procedió a representar su ciclo estacional promedio para cada Ría.

A continuación se representaron los ciclos estacionales de las densidades celulares de los principales grupos de fitoplancton en cada estación mediante diagramas de cajas y bigotes (box-plot). Mediante este tipo de representación, se visualiza la distribución de los datos en cada mes. De este modo la base de las cajas se corresponde con el primer cuartil (Q1, 25% de los datos), la línea roja indica la mediana o segundo cuartil (Q2, 50% de los datos), la parte de arriba de las cajas indica el tercer cuartil (Q3, 75% de los datos) y los extremos de los bigotes (línea de trazos negra) indican el valor mínimo y el máximo de la distribución normal (considerados como 1.5 veces la distancia intercuartil a partir de los bordes de las cajas). Los valores que se muestran fuera del rango entre el máximo y el mínimo (cruces rojas), se corresponden con los *outliers* o valores atípicos. La comparación de estos valores con las densidades determinadas en los eventos de CFF en cada estación, se utilizó como criterio para establecer la asociación entre presencia de CFF e incremento

de abundancia de fitoplancton tóxico.

Para el análisis y visualización de datos se utilizó el programa de cálculo numérico MATLAB R2017a (www.mathworks.com). Para el cálculo de intervalos de confianza al 95% se utilizó la técnica de *bootstrapping* que se basa en la elección de muestras aleatorias a partir del conjunto de datos original.

3. RESULTADOS

El análisis realizado mostró que durante el periodo 2012-2015 se observaron 73 eventos de CFF en las estaciones estudiadas en las Rías de Pontevedra y Vigo (Fig. 5, Tabla 1), lo que supone una frecuencia de aparición de CFF (calculada con respecto al número total de perfiles realizados en cada estación) del 2%. Cabe destacar que tanto en P0 como en V4, localizadas en la parte interna de las Rías, no se detectaron CFF. Por otra parte, las estaciones que mayor número de CFF registraron fueron P4 y P2, con frecuencias de aparición de 6% y 5,5%, respectivamente. En general se observó una ligera relación entre las estaciones con mayor frecuencia de aparición de CFF, y las zonas afectadas por un mayor número de días de cierre de polígonos de bateas por toxina DSP. Se puede observar que en algunas fechas se detectaron CFF en más de una estación simultáneamente, lo que sugiere que al menos en estos muestreos estas estructuras tuvieron una extensión espacial relativamente grande. Por ejemplo el evento del 14 de mayo de 2012, que fue detectado en un total de 10 estaciones: P2, P3, P4, P6 y P8 en la Ría de Pontevedra y B1, V1, V2, V6 y V7, en la Ría de Vigo (Tabla 1).

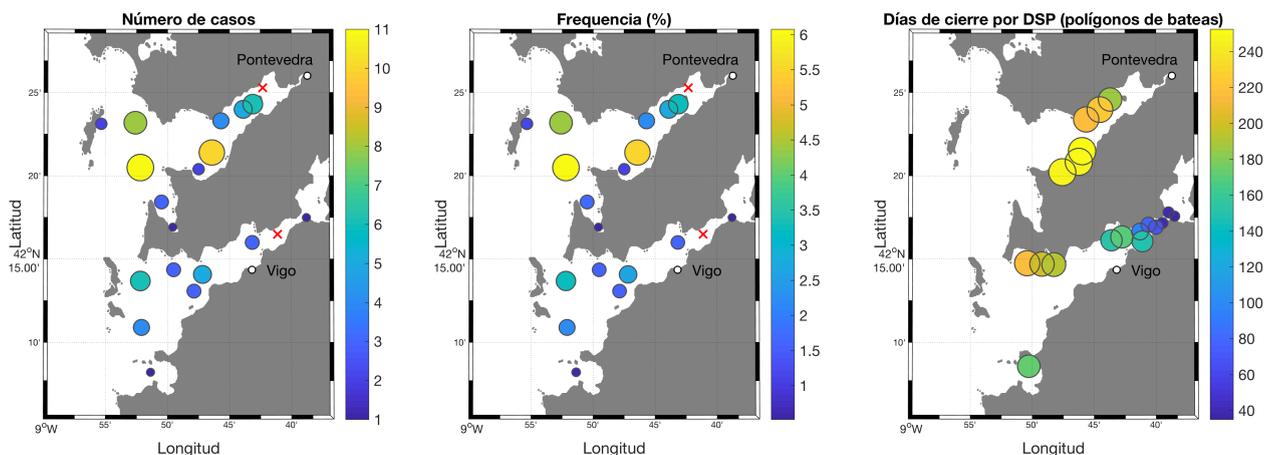


Figura 5. Número de casos de CFF, frecuencia de aparición y días de cierre de polígonos de bateas por toxina DSP, durante el periodo 2012-2015. El tamaño de los círculos y la escala de color, son proporcionales al valor de las variables representadas.

Con el fin de investigar la relación entre la aparición de CFF y la presencia de fitoplancton tóxico, se representó la densidad celular de cada uno de los ocho géneros/especies de fitoplancton tóxico cuantificados en cada estación. De las especies

Tabla 1. Muestréos en los que se detectaron CFF y densidad celular (cél L⁻¹) de las especies de fitoplancton tóxico presentes en dichos muestréos. ND: no detectado; st: estación; yy: año; mm: mes; dd: día; Nan: sin dato.

