

**Centro de Investigación Científica y de Educación  
Superior de Ensenada, Baja California**



**Programa de Posgrado en Ciencias en  
Ecología Marina**

---

**Distribución espacio-temporal del dinoflagelado  
*Dinophysis fortii*, productor de toxinas lipofílicas en la  
Bahía de Todos Santos, Baja California, México**

Tesis

Que para cubrir los requisitos necesarios para obtener el grado  
de Maestro en Ciencias

Presenta:

**Yaireb Alejandra Sánchez Bravo**

Ensenada, Baja California, México

2016

Tesis defendida por

**Yaireb Alejandra Sánchez Bravo**

y aprobada por el siguiente Comité

---

**Dr. Ernesto García Mendoza**

Director del comité

**Dra. Lorena Patricia Linacre Rojas**

**Dra. Paula Pérez Brunius**

**Dr. Helmut Maske Rubach**

**Dr. David Alberto Rivas Camargo**



---

**Dr. David Alberto Rivas Camargo**

Coordinador del posgrado en Ecología Marina

---

**Dra. Rufina Hernández Martínez**

Director de Estudios de Posgrado

*Yaireb Alejandra Sánchez Bravo* ©2016

*Queda prohibida la reproducción parcial o total de esta obra sin el permiso del autor*

Resumen de la tesis que presenta **Yaireb Alejandra Sánchez Bravo** como requisito parcial para la obtención del grado de Maestra en Ciencias en Ecología Marina.

**Distribución espacio-temporal del dinoflagelado *Dinophysis fortii*, productor de toxinas lipofílicas en la Bahía de Todos Santos, Baja California, México.**

Resumen aprobado por:

---

Dr. Ernesto García Mendoza  
Director de Tesis

La presencia de toxinas lipofílicas en moluscos bivalvos es uno de los problemas más importantes relacionados con intoxicaciones y pérdidas económicas asociadas a florecimientos algales nocivos a nivel mundial debido a la amplia distribución geográfica de las especies productoras de estas toxinas, principalmente del género *Dinophysis*. En México la presencia de toxinas lipofílicas es un problema emergente y aun cuando ha afectado a la industria del cultivo de moluscos bivalvos de Baja California, existe poca información sobre la dinámica poblacional de las especies productoras de estas toxinas. En este trabajo se caracterizó la distribución espacial y temporal y estado fisiológico (alimentación) de *Dinophysis fortii* en la región de la Bahía de Todos Santos asociadas a las condiciones ambientales de la zona durante el periodo de agosto 2014 a mayo 2015. *D. fortii*, que para este estudio se incluyó dentro del complejo *Dinophysis-Phalacroma* es una de las principales especies productoras de toxinas de tipo lipofílico en la región. El complejo *Dinophysis* (*Dinophysis-Phalacroma*) se presentó de primavera a otoño, coincidiendo con periodos de estratificación de la columna de agua. En general durante el periodo de estudio se registraron abundancias fitoplanctónicas, y en específico de *Dinophysis*, muy bajas comparadas con años anteriores, posiblemente por el aumento de la temperatura del mar en el invierno de los últimos 3 años. Se registró la presencia de 6 especies de este género potencialmente tóxicas, siendo *D. fortii* la especie más abundante con aproximadamente 3000 Cel L<sup>-1</sup> registradas el 5 de marzo del 2015. Este florecimiento se localizó cerca de los cultivos de moluscos bivalvos en el área de Rincón de Ballenas, posterior a un periodo de mezcla vertical durante el invierno y asociado a una leve estratificación de la columna de agua. Asimismo, se registró la presencia de *Mesodinium rubrum* durante todo el periodo de estudio con una abundancia máxima de 6000 Cel L<sup>-1</sup> durante el invierno previo al florecimiento de *D. fortii*. Se observó una separación espacial y temporal de las poblaciones de *D. fortii* y *M. rubrum* que sugiere una probable interacción depredador y presa entre ambas especies.

**Palabras clave:** *Dinophysis*, *Mesodinium*, FAN, BTS

Abstract of the thesis presented by **Yaireb Alejandra Sánchez Bravo** as a partial requirement to obtain the Master of Science degree in Marine Ecology.

**Spatio-temporal distribution of dinoflagellate *Dinophysis fortii*, producer of lipophilic toxins in Todos Santos Bay, Baja California, México.**

Abstract approved by:

---

Dr. Ernesto García Mendoza  
Thesis Director

The presence of lipophilic toxins in bivalve molluscs is one of the most important problems related with intoxications and economical losses associated with harmful algal blooms. This is related to the worldwide distribution of species that produce lipophilic toxins, mainly the genus *Dinophysis*. The presence of lipophilic toxins is an emergent problem in Mexico. Although it has affected aquaculture activities in Baja California, there is little information about the population dynamics of toxic species. Here, we characterized the spatial and temporal distribution together with the physiological state (feeding) of *Dinophysis fortii* in the Todos Santos Bay. The environmental conditions of the area during the period August 2014 to May 2015 associated with the presence of toxic species was also investigated. The *Dinophysis* complex (*Dinophysis-Phalacroma*) was present from spring to autumn coinciding with periods of stratification of the water column. During the study period phytoplanktonic and *Dinophysis* abundances were very low as compared to previous years. This was probably related to the increase of sea surface temperature during the winter in the last 3 years. We registered six potentially toxic species of the *Dinophysis*. *D. fortii* was the most abundant species reaching a maximum abundance of 3000 Cel L<sup>-1</sup> registered on 5 March 2015. This bloom was located near cultivation area of bivalve molluscs and was present after a vertical mixing period during the winter. A moderate stratification of the water column was recorded during this period. *Mesodinium rubrum* was present throughout the study period reaching a maximum abundance of 6000 Cel L<sup>-1</sup> during winter before to the *Dinophysis fortii*'s bloom. The spatial and temporal separation *D. fortii* and *M. rubrum* populations suggests a probable predator and prey interaction between the two species.

**Keywords:** *Dinophysis*, *Mesodinium rubrum*, HABS, BTS.

## Dedicatoria

*“A mi familia, que me ha enseñado que se debe soñar mucho más alto que el cielo y más profundo que el océano, porque la verdadera fuerza para cumplir mis metas no reside en los brazos si no en el espíritu”*

## Agradecimientos

A mi director, el Dr. Ernesto García Mendoza que con su experiencia y paciencia me ayudó en todo el proceso de elaboración de este trabajo. A mis sinodales la Dra. Paula Pérez, Dra. Lorena Linacre, Dr. Helmut Maske y el Dr. David Rivas por sus comentarios y sugerencias que indudablemente mejoraron esta investigación.

A todos los integrantes del Laboratorio de análisis, monitoreo e investigación de ficotoxinas asociadas a florecimientos algales nocivos (FICOTOX) por sus comentarios, críticas y consejos desde el inicio hasta el final de este trabajo. Gracias Jennifer Mancera, Axel Rosas, Jennifer Medina, Ramón Murillo y Michelle por compartir un poco de su experiencia y conocimientos conmigo para lograr culminar este trabajo.

A mi familia ensenadense Ixetl, Liz, Ivonne (Bataman), Yama, Chiapas, Rod, Toño, y Monty que a pesar de que no nos veamos tanto sé que siempre han estado tras bambalinas apoyándome desde tiempos inmemorables. Los quiero gorditos.

A mis compañeros de posgrado por su amistad y apoyo, a Bea, Iván, Jorge y José Carlos por su ayuda durante mis muestreos pero en especial a Fernanda y Anely por soportar mis crisis existenciales tesisicas.

A las empresas Acuacultura Oceánica y Aqualap por el apoyo brindado durante esta investigación, en especial a los Oceanólogos Sergio Guevara, Juan Carlos Lapuente y Roger Frías por sus atenciones.

A la Dra. Beatriz Reguera y a todo su equipo de trabajo del Instituto Español de Oceanografía quienes hicieron muy placentera mi estancia en el Centro Oceanográfico de Vigo brindándome su apoyo y conocimientos desde el primer hasta el último día de mi estancia en su hermosa ciudad.

Al departamento de embarcaciones oceanográficas (DEO) de CICESE, en especial al Oc. Daniel Loya, al Ing. Juan Carlos Leñero, Biol. José L. Cadena y al Tec. Iván Castro por todo su apoyo tanto en la logística como en la técnica antes, durante y después de cada campaña de muestreo.

A la Red temática sobre Florecimientos Algales Nocivos (RedFAN) por su apoyo durante mi estancia en el Centro Oceanográfico de Vigo.

Al CONACYT por el apoyo económico durante los dos años de estudio en el posgrado. Así como, mediante el proyecto CB-2012-10-181078 "Factores ambientales que afectan la fotoprotección y eficiencia fotosintética en el sargazo gigante, *Macrocystis pyrifera* II".

## Tabla de contenido

Resumen español.....	ii
Resumen inglés.....	iii
Dedicatoria.....	iv
Agradecimientos .....	v
Lista de figuras.....	viii
Lista de tablas .....	xiii
<b>Capítulo 1. Introducción .....</b>	<b>1</b>
<b>Capítulo 2. Antecedentes.....</b>	<b>3</b>
2.1. Ecología poblacional del género <i>Dinophysis</i> .....	3
2.2. Intoxicación diarreica por consumo de mariscos y <i>Dinophysis</i> spp. en México .....	6
<b>Capítulo 3. Justificación .....</b>	<b>9</b>
<b>Capítulo 4. Hipótesis.....</b>	<b>10</b>
<b>Capítulo 5. Objetivo general.....</b>	<b>11</b>
5.2. Objetivos particulares .....	11
<b>Capítulo 6. Metodología.....</b>	<b>12</b>
6.1. Descripción del área de estudio .....	12
6.2. Colecta de muestras .....	13
6.3. Variables ambientales .....	14
6.4. Caracterización de la comunidad fitoplanctónica .....	15
6.5. Cuantificación de pigmentos fotosintéticos .....	15
6.6. Estado fisiológico de <i>Dinophysis fortii</i> .....	17
<b>Capítulo 7. Resultados.....</b>	<b>19</b>
7.1. Comunidad fitoplanctónica .....	23

7.2. Complejo <i>Dinophysis-Phalacroma</i> .....	23
Distribución espacio-temporal.....	27
Variación temporal .....	28
7.3. Distribución de <i>D. fortii</i> con relación a la presencia de <i>Mesodinium rubrum</i> .....	28
Distribución espacial .....	29
Variación temporal .....	32
Estado fisiológico de <i>Dinophysis</i> : alimentación.....	33
7.4. Cuantificación de pigmentos como marcadores de grupos algales .....	36
7.5. Variables ambientales: Temperatura.....	39
Variación estacional.....	39
Variación espacial .....	41
Variación temporal .....	45
7.6. Variación temporal de la comunidad fitoplanctónica y la temperatura 2010-2015 .....	47
<i>Dinophysis</i> vs temperatura.....	53
<b>Capítulo 8. Discusión.....</b>	<b>56</b>
8.1. Comunidad fitoplanctónica y variables ambientales.....	56
8.2. <i>Dinophysis</i> .....	59
8.3. Interacción predador-presa .....	63
<b>Capítulo 9. Conclusiones.....</b>	<b>68</b>
<b>Lista de referencias bibliográficas .....</b>	<b>69</b>
<b>Anexos .....</b>	<b>78</b>
Anexo 1 .....	82
Anexo 2.....	94
Anexo 3.....	96
Anexo 4.....	103



## Lista de figuras

- Figura 1.** Modelo conceptual de la ecología de *Dinophysis spp.* en la Bahía de Todos Santos, B.C., México considerando la interacción con el ciliado *Mesodinium rubrum* y la circulación característica de la región..... **10**
- Figura 2.** Área de estudio y estaciones de muestreo localizadas dentro y fuera de la Bahía de Todos Santos. La posición de anclaje de sensores de temperatura (HOBOS) en Rincón de Ballenas, zona de cultivo de moluscos bivalvos, se marca con un círculo rojo. .... **13**
- Figura 3.** Variación temporal de la abundancia relativa en muestras de red del grupo de las diatomeas y dinoflagelados (A) y abundancia total del fitoplancton (microplancton) a diferentes profundidades (B) en muestras colectadas en la región de Rincón de Ballenas de julio 2014 a mayo 2015..... **21**
- Figura 4.** Variabilidad temporal de la abundancia de las diatomeas, dinoflagelados y otros grupos algales (silicoflagelados y ciliados) en muestras colectadas en la región de Rincón de Ballenas de julio 2014 a mayo 2015..... **22**
- Figura 5.** Ubicación de las estaciones en dos transectos realizados durante las campañas de muestreo en la región de Bahía de Todos Santos, Baja California, México durante octubre 2014 a mayo 2015. .... **24**
- Figura 6.** Variación espacial de la abundancia del género *Dinophysis* en el transecto interno de la BTS para diferentes fechas de muestreo..... **25**
- Figura 7.** Variación espacial de la abundancia del género *Dinophysis* en el transecto interno de la BTS para diferentes fechas de muestreo..... **26**
- Figura 8.** Cambios de la abundancia celular de *Dinophysis* en muestras colectadas en el área de Rincón de Ballenas..... **27**
- Figura 9.** Variación anual de *Dinophysis fortii* en muestras de agua colectadas a diferentes profundidades en Rincón de Ballenas. .... **28**

- Figura 10.** Distribución espacial de *Dinophysis fortii* durante las campañas realizadas los días 16 de febrero, 5 y 19 de marzo del 2015 en la Bahía de Todos Santos. .... **30**
- Figura 11.** Distribución espacial de *Mesodinium rubrum* durante las campañas realizadas los días 16 de febrero, 5 y 19 de marzo del 2015 en la Bahía de Todos Santos. .... **31**
- Figura 12.** Variación temporal de *Dinophysis fortii* y *Mesodinium rubrum* en muestras de agua colectadas en Rincón de Ballenas de julio del 2014 a mayo del 2015. **33**
- Figura 13.** Células de *Dinophysis fortii* con vacuolas digestivas en su interior. Células con vacuolas menores a 6 micras (A y B). Células con vacuolas mayores a 6 micras (C y D)..... **34**
- Figura 14.** Células vegetativas de *Dinophysis fortii* sin fijador (A y B). Células con gránulos de almidón dispuestas ordenadamente en la periferia celular (C-D) ..... **35**
- Figura 15.** Porcentaje de células de *Dinophysis fortii* con vacuolas digestivas. La línea solida horizontal indica el periodo sin colecta de muestras. .... **36**
- Figura 16.** Variación temporal de la concentración de Clorofila-a [ $\mu\text{g L}^{-1}$ ] en muestras colectadas en Rincón de Ballenas de septiembre del 2014 a mayo del 2015. .... **37**
- Figura 17.** Variación temporal de la concentración de aloxantina [ $\mu\text{g L}^{-1}$ ] en muestras colectadas en Rincón de Ballenas de septiembre del 2014 a mayo del 2015. .... **38**
- Figura 18.** Variación temporal de la razón Aloxantina/Chla-a (mol: mol) en muestras colectadas en Rincón de Ballenas de septiembre del 2014 a mayo del 2015. . .... **39**
- Figura 19.** Anomalías de temperatura respecto al promedio espacial en la BTS y la región adyacente para diferentes épocas del año durante 2014 a 2015. Las imágenes fueron generadas utilizando promedios estacionales de la temperatura superficial de compuestos mensuales de AVHRR. .... **40**
- Figura 20.** Variación espacio-temporal de la temperatura en la Bahía de Todos Santos generada con datos medidos mediante CTD. B: Ubicación de estaciones hidrográficas muestreadas. Separación de datos en transectos interior (panel

derecho) y exterior (panel izquierdo). A: 11-sep-2014. C-D: 02-oct-2014. E-F: 25-nov-2014. G-H: 16-feb-2015. I-J: 19-mar-2015. K-L: 20-abr-2015. .... 42

- Figura 21.** Serie de tiempo de temperatura registrada en Rincón de Ballenas mediante sensores Onset-HOBO Data-logger ubicados en las coordenadas 31° 44.744' N, 116° 40.957' W..... 46
- Figura 22.** Variabilidad anual de la temperatura superficial del mar (A) y estimación de la concentración de clorofila de enero del 2002 a mayo del 2015 calculada de compuestos mensuales de datos obtenidos con el AVHRR-HRPT..... 49
- Figura 23.** Abundancia en Cel L<sup>-1</sup> del género *Dinophysis* en superficie (A) y 10 metros (B) del 2010 a 2015 en el área de Rincón de Ballenas de la Bahía de Todos Santos. .... 50
- Figura 24.** Variación anual de *Dinophysis fortii* en muestras de agua de profundidades discretas (A) y red (B) colectadas en Rincón de Ballenas de enero de 2010 a mayo de 2015..... 52
- Figura 25.** Variación anual de la abundancia de *Dinophysis* spp. y la temperatura superficial del mar de enero de 2010 a mayo de 2015..... 54
- Figura 26.** Relación de la abundancia de las distintas especies del género *Dinophysis* con la temperatura. Se consideran datos obtenidos de superficie, 5 y 10 metros de profundidad..... 55
- Figura 27.** Ubicación de transectos monitoreados en la Bahía de Todos Santos, Baja California, México durante octubre 2014-abril 2015. .... 83
- Figura 28.** Variación espacio-temporal de diatomeas colectadas en la BTS los días 02 de octubre (A-B) y 25 de noviembre de 2014 (C-D); 16 de febrero (E-F), 05 de marzo (G-H) y 20 de abril de 2015 (I-J)..... 84
- Figura 29.** Variación espacio-temporal de dinoflagelados colectados en la BTS los días 02 de octubre (A-B) y 25 de noviembre de 2014 (C-D); 16 de febrero (E-F), 05 de marzo (G-H) y 20 de abril de 2015 (I-J)..... 85
- Figura 30.** Variación espacio-temporal de diatomeas centrales colectadas en la BTS los días 02 de octubre (A-B) y 25 de noviembre de 2014 (C-D); 16 de febrero (E-F), 05 de marzo (G-H) y 20 de abril de 2015 (I-J)..... 86

- Figura 31.** Variación espacio-temporal de diatomeas pennales colectadas en la BTS los días 02 de octubre (A-B) y 25 de noviembre de 2014 (C-D); 16 de febrero (E-F), 05 de marzo (G-H) y 20 de abril de 2015 (I-J)..... **87**
- Figura 32.** Variación espacio-temporal de dinoflagelados del grupo Gonyaulacales colectados en la BTS los días 02 de octubre (A-B) y 25 de noviembre de 2014 (C-D); 16 de febrero (E-F), 05 de marzo (G-H) y 20 de abril de 2015 (I-J). ..... **88**
- Figura 33.** Variación espacio-temporal de dinoflagelados del grupo Gymnodimiales colectados en la BTS los días 02 de octubre (A-B) y 25 de noviembre de 2014 (C-D); 16 de febrero (E-F), 05 de marzo (G-H) y 20 de abril de 2015 (I-J). ..... **89**
- Figura 34.** Variación espacio-temporal de dinoflagelados del grupo Peridiniales colectados en la BTS los días 02 de octubre (A-B) y 25 de noviembre de 2014 (C-D); 16 de febrero (E-F), 05 de marzo (G-H) y 20 de abril de 2015 (I-J). ..... **90**
- Figura 35.** Variación espacio-temporal de dinoflagelados del grupo Procentrales colectados en la BTS los días 02 de octubre (A-B) y 25 de noviembre de 2014 (C-D); 16 de febrero (E-F), 05 de marzo (G-H) y 20 de abril de 2015 (I-J). ..... **91**
- Figura 36.** Variación espacio-temporal de ciliados colectados en la BTS los días 02 de octubre (A-B) y 25 de noviembre de 2014 (C-D); 16 de febrero (E-F), 05 de marzo (G-H) y 20 de abril de 2015 (I-J)..... **92**
- Figura 37.** Variación espacio-temporal de otros grupos fitoplanctónicos (silicoflagelados, euglenofitas y criptofitas) colectados en la BTS los días 02 de octubre (A-B) y 25 de noviembre de 2014 (C-D); 16 de febrero (E-F), 05 de marzo (G-H) y 20 de abril de 2015 (I-J). ..... **93**
- Figura 38.** Variación anual de la abundancia (Cel/L) de las 4 especies más frecuentes de *Dinophysis* a partir de muestras colectadas en el área de Rincón de Ballenas, Baja California de enero del 2010 a mayo del 2015. . ..... **94**
- Figura 39.** Variación anual de la abundancia (Cel/L) de las 4 especies más frecuentes de *Dinophysis* a partir de muestras colectadas en el área de Rincón de Ballenas, Baja California de enero del 2010 a mayo del 2015. . ..... **91**

