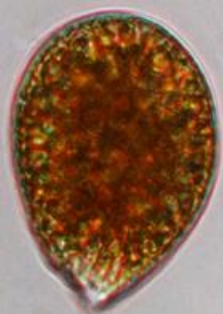


A



B



Seguimiento de algas tóxicas bentónicas en la costa vasca.

Informe 2022

Departamento de Biología
Vegetal y Ecología
(UPV/EHU)

ura

URAREN
EUSKAL
AGENTZIA | AGENCIA
VASCA
DEL AGUA



ELISKO JAURLARITZA
GOBIERNO VASCO

TIPO DE DOCUMENTO:	Informe.
TÍTULO DEL DOCUMENTO:	Seguimiento de algas tóxicas bentónicas en la costa vasca. Informe 2022
ELABORADO POR:	Departamento de Biología Vegetal y Ecología (UPV/EHU).
AUTORES:	Yago Fionn Laurenns Balparda, Sergio Seoane Parra
FECHA:	diciembre 2022.

Índice

Seguimiento de algas tóxicas bentónicas en la costa vasca.

Informe 2022

1. Introducción	4
1.1. Objetivo	4
1.2. Antecedentes	4
2. Diseño del proyecto.....	6
2.1. Estrategia de muestreo.....	6
2.2. Metodología.....	6
3. Resultados	9
3.1. Parámetros Fisicoquímicos Generales	9
3.2. Presencia y concentración de dinoflagelados potencialmente tóxicos en la columna de agua	11
3.3. Presencia y concentración de dinoflagelados potencialmente tóxicos en sustrato macrofítico	13
3.4. Identificación molecular de las cepas aisladas.....	14
4. Conclusiones	16
5. Anexos.....	19

1.

Introducción

Este documento¹ se corresponde al informe del proyecto denominado: Seguimiento de algas tóxicas bentónicas en la costa vasca, financiado por la Agencia Vasca del Agua (URA). (Referencia de proyecto en la UPV/EHU: 2022.0189).

1.1. OBJETIVO

El objetivo principal de este proyecto es conocer mejor la ecología de los géneros: *Ostreopsis*, *Prorocentrum* y *Coolia*, tratando de evaluar su presencia y abundancia en relación con las variables ambientales de los diferentes arenales

1.2. ANTECEDENTES

Entre los efectos que las acciones humanas están provocando en la naturaleza, la variación en los límites de distribución de las diferentes especies es uno de los más preocupantes. El cambio climático está abriendo los límites de distribución para algunas especies y cerrándolo para otras. Esos cambios en las condiciones medioambientales, unidos al vector de transporte que suponen las actividades humanas, representan un gran peligro para la biodiversidad. Además de la problemática de la pérdida de la biodiversidad, la aparición en los ecosistemas de especies con potencial tóxico supone un gran riesgo, no solo para las especies que interactúan directamente con ellas, sino también para la especie humana (Hallegraeff, 2010).

El fitoplancton tóxico produce pérdidas millonarias a lo largo de todo el mundo, destacando sus efectos en la acuicultura tanto de producción piscícola como de mariscos (Martino *et al.*, 2020). Además, tiene su efecto en el turismo, ya que el aspecto que presentan las aguas con densidad alta de fitoplancton o los efectos tóxicos en humanos que pueden tener al contacto directo o a través de aerosoles, incide negativamente en este sector.

Dentro de las especies tóxicas, y en relación con su afección al turismo, las especies de dinoflagelados bentónicos de los géneros *Prorocentrum*, *Ostreopsis* o *Coolia* son habituales en las costas de clima tropical y templado. Estos organismos tienen su hábitat preferencial sobre rocas o algas macrófitas en la zona somera de las costas. En la costa cantábrica, desde los primeros registros, en el año 2007, individuos de estos géneros han sido periódicamente observados. El género *Ostreopsis* en los últimos 15 años ha aumentado su concentración, y se ha ampliado su distribución geográfica (Seoane & Siano, 2018; Drouet *et al.*, 2021).

¹ Modo de citar este informe: Agencia Vasca del Agua (URA). 2022. Seguimiento de algas tóxicas bentónicas en la costa vasca. Informe elaborado por Laurens-Balparda Y.F., Seoane S. (Departamento de Biología Vegetal y Ecología (UPV/EHU)).

El pasado verano de 2021, no solo se observó su presencia en nuestras aguas, sino que se registraron efectos nocivos en bañistas, con picores y pequeños problemas respiratorios, obligando esto a cerrar playas en la costa vascofrancesa y decretar el baño con precaución en las playas de San Sebastián (Chomérat *et al.*, 2022).

Por la ecología de estos organismos, su proliferación se prevé mayor en zonas costeras con alto componente de roca, donde crezcan especies de macrófitas con estructura de ramificación fina, y zonas con bajo hidrodinamismo. Por otro lado, su efecto está condicionado, evidentemente, a zonas donde haya abundancia de bañistas, por lo que es necesario para conocer su afección, el compromiso entre el hábitat más adecuado y su carácter turístico.

La preferencia de estos organismos por el sustrato no indica que no se encuentre en la columna de agua de aquellas zonas donde habita. Su presencia en ambos medios requiere de un muestreo mixto y tratar de conocer su concentración, por un lado, en la columna de agua, y, por otro lado, adherido en la macrófita.

Las previsiones sobre el calentamiento global no hacen pensar que esta situación de aumento de temperatura de las aguas, propicia para el desarrollo de estas especies de procedencia tropical, vaya a ir a menos. Esto hace necesario comenzar a estudiar la dinámica de estas especies, tanto temporal como espacial, para poder tener registros que nos permitan prever en un futuro la situación en diferentes escenarios ambientales.

Asimismo, es necesaria la colaboración de las administraciones que velan por la calidad de las aguas de baño para el registro de las incidencias que se puedan dar, y así poder relacionar determinadas concentraciones y condiciones ambientales con afecciones de estas microalgas a humanos.

2.

Diseño del proyecto

2.1. ESTRATEGIA DE MUESTREO

El estudio se ha realizado en 5 arenales de la costa vasca (Figura 1): Saturraran (Mutriku), Itzurun (Zumaia), Ondarreta (San Sebastián), La Concha (San Sebastián) y Hondarribia. Se realizaron 6 muestreos entre el 14 de junio y el 12 de septiembre, con las fechas mostradas en la Tabla 1.

Tabla 1 Fechas de muestreo

	junio	julio (1)	julio (2)	agosto (1)	agosto (2)	septiembre
Saturraran	14-jun	12-jul	01-ago	12-ago	30-ago	08-sep
Zumaia	15-jun	11-jul	29-jul	10-ago	31-ago	12-sep
Ondarreta	16-jun	13-jul	28-jul	11-ago	29-ago	09-sep
La Concha	16-jun	13-jul	28-jul	11-ago	29-ago	09-sep
Hondarribia	16-jun	13-jul	28-jul	11-ago	29-ago	09-sep

2.2. METODOLOGÍA

La metodología habitual para la determinación de la abundancia de las microalgas en campo es el recuento al microscopio, generalmente mediante cámaras de sedimentación y siguiendo el método Utermöhl (Thronsen, 1978).

A la hora de la toma de muestras, y en concreto con estas microalgas bentónicas que se pueden suspender en la columna de agua, se plantea como necesario realizar dos técnicas de muestreo en el mismo punto de muestreo:

- determinación en la columna de agua directamente. Implica toma de muestra de la columna de agua en una botella de 250 mL, en una zona donde la profundidad sea en torno a 1 m, y fijación con lugol inmediatamente. De esta muestra, se realizó un recuento mínimo de 50 mL para determinar la abundancia en la columna de agua.
- determinación en el sustrato al que suelen estar adheridas (roca, macroalgas o sustrato artificial). La metodología recomendada por los expertos y las guías metodológicas que se han publicado recientemente van enfocadas a tratar de tomar muestra de macroalga.