st	yy	mm	dd	<i>D. acuminata</i>	<i>D. acuta</i>	<i>D. caudata</i>	<i>D. spp</i>	<i>Pseudo-nitzschia spp.</i>	<i>G. catenatum</i>
P1	2012	7	16	ND	ND	ND	ND	25245	ND
P1	2013	5	13	680	ND	ND	ND	5940	ND
P1	2015	8	3	160	ND	ND	ND	2970	ND
P2	2012	5	14	ND	ND	ND	ND	17820	ND
P2	2012	6	25	200	ND	ND	ND	348975	ND
P2	2012	7	16	ND	ND	ND	ND	25245	ND
P2	2012	7	23	40	ND	ND	ND	50490	ND
P2	2013	5	13	240	ND	ND	ND	29700	ND
P2	2013	8	12	80	ND	ND	ND	350460	ND
P2	2014	5	26	2440	ND	ND	ND	46035	ND
P2	2014	7	28	120	ND	ND	ND	10395	ND
P2	2015	6	29	520	ND	ND	ND	62370	ND
P2	2015	8	3	80	ND	ND	ND	ND	ND
P3	2012	5	14	200	ND	ND	ND	4455	ND
P3	2012	6	25	40	ND	ND	ND	392040	ND
P3	2012	7	30	ND	ND	ND	40	8910	ND
P3	2013	7	1	ND	ND	ND	ND	17820	ND
P3	2015	7	27	ND	ND	ND	ND	2970	ND
P4	2012	5	14	560	ND	ND	ND	14850	ND
P4	2012	6	4	1760	ND	ND	80	26730	ND
P4	2012	6	25	360	ND	ND	ND	173745	ND
P4	2012	7	16	40	ND	ND	160	49005	ND
P4	2012	9	3	40	ND	ND	ND	1362743	ND
P4	2012	9	10	NaN	NaN	NaN	NaN	NaN	NaN
P4	2013	5	13	480	ND	ND	40	10395	ND
P4	2013	7	22	10040	ND	80	120	2970	ND
P4	2014	3	10	ND	ND	ND	ND	ND	ND
P4	2015	7	27	120	40	ND	ND	ND	ND
P4	2015	8	3	520	ND	ND	ND	ND	ND
P5	2012	5	28	1320	ND	ND	ND	16335	ND
P5	2012	6	25	440	ND	ND	ND	368280	ND
P5	2013	5	6	160	ND	ND	ND	10395	ND
P5	2013	8	12	ND	ND	ND	ND	289575	ND
P5	2015	6	1	160	ND	ND	ND	20790	ND
P5	2015	7	20	640	ND	ND	120	66825	ND
P5	2015	7	27	120	ND	ND	ND	4455	ND
P5	2015	8	3	80	ND	ND	ND	44555	ND
P6	2012	5	14	240	ND	ND	ND	4455	ND
P6	2012	6	25	80	ND	ND	ND	821624	ND
P6	2013	5	6	120	ND	ND	ND	5940	ND
P6	2013	9	16	ND	ND	ND	ND	17820	ND
P6	2014	5	26	1680	ND	ND	ND	23760	ND
P6	2015	7	27	40	40	ND	ND	2970	ND
P7	2015	3	9	40	ND	ND	ND	7425	ND
P8	2012	5	14	560	ND	ND	ND	11880	ND
P8	2012	7	16	120	ND	ND	ND	38610	ND
P9	2012	7	30	40	ND	ND	ND	13365	120
P9	2013	5	13	240	ND	ND	ND	11880	ND
P9	2014	3	5	ND	ND	ND	ND	ND	ND
P9	2015	7	27	40	ND	ND	ND	ND	ND
PA	2012	5	21	ND	ND	ND	ND	1485	ND
PA	2015	7	27	ND	ND	ND	ND	7425	ND
B1	2012	5	14	ND	ND	ND	ND	14850	ND
V1	2012	5	14	80	ND	ND	ND	29700	ND
V1	2014	5	5	1800	ND	ND	160	13365	ND
V1	2015	7	27	440	ND	ND	ND	2970	ND
V2	2012	5	14	40	ND	ND	40	11880	ND
V2	2012	5	21	ND	ND	ND	ND	69795	ND
V2	2014	5	5	2680	ND	ND	ND	REDE	ND
V3	2014	5	5	200	ND	ND	ND	ND	ND
V5	2012	6	4	1080	ND	ND	ND	35640	ND
V5	2012	8	27	240	ND	ND	40	167805	ND
V5	2013	5	20	80	ND	ND	ND	20790	ND
V5	2013	7	29	120	ND	ND	40	141075	ND
V6	2012	5	14	480	ND	ND	ND	20790	ND
V6	2012	6	25	440	ND	ND	ND	90585	ND
V6	2012	8	27	80	ND	ND	40	289575	ND
V6	2013	8	12	240	ND	ND	40	375705	ND
V6	2014	5	12	3960	ND	ND	ND	ND	ND
V6	2015	5	18	2680	80	ND	80	22275	ND
V7	2012	5	14	320	ND	ND	ND	19305	ND
V7	2012	5	21	120	ND	ND	ND	74250	ND
V7	2013	8	12	40	ND	ND	ND	341550	ND

cuantificadas, sólo 6 estuvieron presentes en los muestreos en los que se detectaron CFF (Tabla 1). De ellas, las más frecuentes fueron *D. acuminata* y *Pseudo-nitzschia* spp. para ambas Rías. De los 73 eventos detectados, *Pseudo-nitzschia* spp. estuvo presente en la columna de agua en 63 ocasiones, es decir, en un 86% de los muestreos (Tabla 2). Por otra parte *D. acuminata* fue cuantificada en 58 ocasiones, es decir, en un 79% de los eventos (Tabla 2). El resto de los grupos/especies estuvieron presentes en porcentajes mucho menores (<17%) y con densidades celulares muy bajas

A continuación, con el fin de determinar en qué medida los valores de abundancia de *D. acuminata* y *Pseudo-nitzschia* spp. asociados a los eventos de CFF representaban incrementos con respecto a los valores típicos, o esperados, en función de la época del año en la que se realizó cada muestreo, se representó el ciclo estacional de la abundancia de ambas especies para cada estación. En la Figura 6 se muestran los valores promedio de la abundancia de *D. acuminata* y *Pseudo-nitzschia* spp., calculados teniendo en cuenta los datos obtenidos en todas las estaciones, mientras que las Figuras 7, 8, 9 y 10 muestran los ciclos estacionales para cada estación.

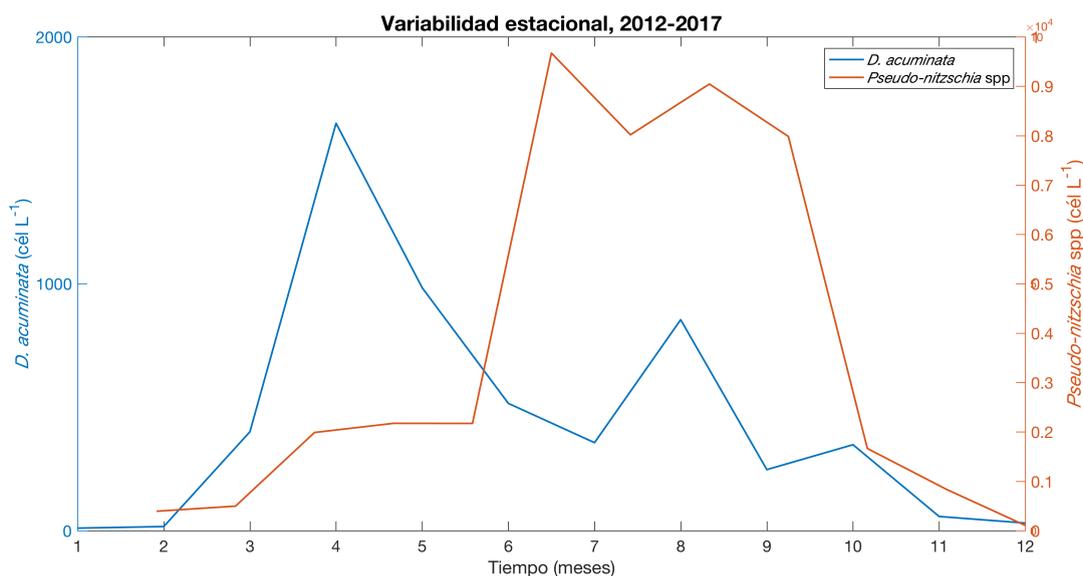


Figura 6. Variabilidad estacional en la abundancia de promedio *D. acuminata* y *Pseudo-nitzschia* spp. calculada a partir de los datos de densidades celulares en el periodo 2012-2017.

En cuanto al ciclo estacional calculado con los datos obtenidos en todas las estaciones, los valores mínimos de *D. acuminata* se observaron durante diciembre y enero, mientras que los valores más altos se corresponden con los meses de primavera y verano, observándose un primer máximo en abril y otro, no tan elevado, en agosto (Fig. 6). Con respecto a *Pseudo-nitzschia* spp., los valores mínimos se observaron en diciembre-febrero, mientras que las densidades más elevadas se observaron en el periodo comprendido entre junio y septiembre.