- Figura 40.**Espectrogramas de las soluciones estándares de ácido okadaico, dinophysistoxinas 1 y 2, pectenotoxinas y 7 d-oxiokadaico..... **101**
- Figura 41.** Espectrogramas de células de *Dinophysis caudata* colectadas en la Bahía de Todos Santos durante el mes de marzo del 2015. .... **106**
- Figura 42.** Espectrogramas de células de *Dinophysis fortii* colectadas en la Bahía de Todos Santos durante el mes de marzo del 2015. .... **107**
- Figura 43.** Espectrograma correspondiente a la pectenotoxina-2 de células de *D. fortii* colectadas en la Bahía de Todos Santos durante marzo del 2015. .... **108**
- Figura 44.** Curva de calibración para la cuantificación de PTX2 en células de *D. fortii* colectadas en la Bahía de Todos Santos durante marzo del 2015. .... **109**

## Lista de tablas

- Tabla 1.** Concentración y tiempos de retención para los estándares de pigmentos utilizados. .... **17**
- Tabla 2.** Especies de dinoflagelados identificados en muestras colectadas en la Bahía de Todos Santos, durante el periodo agosto 2014 a abril 2015. .... **20**
- Tabla 3.** Especies de diatomeas identificadas en muestras colectadas en la Bahía de Todos Santos, durante el periodo agosto 2014 a abril 2015. .... **20**
- Tabla 4.** Especies de ciliados y silicoflagelados identificados en muestras colectadas en la Bahía de Todos Santos, durante el periodo agosto 2014 a abril 2015. .... **21**
- Tabla 5.** Cuantificación de la concentración de PTX2 en células de *D. fortii* colectadas en la Bahía de Todos Santos durante marzo del 2015..... **108**

## Capítulo 1. Introducción

---

La acumulación masiva de una o varias especies del fitoplancton se conoce como florecimiento algal (FA). Cuando el entorno presenta características ambientales adecuadas se puede favorecer el crecimiento exponencial de las células fitoplanctónicas, la formación de parches y/o la producción de cierto tipo de toxinas que pueden acumularse en los tejidos de organismos filtradores, proporcionándole al florecimiento un carácter nocivo o tóxico, para así ser típicamente llamado Florecimiento Algal Nocivo (FAN) (Lewis *et al.*, 1995). Se han reconocido aproximadamente 300 especies fitoplanctónicas formadoras de FA (Sournia, 1995) pero solo entre 60 y 80 (la mayoría dinoflagelados) son capaces de producir compuestos bioactivos hidro o liposolubles que pueden causar efectos hemolíticos, neurotóxicos o enterotóxicos en el humano (Hallegraeff, 2003). De acuerdo a sus efectos en humanos se han clasificado diversos tipos de síndromes. El síndrome de intoxicación diarreica por consumo de mariscos (DSP por las siglas del inglés *Diarrhetic Shellfish Poisoning*) uno de los más importantes a nivel mundial dada la amplia distribución geográfica de las especies fitoplanctónicas que producen las toxinas asociadas a este tipo de intoxicación.

En la década de los 60's se reportaron intoxicaciones por consumo de mariscos con síntomas tipo DSP (diarrea, náusea, vómito y dolor abdominal); sin embargo, hasta 1978 se caracterizó que toxinas con carácter lipofílico estaban involucradas en el DSP y se implementó el bioensayo en ratón para su detección (Yasumoto *et al.*, 1978; 1979). Posteriormente, Murata *et al.* (1982) identificaron que el ácido okadaico (OA), originalmente descrito para la esponja *Halichondria okadai* (Tachibana *et al.*, 1981), es la toxina responsable del DSP. En 1980, Yasumoto *et al.* (1980) identificaron que además del ácido okadaico (OA) también las dinofisistoxinas (DTX) son causantes del DSP, las cuales estuvieron asociadas al dinoflagelado *Dinophysis fortii*.

En la actualidad se ha identificado la presencia de ácido okadaico y sus derivados (OA y DTX) en diez especies de *Dinophysis*: *D. acuminata*, *D. acuta*, *D.*

*caudata*, *D. fortii*, *D. infundibula*, *D. miles*, *D. norvergica*, *D. ovum*, *D. sacculus*, *D. tripos* y 2 especies de *Phalacroma*: *P. mitra*, *P. rotundatum* (Reguera *et al.*, 2012). Estas especies generalmente se distribuyen en zonas costeras y 6 han sido relacionadas con cierres a zonas de cultivos debido a la presencia de toxinas lipofílicas asociadas a DSP (Reguera *et al.*, 2012). El conocimiento sobre los factores físicos y biológicos que controlan el inicio o decaimiento de una población de *Dinophysis* spp y su potencial tóxico es aún muy limitado (Reguera *et al.*, 2012). Sin embargo, se conoce más de la fisiología de las especies de este género dado que se han logrado cultivar recientemente (Park *et al.*, 2006).

En México, no existe ningún caso reconocido de DSP, pero se ha reportado la presencia de toxinas de tipo diarreico en moluscos bivalvos cultivados en la Bahía de Todos Santos y en lagunas costeras al sur de esta región en análisis de muestras asociadas al Programa Mexicano de Sanidad de Moluscos Bivalvos (PMSMB). En 2010 se implementaron en estas áreas las primeras vedas sanitarias en México asociadas a toxinas de tipo diarreico (<http://www.cofepris.gob.mx/AZ/Paginas/Marea%20roja>) y en 2012 la detección de dichas toxinas en moluscos bivalvos se asoció con la presencia de diversas especies del género *Dinophysis* (Sánchez, 2013; García-Mendoza *et al.*, 2014). Sin embargo, hasta el momento no se ha evaluado qué procesos podrían estar favoreciendo la acumulación de estos organismos en las zonas de cultivo de moluscos bivalvos en la Bahía de Todos Santos. Por lo tanto, para entender algunos de los factores que podrían estar involucrados en la dinámica poblacional de especies del género *Dinophysis* en la región, en el presente trabajo se realizó un monitoreo desde julio del 2014 hasta mayo del 2015 de la comunidad fitoplanctónica y la temperatura en la BTS. Se caracterizó la variación espacial y temporal del dinoflagelado *Dinophysis fortii*, así como del ciliado *Mesodinium rubrum* y se evaluó la posible interacción entre ambos organismos como un factor clave para el inicio de un florecimiento.



## Capítulo 2. Antecedentes

---

### 2.1. Ecología poblacional del género *Dinophysis*

Las especies del género *Dinophysis* se distribuyen en aguas tropicales, templadas y boreales (Pavillard, 1916; Jorgensen, 1923; Kofoid y Skogsberg, 1928; Abé, 1967; Taylor, 1976). La distribución geográfica y la dinámica poblacional de diferentes especies dependen de factores como la temperatura, la estabilidad de la columna de agua y la dinámica de la red trófica (Reguera *et al.*, 2012). Por ejemplo, *Dinophysis acuminata* es una especie de amplia distribución con registros en diferentes partes del mundo y con un largo periodo de crecimiento, que va desde primavera hasta otoño bajo condiciones ambientales muy variables (Reguera *et al.*, 2012). Por otro lado, *D. acuta* solo se presenta durante verano y otoño en condiciones de estratificación de la columna de agua y ha sido reportada en diversas regiones del noroeste y suroeste del océano atlántico, costa ibérica, suroeste de Irlanda, Nueva Zelanda y Chile (MacKenzie, 1992; Lembeye *et al.*, 1993; Reguera *et al.*, 1995; Moita *et al.*, 2006; Raine *et al.*, 2010; Reguera *et al.*, 2012).

Las poblaciones de *Dinophysis* aumentan cuando hay un crecimiento y reproducción adecuada que se asocia a factores físicos y biológicos favorables. Steidinger (1995) identificó tres etapas en el desarrollo de un florecimiento algal: inicio, crecimiento y mantenimiento. Estas etapas pueden estar influenciadas por distintos factores. En el caso de *Dinophysis*, la formación de un florecimiento algal está asociada al transporte del dinoflagelado a determinada área debido al efecto de las corrientes o por medio de una población semilla en la zona que persiste año con año mediante un estadio de hibernación (Reguera *et al.*, 2012).

Se ha identificado que la mezcla y estratificación están involucradas en la formación de florecimientos de *Dinophysis*. Maestrini (1998) observó que la mayoría de las poblaciones de *Dinophysis* tienen un marcado patrón estacional, caracterizado por un aumento en su abundancia cuando existe una estabilidad en la columna de agua. Raine *et al.* (2010) asoció el inicio de florecimientos de *D.*

*acuminata* y *D. acuta* con el inicio de la estratificación en la columna de agua. Además, Reguera *et al.* (2012) y Escalera *et al.* (2006) sugieren que las especies de este género suelen distribuirse en capas finas dentro de la columna de agua. La formación de capas finas está asociada a la combinación de la mezcla vertical y la capacidad de migración de algunos organismos fitoplanctónicos (Doubell *et al.*, 2014). Asimismo, Lips *et al.* (2011) sugieren que la habilidad de migrar, aunque a velocidades bajas, confiere una ventaja competitiva al fitoplancton en sistemas estratificados. Los cambios estacionales en la hidrología propician las condiciones que le permiten al dinoflagelado ocupar diferentes profundidades de la columna de agua. Por ejemplo, el incremento de la abundancia de *D. acuminata* se asocia con el calentamiento superficial primaveral del mar en las Rías de Vigo y su mantenimiento depende de la estratificación de la columna de agua (Reguera *et al.*, 2012). Por otro lado, la especie *D. acuta* se presenta en la misma región cuando existen gradientes térmicos a mayor profundidad, principalmente durante el mes de agosto y al presentarse ambas especies, éstas ocupaban diferentes capas en la columna de agua (Reguera *et al.*, 2012).

A pesar de que diversos trabajos han demostrado que los factores físicos favorecen en gran medida la agregación y/o retención de células tóxicas de *Dinophysis*, son muy pocas las investigaciones que han considerado factores biológicos tal como la disponibilidad de presas y el parasitismo sobre el desarrollo de los florecimientos (Stoecker, 1998). Velo-Suarez *et al.* (2014) asociaron la presencia del género *Dinophysis* con procesos físicos, tales como ciclos de surgencia-hundimiento y mareas. Asimismo, estos autores describen que la disponibilidad de presas y parasitismo podrían afectar o favorecer el crecimiento de la población de estos dinoflagelados. Ellos también presentan un modelo conceptual para explicar los florecimientos de *Dinophysis* en las Rías de Vigo, en el cual las surgencias costeras representan una vía importante de introducción de las poblaciones de *Dinophysis* spp. a zonas de cultivo de moluscos. Proponen que al inicio de un florecimiento las células en reposo se desplazan hacia la superficie hasta alcanzar la picnoclina y se concentran en las capas superiores (Velo-Suarez *et al.*, 2014). Esta población superficial puede ser transportada fuera de la costa

por corrientes superficiales durante los pulsos de surgencia y es probable que al salir se encuentre con parches de su presa *Mesodinium rubrum*, lo cual es un factor clave para su florecimiento. Una vez que aumenta la población de *Dinophysis* spp. y al existir una disminución del esfuerzo del viento asociado a surgencias, las aguas superficiales la transportan nuevamente a la costa y propician su acumulación en las zonas de cultivo (Velo-Suarez *et al.*, 2014).

El género *Dinophysis* presenta especies mixótrofas y heterótrofas (Lucas y Vesik, 1990). Las especies mixótrofas de este género utilizan la luz como fuente de energía pero necesitan adquirir cloroplastos (plástidos) de origen criptofito para llevar a cabo la fotosíntesis y sobrevivir por largos periodos (Hackett *et al.*, 2003; Kim *et al.*, 2008). Para adquirir los plástidos no consumen directamente a las criptofitas sino que perforan la pared celular de un ciliado, el cual a su vez roba los cloroplastos de las criptofitas, mediante un pedúnculo con el cual succionan los cloroplastos y los incorporan al citoplasma (Hansen *et al.*, 2013). La luz es importante para *Dinophysis* pero son capaces de sobrevivir aun en condiciones desfavorables de luz, temperatura y nutrientes por heterotrofia.

La interacción predador y presa entre un dinoflagelado y un ciliado no fue descrita sino hasta el 2006 cuando se descubrió que el ciliado *Mesodinium rubrum* (= *Myrionecta rubra*) era necesario como presa para mantener cultivos del dinoflagelado *D. acuminata* (Park *et al.*, 2006). Anteriormente, se habían probado diversas combinaciones de medios de cultivo, adición de elementos traza, nutrientes orgánicos, vitaminas e incluso una variedad de presas para establecer cultivos de *Dinophysis*, pero todos esos intentos fueron infructuosos (Barker, 1935; Ishimaru *et al.*, 1988; Sampayo, 1993; Maestrini *et al.*, 1995, Nishitani *et al.*, 2003). A pesar de que se ha identificado que *Dinophysis* se alimenta de diversos organismos, sólo se ha podido demostrar el secuestro de cloroplastos de *Mesodinium rubrum* (Park *et al.*, 2010). Por lo tanto, es probable que la presencia de este organismo en el medio natural sea un factor esencial en la formación de florecimientos algales de *Dinophysis* spp., ya que la adquisición de cloroplastos es fundamental para poder llevar a cabo la fotosíntesis y en consecuencia, un

aumento de su tasa de crecimiento e incremento poblacional (Velo-Suárez *et al.*, 2014). Por otro lado, se ha demostrado que *Dinophysis* puede sobrevivir hasta 2 a 3 meses en la ausencia de su presa y puede llevar a cabo su reproducción a partir de su material de reserva; aunque, con una tasa de crecimiento baja (Park *et al.*, 2008; Nishitani *et al.*, 2008).

## **2.2. Intoxicación diarreica por consumo de mariscos y *Dinophysis* spp. en México**

La presencia de toxinas de tipo diarreico es el problema más importante relacionado con intoxicaciones y pérdidas económicas asociados a FAN en varios países de Europa, en Japón, Australia, Nueva Zelanda y Chile (Sar *et al.*, 2012). En México, la información sobre este tipo de toxinas, así como de los organismos que las producen, es prácticamente nula y no hay un caso de DSP reconocido por las autoridades sanitarias en el país.

Ochoa *et al.* (1997) reportaron resultados positivos para toxinas diarreicas por bioensayo en ratón en muestras colectadas en Bahía Concepción durante 1992 a 1995, en el Golfo de California. Heredia-Tapia *et al.* (2002) reportaron la presencia de OA y dinophysistoxina-1 (DTX1) detectadas por medio de cromatografía líquida acoplada a un espectrómetro de masas (LC-MS) en cultivos de *Prorocentrum lima* aislados de muestras de agua de la costa de isla el Pardito, Baja California Sur. Durante el 2010 en Bahía de San Quintín, B.C. y Laguna de Guerrero Negro, B.C.S. la COFEPRIS implementó una veda sanitaria prohibiendo la extracción, consumo y comercialización de moluscos en mayo de 2010, al obtener resultados positivos por bioensayo en ratón (<http://www.cofepris.gob.mx/AZ/Paginas/Marea%20roja>). En diciembre del mismo año, se presentaron resultados positivos por bioensayo en ratón en mejillón cultivado en la Bahía de Todos Santos (BTS), Baja California. Aunque no se

implementó una veda sanitaria, se suspendió la extracción por una semana aproximadamente (Ocean. Sergio Guevara, com. per.<sup>1</sup>).

Durante el 2012, nuevamente se implementaron tres vedas sanitarias en la BTS debido a la presencia de toxinas de tipo diarreico (DSTx) en moluscos bivalvos, detectadas a partir de bioensayo en ratón y confirmadas por primera vez en México por métodos analíticos (LC-MS/MS) (García-Mendoza *et al.*, 2014). El cierre de las zonas de cultivo en Rincón de Ballenas duró por más de tres meses en ese año. En ese mismo trabajo, se reportaron altas abundancias de *Dinophysis fortii* y *Dinophysis acuminata*, las cuales coincidieron con las altas concentraciones de DSTx. Los reportes más recientes sobre la presencia de toxinas asociadas a DSP se presentaron durante el 16 de julio del 2013, cuando se implementó una veda sanitaria por aproximadamente un mes en el área de Rincón de Ballenas y Bahía Soledad en Baja California, tras resultados positivos por bioensayo en ratón.

La presencia de *D. fortii* y *D. acuminata* en la zona de cultivo de moluscos bivalvos dentro de la BTS se asoció con la presencia de una fuerte estratificación térmica de la columna de agua después de una intrusión de agua fría de surgencia (García-Mendoza *et al.*, 2014). Una de las características principales de la hidrografía de la BTS es que presenta pulsos de surgencias poco intensos y de corta duración (1-2 días) todo el año (Calva, 2014). Asimismo, Calva (2014) sugiere que la Bahía actúa como una trampa de surgencias debido a su orientación con respecto a los vientos predominantes, y debido a los patrones de circulación características que propician la retención del agua de surgencias dentro de la Bahía. Esta retención podría favorecer la acumulación de células tóxicas dentro de la BTS, influyendo de manera importante en la formación de florecimientos algales en la región. Además de estos procesos físicos, la presencia de *Mesodinium rubrum* puede favorecer la acumulación de *Dinophysis* en la región. *M. rubrum* se acumula en los frentes de surgencias en la región Sur de la Corriente de California (Almazán, 2007). La alimentación mixótrofa de *Dinophysis*

---

<sup>1</sup> Ocean. Sergio Guevara Escamilla. Presidente Comité Estatal de Sanidad Acuícola e Inocuidad de Baja California.

spp. cuando se presenta *M. rubrum* en los frentes de surgencia al norte de la BTS puede jugar un papel importante en el crecimiento poblacional del dinoflagelado y su advección hacia las zonas de cultivo dentro de la BTS.

Por lo tanto, los procesos físicos de la región pueden favorecer la presencia simultánea de ambas poblaciones y ocasionar la acumulación de toxinas DSTx en el ambiente y aumentar la población de *D. fortii* o de otras especies productoras de estas toxinas en la BTS. No se conoce qué procesos influyen en la acumulación de *D. fortii* en la zona de cultivo en la BTS y tampoco existen trabajos que describan la dinámica poblacional de especies del género *Dinophysis* en costas mexicanas.

## Capítulo 3. Justificación

---

La presencia de toxinas DSP es un problema emergente en la Bahía de Todos Santos. Se han implementado varios periodos de veda sanitaria debido a las concentraciones de toxinas de tipo diarreico por arriba del nivel regulatorio en moluscos bivalvos, causando pérdidas económicas importantes para la industria acuícola de la región. *Dinophysis fortii* fue la especie principal responsable de la acumulación de toxinas lipofílicas asociadas al síndrome de intoxicación diarreica por consumo de moluscos bivalvos en mejillones cultivados en la BTS durante el 2012. No se conocen los factores que podrían influir en la acumulación de esta especie en la región, por lo que es necesario conocer la dinámica poblacional de este dinoflagelado.

## Capítulo 4. Hipótesis

Los florecimientos de *D. fortii* se desarrollan fuera de la Bahía de Todos Santos en la región de los frentes de surgencia que se presentan al noroeste de la región. En los frentes de surgencias se presenta una nutrición mixótrofa del dinoflagelado tóxico *D. fortii* que favorece su incremento poblacional. La presencia en el frente de surgencia del ciliado *Mesodinium rubrum* como presa potencial, influiría en el desarrollo y mantenimiento de un florecimiento del dinoflagelado *Dinophysis fortii* al noroeste de la Bahía de Todos Santos, el cual podría ser adveccionado al interior de la BTS debido a la circulación característica de la región (Figura 1).