Se tomaron aproximadamente entre 5-10 g de macroalgas, en los casos que se pudo de las mismas algas, pero esto no fue posible en todas las ocasiones. La masa de macroalgas se introdujo en un bote o bolsa con el agua que la circundaba y se agitó bruscamente para despegar los organismos del fitobentos de las macroalgas. Posteriormente, esta agua fue filtrada por una malla de 250 micras que retuvo todos los trozos de macroalgas que se hubieran podido romper en el proceso. El agua obtenida tras este filtrado se trató de igual manera que la muestra de columna de agua. Respecto al material de

macroalgas, se pesó posteriormente para referenciar el número de células de microalga por gramo de macroalgas.

En el recuento se identificaron a nivel de género los siguientes géneros: *Ostreopsis*, *Prorocentrum* y *Coolia*, así como otros géneros tóxicos bentónicos como *Amphidinium*.

Junto con la recogida de muestras se tomaron datos fisicoquímicos como temperatura del agua, salinidad, pH y concentración de oxígeno.

Adicionalmente, en cada uno de los muestreos planificados, se tomó muestra de agua sin fijar en las distintas localizaciones, y en los casos en los que se observó la presencia de *Ostreopsis* spp. mediante el recuento visual, se aislaron cepas de las microalgas para su caracterización taxonómica a nivel de especie con métodos moleculares. Las cepas aisladas se depositaron en la colección Vasca de Cultivos de Microalgas (BMCC) de la UPV/EHU.

La extracción del ADN se realizó mediante el kit DNeasy Plant Pro (250) de QIAGEN. Los primers usados para la PCR y la secuenciación fueron ITS-FW (GTAGGTGAACCTGCGGAAGG) y D3B (TCGGAGGGAACCAGCTACTA). Las condiciones de la PCR comenzaron con 2 minutos de calentamiento inicial a 95 °C, seguidos de 35 ciclos de 95 °C durante 30 s, 60 °C durante 60 s, 72 °C durante 120 s, y una extensión final a 72 °C durante 5 min. Las secuencias obtenidas se analizaron y ensamblaron con el programa Bioedit v7.0.9 (Hall, 1999) y posteriormente fueron enfrentadas mediante la herramienta BLAST a las secuencias recogidas en el NCBI. Para la realización del árbol filogenético se seleccionaron diversas secuencias del NCBI de las especies *Ostreopsis* cf *siamensis* y *Ostreopsis* cf. *ovata*, además de una secuencia de *Coolia canariensis*, como secuencia de fuera de grupo. Las secuencias obtenidas más las seleccionadas fueron alineadas con el servicio telemático MUSCLE del EMBL-EBI (Edgar, 2004). Posteriormente con el programa MEGA6 (Tamura *et al.*, 2013), se eligió el modelo más adecuado, que resultó ser Tamura-Nei, y se realizó un árbol del tipo de máxima probabilidad.



Figura 1 Disposición de las estaciones de muestreo en cada uno de los arenales. A: Saturrarán; B: Zumaia; C: Ondarreta; D: La Concha; E: Hondarribia

3.

Resultados

3.1. PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS GENERALES

En este apartado se mostrarán los resultados de la temperatura, salinidad, pH y saturación de oxígeno. Los datos numéricos de las distintas variables fisicoquímicas se recogen en los anexos (Tabla 3).

La **temperatura** observada en estos meses estivales osciló entre 20,7 °C y 25,7 °C, siendo el mes de agosto el mes que mostró los valores máximos en 4 de los 5 arenales. Entre estos, las temperaturas más altas se correspondieron generalmente con las playas de la bahía de San Sebastián (Figura 2).

La **salinidad** tampoco mostró grandes diferencias entre playas ni a lo largo del periodo de estudio. De hecho, este valor osciló únicamente un punto y medio, entre 33,13, registrado en Saturraran en junio y 34,64, observado en Ondarreta en septiembre (Figura 3).

El porcentaje de **saturación de oxígeno** mostró sus valores máximos a lo largo de todo el estudio en la playa de Ondarreta, con valores que oscilaron entre 120 y 170% de saturación. El resto de las localizaciones mostró valores dentro del intervalo 80-120%, salvo algún dato puntual en Zumaia. Por meses no hay una tendencia clara que agrupe a los distintos arenales (Figura 4).

Los valores de **pH** oscilaron generalmente entre 7,5 y 8, con algunas excepciones, dándose el mínimo 7,11 en Hondarribia la segunda quincena de julio y el máximo 8,32, en Ondarreta en la primera quincena de agosto. Como tendencia observada en todos los arenales los valores observados en los dos muestreos de julio marcaron los mínimos en todos los arenales, salvo en Ondarreta donde el valor de la primera semana de julio fue ligeramente superior al observado en junio (Figura 5).

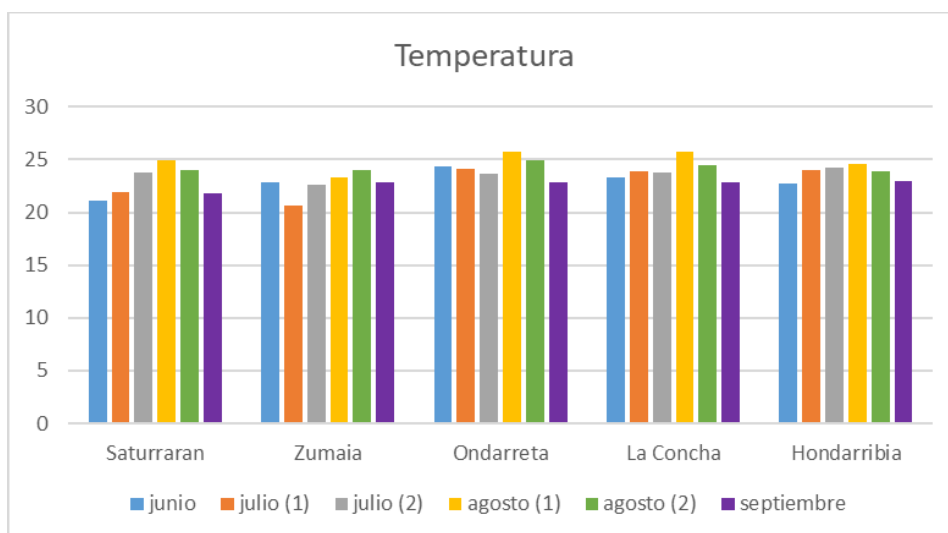


Figura 2 Temperatura (°C) a lo largo del periodo de estudio en los diferentes arenales estudiados

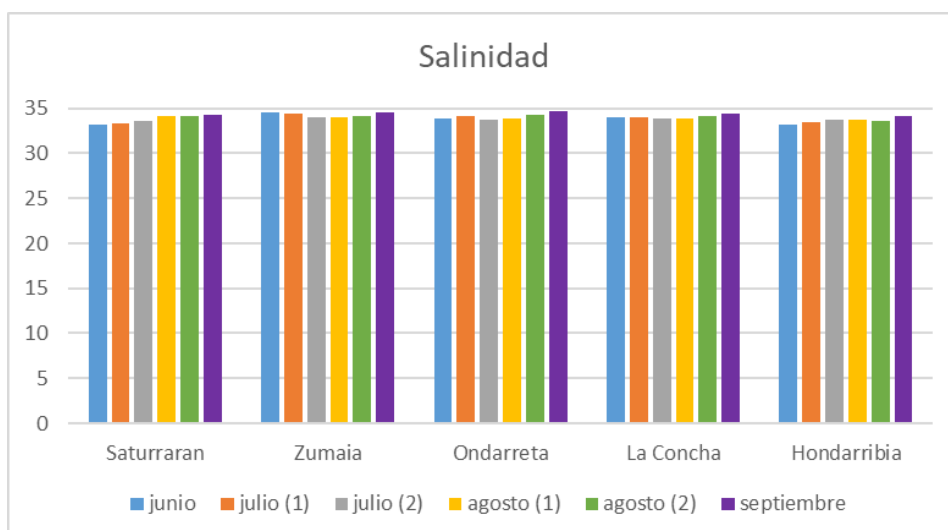


Figura 3 Salinidad a lo largo del periodo de estudio en los diferentes arenales estudiados