Tabla 2. Número total (nº CFF) de capas finas detectadas en las Rías de Pontevedra y Vigo, y número de CFF asociadas con presencia, valores superiores a la mediana, tercer cuartil (Q3) y *outliers* de abundancia de *D. acuminata* y *Pseudo-nitzschia* spp. En la tabla se indica el número de capas finas en valores absolutos (no) y el porcentaje con respecto al total (%).

	nº CFF	Presencia		Superior a la mediana		Superior al Q3		Outliers	
		<i>D. acuminata</i>	<i>Pseudo-nitzschia</i>	<i>D. acuminata</i>	<i>Pseudo-nitzschia</i>	<i>D. acuminata</i>	<i>Pseudo-nitzschia</i>	<i>D. acuminata</i>	<i>Pseudo-nitzschia</i>
P1	3	2	3	2	0	1	0	0	0
P2	10	8	9	4	6	1	3	1	2
P3	5	2	5	1	1	0	1	0	1
P4	11	9	7	6	3	2	2	2	2
P5	8	7	8	3	5	2	2	1	2
P6	6	5	6	3	3	1	1	1	1
P7	1	1	1	0	0	0	0	0	0
P8	2	2	2	2	0	0	0	0	0
P9	4	3	2	1	0	0	0	0	0
PA	2	0	2	0	0	0	0	0	0
V1	3	3	3	2	2	2	0	0	0
V2	3	2	2	1	2	1	1	1	1
V3	1	1	0	1	0	1	0	0	0
V4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
V5	4	4	4	3	4	1	2	0	0
V6	6	6	5	4	4	1	2	1	2
V7	3	3	3	0	3	0	2	0	1
B1	1	0	1	0	1	0	0	0	0
TOTAL RÍA (nº)	73	58	63	33	34	13	16	7	12
TOTAL RÍA (%)	100	79	86	45	47	18	22	10	16

En general, todas las estaciones mostraron patrones estacionales muy similares en la abundancia de *D. acuminata* y *Pseudo-nitzschia* spp. (Fig. 7, 8, 9 y 10). En promedio las estaciones P2-Bueu (469 [251-653] cél L⁻¹; entre corchetes, intervalos de confianza al 95%) y V2-Moaña (443 [251-725] cél L⁻¹) se caracterizaron por valores ligeramente superiores en la abundancia de *D. acuminata*, mientras que los valores más bajos correspondieron a la estación V4-Chapela (41 [23, 66] cél L⁻¹) y V5-Boca Sur (138 [62, 296] cél L⁻¹) (Tabla 2). En cuanto a *Pseudo-nitzschia* spp. los valores más altos en el promedio anual correspondieron a la estación P6-Tambo (66619 [41296-106702] cél L⁻¹) y P9-Festiñanzo (61308 [38247, 90097] cél L⁻¹), y los valores más bajos a las estaciones de la Ría de Vigo V3-Rande (16122 [8261-31053] cél L⁻¹) y V2-Moaña (30446 [14010, 55880] cél L⁻¹) (Tabla 3).

Por último, se compararon las abundancias de ambas especies determinadas en los días en los que se detectaron CFF con los ciclos estacionales calculados para cada estación (Figs. 7, 8, 9 y 10), con el fin de determinar posibles incrementos de abundancia asociados a estas estructuras. Los resultados que se muestran en la Tabla 2 indican que en un 45% de las CFF detectadas, *D. acuminata* fue superior a la mediana, en un 18% fue superior al Q3 y en un 10% de los eventos la densidad de esta especie estuvo asociada a valores

atípicos (*outliers*). Aplicando los mismos umbrales a *Pseudo-nitzschia* spp., los valores que se obtuvieron fueron 47, 22 y 16%, respectivamente.

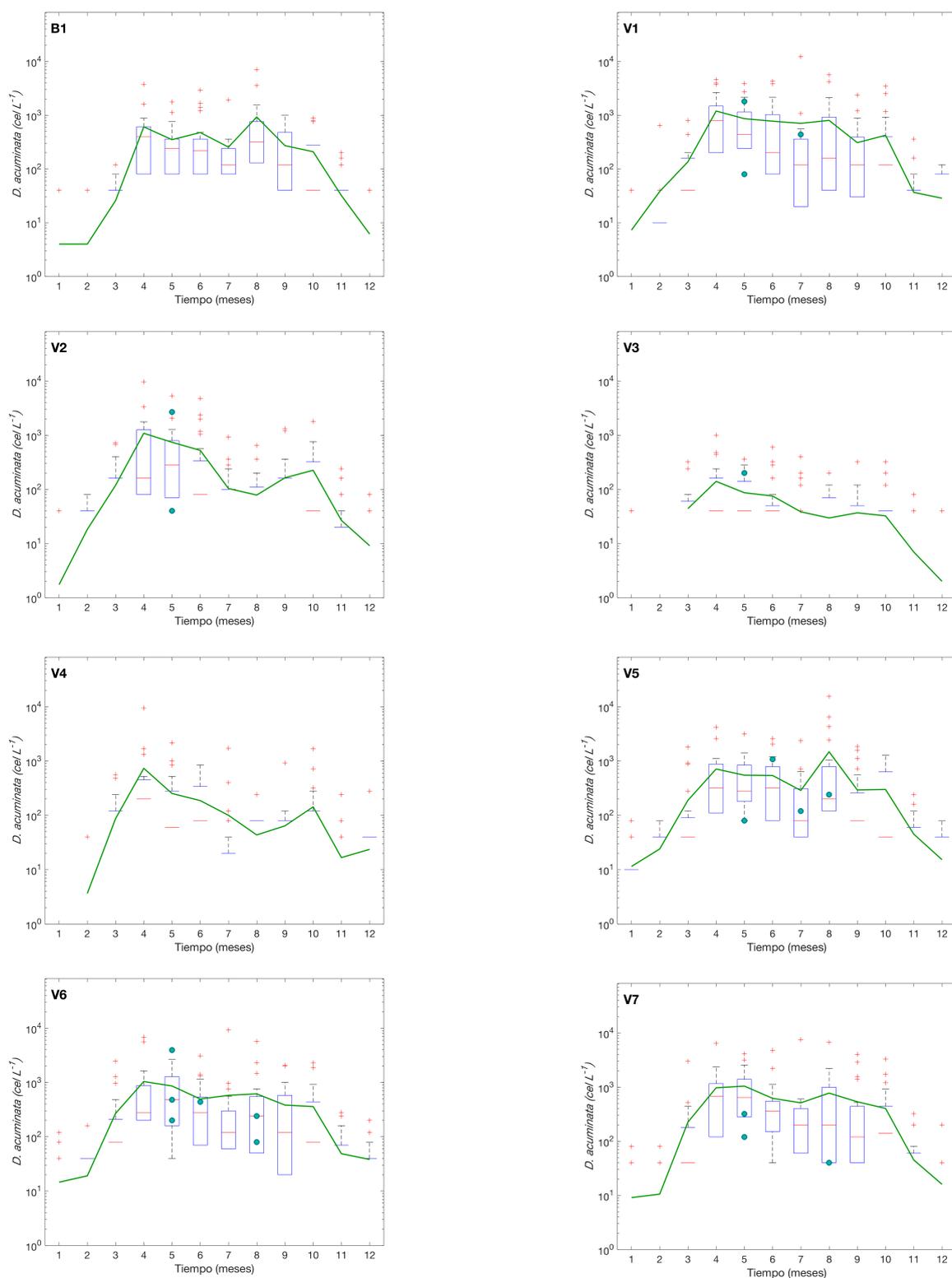


Figura 7. Variabilidad estacional de *D. acuminata* para cada estación de la Ría de Vigo. Líneas rojas representan la mediana, la base de las cajas el Q1 y el techo el Q3, cruces rojas son *outliers*, la línea verde es la media y los círculos son la densidad correspondiente a los eventos de CFF detectadas en cada estación.