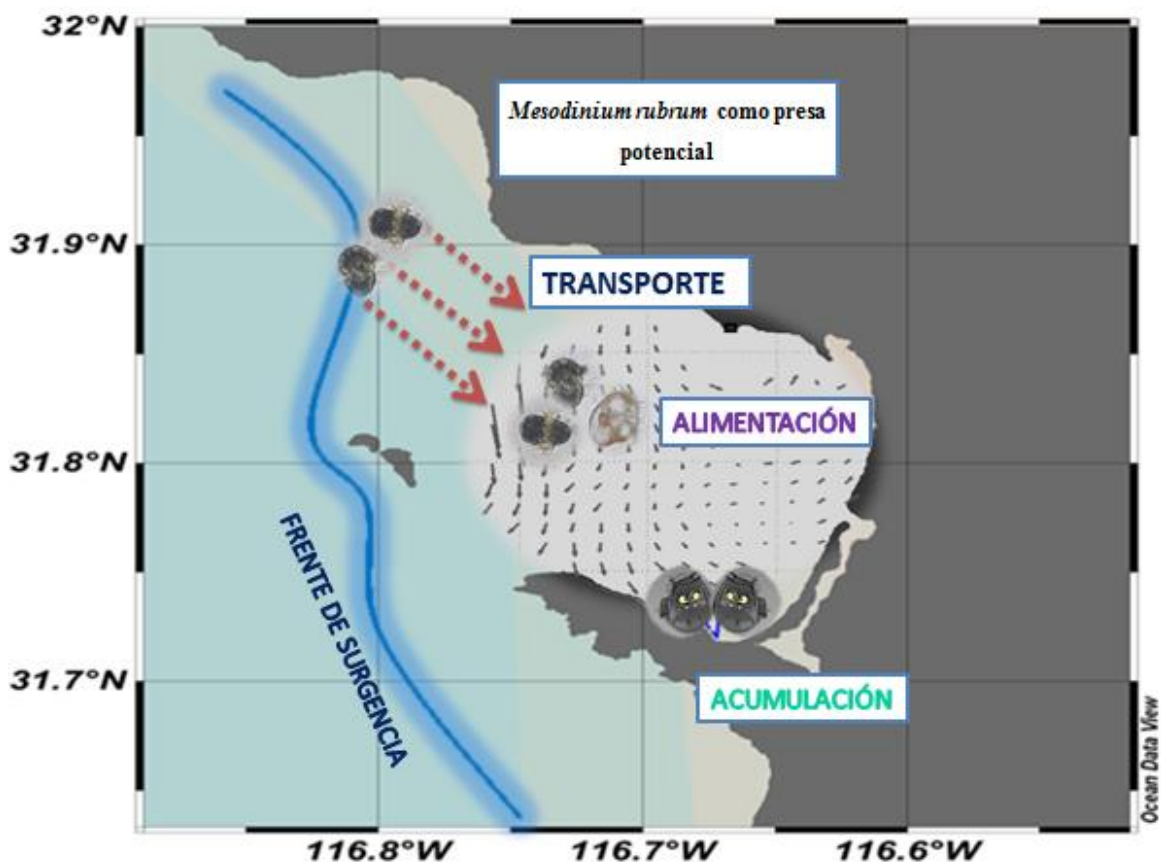


Figura 1. Modelo conceptual de la ecología de *Dinophysis fortii* en la Bahía de Todos Santos, B.C., México, considerando la interacción con el ciliado *Mesodinium rubrum* y la circulación característica de la región.



## Capítulo 5. Objetivo general

---

Caracterizar la distribución espacio-temporal y estado fisiológico (alimentación) de *Dinophysis fortii* en la región de la Bahía de Todos Santos y asociarlos a las condiciones ambientales de la zona durante el periodo de agosto 2014 a mayo 2015.

### 5.2. Objetivos particulares

- Caracterizar la presencia y distribución de *Dinophysis fortii* durante el periodo de estudio.
- Evaluar la presencia y distribución de *Mesodinium rubrum* como presa potencial de *Dinophysis fortii*.
- Evaluar el estado fisiológico de *Dinophysis fortii* a partir del contenido de vacuolas digestivas como indicador de una alimentación fagotrófica reciente.
- Caracterizar las condiciones hidrográficas del área durante el periodo de estudio.

## Capítulo 6. Metodología

---

### 6.1. Descripción del área de estudio

La BTS se localiza en la costa noroeste de Baja California entre los 31.7° y 31.9° N y 116.6° a 116.8° W (Figura 2), con un área aproximada de 250 km<sup>2</sup> (Torres, 2006). La BTS se caracteriza por tener una fuerte influencia oceánica. Se encuentra limitada al norte por Punta San Miguel, al oeste por las Islas de Todos Santos y al Sur por Punta Banda. La mayor parte de la BTS tiene una profundidad entre los 10 y 50 m y sólo una pequeña porción llega a tener hasta 300 m de profundidad debido al cañón submarino presente entre las Islas y Punta Banda (Argote *et al.*, 1991). La región posee un clima tipo mediterráneo caracterizado por veranos secos y cálidos, e inviernos húmedos y fríos (Carlucci *et al.*, 1986). Debido a surgencias costeras en el área adyacente, la BTS se ve enriquecida por aguas ricas en nutrientes, mientras que la corriente de California aporta agua con bajo contenido de nutrientes (Pérez-Brunius *et al.*, 2006). De acuerdo con Calva (2014) se presentan pulsos de surgencias poco intensos y de corta duración todo el año, pero aumentan su intensidad durante primavera y verano. Las surgencias más intensas se presentan al sur de Punta Banda y menos intensas en Punta Salsipuedes. Además, esta autora sugiere que debido a la morfología característica de la BTS ésta actúa como una “trampa” de surgencia; es decir, en la entrada norte se presenta un frente térmico con agua fría y rica en nutrientes debido a la ocurrencia de surgencias en el área adyacente, el flujo predominante de norte a sur permite que el agua de surgencia sea advectada hacia el interior de la Bahía, donde se calienta debido a un tiempo de residencia prolongado.

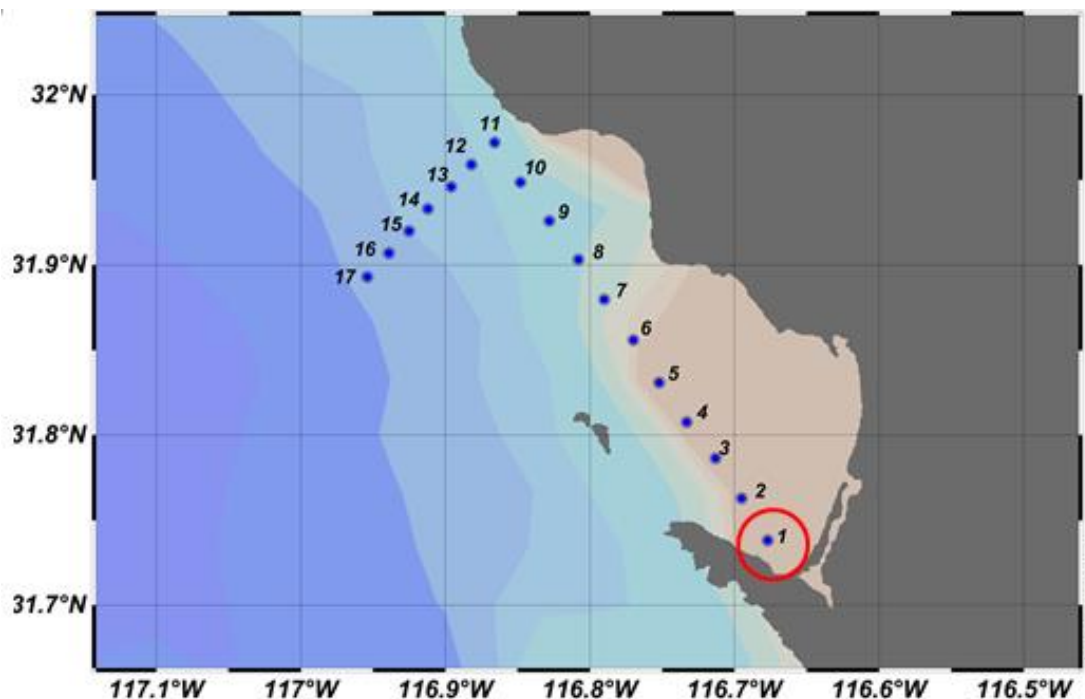


Figura 2. Área de estudio y estaciones de muestreo localizadas dentro y fuera de la Bahía de Todos Santos. La posición de anclaje de sensores de temperatura (HOBOS) en Rincón de Ballenas, zona de cultivo de moluscos bivalvos, se marca con un círculo rojo.

## 6.2. Colecta de muestras

Se diseñaron dos estrategias de muestreo para evaluar el cambio espacio-temporal de la población de *Dinophysis* en la región. El primero de ellos se diseñó para caracterizar la distribución espacial *Dinophysis* de la zona cercana a la costa hacia la zona del frente de surgencia. Este muestreo se planeó con una periodicidad mensual y para cubrir 17 estaciones hidrográficas divididas en dos transectos (Figura 2) con el objetivo de muestrear tanto el interior de la bahía como la zona norte adyacente (frente de surgencia). La segunda estrategia se diseñó para evaluar principalmente los cambios temporales de las poblaciones de *Dinophysis* en la región de Rincón de Ballenas, dentro de los polígonos de cultivo de moluscos bivalvos propiedad de Acuacultura Oceánica S.A. de C.V. Este muestreo se realizó quincenalmente.

En ambas estrategias de muestreo se realizó la medición de variables hidrográficas y se colectaron muestras de agua para el análisis de la comunidad fitoplanctónica y de pigmentos fotosintéticos. Asimismo, se realizaron arrastres verticales con una red para fitoplancton con una luz de malla de 40  $\mu\text{m}$ . Se realizaron 10 campañas oceanográficas abarcando las 17 estaciones en la BTS y 18 muestreos en la zona de Rincón de Ballenas.

### **6.3. Variables ambientales**

En los muestreos en la región de la BTS se obtuvieron perfiles de salinidad, temperatura y presión mediante el uso de un perfilador hidrográfico (CTD) modelo Seabird-19Plus. La profundidad de los lances fue de aproximadamente 50 m de profundidad. Para los muestreos en la región de Rincón de Ballenas se realizaron lances a profundidades menores de 20 m utilizando un perfilador hidrográfico (CTD) modelo YSI CastAway.

Asimismo, se utilizaron datos del Advanced Very High Resolution Radiometer High Resolution Picture Transmission (AVHRR-HRPT), generados por el Coast Watch West Coast Regional Node de la NOAA con una resolución de 1.4 km (<http://coastwatch.pfeg.noaa.gov/>). Se manejaron compuestos semanales y mensuales a partir de los cuales se calcularon promedios mensuales y estacionales para la Bahía de Todos Santos y el área adyacente (Dominio: 116.5°-117.2° W, 31.6°-32.2° N) para identificar la localización del frente de surgencia durante las fechas de muestreo.

Para caracterizar la variabilidad temporal de la temperatura se colocó un arreglo de 5 sensores de temperatura Onset HOBO Water Temperature Data Logger en las colocados a una profundidad del fondo de aproximadamente 23 m, con los sensores distribuidos a lo largo de la columna de agua; desde septiembre de 2014 hasta agosto de 2015, en las coordenadas 31° 44.744'N, 116° 40.957'W.

#### **6.4. Caracterización de la comunidad fitoplanctónica**

Mediante el uso de una botella muestreadora tipo Niskin se colectaron aproximadamente 2 litros de agua a diferentes profundidades para el análisis de la comunidad fitoplanctónica y de pigmentos fotosintéticos. Para el análisis de la comunidad se colocó una fracción de la muestra en botellas de plástico oscuro (Nalgene) y fue fijada con solución concentrada de lugol-acetato (Thronsen, 1978). El análisis se realizó con un microscopio invertido LEICA modelo DMI3000B con objetivos de 10x, 20x, 40x y 63x. Se utilizaron cámaras de sedimentación de 10, 25 y 55 mL siguiendo el método de Utermöhl (Sournia, 1978), considerando un tiempo de sedimentación de 3 horas por cada centímetro de altura de la cámara (Margalef, 1969). Para la identificación y cuantificación de los organismos se analizó el fondo de la cámara hasta contar un mínimo de 400 células o en el caso de tener abundancias muy bajas se examinó la cámara completa. Aplicando la sistemática taxonómica (Cupp, 1943; Taylor, 1976; Balech, 1988, Tomas, 1997; Omura *et al.*, 2012) se identificaron las células de dinoflagelados, diatomeas y otros grupos a nivel de género. Cuando fue posible, los organismos se identificaron al nivel de especie.

Se analizó un total de 365 muestras. Las abundancias celulares de las muestras discretas se expresan como número de células por litro ( $\text{Cel L}^{-1}$ ), mientras que los análisis de muestras de red se expresan como abundancias relativas en porcentajes (%).

#### **6.5. Cuantificación de pigmentos fotosintéticos**

Se filtró alrededor de un litro de agua de mar de cada profundidad por medio de filtros de fibra de vidrio de 25mm de diámetro tipo GF/F (Whatman Co.). Los filtros fueron envueltos en papel aluminio e inmediatamente almacenados en nitrógeno líquido hasta su análisis por cromatografía líquida de alto desempeño (HPLC).

Para la extracción de pigmentos se colocaron los filtros en microtubos de centrifuga de 2mL con tapa, se adicionaron perlas de sílice-zirconia de 0.5mm de diámetro y 1 mL de acetona fría al 100 %. Se realizó la disrupción mecánica por medio de un “*Mini Bead Beater*” (Biospec Products Inc), agitando por 10 s a 500 rpm (x2) con un periodo de enfriamiento entre cada agitación. Finalmente, para la limpieza del extracto se implementaron dos periodos de centrifugación a 13000 rpm (por 2 min y por 5min).

La separación de los pigmentos se realizó mediante HPLC de acuerdo al protocolo de Van-Heukelem y Thomas (2001) con la modificación descrita por Almazán-Becerril y García-Mendoza (2008). Previo a la inyección de las muestras, en el HPLC se adicionó acetato de tetrabutil amonio (TBAA) 28mM a todas las muestras, considerando una proporción de 30 $\mu$ L por cada 100 $\mu$ L de muestra. Se utilizó un equipo modelo Agilent-1200 controlado mediante el software Agilent-ChemStation, con una columna de fase reversa Eclipse XDBC-8 monomérica (4.6 x 150mm diámetro interno, 3.5 $\mu$ m de tamaño de poro). El detector de arreglo de diodos (DAD) se programó para detectar a 5 longitudes de onda (436, 450, 475, 665 y 780 nm). El tiempo de análisis fue de 30 minutos con un flujo constante de 1 mL min<sup>-1</sup> y manteniendo la columna a 60 °C. Se empleó un gradiente binario para bombear la fase móvil con metanol:TBAA 28 mM a una proporción de 70:30 como solución A y metanol al 100 % como solución B. El bombeo de dicha fase fue (Min, %B): 0 min, 5 %; 22 min, 95 %; 27 min, 95 %; 30 min, 5 %. Para la calibración del método se utilizaron 15 estándares comerciales de pigmentos (DHI, Inc. Suecia) de acuerdo a Wright y Montoura (1997).

**Tabla 1. Concentración de la solución de trabajo y tiempos de retención para los estándares de pigmentos utilizados.**

ID STD	Pigmento (s)	[ ] mg L <sup>-1</sup>	TIEMPO RETENCION [min]
STD 1	Clorofila c3	0.949	5.505
STD 2	Clorofila c2	0.986	7.736
STD 3	Peridinina	0.777	10.374
STD 4	19-but-fucoxantina	0.83	13.243
STD 5	Fucoxantina	1.361	13.53
STD 6	Prasinoxantina	1.066	14.592
STD 7	Violaxantina	0.911	14.882
STD 8	19-hexa-fucoxantina	1.138	14.971
STD 9	Diadinoxantina	1.098	16.087
STD 10	Aloxantina	1.16	17.262
STD 11	Diatoxantina	0.77	17.824
STD 12	Zeaxantina	1.023	18.401
STD 13	Clorofila b	1.405	22.143
STD 14	Divinil clorofila a	1.229	24.113
STD 15	Clorofila a	1.0	24.25

## 6.6. Estado fisiológico de *Dinophysis fortii*.

Se filtró alrededor de 1 L de agua de mar de cada profundidad y se concentró en un volumen aproximado de 5 a 10 mL mediante filtración al vacío. Una vez concentradas las células fitoplanctónicas se agregó paraformaldehído obteniendo una concentración final de 1 % y se mantuvieron a baja temperatura (< 5° C) hasta su análisis por microscopía óptica. Para describir el estado fisiológico de las células de *Dinophysis* se evaluó el porcentaje de células con vacuolas digestivas en su interior para cada fecha de muestreo. De acuerdo al trabajo realizado por

Reguera (2012) se evaluó la presencia/ausencia de dichas vacuolas como indicador de una alimentación fagotrófica reciente. Asimismo, se colectaron muestras de agua de mar de distintas profundidades y se fijaron con solución concentrada de Lugol-acetato, en ellas se evaluó la presencia de gránulos de almidón como indicador de un periodo de inanición prolongado. El número de células contabilizadas varió de acuerdo a la abundancia de *Dinophysis* para cada fecha de muestreo, siendo un mínimo de 50 células y un máximo de 300 cuando la abundancia lo permitiera. Debido a las bajas abundancias del género *Dinophysis* registradas durante el periodo de estudio se utilizaron sólo los datos correspondientes a la especie *D. fortii*, la cual registró abundancias mayores a 1000 Cel L<sup>-1</sup>.



## Capítulo 7. Resultados

---

### 7.1. Comunidad fitoplanctónica

Los resultados corresponden al monitoreo de la comunidad fitoplanctónica del 23 de julio del 2014 al 21 de mayo del 2015. Se analizó un total de 96 muestras de agua colectadas en superficie, 5 y 10 m, así como de arrastres verticales de red para la zona de Rincón de Ballenas. Se identificaron 81 especies de diversos grupos algales. De estas especies 43 pertenecieron al grupo de los dinoflagelados (Tabla 2), 34 al de las diatomeas (Tabla 3) y se identificaron 3 ciliados y 2 silicoflagelados (Tabla 4). En las muestras de red el grupo de las diatomeas dominó, representando más del 80% de los organismos colectados durante la mayor parte del periodo de estudio. Los dinoflagelados dominaron sólo en febrero del 2015, representando más del 70 % de los organismos colectados (Figura 3).

La dominancia de las diatomeas se observa también en las muestras discretas (abundancias absolutas) a diferentes profundidades. El 2 de octubre del 2014 se registró la mayor abundancia de células fitoplanctónicas, con más de  $800 \times 10^3 \text{ Cel L}^{-1}$  (Fig. 4) en superficie. La muestra estuvo compuesta casi en su totalidad por diatomeas pennadas (Anexo 1). Posterior al 2 de octubre, la abundancia fitoplanctónica disminuyó considerablemente, registrándose abundancias menores a las  $100 \times 10^3 \text{ Cel L}^{-1}$ . Esta condición permaneció hasta el inicio de la primavera. El 10 de abril se presentó un aumento en la abundancia de dinoflagelados, principalmente a 10 m de profundidad alcanzando las  $250 \times 10^3 \text{ Cel L}^{-1}$  (Figura 4). El resto de los grupos algales (silicoflagelados y ciliados) se presentó durante todo el periodo de muestreo, con abundancias mayores durante los meses de invierno con aproximadamente  $7000 \text{ Cel L}^{-1}$ .