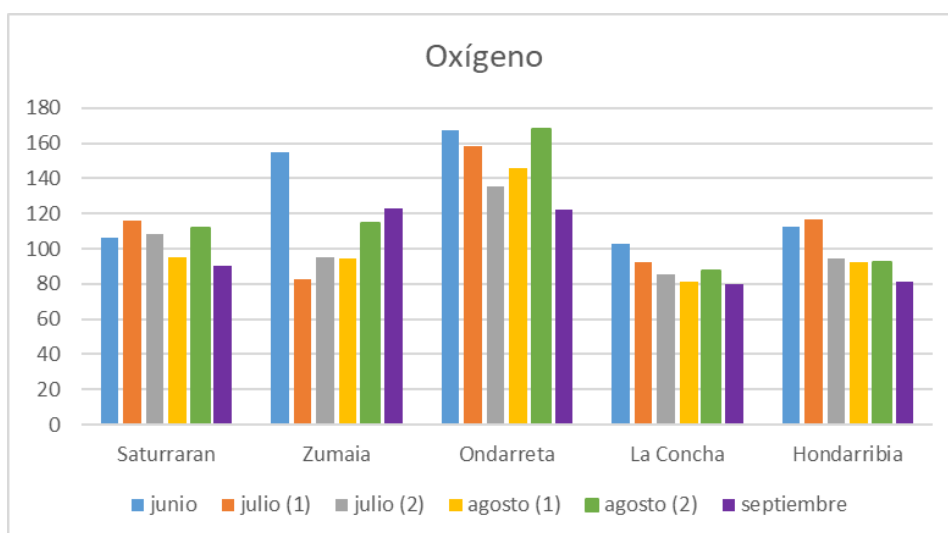


Figura 4 Porcentaje de saturación de oxígeno a lo largo del periodo de estudio en los diferentes arenales estudiados

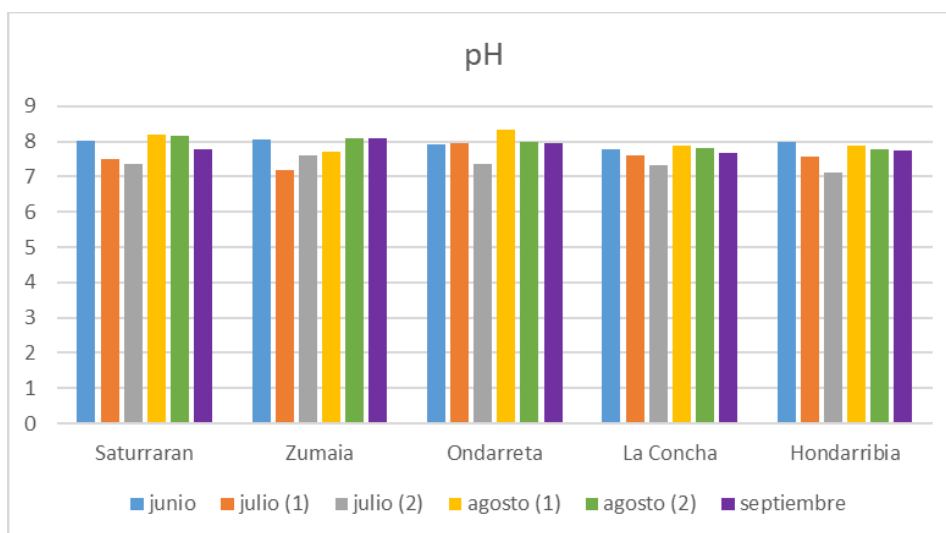


Figura 5 pH a lo largo del periodo de estudio en los diferentes arenales estudiados

3.2. PRESENCIA Y CONCENTRACIÓN DE DINOFLAGELADOS POTENCIALMENTE TÓXICOS EN LA COLUMNA DE AGUA

Los datos de todos los recuentos realizados en la columna de agua se recogen en los anexos (Tabla 4). A continuación, se muestran las figuras correspondientes a los recuentos de tres taxones, los géneros *Ostreopsis* y *Coolia* y la especie *Prorocentrum lima*. Fotografías de estos tres taxones se pueden consultar en los anexos (Figura 13).

Representantes del género *Ostreopsis* fueron observados en todos los arenales desde la primera quincena de julio hasta septiembre (Figura 6). Además, en Ondarreta esta circunstancia se adelantó al mes de junio. Las concentraciones han superado los $1 \cdot 10^4$ células por litro en tres de los cinco arenales (Zumaia, Ondarreta y La Concha), y de $1 \cdot 10^5$ células por litro en uno, Ondarreta. Es en este arenal donde se registraron los máximos con valores en torno a $1,3 \cdot 10^5$ células por litro la primera quincena de julio y la segunda quincena de agosto. Por su parte, en la playa de Itzurun (Zumaia) se registró un máximo por encima de $7 \cdot 10^4$ células por litro, no sobrepasando en ningún otro caso abundancias de $1 \cdot 10^4$ células por litro. En La Concha, este límite, de $1 \cdot 10^4$ células por litro, se superó dos veces a lo largo del periodo de estudio, la primera quincena de julio y la segunda quincena de agosto, pero con valores inferiores a $1,5 \cdot 10^4$ células por litro. Tanto en Hondarribia como en Saturraran, la presencia de *Ostreopsis* fue constante pero sus abundancias máximas rondaron los $7 \cdot 10^3$ células por litro y $4 \cdot 10^3$ células por litro, respectivamente, registrándose valores generalmente inferiores a $1 \cdot 10^3$ células por litro.

La especie *Prorocentrum lima* ha aparecido también en todos los puntos de muestreo, con frecuencias dispares (Figura 7). Así, en Itzurun ha aparecido hasta en cuatro de los seis muestreos, mientras que en La Concha apareció una única vez. Las concentraciones marcaron su máximo en Ondarreta con 300 células por litro.

El género *Coolia* marcó máximos en las diferentes playas entre 100 y 700 células por litro, con su máximo en la playa de Zumaia en la primera quincena de agosto (Figura 8).

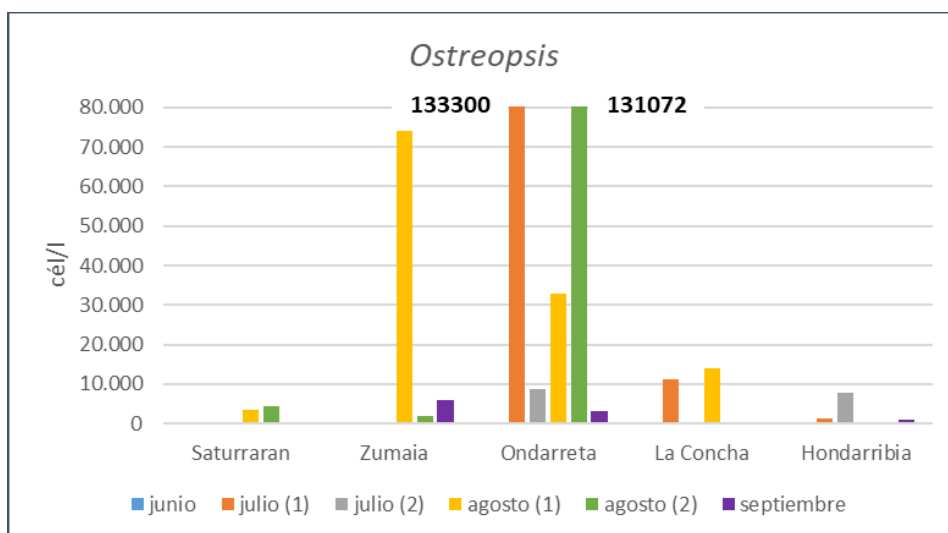


Figura 6 Abundancia del género *Ostreopsis* en la columna de agua en el periodo de estudio en los arenales estudiados.