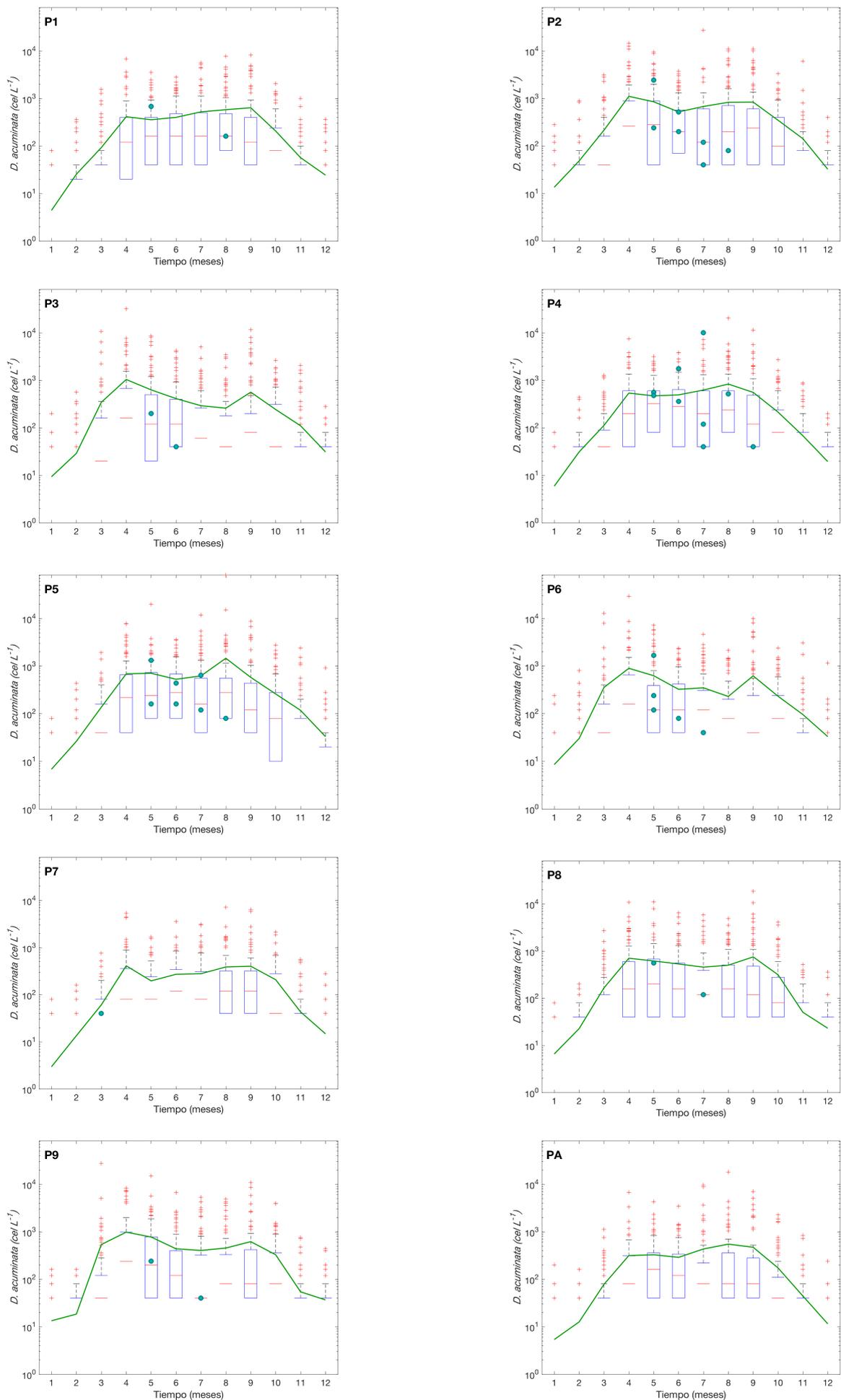


Figura 8. Variabilidad estacional *D. acuminata* para cada estación de la Ría de Pontevedra. Líneas rojas representan la mediana, la base de las cajas el Q1 y el techo el Q3, cruces rojas son *outliers*, línea verde es la media y los círculos son la densidad correspondiente a los eventos de CFF detectadas en cada estación.