**Tabla 2. Especies de dinoflagelados identificados en muestras colectadas en la Bahía de Todos Santos, durante el periodo agosto 2014 a mayo 2015.**

GONYAULACALES	PERIDINALES	PROROCENTRALES	DINOPHYSIALES	GYMNODIMIALES
<i>Ceratium furca</i>	<i>Protoperidinium sp.</i>	<i>Prorocentrum micans</i>	<b><i>Dinophysis acuminata</i></b>	<i>Karenia sp</i>
<i>Ceratium pentagonum</i>	<i>P. conicum</i>	<i>Prorocentrum gracile</i>	<b><i>D. caudata</i></b>	<i>Karlodinium sp</i>
<i>Ceratium euarquatum</i>	<i>P. oblongum</i>		<b><i>D. fortii</i></b>	<i>Katodinium sp</i>
<i>Ceratium divaricatum</i>	<i>P. divergens</i>		<b><i>D. odiosa</i></b>	<i>Polykrikos sp</i>
<i>Ceratium fusus</i>	<i>P. elegans</i>		<b><i>D. tripos</i></b>	<i>Gyrodinium sp</i>
<i>Ceratium candelabrum</i>	<i>P. bipes</i>		<b><i>D. rapa</i></b>	<i>Akashiwo sp</i>
<i>Ceratium macroceros</i>	<i>Diplopsalis sp</i>		<b><i>Phalacroma mitra</i></b>	<i>Cochlodinium sp</i>
<i>Fragilidium sp</i>	<i>Podolampas sp</i>		<b><i>Phalacroma rotundata</i></b>	<i>Gymnodinium gracile</i>
<i>Ceratocorys sp</i>	<i>Scripsiella sp</i>		<b><i>Dinophysis sp.1-5</i></b>	
<i>Gonyaulax sp</i>	<i>Heterocapsa sp.</i>		<i>Oxyphysis sp</i>	
<i>Lingulodinium polyedrum</i>			<i>Ornithocercus sp</i>	
<i>Oxytoxum sp</i>			<i>Amphisolenia bidentata</i>	
<i>Pyrocystis lúnula</i>				

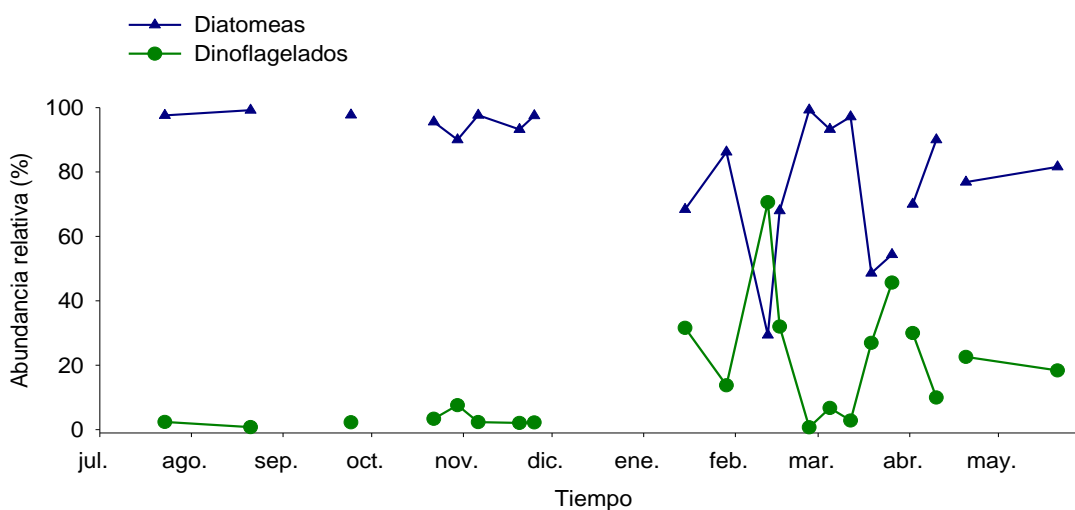
**Tabla 3. Especies de diatomeas identificadas en muestras colectadas en la Bahía de Todos Santos, durante el periodo agosto 2014 a mayo 2015.**

CENTRALES		PENNALES
<i>Thalassiosira sp</i>	<i>Asteromphalus sp</i>	<i>Asterionellopsis sp</i>
<i>Skeletonema costatum</i>	<i>Proboscía alata</i>	<i>Lioloma pacificum</i>
<i>Stephanophxis sp</i>	<i>Triceratium sp.</i>	<i>Thalassionema nitzschioides</i>
<i>Corethron histrix</i>	<i>Chaetoceros curvisetus</i>	<i>Pleurosigma sp</i>
<i>Leptocylindrus sp</i>	<i>Chaetoceros lorenzianus</i>	<i>Pseudo-nitzschia subcurvata</i>
<i>Coscinodiscus sp</i>	<i>Chaetoceros radicans</i>	<i>Pseudo.nitzschia australis</i>
<i>Actinoptychus sp</i>	<i>Chaetoceros affinis</i>	<i>Pseudo-nitzschia delicatissima</i>
<i>Guinardia delicatula</i>	<i>Chaetoceros peruvianus</i>	<i>Amphiprora sp</i>
<i>Guinardia fláccida</i>	<i>Bacteriastrum</i>	<i>Haslea wawrikan</i>
<i>Guinardia striata</i>	<i>Odontella sp</i>	<i>Striatella sp</i>
<i>Eucampia sp</i>	<i>Rhizosoleia sp</i>	<i>Licmphora abbreviata</i>
<i>Hemiaulus sp</i>		

Tabla 4. Especies de ciliados y silicoflagelados identificados en muestras colectadas en la Bahía de Todos Santos, durante el periodo agosto 2014 a mayo 2015.

CILIADOS	DICTHYOCHOPHYCEAE
<i>Mesodinium rubrum</i>	<i>Dicthyoca fibula</i>
<i>Leegardiela sol</i>	<i>Octactis octonaria</i>
<i>Strombilidium sp</i>	

A



B

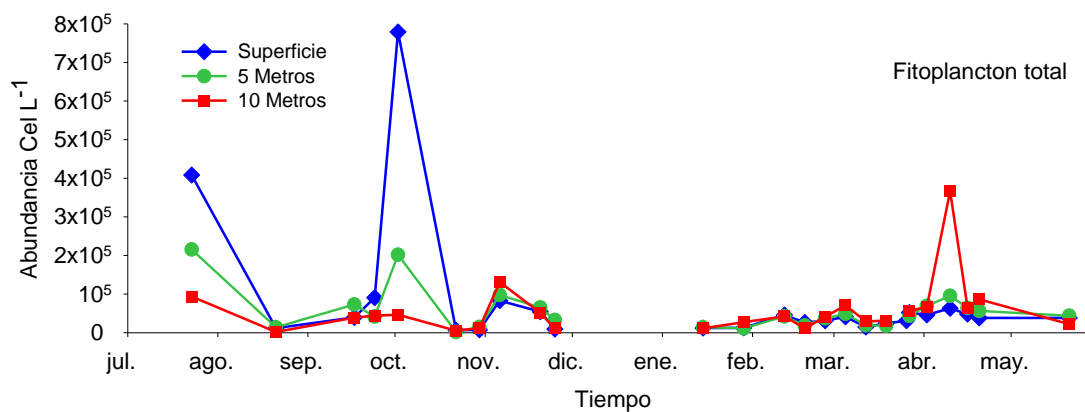
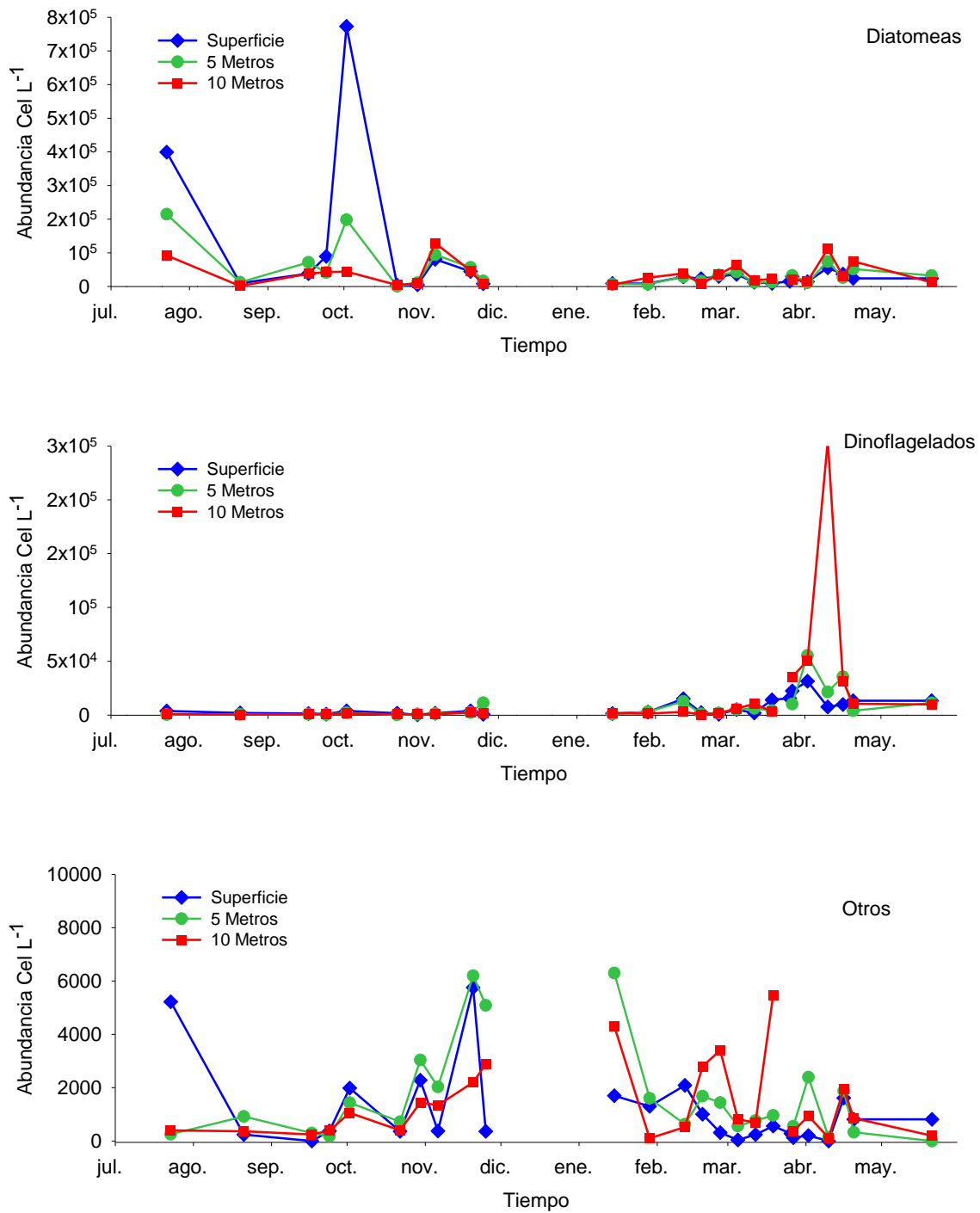


Figura 3. Variación temporal de la abundancia relativa en muestras de red del grupo de las diatomeas y dinoflagelados (A) y abundancia del fitoplancton (microplankton) a diferentes profundidades (B) en muestras colectadas en la región de Rincón de Ballenas de julio 2014 a mayo 2015.



**Figura 4.** Variabilidad temporal de la abundancia de las diatomeas, dinoflagelados y otros grupos algales (silicoflagelados y ciliados) en muestras colectadas a diferentes profundidades en la región de Rincón de Ballenas de julio 2014 a mayo 2015.

## 7.2. Complejo *Dinophysis-Phalacroma*

### Distribución espacio-temporal

Se analizó la distribución espacial de *Dinophysis* para comprobar si los florecimientos de estos organismos, y en específico de *D. fortii*, se desarrollan fuera de la BTS en la región de los frentes de surgencia que se presentan al noroeste de la Bahía y si estos son advectados dentro de la BTS debido a la circulación de la región. Se espera que *D. fortii* sea más abundante fuera de la Bahía cuando se presenten eventos de surgencia y posteriormente la población se incremente hacia dentro del sistema. Para ello se analizó la distribución espacial considerando 365 muestras de agua colectadas en tres profundidades discretas y arrastres verticales de red en 10 campañas oceanográficas realizadas en la región de la Bahía de Todos Santos (Figura 2).

Se describe la distribución espacial en las diferentes fechas de muestreo del complejo *Dinophysis-Phalacroma* considerando 7 especies. De las cuales 5 pertenecen al género *Dinophysis* (*Dinophysis acuminata*, *Dinophysis caudata*, *Dinophysis fortii*, *Dinophysis odiosa* y *Dinophysis tripos*) y 2 especies al género *Phalacroma* (*Phalacroma rotundata* y *Phalacroma mitra*) (ver Anexo 3). Estas dos últimas especies estaban consideradas anteriormente como *Dynophysiales* (Reguera *et al.*, 2014) y han sido asociadas a la producción de toxinas de tipo diarreico.

Contrario a lo esperado, la distribución del complejo *Dinophysis-Phalacroma* fue mayormente costero (Figura 6-7). En todas las fechas de muestreo se detectó una mayor abundancia celular de las especies de *Dinophysis* cerca el área de Rincón de Ballenas al sur de la región de estudio (Figura 6-7) y mantuvo abundancias alrededor de las 200 Cel L<sup>-1</sup> cerca de Punta Salsipuedes al norte de la región (Anexo 1). En general, durante el periodo de estudio se presentaron abundancias bajas de *Dinophysis* y especialmente durante los meses de invierno del 2014 las abundancias fueron menores a 100 Cel L<sup>-1</sup>. La mayor abundancia registrada fue durante la campaña del 5 de marzo de 2015 detectándose más de

2000 Cel L<sup>-1</sup>, Posterior a esta fecha la presencia de *Dinophysis* disminuye abruptamente y se mantuvo una abundancia a 10 m de profundidad de aproximadamente 300 Cel L<sup>-1</sup>.

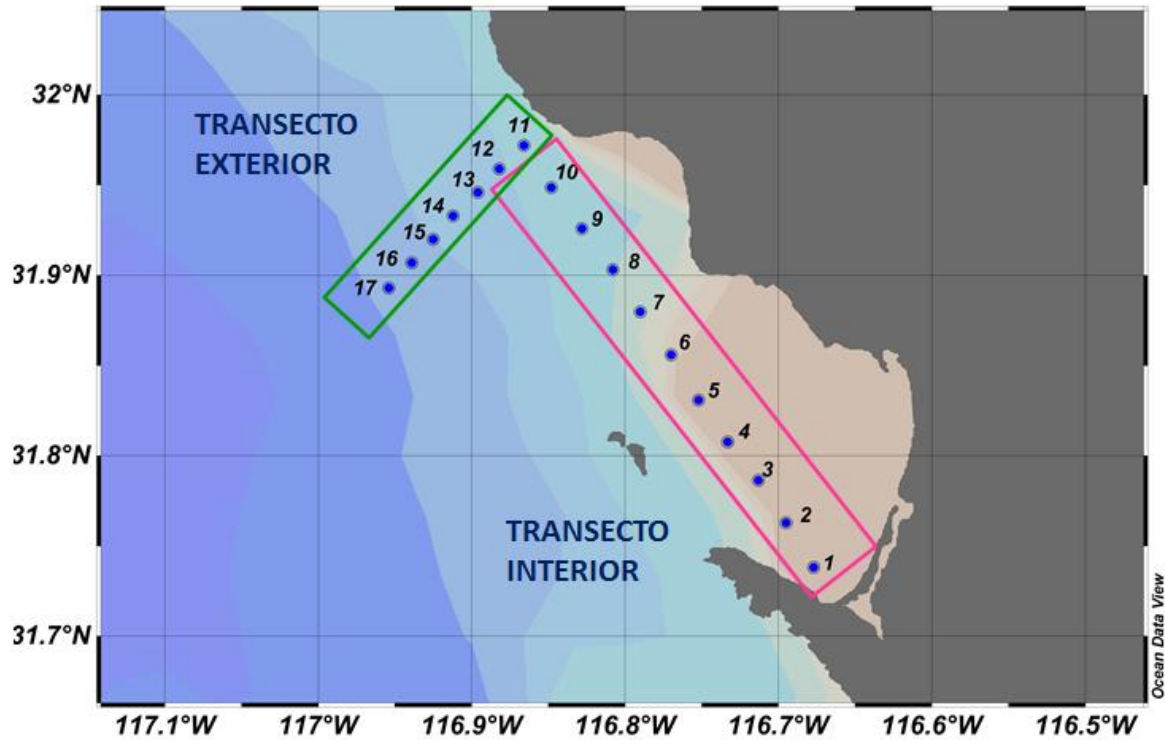
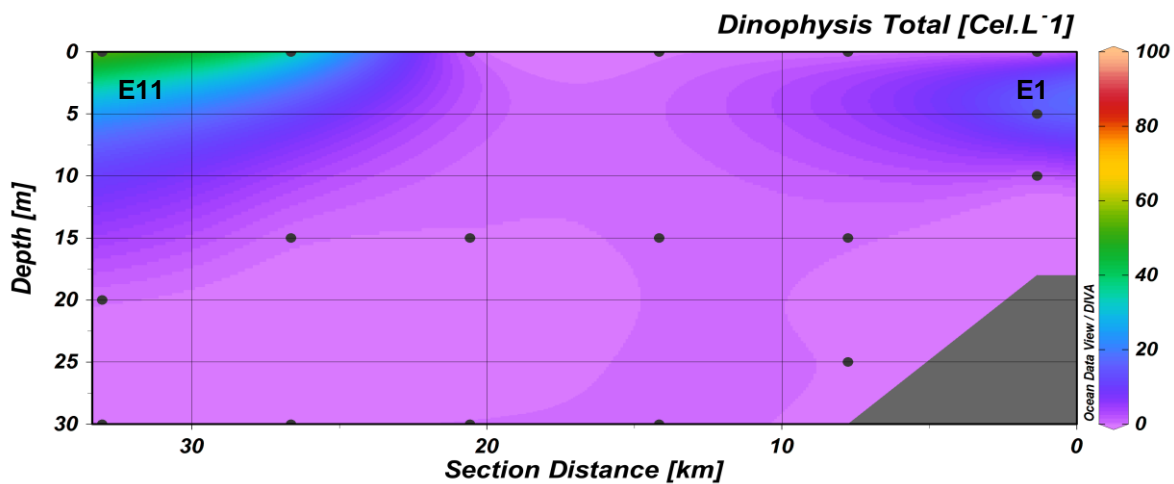
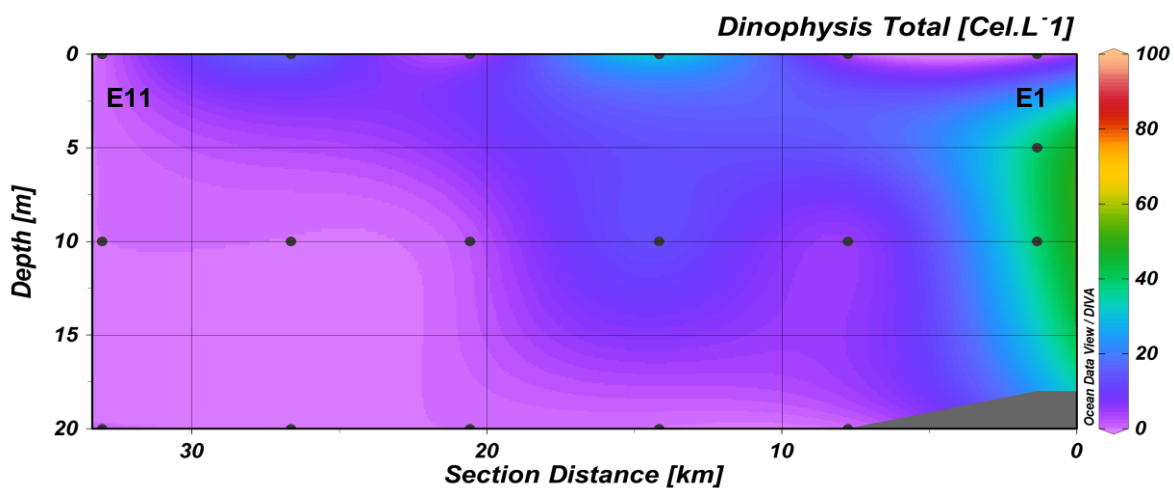


Figura 5. Ubicación de las estaciones en dos transectos realizados durante las campañas de muestreo en la región de Bahía de Todos Santos, Baja California, México durante octubre 2014 a mayo 2015.