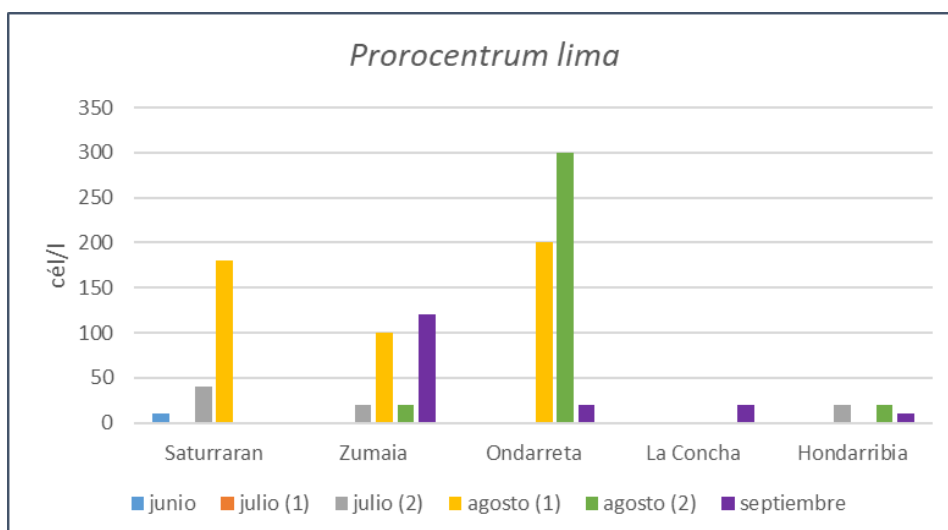


Figura 7 Abundancia de *Prorocentrum lima* en la columna de agua en el periodo de estudio en los arenales estudiados.

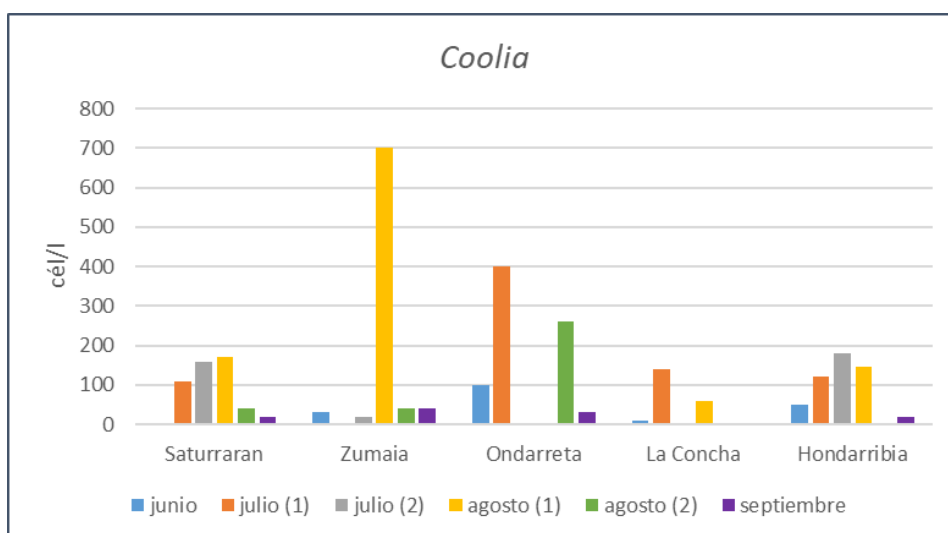


Figura 8 Abundancia del género *Coolia* en la columna de agua en el periodo de estudio en los arenales estudiados.

3.3. PRESENCIA Y CONCENTRACIÓN DE DINOFLAGELADOS POTENCIALMENTE TÓXICOS EN SUSTRATO MACROFÍTICO

Los datos de todos los recuentos realizados en el sustrato macrofítico se recogen en los anexos (Tabla 4)

A continuación, se muestran las figuras correspondientes a los recuentos de tres taxones, los géneros *Ostreopsis* y *Coolia* y la especie *Prorocentrum lima* sobre las macrofitas. Al no poder hacer una recogida de las mismas especies en todas las zonas y días de muestreo, se ha hecho una suma de las microalgas encontradas en las dos macrofitas recogidas en cada punto y en cada día de muestreo y se ha dividido por el total de gramos de ambas especies.

El género *Ostreopsis* estuvo presente en las macrofitas de los cinco arenales, con densidades inferiores a $5 \cdot 10^4$ células por gramo en Saturrarán, Zumaia y Hondarribia. Sin embargo, en las playas de San Sebastián los datos son superiores, especialmente en Ondarreta, donde se registraron valores por encima de $1 \cdot 10^6$ células por gramo de macrofita. Los datos obtenidos en esta playa están muy por encima del resto y la concentración del género *Ostreopsis* fue superior a $1 \cdot 10^5$ células por gramo entre julio y septiembre (Figura 9).

La presencia de *Prorocentrum lima* en las muestras de macrofitas de las playas fue del 100%, observándose las mayores concentraciones en las playas de San Sebastián, principalmente en Ondarreta donde se obtuvo un máximo cercano a $1 \cdot 10^4$ células por gramo (Figura 10).

En relación con el género *Coolia* (Figura 11), su presencia es también amplia y es una vez más la playa de Ondarreta, la que marca los máximos, en este caso, con una concentración de $1,8 \cdot 10^4$ células por gramo.

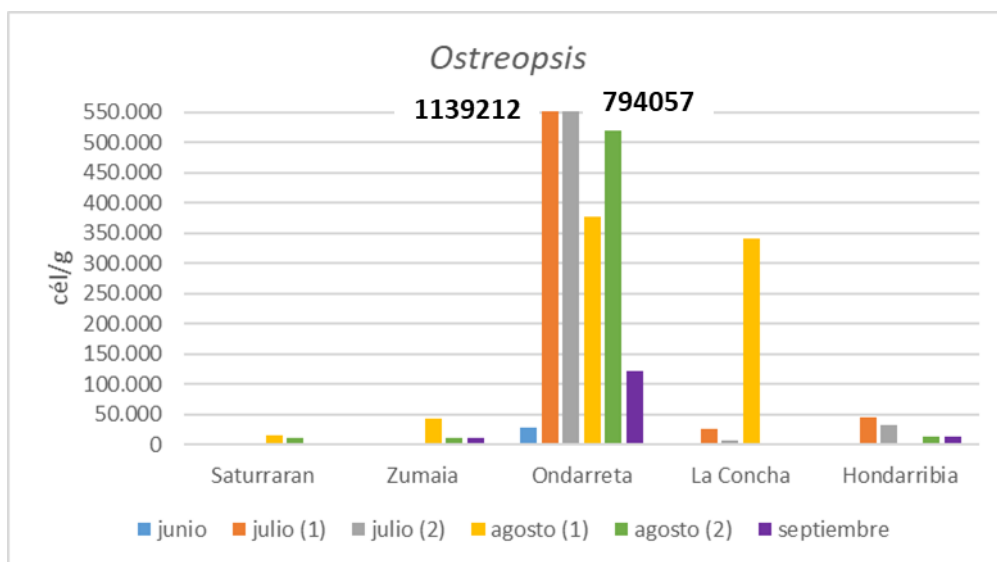


Figura 9 Abundancia del género *Ostreopsis* en las macrofitas recogidas a lo largo del periodo de estudio en los diferentes arenales estudiados.