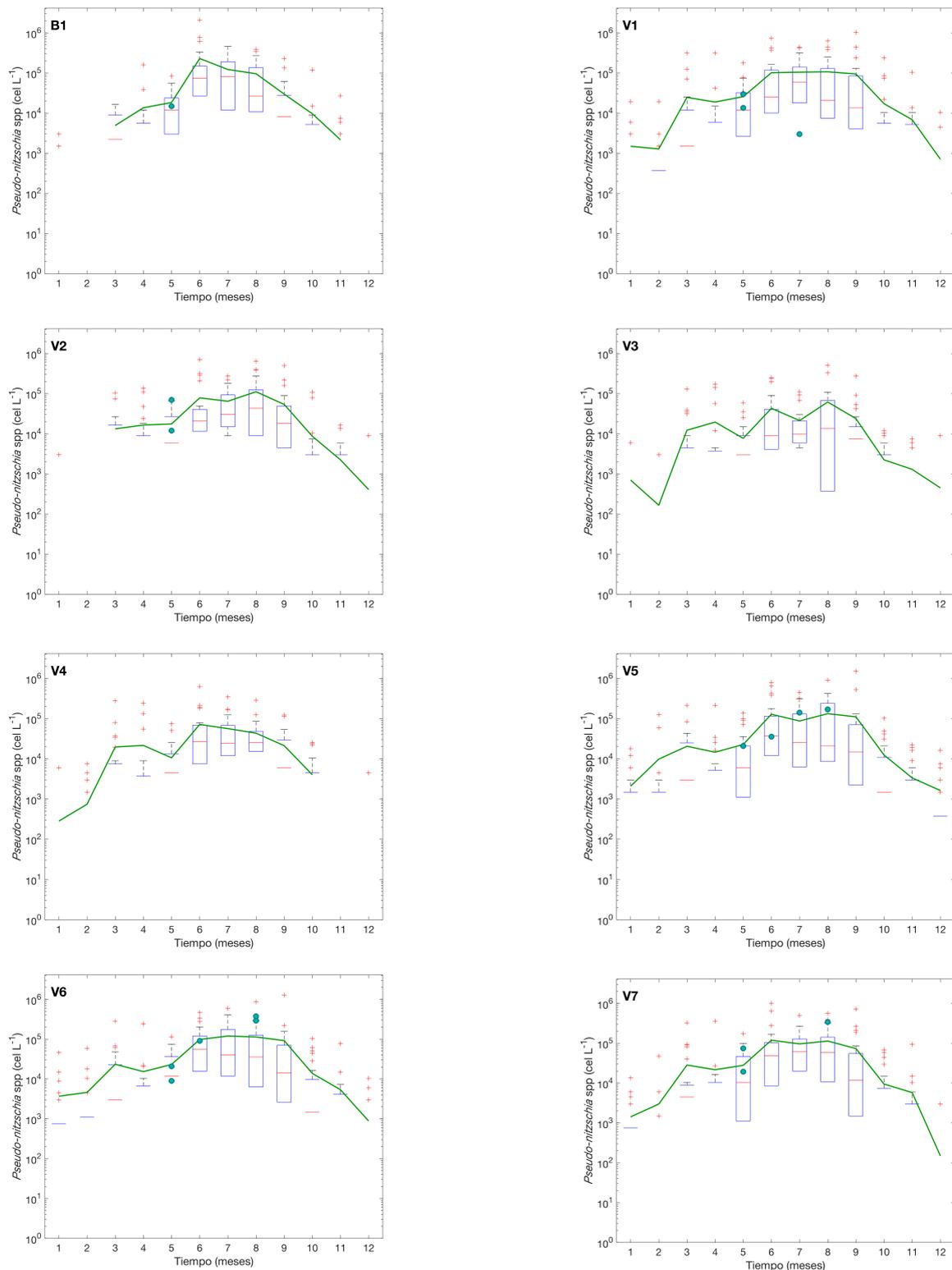


Figura 9. Variabilidad estacional *Pseudo-nitzschia* spp. para cada estación de la Ría de Vigo. Líneas rojas representan la mediana, la base de las cajas el Q1 y el techo el Q3, cruces rojas son *outliers*, línea verde es la media y los círculos son la densidad correspondiente a los eventos de CFF detectadas en cada estación.

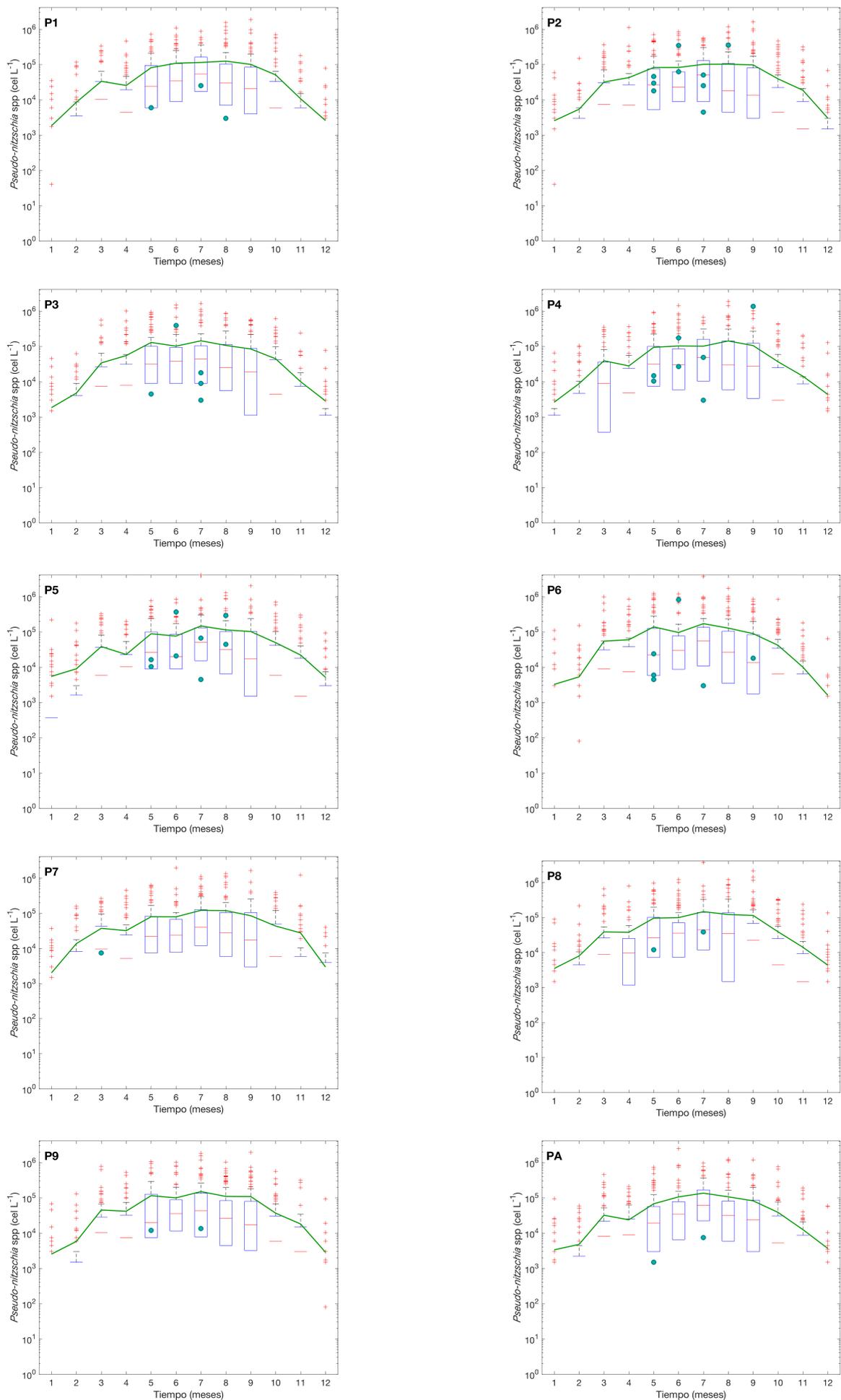


Figura 10. Variabilidad estacional *Pseudo-nitzschia* spp. para cada estación de la Ría de Pontevedra. Líneas rojas representan la mediana, la base de las cajas el Q1 y el techo el Q3, cruces rojas son *outliers*, línea verde es la media y los círculos son la densidad correspondiente a los eventos de CFF detectadas en cada estación. 20

4. DISCUSIÓN

4.1. Variabilidad estacional en la abundancia de *Pseudo-nitzschia* spp. y *D. acuminata*

De los ocho géneros/especies de fitoplancton tóxico analizados, *Pseudo-nitzschia* spp. y *D. acuminata* fueron los que más frecuentemente estuvieron presentes en aquellos muestreos en los que se detectaron las CFF durante 2012-2015 en la región. El ciclo estacional de ambas especies mostró que, de acuerdo con estudios previos (Figueiras *et al.*, 2002), ambas especies se caracterizaron por altas densidades celulares durante la estación de afloramiento. *Pseudo-nitzschia* spp. presentó un período de crecimiento entre abril y octubre, alcanzando máximos en verano coincidiendo con los periodos de estratificación en los que, generalmente, se observan proliferaciones de este tipo de diatomeas de pequeño tamaño (Figueiras *et al.*, 2002). Este periodo es propicio para el desarrollo de poblaciones de *Pseudo-nitzschia* spp. gracias al aporte de nutrientes asociado al afloramiento, y a la rápida absorción de estos por parte de esta diatomea (Anderson *et al.*, 2006).