2 DE OCTUBRE



15 DE NOVIEMBRE



16 DE FEBRERO

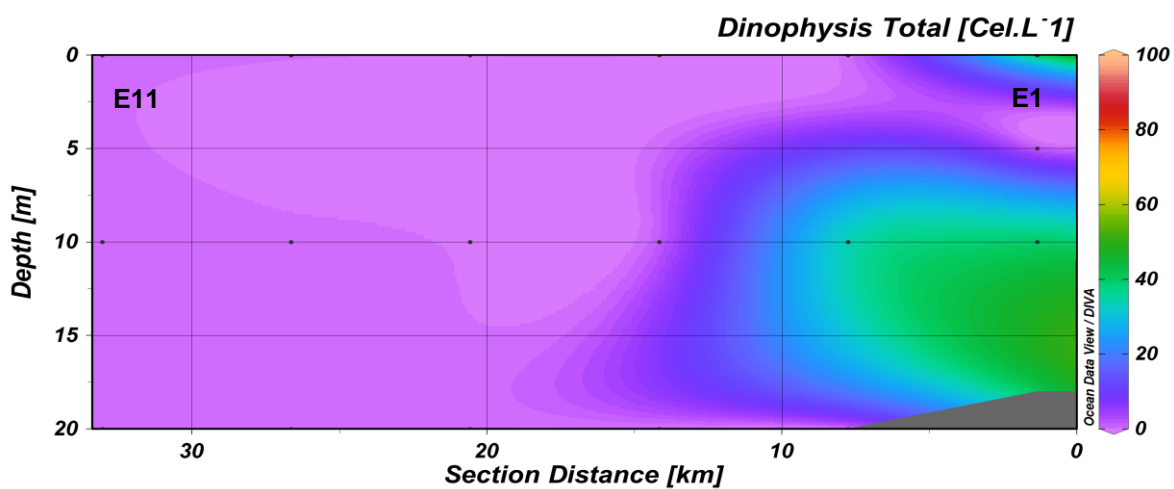
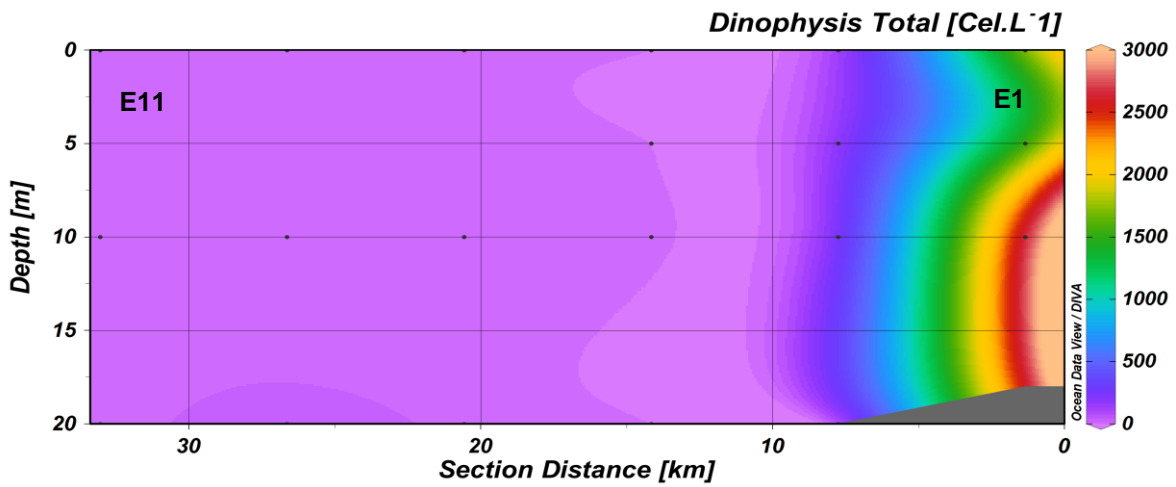
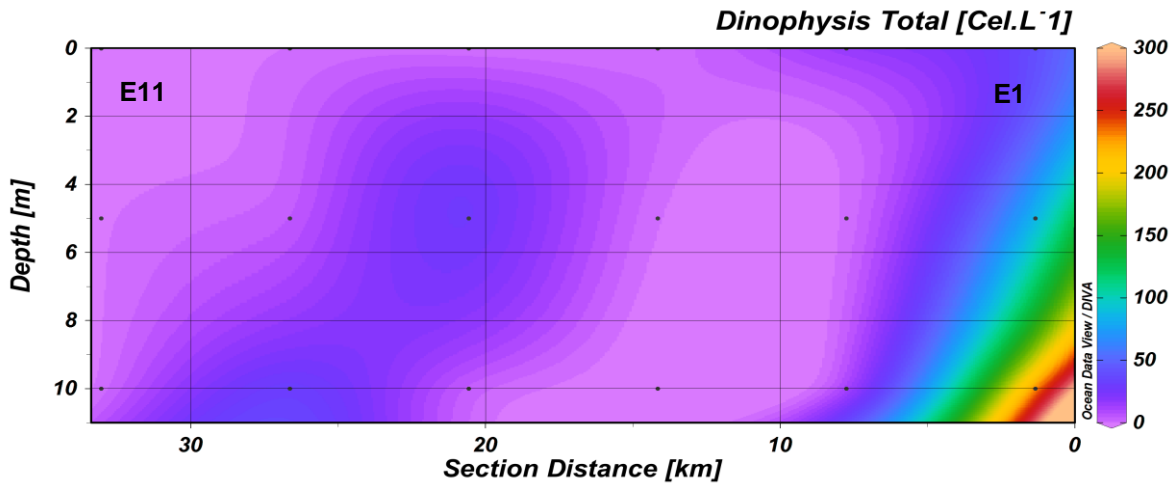


Figura 6. Variación espacial de la abundancia del género *Dinophysis* en el transecto interno de la BTS para diferentes fechas de muestreo.

5 DE MARZO



19 DE MARZO



20 DE ABRIL

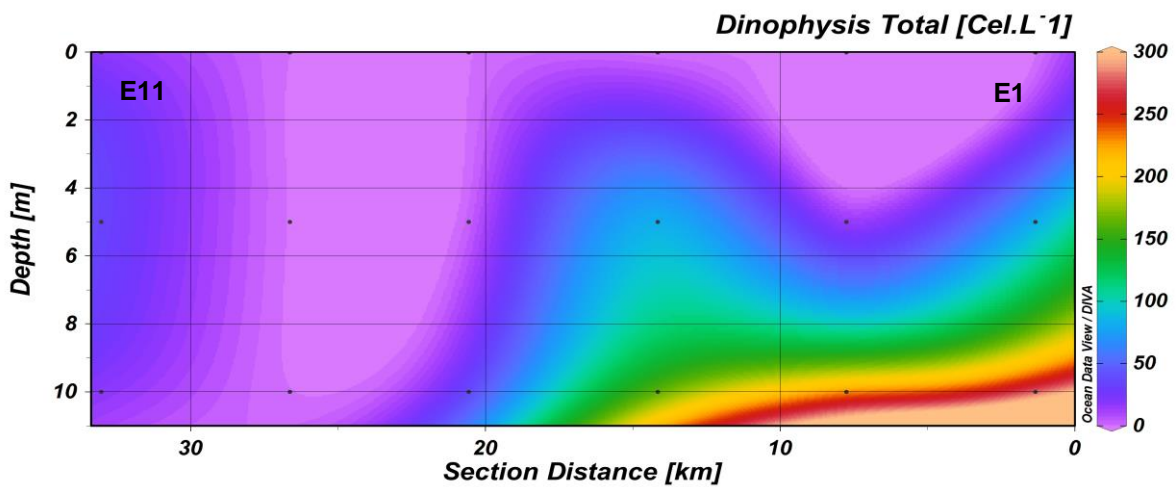
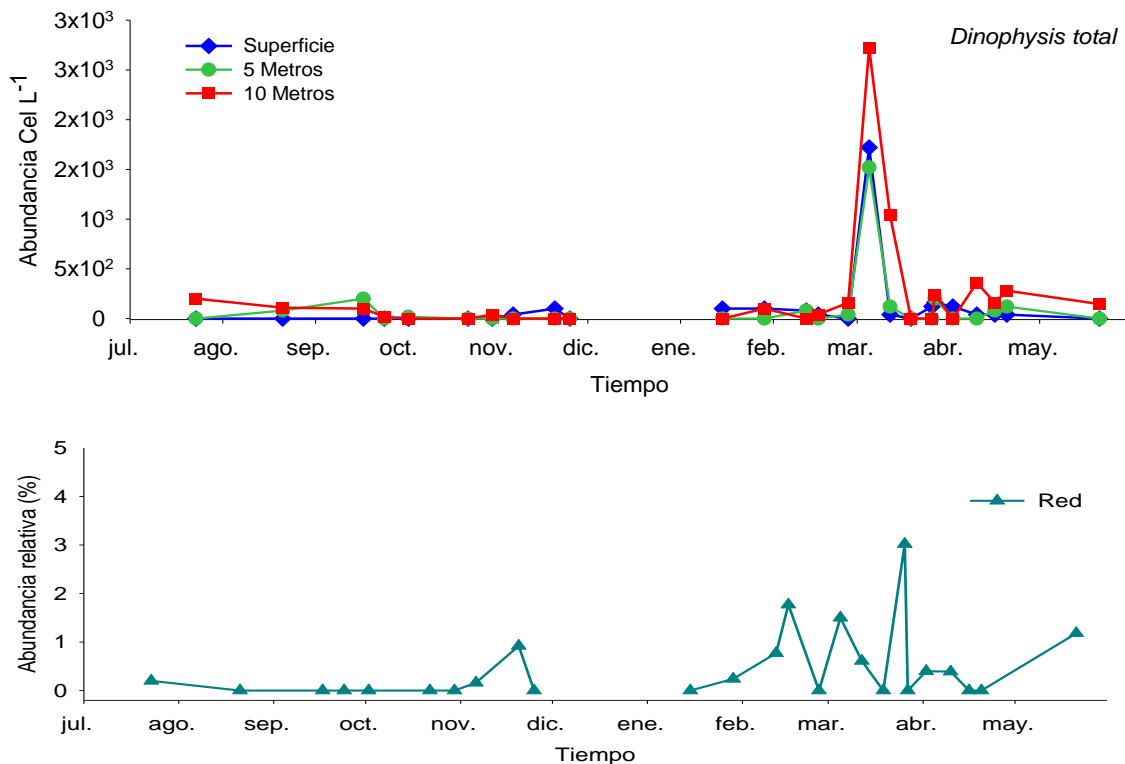


Figura 7. Variación espacial de la abundancia del género *Dinophysis* en el transecto interno de la BTS para diferentes fechas de muestreo.



## Variación temporal

Para el análisis de los cambios temporales del género *Dinophysis-Phalacroma* se utilizaron datos de abundancias celulares de las muestras discretas ( $\text{Cel L}^{-1}$ ) y análisis de muestras de red expresados como abundancias relativas en porcentajes (%). Se presentan los resultados de muestras de Rincón de Ballenas durante el periodo de estudio (Figura 8). En general, *Dinophysis* presentó abundancias menores a  $300 \text{ Cel L}^{-1}$  durante el otoño del 2014 y el invierno 2014-2015 y es hasta marzo del 2015 que alcanza una abundancia mayor a  $2000 \text{ Cel L}^{-1}$  tanto en superficie como en 10 m de profundidad. Posteriormente su abundancia disminuye considerablemente en las semanas siguientes. En cuanto a los datos de arrastres de red analizados se aprecia que el porcentaje que aportó este complejo de especies a la comunidad fitoplanctónica durante todo el periodo de estudio no superó el 4% del total de organismos fitoplanctónicos.



**Figura 8. Cambios de la abundancia celular de *Dinophysis* en muestras colectadas en el área de Rincón de Ballenas.**

La mayor abundancia del género *Dinophysis* registrada durante el 5 de marzo del 2015 fue conformada casi en su totalidad por la especie *D. fortii* (Figura 9). Previo al florecimiento, esta especie se presentó con abundancias menores a  $100 \text{ Cel L}^{-1}$ . La semana mantuvo una abundancia de  $1500 \text{ Cel L}^{-1}$  a 10 m de profundidad. A partir de la segunda mitad del mes de marzo no se registró la presencia de *D. fortii* en muestras superficiales y a 5 m, pero se presentaron abundancias de aproximadamente  $500 \text{ Cel L}^{-1}$  a 10 metros de profundidad durante las primeras semanas de abril.

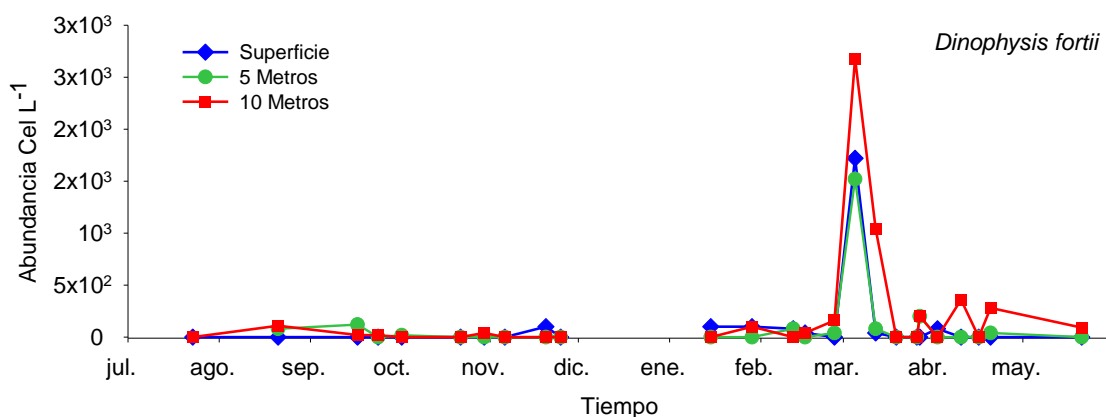


Figura 9. Variación anual de *Dinophysis fortii* en muestras de agua colectadas a diferentes profundidades en Rincón de Ballenas.

### 7.3. Distribución de *D. fortii* con relación a la presencia de *Mesodinium rubrum*.

El análisis de la presencia del género *Dinophysis* demostró que este grupo estuvo poco representado en la comunidad fitoplanctónica durante el periodo de muestreo (bajas abundancias) y solamente se presentó un florecimiento de *D. fortii* de poca duración en marzo. La presencia de *M. rubrum* es necesaria para el crecimiento poblacional de *D. fortii*, por lo que se analiza la variación espacial y temporal de ambas especies para comprobar este planteamiento.

## Distribución espacial

Se analizó la distribución espacial de *Mesodinium rubrum* de los resultados del análisis por microscopía óptica de muestras de diferentes campañas de muestreo realizadas en la Bahía de Todos Santos y se compararon con la distribución de *Dinophysis fortii*. En la Figura 10 se presenta la distribución de la abundancia del dinoflagelado y en la figura 11 la del ciliado. Se presenta solamente la distribución espacial para la fecha en la cual se detectó el florecimiento de *D. fortii* y una fecha anterior y otra posterior a este evento (16 de febrero, 5 y 19 de marzo). Se presentan sólo los datos del transecto interior (Figura 4) de las 3 campañas, ya que no se detectaron abundancias importantes del dinoflagelado y del ciliado en el transecto exterior que va de la costa hacia el frente de surgencia.

*Mesodinium rubrum* se distribuyó subsuperficialmente. En general, la abundancia de este ciliado fue baja en superficie y aumentó por debajo de los 5 metros, presentándose un máximo a los 10 m de profundidad. La abundancia máxima de *Mesodinium rubrum* ( $6000 \text{ Cel L}^{-1}$ ) se presentó durante la segunda semana de febrero en el área de Rincón de Ballenas y las estaciones cercanas (Figura 11).

La comparación de la distribución de *D. fortii* y *M. rubrum* indica que existió una separación espacial de estas especies. Durante la fecha del florecimiento, en las zonas con mayor abundancia de *D. fortii* no se detectó al ciliado y la abundancia de este organismo fue significativamente mayor (por arriba de las  $1000 \text{ Cel L}^{-1}$ ) en las zonas donde no se presentó el dinoflagelado. En las fechas antes y después del florecimiento la abundancia de *Dinophysis fortii* es baja y *Mesodinium rubrum* se presenta en el área de muestreo con concentraciones mayores cerca del área de Rincón de Ballenas.