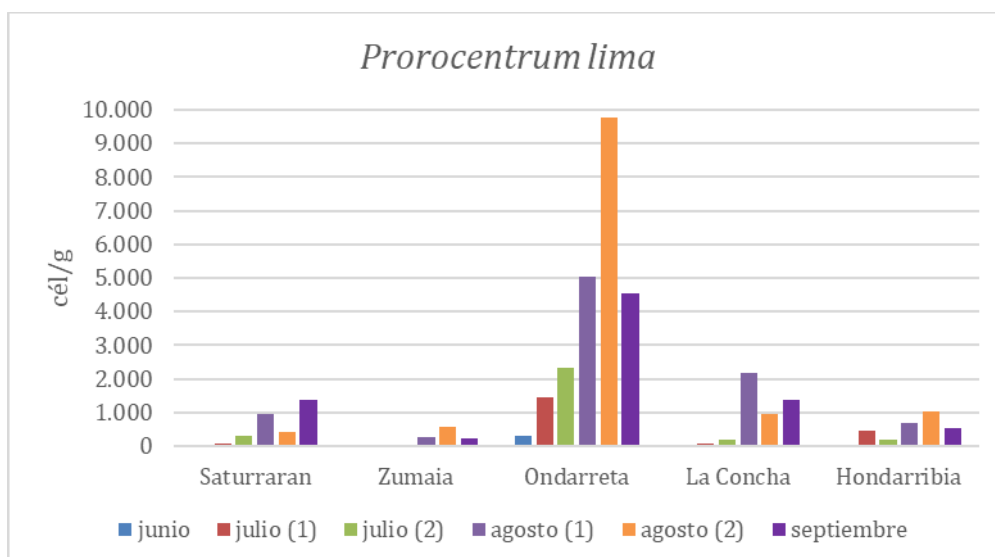


Figura 10 Abundancia de *Prorocentrum lima* en las macrófitas recogidas a lo largo del periodo de estudio en los diferentes arenales estudiados.

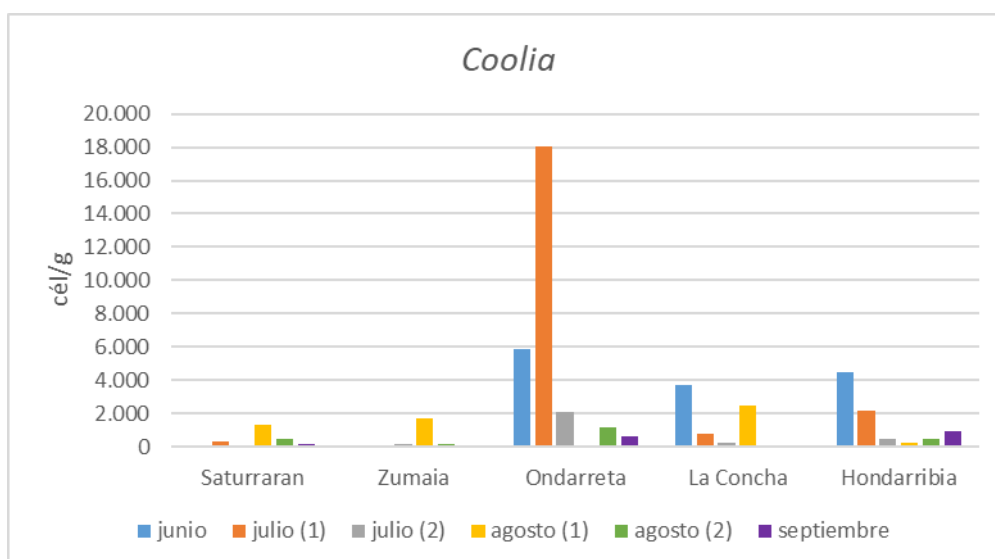


Figura 11 Abundancia del género *Coolia* en las macrófitas recogidas a lo largo del periodo de estudio en los diferentes arenales estudiados.

3.4. IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE LAS CEPAS AISLADAS

Se consiguieron aislar y mantener cinco cultivos de individuos aislados por micropipeteo, todos ellos de la playa de Ondarreta. En la Tabla 2, se muestran las distintas localizaciones y fechas de los aislamientos exitosos, así como la identificación más cercana con la herramienta BLAST.

Tabla 2 Identificación molecular de las cepas aisladas

Número de cepa	Lugar	Fecha	Identificación molecular	Número de acceso en GenBank
BMCC868	Ondarreta	13/07/2022	<i>O. cf ovata</i>	OQ832409
BMCC869	Ondarreta	28/07/2022	<i>O. cf siamensis</i>	OQ832410
BMCC870	Ondarreta	28/07/2022	<i>O. cf ovata</i>	OQ832493
BMCC871*	Ondarreta	28/07/2022	<i>O. cf ovata</i>	
BMCC872*	Ondarreta	28/07/2022	<i>O. cf siamensis</i>	

* blast realizado únicamente con la secuencia obtenida de uno de los dos cebadores

Únicamente de las cepas BMCC868, BMCC869, BMCC870 se consiguió una secuencia válida proveniente de ambos cebadores, y fueron éstas las utilizadas para la construcción del árbol filogenético que se muestra en la Figura 12.

Como se puede apreciar en el árbol filogenético, se constata la presencia de las especies *Ostreopsis* cf. *siamensis* y *Ostreopsis* cf. *ovata* en aguas de la costa vasca.