Por otra parte, *D. acuminata* mostró una época de proliferación entre marzo y octubre, exhibiendo dos máximos de abundancia, al principio (abril) y al final del periodo (agosto). Estudios previos sugieren que el primer pico de abundancia de esta especie tiene lugar en junio, durante lo que se consideran años normales (Díaz *et al.*, 2013). Por el contrario, durante los años anómalos, se producen picos tempranos a partir de marzo-abril, debido a la predominancia de vientos de componente norte en invierno, lo que favorece la iniciación precoz de la proliferación fitoplanctónica primaveral. Esto podría indicar que el periodo utilizado para determinar el ciclo estacional de ambas especies en este trabajo se caracterizó por una predominancia de condiciones de afloramiento en los meses de invierno. Por otro lado, el máximo de agosto coincide con la transición de la estación de afloramiento a la de hundimiento, lo que provoca un cambio en el patrón de circulación del agua que favorece la presencia de este tipo de dinoflagelados en las Rías Baixas (Figueiras *et al.*, 2008). La predominancia de *D. acuminata* y otros dinoflagelados en periodos de hundimiento puede ser explicada por la capacidad de natación que tiene este grupo, que les posibilita contrarrestar la velocidad descendente del agua durante la circulación inversa (Fraga *et al.*, 1998; Figueiras *et al.*, 2002).

El hecho de que en promedio la estación P2 presentase mayores densidades celulares de *D. acuminata* es consistente con el hecho de que en esta estación se produzca el mayor número de días de cierre por toxina DSP (Figura 5). Por otra parte, *Pseudo-nitzschia* spp. alcanzó los mayores valores de abundancia en la estación P6. Sin embargo, a partir de los datos del INTECMAR no es posible determinar si existe alguna relación con una mayor frecuencia de aparición de toxina ASP en esta estación, dado que los cierres se

Tabla 3. Medias anuales de la abundancia de *D. acuminata* y *Pseudo-nitzschia* spp. para cada estación de las Rías de Pontevedra y Vigo y sus respectivos intervalos de confianza (IC) al 95%. Los IC están calculados mediante el método de *bootstrapping*.

Estación	<i>D. acuminata</i>		<i>Pseudo-nitzschia</i> spp	
	Media	IC	Media	IC
P1	276	(156, 395)	55265	(31092, 81362)
P2	469	(251, 653)	50724	(29179, 71759)
P3	331	(214, 572)	59961	(30218, 87646)
P4	331	(160, 486)	56762	(37647, 89941)
P5	430	(234, 707)	56699	(34114, 85030)
P6	318	(196, 502)	66619	(41296, 106702)
P7	191	(95, 273)	53861	(31996, 77323)
P8	347	(190, 495)	60169	(3595, 92135)
P9	388	(217, 587)	61308	(38247, 90097)
PA	276	(152, 404)	55265	(35518, 83329)
V1	265	(129, 484)	41895	(22984, 74428)
V2	443	(251, 725)	30446	(14010, 55880)
V3	258	(117, 498)	16122	(8261, 31053)
V4	41	(23, 66)	20749	(9575, 34676)
V5	138	(62, 296)	45375	(21958, 73336)
V6	370	(188, 587)	42731	(19468, 68707)
V7	394	(216, 576)	41629	(15973, 64503)
B1	430	(255, 693)	43714	(15347, 98010)

producen habitualmente por toxina DSP, momento en que se prohíbe la extracción de moluscos y, por tanto, dejan de medirse las otras toxinas.

Detección de CFF y su relación con la abundancia de Pseudo-nitzschia spp. y D. acuminata

Los resultados presentados en este trabajo mostraron que durante el periodo 2012-2015 se observaron un total de 73 CFF en las Rías de Pontevedra y Vigo lo que equivale a una frecuencia de aparición del 2%. Estas estructuras fueron más frecuentes en las estaciones de la boca de la Ría de Pontevedra (P4 y P2) donde su frecuencia de aparición fue de ~ 5%.

La detección de CFF en todas las Rías Gallegas para este mismo periodo, mostró la presencia de 8 eventos de gran escala, es decir, CFF que tienen lugar simultáneamente en al menos 5 estaciones de diferentes Rías (López *et al.*, 2018). De estos 8 eventos, 2 tuvieron lugar en primavera y 6 en verano. Respecto a las condiciones en las que se formaron estas CFF, el análisis de componentes principales realizado mostró que los eventos primaverales tuvieron lugar en un escenario de estratificación halina mientras que los estivales se caracterizaron por estratificación térmica. Otro estudio en la misma región (Reboreda *et al.*, 2018) confirma la formación de CFF asociada a la entrada de agua dulce proveniente de la pluma del Río Miño, según los resultados obtenidos mediante el modelo

oceánico 3D ROMS+PISCES.

Por otra parte, la frecuencia de aparición de CFF presenta una relación con los cierres de polígonos de bateas por toxina DSP (Fig. 5), que es más evidente cuando se considera la detección de CFF, para el mismo periodo, en todas las estaciones realizadas por el INTECMAR en las Rías Gallegas (Mouriño-Carballido et al., 2018). Las estaciones con mayor frecuencia de aparición, son las que se encuentran asociadas a los polígonos de bateas con más días de cierre al año. Por ello, estos resultados sugieren una relación entre la presencia de CFF y las proliferaciones de fitoplancton tóxico, al menos con el fitoplancton productor de toxina DSP.

Si consideramos como valores elevados aquellos superiores al tercer cuartil, un 18% de las CFF detectadas en el periodo 2012-2015, estuvieron asociadas con incrementos en la abundancia de *D. acuminata*, y un 22% con incrementos de *Pseudo-nitzschia* spp. Sin embargo, la naturaleza de los datos utilizados (densidades celulares de muestras integradas en la columna de agua) impiden saber si las elevadas abundancias determinadas para ambas especies se localizaban realmente dentro de las CFF.

En este sentido, las proliferaciones de *Pseudo-nitzschia* spp. generan grandes picos en los perfiles de fluorescencia, debido a sus elevadas densidades poblacionales y por tanto es probable que, en los casos en los que se obtuvo una relación con las CFF, esta especie fuera dominante dentro de la estructura. Sin embargo, en el caso de *D. acuminata* es más complicado afirmar que, a partir de los datos de fluorescencia con los que se detectaron las CFF, esta especie se agregase en forma de CFF, ya que se trata de una especie que prolifera a bajas densidades poblacionales, y que por tanto, apenas genera señal de fluorescencia respecto a otras poblaciones de fitoplancton. Por otra parte, las CFF de una especie podrían implicar condiciones favorables para la proliferación de otras. Esto podría suceder en el caso de las relaciones tróficas sumamente específicas entre *D. acuminata*, *Mesodinium rubrum* y criptofíceas del género *Teleaulax*, donde condiciones de estratificación y alta luminosidad provocarían que las células se agregasen en la superficie.