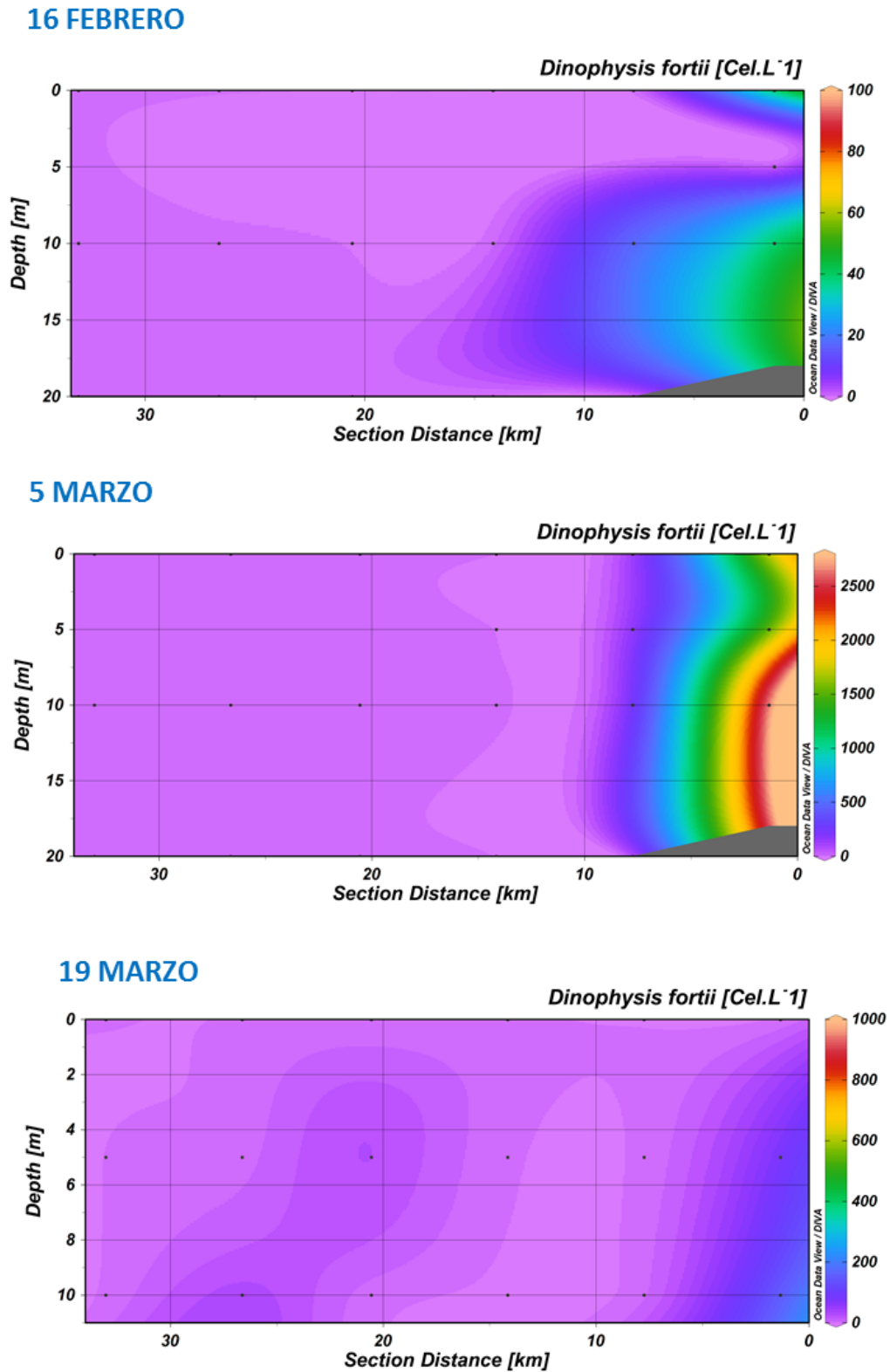
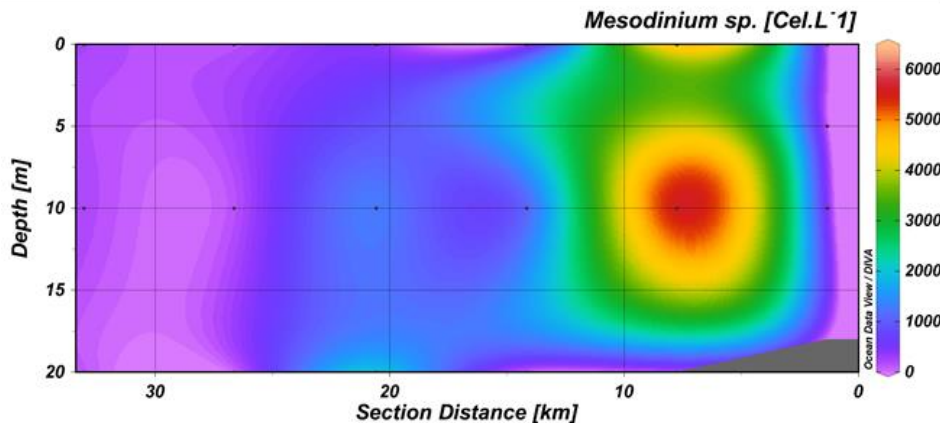
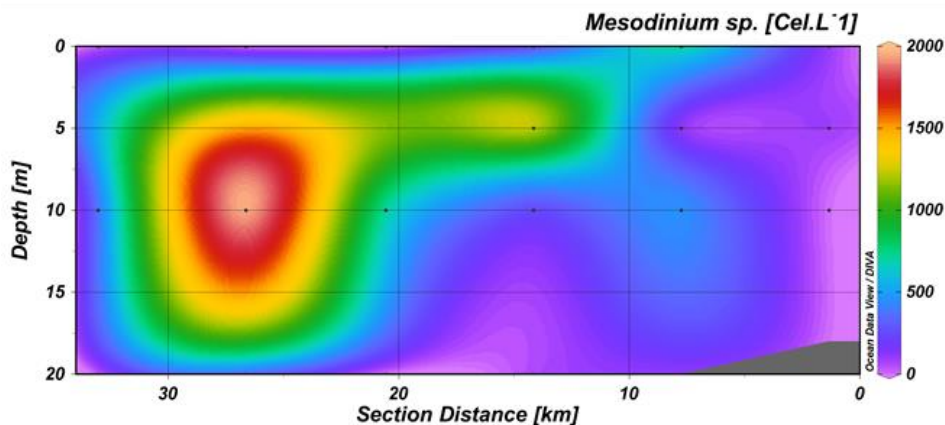


Figura 10. Distribución espacial de *Dinophysis fortii* correspondientes al transecto interno durante las campañas realizadas los días 16 de febrero, 5 y 19 de marzo del 2015 en la Bahía de Todos Santos. Debido a la diferencia en la abundancia celular, se manejó una escala independiente en cada gráfica.

16 FEBRERO



5 MARZO



19 MARZO

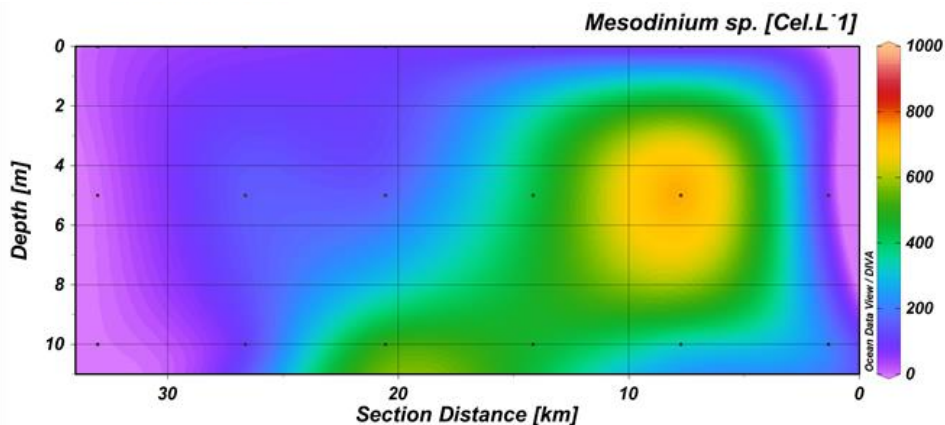
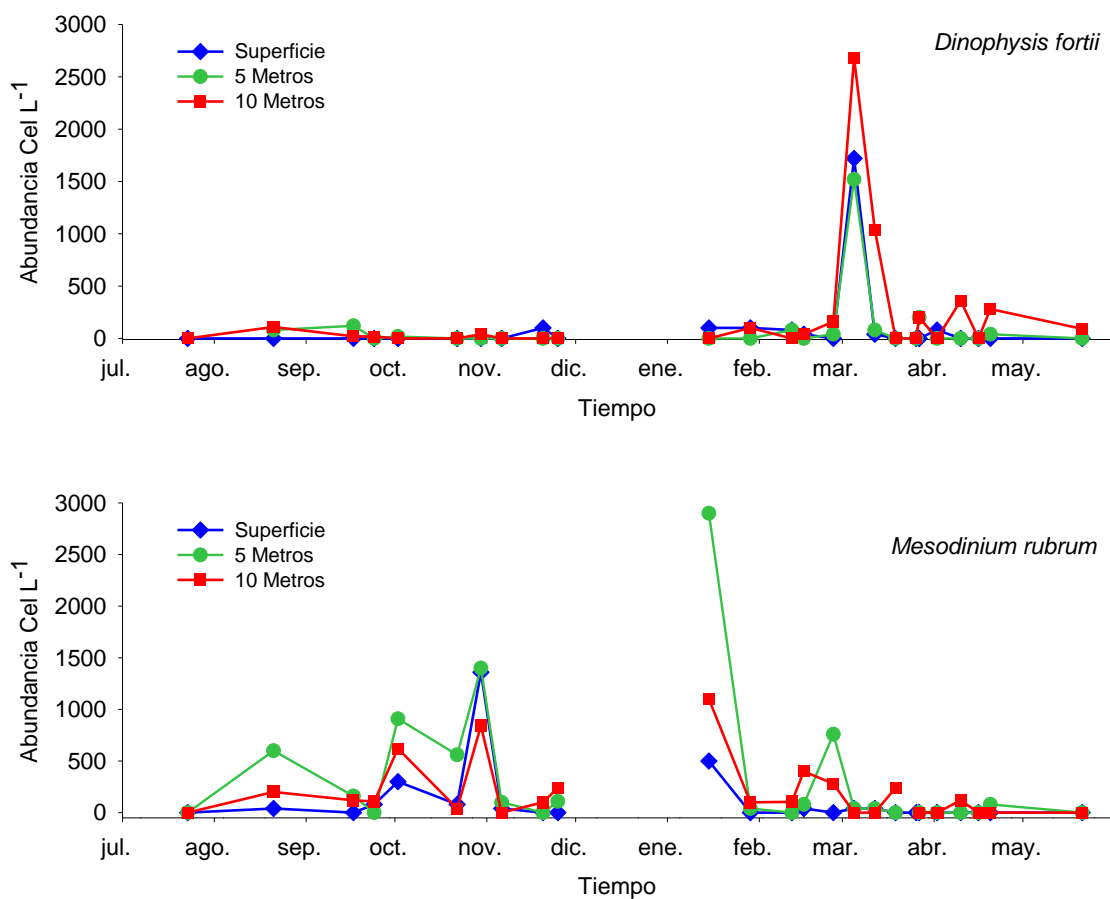


Figura 11. Distribución espacial de *Mesodinium rubrum* correspondientes al transecto interno durante las campañas realizadas los días 16 de febrero, 5 y 19 de marzo del 2015 en la Bahía de Todos Santos. Debido a la diferencia en la abundancia celular, se manejó una escala independiente en cada gráfica.

### Variación temporal

Para describir la variación temporal de *Mesodinium rubrum* se consideraron sólo los datos obtenidos de los análisis cuantitativos de muestras colectadas en la región de Rincón de Ballenas durante el periodo de muestreo. El análisis del cambio de la abundancia de *M. rubrum* y *D. fortii* durante el periodo de muestreo indica que existió, al igual que en su distribución espacial, una separación temporal de estas dos especies. Como se muestra en la Figura 12, *M. rubrum* estuvo presente todo el año, principalmente en muestras de 5 y 10 m de profundidad. Se presentaron abundancias relativamente altas en octubre del 2014. Durante este mes las abundancias superaron las 1500 Cel L<sup>-1</sup>, posteriormente disminuyen en noviembre y en enero se registró la abundancia máxima de más de 3000 Cel L<sup>-1</sup>. Durante los meses subsecuentes la abundancia de *M. rubrum* disminuye abruptamente. Por otro lado, la abundancia de *D. fortii* es baja durante casi todo el periodo de muestreo y cuando se presenta el florecimiento no se detectó a *M. rubrum* en la zona de Rincón de Ballenas.



**Figura 12.** Variación temporal de *Dinophysis fortii* y *Mesodinium rubrum* en muestras de agua colectadas en Rincón de Ballenas de julio del 2014 a mayo del 2015.

### Estado fisiológico de *Dinophysis*: alimentación

El que exista una separación tanto espacial como temporal de las poblaciones del dinoflagelado y del ciliado implica que puede existir una sucesión de estas especies, segregación de las mismas o que *Dinophysis* limita el crecimiento de *M. rubrum* al predar sobre este ciliado. Por lo tanto, se analizó el estado fisiológico de *D. fortii* para comprobar esto último de acuerdo a la hipótesis planteada en el trabajo. Se utilizó el porcentaje de células vegetativas con y sin vacuolas como indicador de una alimentación fagotrófica reciente. El tamaño de las vacuolas varió en las distintas épocas del año e incluso entre especies (Figura 13).

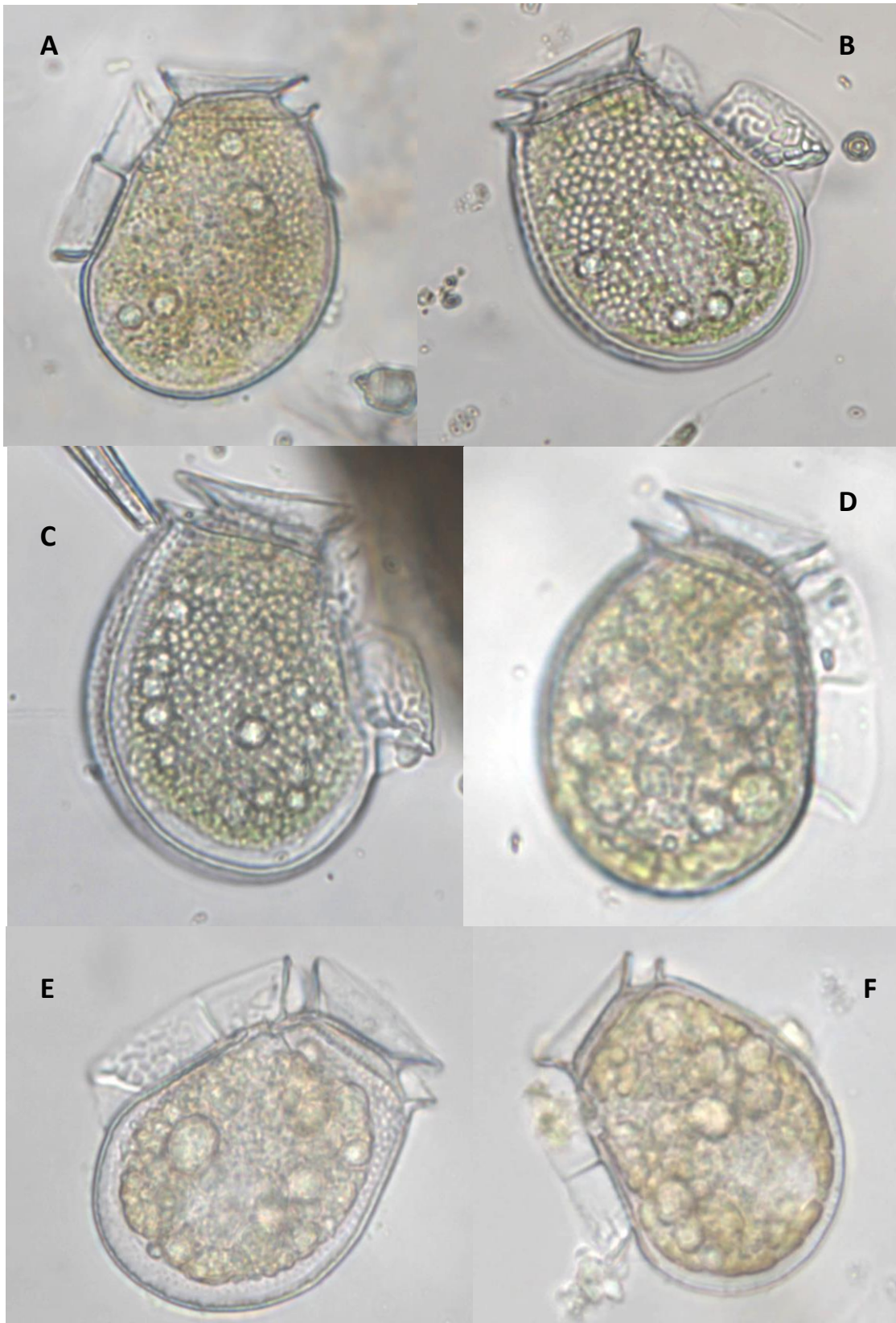
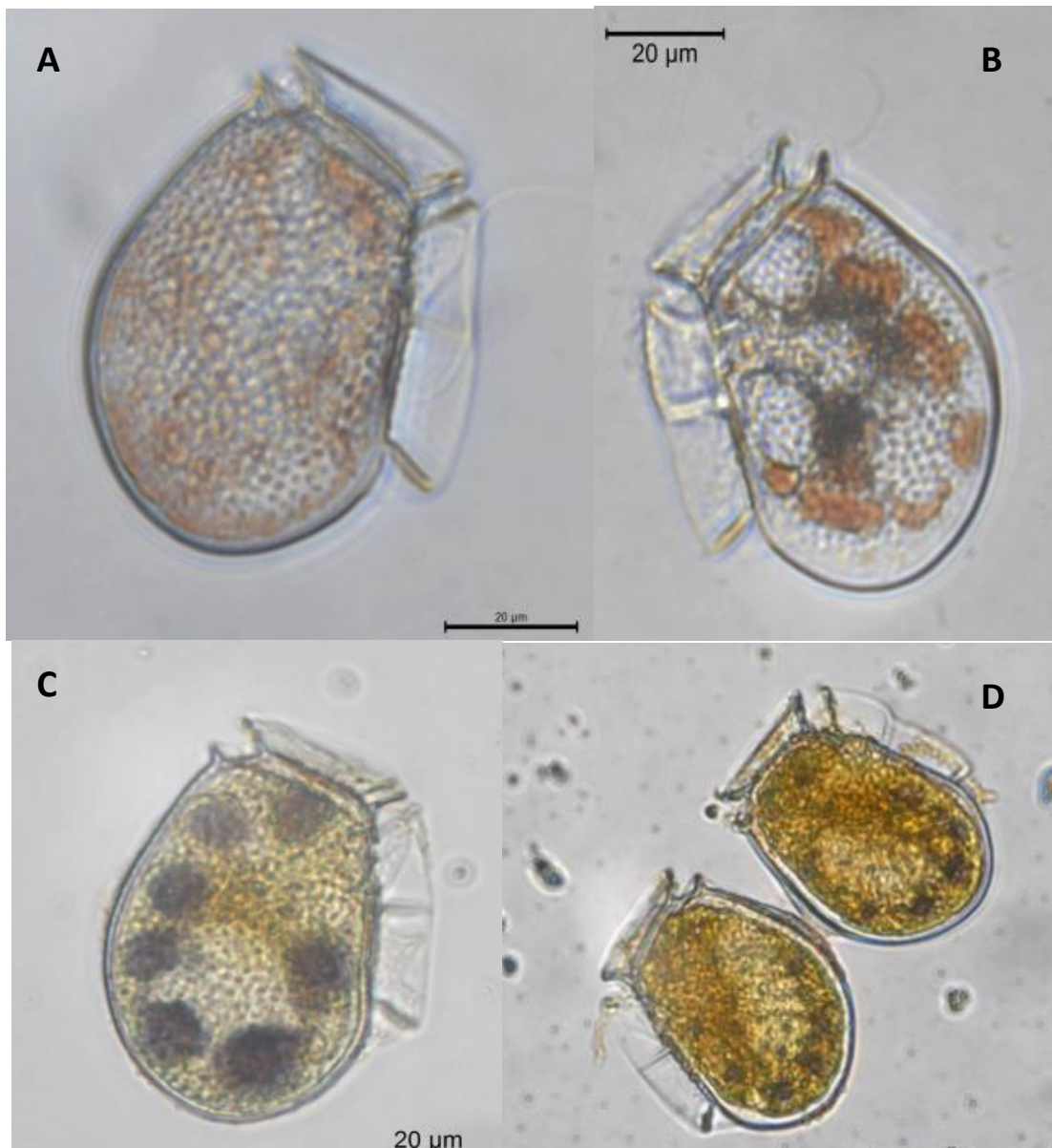


Figura 13. Células de *Dinophysis fortii* con vacuolas digestivas en su interior. Células con vacuolas menores a 6  $\mu\text{m}$  (A y B). Células con vacuolas mayores a 6  $\mu\text{m}$  (C y D).