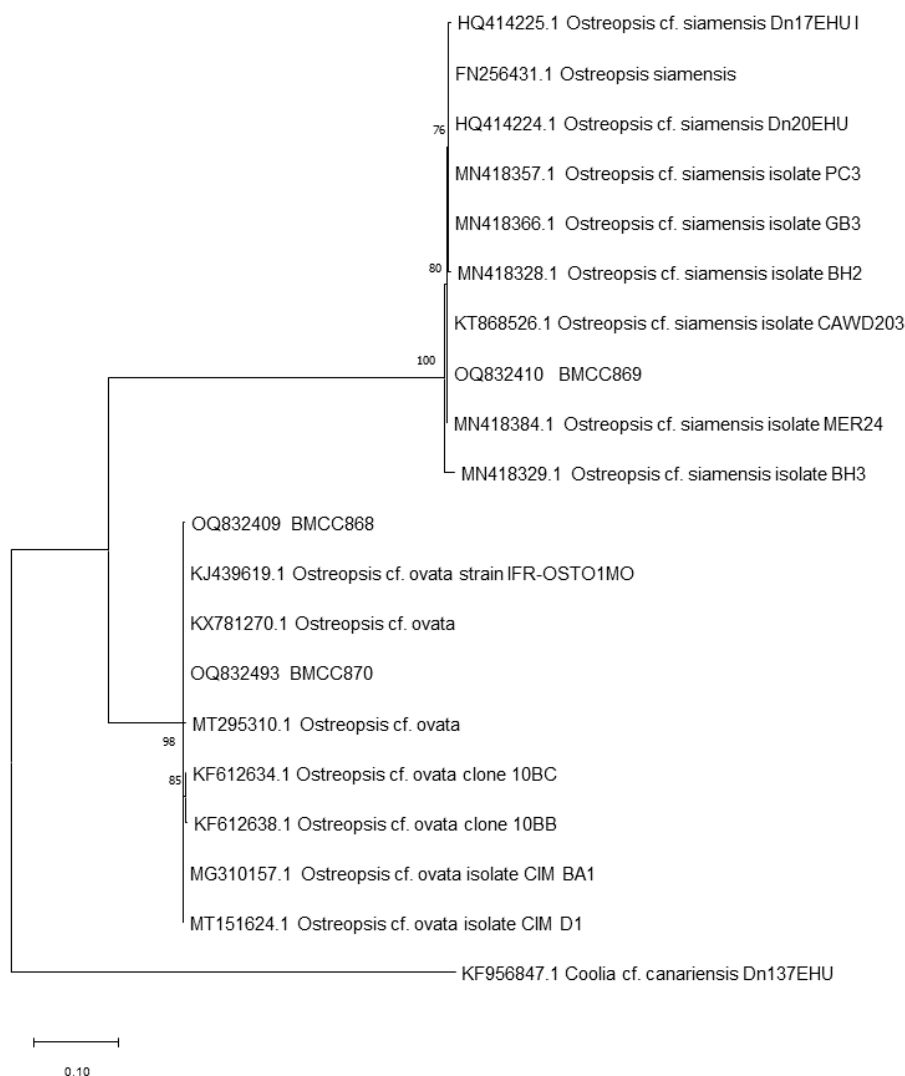


Figura 12 Árbol filogenético de máxima probabilidad donde se observa la situación de las cepas aisladas de las aguas de Ondarreta en el verano de 2022.

4.

Conclusiones

Los resultados del estudio realizado muestran, en relación con las variables ambientales, una homogeneidad de los datos de temperatura, pH y salinidad, lo que es lógico dadas las características de los puntos de muestreo y la época de estudio. La temperatura del agua marcó una dinámica habitual con mínimos generalmente en junio y septiembre y máximos en agosto. Aquellas playas más protegidas, como Ondarreta y La concha registraron los valores máximos, que estuvieron por encima de 25 °C.

La salinidad se mantuvo constante, lo cual está explicado por el tipo de ecosistema del que estamos hablando: la zona costera mantiene baja variación de salinidad, dándose descensos puntuales en épocas de grandes descargas fluviales, circunstancia esta que no se dio entre los meses de junio y septiembre. Los valores de pH tampoco mostraron variaciones importantes, encontrándose los valores entre 7,5 y 8, valores habituales en aguas marinas.

El porcentaje de saturación de oxígeno mostró variaciones principalmente entre arenales, aunque en ocasiones también dentro del mismo arenal a lo largo del periodo de estudio. Los valores más altos y también las mayores variaciones se dieron en Zumaia y Ondarreta, las dos playas con mayor cobertura de macroalgas de entre las estudiadas. Los puntos de muestreo de estas dos playas tienen el fondo cubierto de macrófitas, lo que hace que en momentos con alta insolación y temperatura la producción de oxígeno sea alta, y esto influya en el porcentaje de saturación.

Los recuentos de los diferentes taxones en la columna de agua mostraron resultados muy dispares entre los tres taxones analizados. Los recuentos de *Ostreopsis* sobrepasaron en cuatro ocasiones el valor límite establecido ($3 \cdot 10^4$ células por litro) en varios programas de seguimiento de estos organismos (Berdalet *et al.*, 2022). Tres de ellas en la playa de Ondarreta con un máximo de 133 300 células por litro, y una de ellas en Zumaia, con un valor de 74 150 células por litro. Como se ha comentado anteriormente, estas dos playas presentan los fondos rocosos con abundante macrófita, hábitat por excelencia de estos microorganismos. En los otros tres arenales, no se excedió en ningún momento dicho límite y la presencia fue algo más esporádica. Los meses en los que se dieron mayores abundancias fueron julio y agosto.

Los recuentos de *Prorocentrum lima* y *Coolia* en ningún momento marcaron valores superiores a las 1 000 células por litro, siendo el máximo de 700 para *Coolia* y de 300 para *Prorocentrum lima*. Tampoco se observó ningún patrón claro temporal ni de distribución geográfica.

El recuento de algas microscópicas bentónicas en macrófita sirve como idea de reservorio de esos microorganismos, ya que, en principio, su hábitat sería la superficie de las macrófitas o las rocas de las orillas costeras. Los valores que se obtengan dependerán de varios factores, entre los que se encuentra

el tipo de macrófita. La imposibilidad de obtener muestra de las mismas algas en todo el periodo de estudio en las diferentes playas hace difícil la comparativa, pero sí nos da una idea del potencial de las distintas zonas para albergar las microalgas potencialmente tóxicas.

El límite de alerta en este caso según los últimos estudios publicados (Berdalet *et al.*, 2022) se encuentra en $2 \cdot 10^5$ células por gramo. Este límite fue sobrepasado en las playas de Ondarreta, donde se sobrepasó en 4 de los seis muestreos, concretamente en los meses de julio y agosto, con valores que llegaron a superar el millón de células por gramo de peso fresco de macrófita, y en la playa de La Concha, donde se superó una única vez con una concentración inferior a $3,5 \cdot 10^4$ células por gramo.

Los otros dos taxones con mayores frecuencias y abundancias, *Prorocentrum lima* y *Coolia* no mostraron valores en ningún caso por encima de $2 \cdot 10^4$ células por gramo, siendo la playa de Ondarreta también el arenal donde mayores valores se observaron.

En resumen, las condiciones ambientales habituales en esta región del golfo de Vizcaya a lo largo de la época estival han mostrado valores de *Ostreopsis* tanto en columna de agua como por peso fresco de macrófita que han superado los límites de alerta. Este hecho se ha dado principalmente en la playa de Ondarreta, la cual, por sus características de zona somera con bajo hidrodinamismo y una cobertura muy amplia de macrófitas, es idónea para el desarrollo de estos géneros de dinoflagelados bentónicos potencialmente tóxicos. En el resto de las playas, salvo algún dato puntual, no se han sobrepasado los límites establecidos.

El resto de los taxones no ha mostrado grandes concentraciones y su aparición ha sido intermitente en la mayoría de ellos (Anexos, Tabla 4).

En relación con la época de aparición, el género *Ostreopsis* ha marcado sus máximos en todos los arenales, tanto en columna de agua como sobre macrófita en los meses de julio y agosto. En Ondarreta, playa con los valores máximos, seguía manteniendo valores relativamente altos en el último muestreo realizado a mediados de septiembre, con temperaturas en torno a 3 grados menos de los máximos marcados en agosto.

Por último, en relación con la identificación molecular, se ha constatado la presencia de las especies *Ostreopsis* cf. *siamensis* y *Ostreopsis* cf. *ovata*.

Con estos resultados, consideramos que es conveniente continuar con la vigilancia de estas especies en los distintos arenales, principalmente en la época estival, época de su máxima actividad y, asimismo, de máxima afluencia humana a estos ecosistemas.