Estudios previos realizados en las Rías Baixas (Velo-Suárez et al., 2008; Díaz et al., 2014) y en otras regiones bajo la influencia de ciclos de afloramiento-hundimiento (McManus et al., 2003; McManus et al., 2008; Steinbuck et al., 2010; Rines et al., 2010) han demostrado la relación entre la formación de CFF y la presencia de especies de fitoplancton tóxico. Velo-Suárez et al. (2008), en una campaña realizada en junio de 2005 en la Ría de Pontevedra, describieron la co-existencia de CFF de *Pseudo-nitzschia* spp. y *D. acuminata* en la estación P2-Bueu. Mientras que el máximo de células de *Pseudo-nitzschia* spp. estaba asociado a una picnoclina muy marcada formada tras un periodo de afloramiento, *D. acuminata* mostró su máximo de abundancia en superficie, asociada a

discontinuidades de temperatura de la termoclina diurna, y formando pequeñas agregaciones. Un estudio posterior realizado en junio de 2007, también en la Ría de Pontevedra (Díaz et al., 2014), describió cómo la formación y disipación de CFF de *Pseudo-nitzschia* spp. puede estar sujeta a la variabilidad de corta escala (horas), debido a los ciclos de mareas y a las rápidas transiciones de los ciclos de afloramiento y hundimiento, que tienen lugar durante la estación de afloramiento.

Teniendo en cuenta esta variabilidad y la frecuencia de los muestreos realizados por el INTECMAR (una vez por semana), es muy probable que en realidad la frecuencia de aparición de CFF en las Rías Gallegas sea muy superior a la observada. Por otro lado, dado que los datos de abundancias utilizados en este trabajo corresponden a datos integrados en la columna de agua, es muy probable que representen una subestimación de los posibles incrementos celulares asociados a las CFF. Esto es consistente con la comparación de los datos de abundancias obtenidos a profundidades discretas en los trabajos de Díaz *et al.* (2014) y Velo-Suárez *et al.* (2008), con los datos proporcionados por el INTECMAR, para las mismas fechas y localizaciones geográficas, que mostró valores 2-3 veces más pequeños. Esta “dilución” de las densidades celulares implícita en las muestras integradas, podría además explicar que en ocasiones no se observe una relación entre niveles de toxina y las densidades celulares de las especies productoras de las mismas (Díaz *et al.*, 2014).

Por lo que sabemos, este trabajo representa el primer estudio que investiga la relación entre CFF y fitoplancton tóxico a escalas de tiempo y espacio relativamente grandes. A pesar de las limitaciones mencionadas, estos resultados sugieren que, al menos en las Rías de Pontevedra y Vigo, podría existir una relación entre la aparición de capas finas y el crecimiento o acumulación de especies de fitoplancton tóxico. En el futuro sería conveniente realizar estudios específicos, que incluyesen métodos de muestreo con alta resolución vertical, para investigar la conexión entre aparición de CFF, presencia de fitoplancton tóxico y niveles de toxicidad, así como su evolución en el tiempo.

5. CONCLUSIONES

1. El número total de CFF detectadas fue de 73, lo que equivale a una frecuencia de aparición del 2% para el total de la región durante 2012-2015, que fue superior en las estaciones P4 y P2 (6%).
2. De los ocho géneros/especies de fitoplancton potencialmente tóxico analizados, *Pseudo-nitzschia* spp. y *D. acuminata* fueron los que con mayor frecuencia estuvieron presentes en los muestreos donde se detectaron CFF (~ 80% de los casos).
3. Ambas especies se caracterizaron por altas densidades celulares durante la

estación de afloramiento: *D. acuminata* presentó dos máximos en los meses de abril y agosto, mientras que *Pseudo-nitzschia* spp. se caracterizó por valores más elevados en los meses de verano.

4. La estación P2-Bueu se caracterizó por valores promedio ligeramente más elevados de abundancia de *D. acuminata* (469 [251-653] cél L⁻¹), mientras que para *Pseudo-nitzschia* spp. los valores más elevados se determinaron en la estación P6-Tambo (66619 [41296-106702] cél L⁻¹).

4. El 45% de las CFF estuvieron asociadas con incrementos en la abundancia de *D. acuminata* superiores a la mediana, un 18% al tercer cuartil y un 10% considerados como *outliers*. Para *Pseudo-nitzschia* spp. estos valores fueron 47, 22, y 16%, respectivamente.

5. Los resultados sugieren que al menos en las Rías de Vigo y Pontevedra, la formación de CFF podría propiciar el crecimiento o acumulación de especies de fitoplancton potencialmente tóxico.

AGRADECIMIENTOS

Quiero mostrar mi agradecimiento al Instituto Tecnológico para el Control del Medio Marino (INTECMAR), por la obtención y publicación de los datos derivados a partir de los muestreos semanales, sin los cuales este estudio no habría sido posible. También agradecer a Beatriz Reguera por las discusiones sobre este estudio y sus comentarios a este manuscrito.

BIBLIOGRAFÍA

Álvarez I, Prego, R, de Castro M, Varela, M (2012). Revisión de los eventos de afloramiento en Galicia: eventos fuera de temporada en las rías (1967-2009), *Ciencias marinas*, 38, (1B): 143-159.

Anderson CR, Brzezinski MA, Washburn L, Kudela R (2006). Circulation and environmental conditions during a toxigenic *Pseudo-nitzschia australis* bloom in the Santa Barbara Channel, California., *Marine Ecology Progress Series*, 327: 119-133.

Arístegui J, Barton ED, Álvarez-Salgado XA, Santos AMP, Figueiras FG, Kifani S, Hernández-León S, Mason E, Machú E, Demarcq H (2009). Sub-regional ecosystem variability in the Canary Current upwelling, *Progress in Oceanography*, 83, (1-4): 33-48.

Barton ED, Torres R, Figueiras FG, Gilcoto M, Largier J (2016). Surface water subduction during a downwelling event in a semienclosed bay, *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 121, (9): 7088-7107.

Bravo I, Fraga S, Isabel Figueroa R, Pazos Y, Massanet A, Ramilo I (2010). Bloom dynamics and life cycle strategies of two toxic dinoflagellates in a coastal upwelling system (NW Iberian Peninsula), *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 57, (3-4): 222-234.

Correa J, Vidal A, Goicoechea M, Salgado C, Arévalo F (2008). Evolución de los episodios tóxicos detectados en las zonas de producción de moluscos en la costa gallega entre los años 2003 y 2006, In: Javier Gilabert, *Avances y tendencias en fitoplancton tóxico y biotoxinas: actas de la IX Reunión Ibérica sobre Fitoplancton Tóxico y Biotoxinas*, Cartagena 7-10 de Mayo 2008: 187-197.

Crawford DW (1989). *Mesodinium rubrum*: the phytoplankter that wasn't, *Marine Ecology Progress Series*, 58: 161-174.

Deksheniaks MM, Donaghay PL, Sullivan JM, Rines JE, Osborn TR, Twardowski MS (2001). Temporal and spatial occurrence of thin phytoplankton layers in relation to physical processes, *Marine Ecology Progress Series*, 223: 61-71.

Díaz PA (2015). Interacciones físico-biológicas de múltiple escala en floraciones algales nocivas (FANs), *Universidad de Vigo*, Vigo.

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

Díaz PA, Ruiz-Villarreal M, Velo-Suárez L, Ramilo I, Gentien P, Lunven M, Fernand L, Raine R, Reguera B (2014). Tidal and wind-event variability and the distribution of two groups of *Pseudo-nitzschia* species in an upwelling-influenced Ría, Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography, 101: 163-179.

Durham WM, Stocker R (2012). Thin phytoplankton layers: characteristics, mechanisms, and consequences, Annual review of marine science, 4: 177-207.

Evans G, Prego R (2003). Rias, estuaries and incised valleys: is a ria an estuary?, Marine Geology, 196 (3): 171-175.