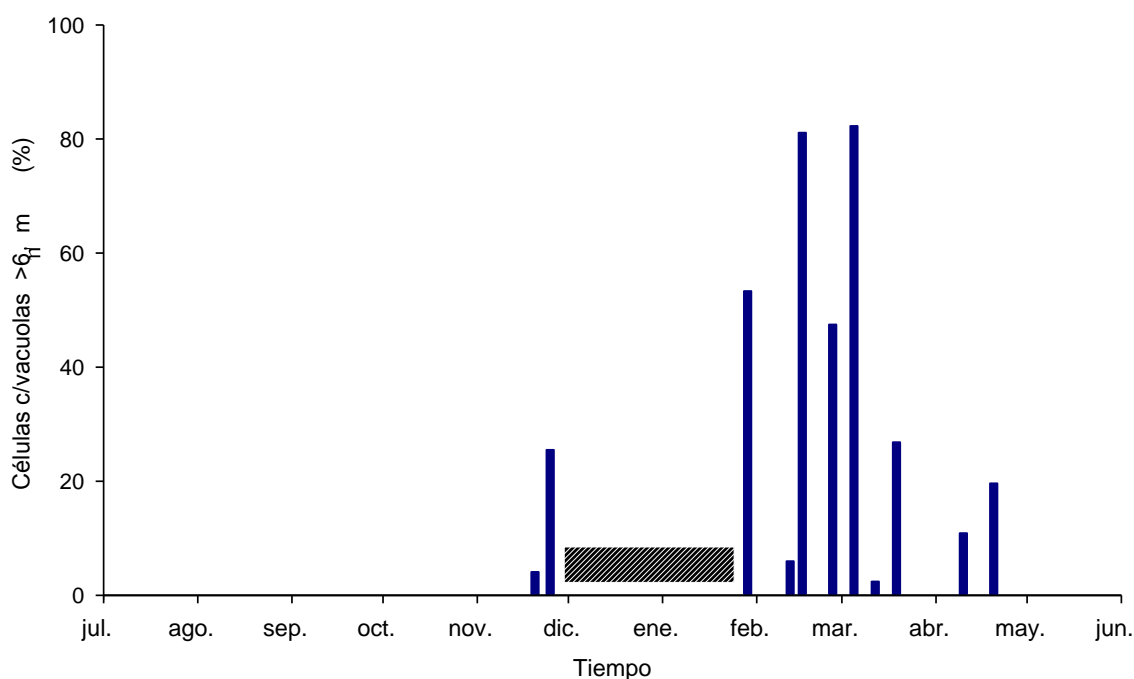




**Figura 14. Células vegetativas de *Dinophysis fortii* sin fijador (A y B). Células con gránulos de almidón dispuestas ordenadamente en la periferia celular (C-D).**

Durante el mes de octubre no se observaron células vegetativas con vacuolas digestivas; sin embargo, se observaron células con material de reserva en forma de gránulos de almidón en su interior (Figura 14). Durante noviembre del 2014 se observaron muy pocas células de *Dinophysis* ( $<100 \text{ Cel L}^{-1}$ ) por lo que para este análisis se contabilizaron al menos 50 células. Más del 90% de ellas contenían pequeñas vacuolas digestivas menores a  $6 \mu\text{m}$ . Para el periodo de

febrero a marzo del 2015 se pudieron analizar más de 200 células, ya que la abundancia celular de *Dinophysis* superó las 2000 Cel L<sup>-1</sup> en algunas fechas de muestreo. En este periodo se detectó que más del 80% de las células contenían vacuolas digestivas de gran tamaño mayores a 6 μm (Figura 15). Esto indicaría que *D. fortii* realizó actividad fagotrófica reciente en la fecha en la cual se presentó el florecimiento de esta especie.



**Figura 15. Porcentaje de células de *Dinophysis fortii* con vacuolas digestivas mayores a 6 μm. La línea sombreada horizontal indica el periodo sin colecta de muestras.**

#### **7.4. Cuantificación de pigmentos como marcadores de grupos algales.**

Por su tamaño, la evaluación de la concentración de criptofitas es difícil por microscopía de luz, por lo que se analizó la concentración del pigmento aloxantina como indicador de la presencia de estos organismos. El carotenoide aloxantina

sólo lo sintetizan las criptofitas pero pueden estar también en *Dinophysis sp.* y *Mesodinium rubrum* (Rial *et al.*, 2012). Por lo tanto, se utilizaron las concentraciones de aloxantina como indicador de la presencia de estos tres grupos algales.

Las Figuras 16 y 17 muestran la variación temporal en la concentración de clorofila a y aloxantina en un total de 265 muestras de agua colectadas en Rincón de Ballenas medidas por medio de cromatografía líquida de alto desempeño (HPLC).

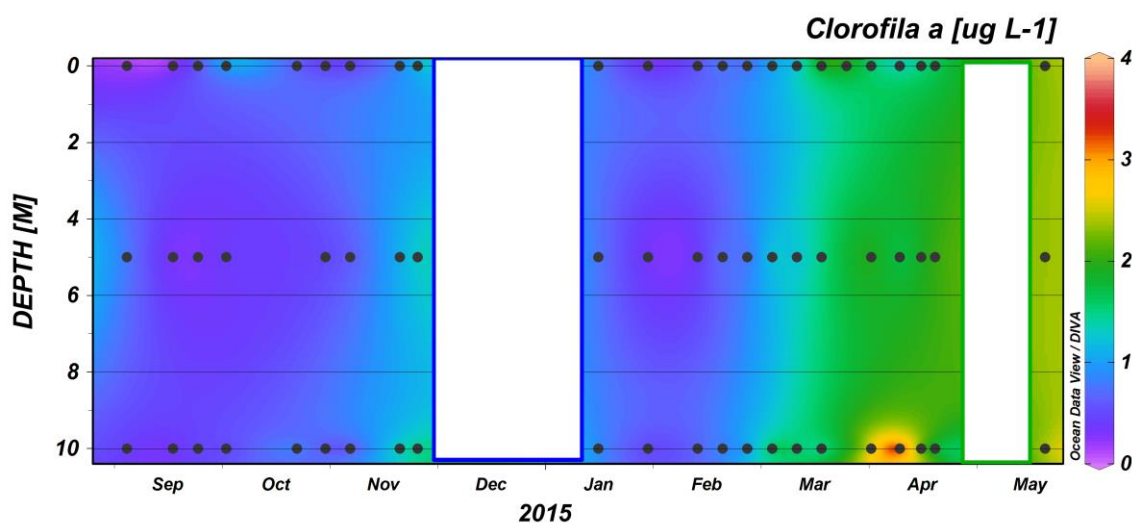


Figura 16. Variación temporal de la concentración de Clorofila a [ $\mu\text{g L}^{-1}$ ] en muestras colectadas en Rincón de Ballenas de septiembre del 2014 a mayo del 2015.

Se observa que durante los meses de septiembre del 2014 a febrero del 2015 las concentraciones de clorofila a fueron muy bajas, menores a  $1 \mu\text{g L}^{-1}$ . A partir de la segunda mitad de febrero la concentración aumentó, detectándose concentraciones de aproximadamente  $1.5 \mu\text{g L}^{-1}$  a 10 metros de profundidad. A finales de marzo se registran concentraciones de  $4 \mu\text{g L}^{-1}$ , las más altas de todo el año. Estas concentraciones se presentaron nuevamente en muestras más profundas.

La concentración de la aloxantina presentó un patrón de variación similar a las de la clorofila a. Durante los primeros meses de muestreo no se presentaron concentraciones altas y solo se detectó una concentración de aproximadamente  $0.5 \mu\text{g L}^{-1}$  en un par de muestras a 5 metros colectadas a principios del mes de octubre. La concentración fue menor a  $0.5 \mu\text{g L}^{-1}$  en el resto de las muestras colectadas durante los primeros meses del periodo de muestreo. Es hasta el mes de febrero que la concentración de aloxantina aumentó y las concentraciones más altas ( $0.7 \mu\text{g L}^{-1}$ ) de este pigmento se presentaron durante el mes de marzo en muestras superficiales. Después de la tercera semana de abril la concentración de aloxantina comienza a aumentar en las diferentes profundidades muestreadas.

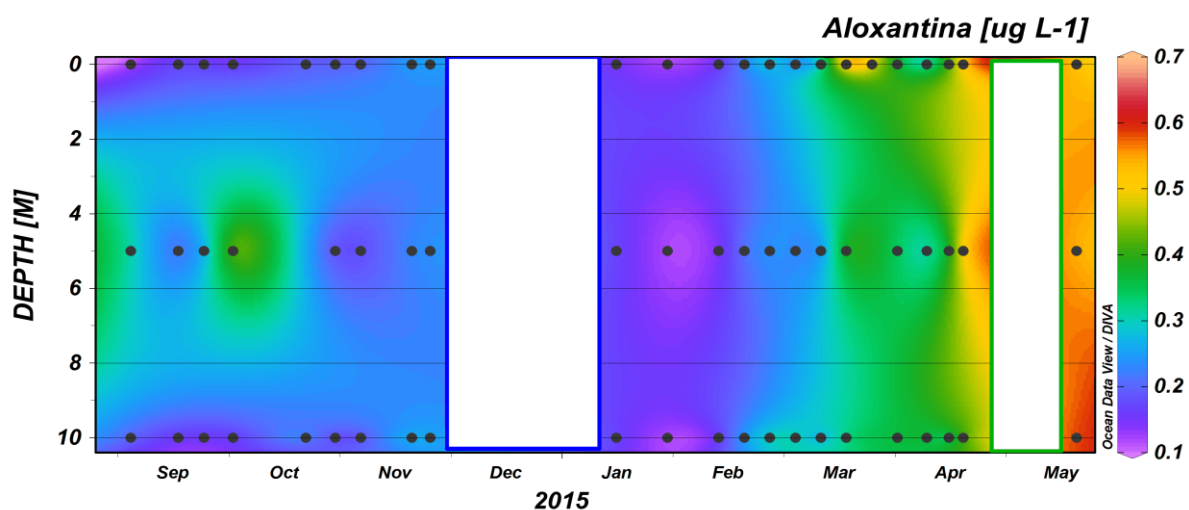


Figura 17. Variación temporal de la concentración de aloxantina [ $\mu\text{g L}^{-1}$ ] en muestras colectadas en Rincón de Ballenas de septiembre del 2014 a mayo del 2015.

A pesar de que ambos pigmentos muestran una variación temporal similar, al analizar la proporción entre ambos pigmentos durante el periodo de muestreo (Figura 18) se detectan dos periodos muy marcados donde la relación de aloxantina a clorofila a es alta. El primero ocurrió durante la transición otoño-invierno del 2014, donde se presentó una proporción Alo/chla-a mayor a 1 y con

un máximo de 1.5. El segundo, aunque con una proporción menor (0.5), se presentó durante el mes de febrero del 2015.

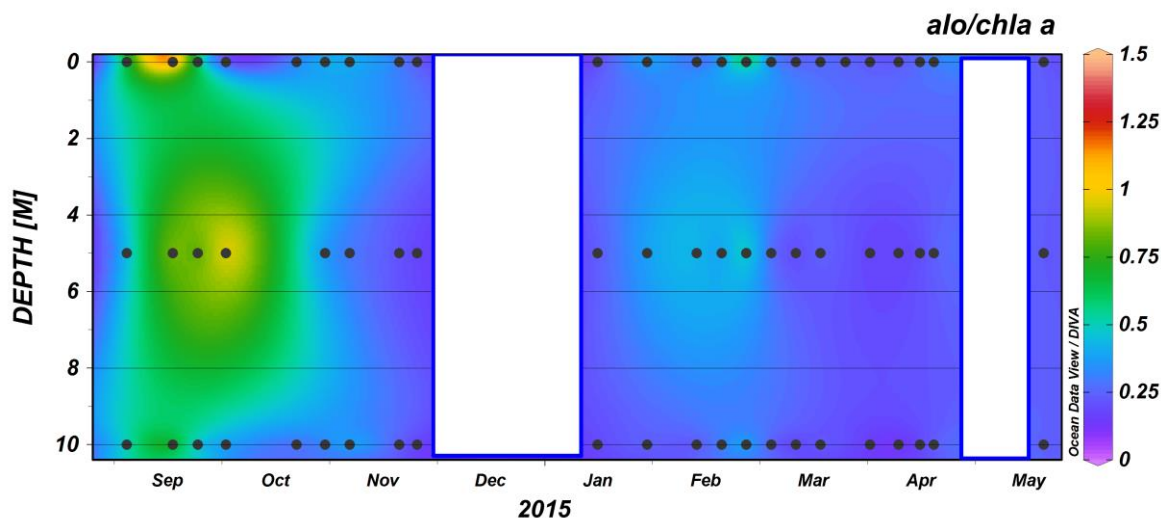


Figura 18. Variación temporal de la razón Aloxantina/Chla a (mol-mol) en muestras colectadas en Rincón de Ballenas de septiembre del 2014 a mayo del 2015. .

## 7.5. Variables ambientales: temperatura

### Variación estacional

Con el objetivo de caracterizar la presencia de surgencias en el área adyacente a la Bahía de Todos Santos durante el periodo de estudio se realizó un análisis de la variación estacional de la temperatura superficial del mar (SST) del verano del 2014 a la primavera del 2015. Se utilizaron datos derivados del AVHRR-HRPT y se manejaron compuestos estacionales de junio a agosto para verano, de septiembre a noviembre para otoño, de diciembre a febrero para invierno y de marzo a mayo para primavera. Debido a la alta variabilidad en la temperatura durante el año y para una mejor apreciación de la distribución espacial de esta variable la escala utilizada se expresa como una anomalía de temperatura del promedio de cada compuesto estacional (Figura 19).

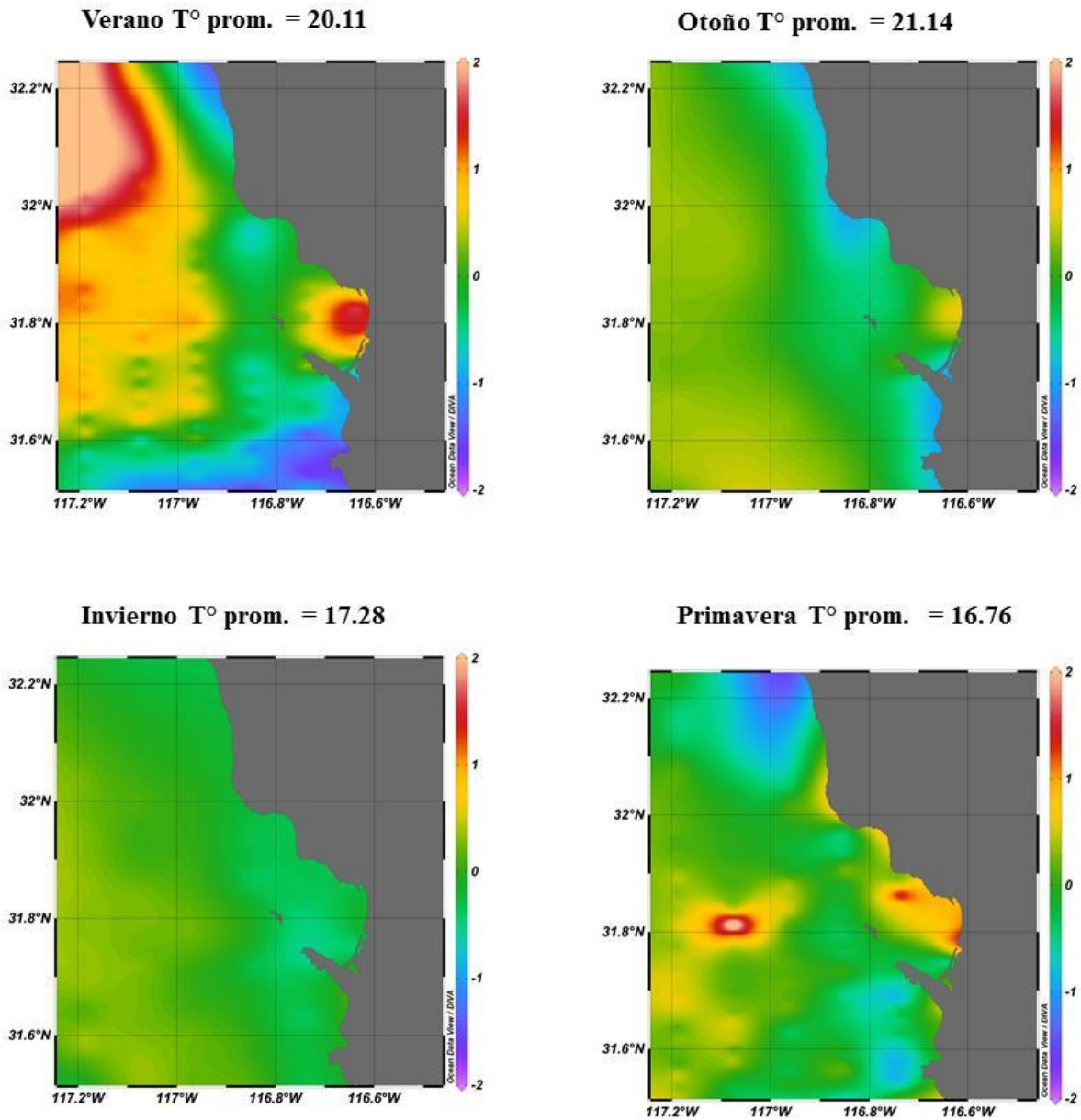


Figura 19. Anomalías de temperatura respecto al promedio espacial en la BTS y la región adyacente para diferentes épocas del año durante 2014 a 2015. Las imágenes fueron generadas utilizando promedios estacionales de la temperatura superficial de compuestos mensuales de AVHRR indicado en la parte superior de cada recuadro.

Durante el verano del 2014 se presentaron valores de temperatura más bajos que el promedio de la región entre el área de Punta Salsipuedes hacia la Isla Todos Santos, formandose un gradiente de temperatura entre el interior y el exterior de la Bahía (Figura 19). Durante el verano la temperatura promedio de la

región fue de 20.11 °C y al interior de la Bahía se presentaron temperaturas 2.5 °C por arriba de este promedio. En el caso del otoño el gradiente es menos intenso (< 1 °C) pero sigue presente. La franja de agua relativamente fría podría asociarse a surgencias costeras que se presentaron durante el verano y en menor grado durante el otoño. En invierno no se presentó un gradiente de temperatura. En primavera, la temperatura presentó una variación de 1 a -1 grados del promedio (16.76 °C) y por lo tanto no se presentó un gradiente de temperatura entre el interior y el exterior de la Bahía. Este análisis indica que durante el periodo de estudio no se presentaron surgencias intensas que ocasionaran un frente intenso como el descrito por Calva (2014).

### **Variación espacial**

El análisis de la variación estacional indicó que existieron surgencias durante el verano; sin embargo, en un análisis de la temperatura de la columna de agua durante las diferentes campañas oceanográficas realizadas durante el 2014 al 2015 no se detectaron estos procesos. Para este análisis se utilizaron los datos obtenidos mediante mediciones con el CTD promediados cada metro y para una mejor apreciación se separaron en dos transectos, interior y exterior (Figura 20).

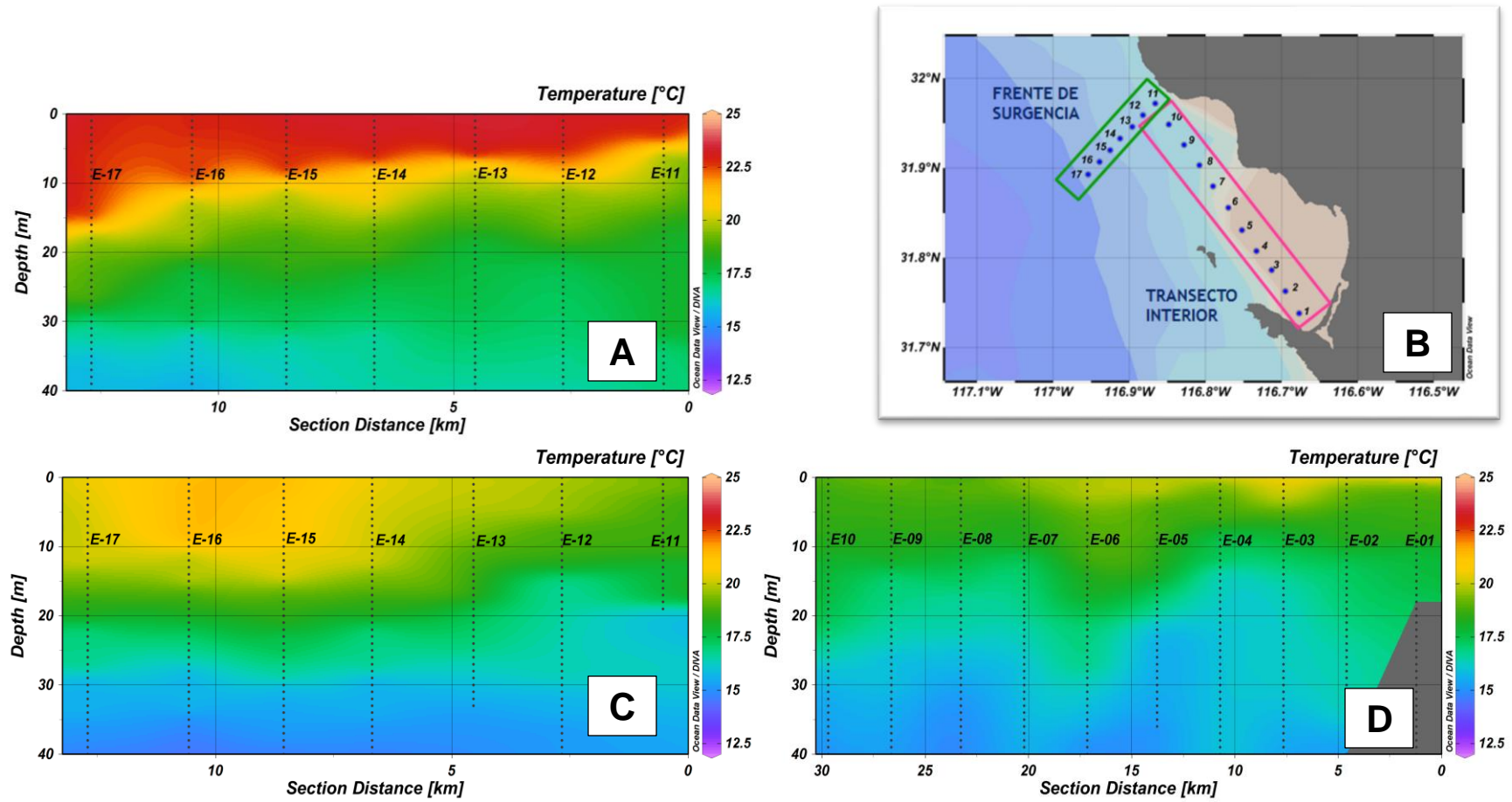


Figura 20...