Bibliografía

- Berdalet E., Pavaux A.S., Abós-Herrándiz R., Travers M., Appéré G., Vila M., Thomas J., de Haro L., Estrada M., Medina-Pérez N.I., Viure L., Karlson B., Lemée R., (2022). Environmental, human health and socioeconomic impacts of *Ostreopsis* spp. Blooms in the NW Mediterranean. *Harmful algae*, 119: 102320.
- Chomérat, N., Antajan, E., Auby, I., Bilien, G., Carpentier, L., Casamajor, M. N. D., Ganthu, F., Hervé, F., Labadie, M., Méteigner, C., Paradis, C., Perrière-Rumèbe, M., Sanchez, F., Séchet, V., y Amzil, Z. (2022). First characterization of *Ostreopsis* cf. *ovata* (Dinophyceae) and detection of ovatoxins during a multispecific and toxic *Ostreopsis* bloom on French Atlantic Coast. *Marine Drugs*, 20(7): 461.
- Drouet, K., Jauzein, C., Herviot-Heath, D., Hariri, S., Laza-Martinez, A., Lecadet, C., Plus, M., Seoane, S., Sourisseau, M., Lemée, R., Siano, R. (2021). Current distribution and potential expansion of the harmful benthic dinoflagellate *Ostreopsis* cf. *siamensis* towards the warming waters of the Bay of Biscay, North-East Atlantic. *Environmental Microbiology*, 23(9): 4956-4979.
- Edgar R.C. (2004). MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, 32(5): 1792–1797.
- Hall, T.A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows95/98/NT. Nucleic acids symposium series. [London]: Information Retrieval Ltd.,c1979-c2000. pp.95-98.
- Hallegraeff G. (2010). Review ocean climate change, phytoplankton community responses and harmful algal blooms: a formidable predictive challenge. *Journal of Phycology*, 46: 220-235.
- Martino S., Gianella F., Davidson K. (2020). An approach for evaluating the economic impacts of harmful algal blooms: The effects of blooms of toxic *Dinophysis* spp. on the productivity of Scottish shellfish farms. *Harmful algae*, 99: 101912.
- Seoane, S., Siano, R. (2018). New limits of *Ostreopsis* distribution in the Bay of Biscay: a first report of *Ostreopsis* in Santander Bay, Cantabria (Northern Spain). *Harmful Algae News*, 60 (10).
- Tamura K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., Kumar, S. (2013). MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30(12): 2725–2729.

Anexos

Tabla 3 Datos de las variables fisicoquímicas, hora y altura de bajamar y fecha y hora de recogida de las muestras. Sat.= Saturrarán; Zum.= Zumaia; Ond.= Ondarreta; Con.= La Concha; Hon.= Hondarribia

Muestreo	Playa	Fecha	Hora Recogida	Hora Bajamar	Altura (m)	T (°C)	Salinidad (psu)	pH	[O2] (mg/l)	% sat O2
06/22	Sat.	14-jun	11:26	10:56	-1,9	21,1	33,13	8,03	7,79	106,1
	Zum.	15-jun	12:02	11:44	-1,9	22,8	34,55	8,07	10,9	154,6
	Ond.	16-jun	13:36	12:32	-1,9	24,4	33,9	7,93	11,55	167,5
	Con.	16-jun	12:55	12:32	-1,9	23,3	33,98	7,78	7,21	102,7
	Hon.	16-jun	11:34	12:32	-1,9	22,7	33,2	7,99	8	112,3
07/22 (1)	Sat.	12-jul	10:06	9:50	-1,6	21,9	33,34	7,49	8,39	116,3
	Zum.	11-jul	9:29	8:55	-1,4	20,7	34,34	7,19	6,04	82,35
	Ond.	13-jul	11:36	10:42	-1,8	24,1	34,12	7,94	10,95	158,4
	Con.	13-jul	10:46	10:42	-1,8	23,9	34,01	7,61	6,39	92,05
	Hon.	13-jul	9:40	10:42	-1,8	24	33,49	7,57	8,1	116,6
07/22 (2)	Sat.	01-ago	13:43	13:30	-1,4	23,8	33,56	7,35	7,56	108,4
	Zum.	29-jul	11:54	11:47	-1,4	22,6	34,05	7,62	6,76	95,3
	Ond.	28-jul	12:03	11:12	-1,3	23,7	33,69	7,37	9,45	135,4
	Con.	28-jul	11:22	11:12	-1,3	23,8	33,89	7,32	5,93	85,2
	Hon.	28-jul	10:16	11:12	-1,3	24,2	33,74	7,11	6,52	94,2
08/22 (1)	Sat.	12-ago	11:18	11:20	-1,9	24,9	34,07	8,2	6,48	95,1
	Zum.	10-ago	9:59	9:39	-1,5	23,3	34,05	7,7	6,63	94,4
	Ond.	11-ago	11:19	10:32	-1,7	25,7	33,83	8,32	9,82	145,5
	Con.	11-ago	10:31	10:32	-1,7	25,7	33,9	7,88	5,5	81,5
	Hon.	11-ago	9:33	10:32	-1,7	24,6	33,79	7,88	6,37	92,7
08/22 (2)	Sat.	30-ago	12:47	13:03	-1,7	24	34,17	8,16	7,76	111,9
	Zum.	31-ago	13:32	13:38	-1,6	24	34,19	8,09	7,93	114,4
	Ond.	29-ago	13:12	12:30	-1,7	24,9	34,22	7,98	11,46	168,1
	Con.	29-ago	12:28	12:30	-1,7	24,5	34,11	7,82	5,99	87,3
	Hon.	29-ago	11:26	12:30	-1,7	23,9	33,6	7,77	6,44	92,7
09/22	Sat.	08-sep	9:41	9:31	-1,4	21,8	34,29	7,78	6,52	90,6
	Zum.	12-sep	12:46	12:27	-2	22,8	34,54	8,1	8,67	123
	Ond.	09-sep	10:44	10:21	-1,7	22,9	34,64	7,95	8,6	122,1
	Con.	09-sep	10:06	10:21	-1,7	22,9	34,4	7,66	5,61	79,6
	Hon.	09-sep	9:08	10:21	-1,7	23	34,12	7,73	5,71	81,1

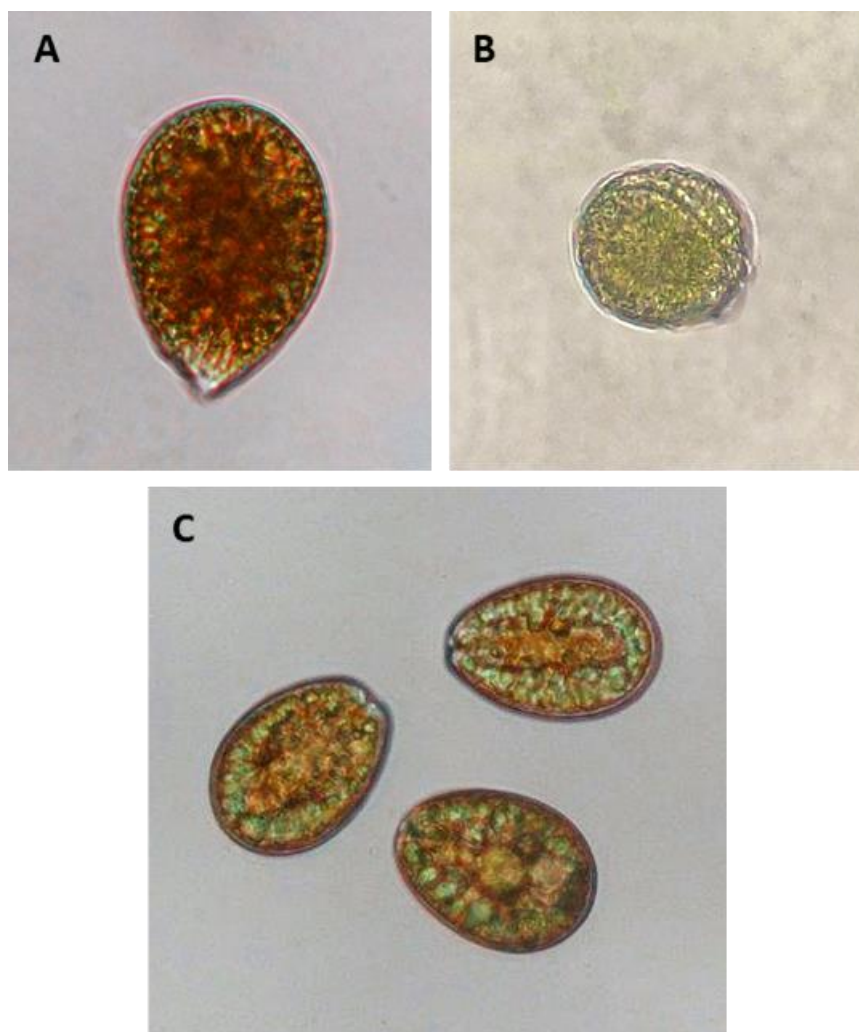


Figura 13 Imágenes de los dinoflagelados bentónicos tóxicos más representativos de la costa vasca: A: *Ostreopsis*; B: *Coolia*
C: *Prorocentrum lima*