Figueiras FG, Labarta U, Fernández Reiriz MJ (2002). Coastal upwelling, primary production and mussel growth in the Rías Baixas of Galicia, Hydrobiologia, 484, (1-3): 121-131.

Figueiras FG, Miranda A, Riveiro I, Vergara AR and Guisande C (2008). La Ría de Vigo: una aproximación integral al ecosistema marino de la Ría de Vigo, (El Plancton de la Ría de Vigo): 111-152.

Figuera Morales R (2017). Visión general del sector acuícola nacional - España, Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO.

Fraga F (1981). Upwelling off the Galician coast, northwest Spain, Coastal upwelling, Coastal and Estuarine Studies, 1: 176-182.

Fraga S (1998). *Pseudo-nitzschia* species isolated from Galician waters- toxicity, DNA content and lectin binding assay, Harmful algae, In: Reguera, B, Blanco, J, Fernández, ML, Wyatt, T (Eds.), Harmful Algae, Xunta de Galicia. IOC UNESCO, 270-273.

Fryxell GA, Villac MC, Shapiro LP (1997). The occurrence of the toxic diatom genus *Pseudo-nitzschia* (Bacillariophyceae) on the West Coast of the USA, 1920-1996: a review, Phycologia, 36 (6): 419-437.

Hasle GR (1972). Distribution of *Nitzschia seriata* Cleve and allied species, Nova hedwigia. Beihefte, 39: 171- 190.

Hasle GR (1994). *Pseudo-nitzschia* as a genus distinct from *Nitzschia* (Bacillariophyceae), Journal of phycology, 30 (6):1036-1039.

Hasle GR (1995). Taxonomy of diatoms, Manual on harmful marine microalgae, 33: 339-364.

Lelong A, Hégaret H, Soudant P, Bates SS (2012). *Pseudo-nitzschia* (Bacillariophyceae) species, domoic acid and amnesic shellfish poisoning: revisiting previous paradigms, Phycologia, 51(2): 168-216.

López Mozos M, Mouriño-Carballido B, Gilcoto M, Chouciño P, Pereiro D, Reboreda R, Souto C (2018). Investigating the environmental conditions favorable for the occurrence of thin layers of phytoplankton in the Galician Rías. 2018 VI International Simposium on Marine Sciences, Vigo.

McManus MA, Alldredge AL, Barnard AH, Boss E, Case JF, Cowles TJ, Donaghay PL, Eisner LB, Gifford DJ, Greenlaw CF, Herren CM, Holliday DV, Johnson D, MacIntyre S, McGehee DM, Osborn TR, Perry MJ, Pieper RE, Rines JEB, Smith DC, Sullivan JM, Talbot MK, Twardowski MS, Weidemann A and Zaneveld JR (2003). Characteristics, distribution and persistence of thin layers over a 48 hour period, Marine Ecology Progress Series, vol. 261: 1-19.

McManus MA, Kudela RM, Silver MW, Steward GF, Donaghay PL, Sullivan JM (2008). Cryptic Blooms: Are Thin Layers the Missing Connection?, Estuaries and Coasts, 31 (2): 396-401.

Miguez A, Fernlindes L (1996). First detection of domoic acid in Galicia (NW of Spain), In: Yasumoto, T., Oshima, Y., Fukuyo, Y. (Eds.), Harmful and Toxic Algal Blooms, Intergovernmental Oceanographic Community, UNESCO, Paris: 143-145.

Moroño Mariño Á, Pazos Y, Doval MD (2008). Anuario Oceanográfico de Galicia 2008, INTECMAR.

Mouriño-Carballido B, Broullón E, Chouciño P, Fernández B, López M, GilCoto M, Nogueira E, Pazos Y, Reboreda R, Reguera B, Souto C, Villamaña M (2018). Searching for thin layers of phytoplankton in the upwelling region off NW Iberia. Póster. VI International Symposium on Marine Science, Vigo.

Park MG, Kim S, Kim HS, Myung G, Kang YG, Yih W (2006). First successful culture of the marine dinoflagellate *Dinophysis acuminata*, Aquatic Microbial Ecology, 45(2): 101-106.

Reboreda R, Souto C, Mouriño-Carballido B, Chouciño P, Gilcoto M, Fernández B, and Nogueira E (2018). Study of two major events of thin layers of phytoplankton in the Galician Rías using a 3D Ocean Model, VI International Symposium on Marine Sciences, Encuentro de la Oceanografía Física, Vigo.

Reguera B, Garcés E, Pazos Y, Bravo I, Ramilo I, González-Gil S (2003). Cell cycle patterns and estimates of in situ division rates of dinoflagellates of the genus *Dinophysis* by a postmitotic index, Marine Ecology Progress Series, 249: 117-131

Reguera B, Riobo P, Rodriguez F, Diaz PA, Pizarro G, Paz B, Franco JM, Blanco J (2014). *Dinophysis* toxins: causative organisms, distribution and fate in shellfish, Mar Drugs, 12

(1): 394-461.

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

Rines JEB, McFarland MN, Donaghay PL, Sullivan JM (2010). Thin layers and species-specific characterization of the phytoplankton community in Monterey Bay, California, USA, *Continental Shelf Research*, 30 (1): 66-80.

Ryan JP, McManus MA, Paduan JD, Chavez FP (2008). Phytoplankton thin layers caused by shear in frontal zones of a coastal upwelling system, *Marine Ecology Progress Series*, 354: 21-34.

Steinbuck JV, Genin A, Monismith SG, Koseff JR, Holzman R, Labiosa RG (2010). Turbulent mixing in fine-scale phytoplankton layers: Observations and inferences of layer dynamics, *Continental Shelf Research*, 30 (5): 442-455.

Sullivan JM, Donaghay PL, Rines JEB (2010a). Coastal thin layer dynamics: Consequences to biology and optics, *Continental Shelf Research*, 30: (1): 50-65.

Sullivan JM, Van Holliday D, McFarland M, McManus MA, Cheriton OM, Benoit-Bird KJ, Goodman L, Wang Z, Ryan JP, Stacey M, Greenlaw C, Moline MA, McFarland MN (2010b). Layered organization in the coastal ocean: An introduction to planktonic thin layers and the LOCO project, *Continental Shelf Research*, 30 (1): 1-6.

Tilstone GH, Figueiras, FG, Fermín EG, Arbones B (1999). Significance of nanophytoplankton photosynthesis and primary production in a coastal upwelling system (Ría de Vigo, NW Spain), *Marine Ecology Progress Series*, 183: 13-27.

Trainer VL, Bates SS, Lundholm N, Thessen AE, Cochlan WP, Adams NG, Trick CG (2012). *Pseudo-nitzschia* physiological ecology, phylogeny, toxicity, monitoring and impacts on ecosystem health, *Harmful Algae*, 14: 271-300.

Velo-Suárez L, González-Gil S, Gentien P, Lunven M, Bechemin C, Fernand L, Raine R, Reguera B (2008). Thin layers of *Pseudo-nitzschia* spp. and the fate of *Dinophysis acuminata* during an upwelling-downwelling cycle in a Galician Ria., *Limnology and Oceanography*, 53: 1816–1834.

Wooster WS, Bakun A, McLain DR (1976). The seasonal upwelling cycle along the eastern boundary of the North Atlantic, *Journal of Marine Research*, 34: 131–141.