Tabla 4 Datos de recuentos -en células por litro en el caso de las muestras de agua y en células por gramo en el caso de las muestras de macrófitas de forma independiente y la media de ambas (Suma)- de los dinoflagelados identificados al microscopio invertido. PLAYAS: Sat.= Saturrarán; Zum.= Zumaia; Ond.= Ondarreta; Con.= La Concha Hon.= Hondarribia; MACRÓFITAS: *C. spongiosus*= *Cladostephus spongiosus*; *H. scoparia*= *Halopteris scoparia*; *J. rubens*= *Jania rubens*; *G. corneum*= *Gelidium corneum*; *C. clavulatum*= *Centroceras clavulatum*; DINOFLAGELADOS: A= *Ostreopsis*; B= *Prorocentrum micans*; C= *Prorocentrum cf triestinum*; D= *Prorocentrum cf dentatum*; E= *Prorocentrum lima*; F= *Prorocentrum minimum*; G= *Prorocentrum grupo fukuyoi-emarginatum*; H= *Amphidinium*; I= *Alexandrium*; J= *Coolia*

Muestreo	Playa	Muestra	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
06/22	Sat.	Agua		10		70	10					
		<i>C. spongiosus</i>					6					3
		<i>H. scoparia</i>				7	7					
		Suma				5	7					1
	Zum.	Agua		10								30
		<i>J. rubens</i>										18
		<i>H. scoparia</i>					18					18
		Suma					13					18
	Ond.	Agua	230	40	20							100
		<i>G. corneum</i>	37469				288					5608
		<i>H. scoparia</i>	11982				333					6398
		Suma	28876				303					5874
	Con.	Agua		20	50	100						10
		<i>C. spongiosus</i>	65				65					10439
		<i>H. scoparia</i>	32	16			16			16		412
		Suma	43	11			32			11		3690
	Hon.	Agua			10	40						50
		<i>C. capillaris</i>	407				27			54		4340
		<i>H. scoparia</i>	84					42				4603
		Suma	282				17	16		33		4442
07/22 (1)	Sat.	Agua	20		50							110
		<i>C. clavulatum</i>	28				55					110
		<i>H. scoparia</i>	56				97					515
		Suma	42				77					316
	Zum.	Agua	90		30							
		<i>J. rubens</i>	24				8					
		<i>H. scoparia</i>	13				4					9
		Suma	17				6					6
	Ond.	Agua	133300		3333			33				400
		<i>C. clavulatum</i>	1862681	723			2169					28924
		<i>H. scoparia</i>	477504				797					8167
		Suma	1139212	345			1452					18082
	Con.	Agua	11140	60	500					20		140
		<i>C. spongiosus</i>	31392				162	54		54		808
		<i>H. scoparia</i>	21267							53		802
		Suma	26310				80	27		54		805

Muestreo	Playa	Muestra	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
07/22 (2)	Hon.	Agua	1240		1220			20				120
		<i>C. clavulatum</i>	55723				407					2135
		<i>H. scoparia</i>	33434				530					2118
		Suma	44510				468					2126
	Sat.	Agua	240	140	220		40		20		500	160
		<i>C. clavulatum</i>	56				36		7			10
		<i>H. scoparia</i>	2496				687		134			201
		Suma	1073				307		60			90
	Zum.	Agua	520		40		20					20
		<i>J. rubens</i>	2734									56
		<i>H. scoparia</i>	9791				122					243
		Suma	414				57					144
	Ond.	Agua	8640		520							
		<i>C. clavulatum</i>	1031224				877			877		1315
		<i>H. scoparia</i>	483390				4188					2991
		Suma	794057				2310			497		2041
	Con.	Agua	180		60							
		<i>C. clavulatum</i>	15486				212		71			283
		<i>C. spongiosus</i>	1997				158		53	158		210
		Suma	7682				181		60	91		241
	Hon.	Agua	7740	20	400		20					180
		<i>C. clavulatum</i>	42275				166					443
		<i>H. scoparia</i>	23936				227					512
		Suma	31286				203					484
08/22 (1)	Sat.	Agua	3350	40	120		180					170
		<i>C. clavulatum</i>	25773				1158					21224
		<i>H. scoparia</i>	4713				739		33			443
		Suma	15779				959		16			1326
	Zum.	Agua	74150		100		100					700
		<i>J. rubens</i>	11616				29					
		<i>H. scoparia</i>	79221				532					3722
		Suma	42866				261					1720
	Ond.	Agua	33000	200			200		100			
		<i>C. clavulatum</i>	553125				2305			307		
		<i>H. scoparia</i>	213264				7516					
		Suma	375855				5023			147		
	Con.	Agua	14080	120	120				20			60
		<i>C. clavulatum</i>	712267				3651			913		4564
		<i>C. spongiosus</i>	33768				979		1794	245		653
		Suma	341572				2191		980	548		2427
	Hon.	Agua	280									147
		<i>C. clavulatum</i>	425				715		22	15		112
		<i>H. scoparia</i>	2660				655		123	327		368

Muestreo	Playa	Muestra	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
08/22 (2)	Sat.	Suma	1490				686		70	164		234
		Agua	4460		20						40	
		<i>C. clavulatum</i>	11813				296		35			348
		<i>H. scoparia</i>	11860				534		147	37		534
	Zum.	Suma	11512				411		89	18		438
		Agua	1990			20		20	20		40	
		<i>J. rubens</i>	2147				44					
		<i>H. scoparia</i>	18789				1110					357
	Ond.	Suma	10141				556					171
		Agua	131072	20		300		80			260	
		<i>C. clavulatum</i>	573327				6785			1696		
		<i>H. scoparia</i>	409086				15938			1771		3542
	Con.	Suma	520140				9749			1720		1147
		Agua	60					20				
		<i>C. clavulatum</i>	1748				854			19		97
		<i>C. spongiosus</i>	902				1111		162	23		69
	Hon.	Suma	1366				970		73	21		85
		Agua	400	20	20	20		20				
		<i>C. clavulatum</i>	14680				59			59		148
		<i>C. spongiosus</i>	12487				2540					882
09/22	Sat.	Suma	13815				1038			36		438
		Agua	540								20	
		<i>C. clavulatum</i>	1394				1492		131			82
		<i>C. capillaris</i>	2249				1105		152			343
	Zum.	Suma	1651				1376		138			161
		Agua	5880			120					40	
		<i>J. rubens</i>	7818				64					32
		<i>H. scoparia</i>	12075				314					126
	Ond.	Suma	10489				221					91
		Agua	3280			20				70	30	
		<i>C. clavulatum</i>	181488				4418			736		736
		<i>H. scoparia</i>	54261				4640		379	758		473
	Con.	Suma	121670				4522		178	746		613
		Agua	220			20						
		<i>C. clavulatum</i>	1130				1165			34		34
		<i>H. scoparia</i>	751				1502		551	200		
	Hon.	Suma	892				1376		346	139		13
		Agua	1060	20	200	10				30	20	
		<i>C. clavulatum</i>	18120				283		113	340		566
		<i>H. scoparia</i>	6505				942		86	257		1541
		Suma	13468				547		102	307		957