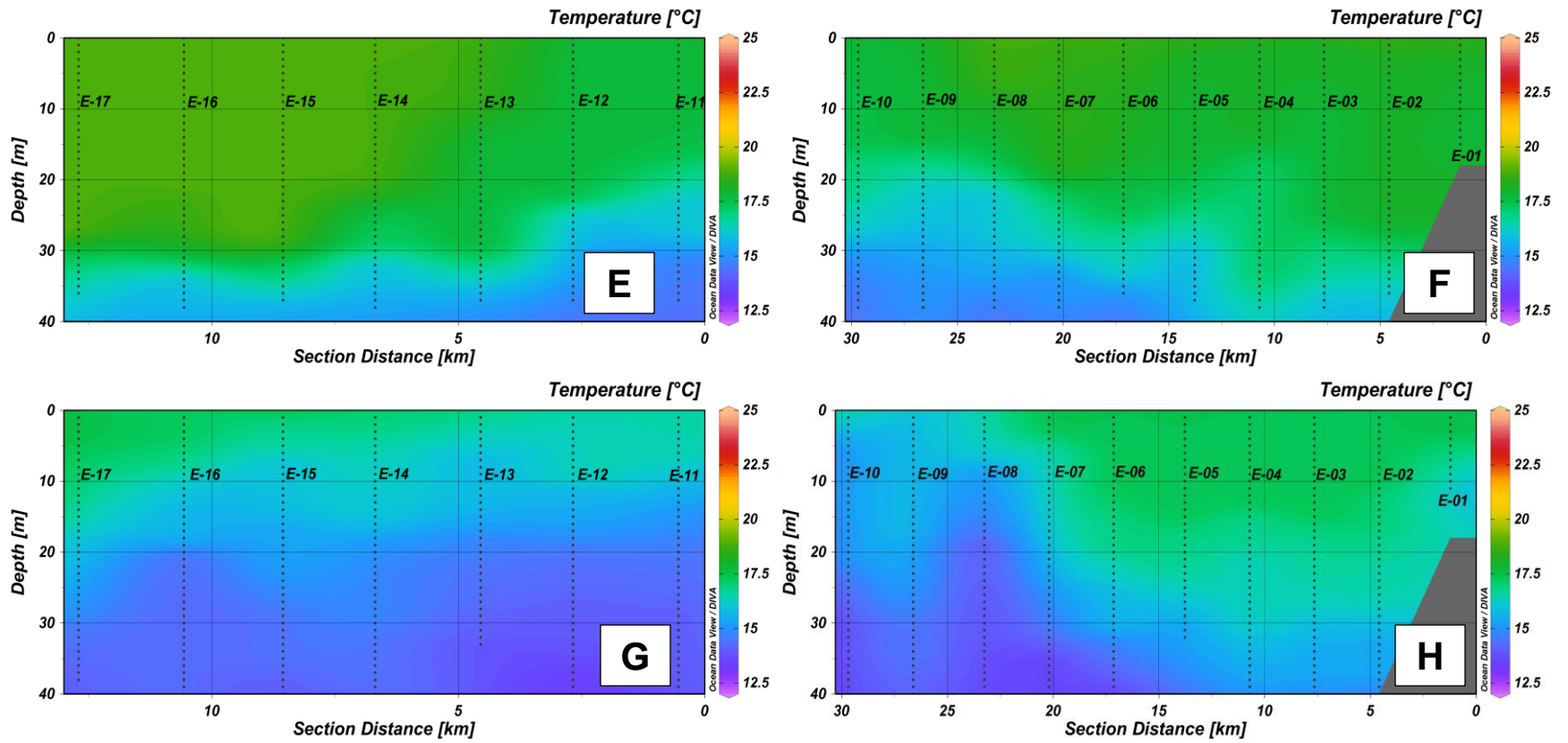


Figura 20...

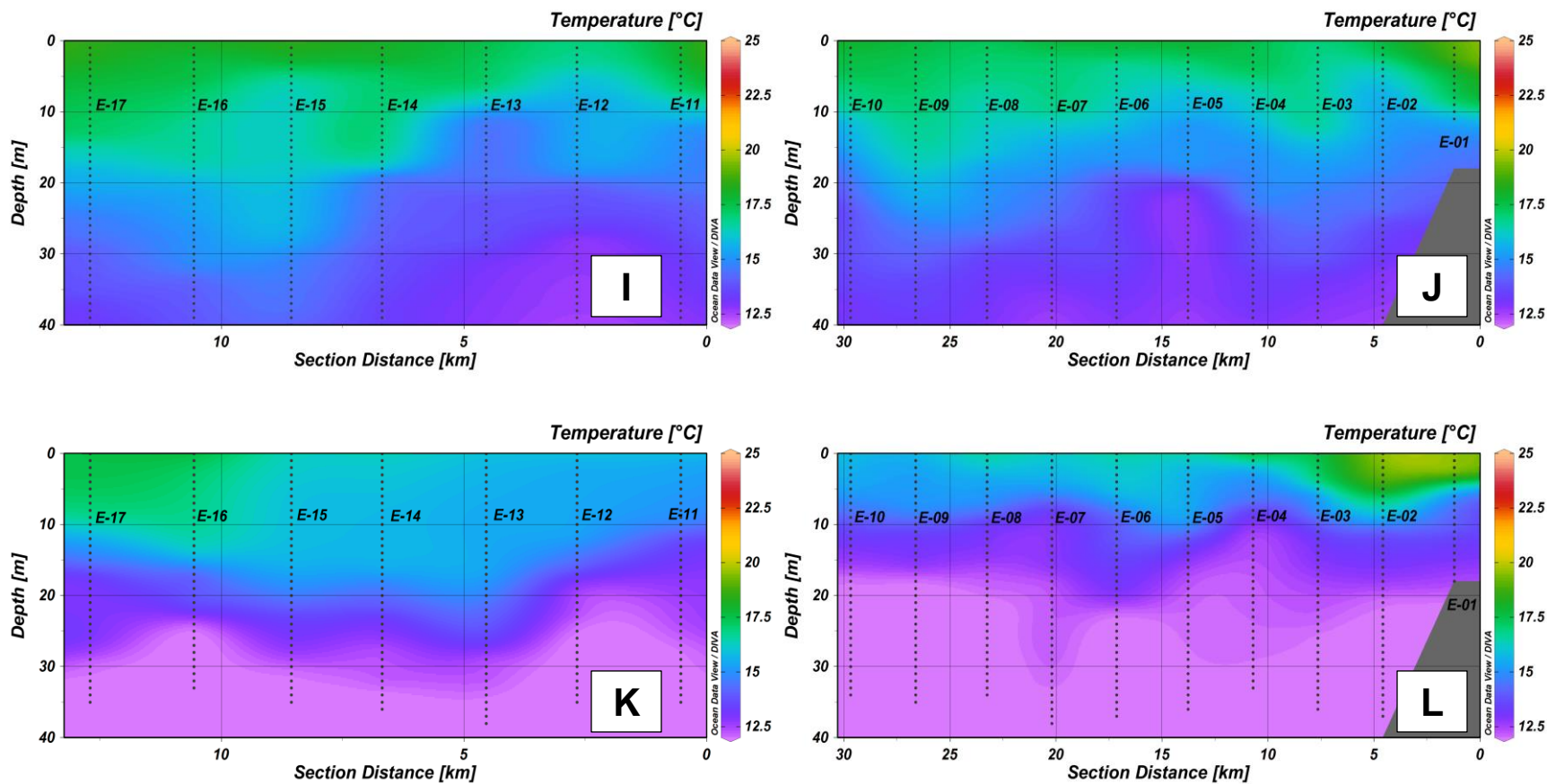


Figura 20. Variación espacio-temporal de la temperatura en la Bahía de Todos Santos generada con datos medidos mediante CTD. B: Ubicación de estaciones hidrográficas muestreadas. Separación de datos en transectos interior (paneles de la derecha) y exterior (paneles de la izquierda). A: 11-sep-2014. C-D: 02-oct-2014. E-F: 25-nov-2014. G-H: 16-feb-2015. I-J: 19-mar-2015. K-L: 20-abr-2015.

Durante la campaña del 11 de septiembre (Figura 20A) se observa una fuerte estratificación en la columna de agua con una capa de mezcla de aproximadamente 10 metros de espesor. Durante este mes se registraron 23 °C en superficie que fue la temperatura máxima superficial de todo el periodo de muestreo. Para el mes de octubre la temperatura superficial disminuyó 2 °C y comenzó a disminuir la estratificación en la columna de agua (Figura 20 C, D). En el interior de la Bahía la capa de mezcla es menos profunda que en el exterior. En las estaciones cercanas a Punta Salsipuedes (E11 y E12) se presentó una ligera disminución de la temperatura, lo que podría sugerir la presencia de surgencias. Esto es más evidente en la campaña del 2 de octubre, cuando se presentó agua con temperaturas menores a los 17 °C en superficie.

A partir del mes de noviembre existió una columna mucho más mezclada, con temperaturas menores a los 18 °C tanto en el interior como en la zona adyacente a la Bahía de Todos Santos (Figura 20 E, F). Durante los meses de febrero, marzo y abril se registraron temperaturas superficiales entre 15 °C y 17 °C y nuevamente se presentó agua más fría en superficie en la zona cercana a Punta Salsipuedes (Figura 20 G-L). Durante las campañas de febrero y marzo se observa una columna de agua con una leve estratificación, pero ésta es mucho más marcada durante el mes de abril. En esta última campaña se registró una capa de mezcla más profunda, de aproximadamente 30 m en la zona adyacente a la Bahía, en comparación con la capa de mezcla en el interior menor a los 10 m de profundidad.

### **Variación temporal**

Debido a que las mayores abundancias del dinoflagelado *Dinophysis fortii* se registraron en la región de Rincón de Ballenas, se realizó un análisis de la temperatura en dicha región para determinar si existió alguna relación entre ambas variables. Se presenta la serie de tiempo generada con datos obtenidos

mediante el arreglo de sensores Onset-HOBO Data-logger descrito en la sección VI.III.

Se observa una columna de agua estratificada durante el otoño del 2014, con temperaturas mayores a 20°C desde septiembre hasta principios de noviembre (Figura 21). A finales del mes de septiembre se observa una diferencia de temperatura entre la capa de mezcla y el fondo de más de 6 °C. Durante el mes de octubre la capa de mezcla es mucho más profunda, ya que se presentó una diferencia de temperatura de 2 °C entre la superficie y el fondo. La estratificación se pierde al inicio del invierno mientras la temperatura disminuye considerablemente. De febrero a junio del 2015 la temperatura superficial oscila entre los 15 a 18 °C.

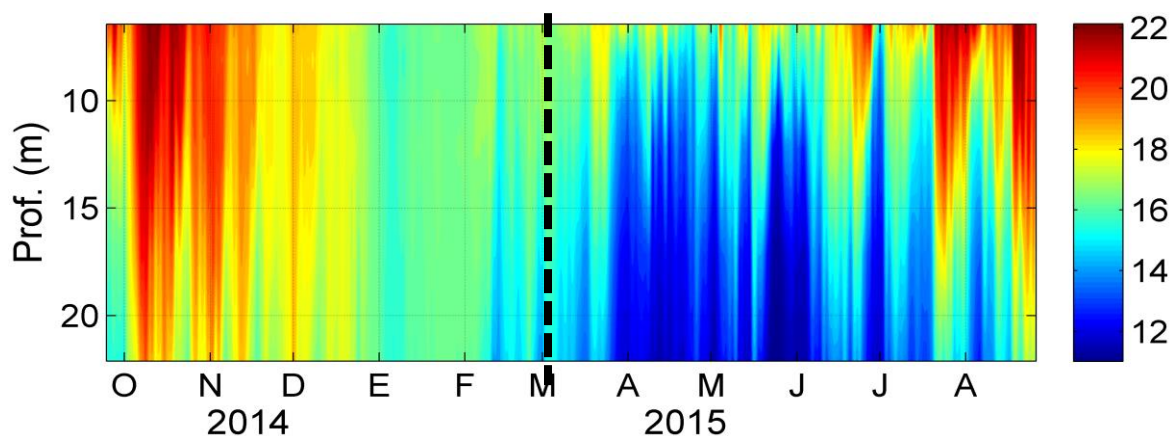


Figura 21. Serie de tiempo de temperatura a lo largo de la columna de agua en Rincón de Ballenas (coordenadas 31° 44.744'N, 116° 40.957'W). Línea punteada indica la fecha con mayor abundancia de *Dinophysis fortii* en la región.

A partir de febrero se observan pequeños pulsos de entrada de agua fría por el fondo a la zona de Rincón de Ballenas. El agua fría no alcanza la superficie (o el nivel máximo de los sensores) por lo que durante estos pulsos la estratificación de la columna de agua se incrementa. Estos pulsos de surgencia aumentan su intensidad en abril y se mantienen hasta el mes de junio. Durante

estos meses la diferencia de temperatura entre la superficie y el fondo fue de aproximadamente 6 °C. A partir de julio la temperatura superficial aumenta considerablemente alcanzando hasta 22 °C. En otoño de 2014, las temperaturas relativamente altas (20 °C) se detectaron por debajo de los 15 m de profundidad durante los meses de julio y agosto. Sin embargo, en las primeras semanas del mes de agosto se observan nuevamente pequeños pulsos de agua fría en la superficie.

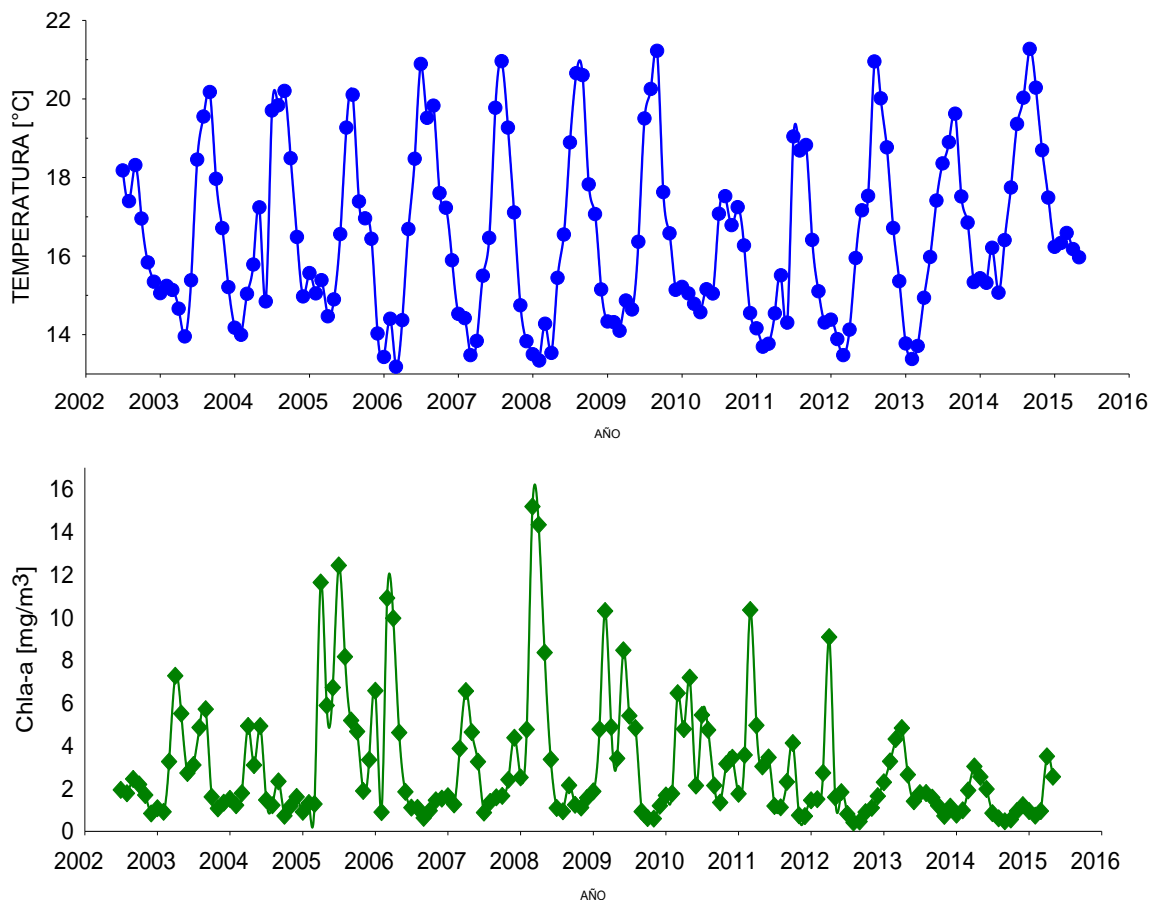
## **7.6. Variación temporal de la comunidad fitoplanctónica y la temperatura 2010-2015**

Comparando con lo reportado para el 2012 (Sánchez, 2013; García-Mendoza et al., 2014), las abundancias de *Dinophysis*, así como de la comunidad fitoplanctónica registradas en este trabajo son bajas para la región. Para evaluar si para el periodo de muestreo que comprendió este estudio se presentaron condiciones anómalas en la región, se realizó un análisis de la temperatura superficial del mar y clorofila desde el 2002 al 2015 (Figura 22), tomando promedios mensuales obtenidos a partir de los datos del AVHRR-HRPT.

La variación anual de la temperatura está representada por un aumento de esta variable en primavera, alcanzando su máximo en verano y otoño. En invierno se presentan las temperaturas más bajas. Las temperaturas máximas registradas fueron de 20 a 22 °C, a excepción de los años 2002, 2010 y 2011 cuando se presentaron temperaturas menores a 19 °C. La temperatura máxima para el verano de 2014 (21.2) fue ligeramente mayor o similar a la temperatura máxima registrada para otros años (Figura 22). Sin embargo, al comparar las temperaturas mínimas de los diferentes años, es claro que existió un aumento en los inviernos de 2014 y 2015. La temperatura de esta época antes del 2014 fue de entre 12 y 15 °C. Los 15 °C se presentaron en el invierno de 2011 (Figura 22). En invierno de 2014 la temperatura fue 1 °C más alta que la temperatura registrada en 2010;

mientras que durante el 2015 se registró un máximo histórico para invierno de 16 °C (Figura 22).

La temperatura y procesos físicos y biológicos asociados a esta variable determinan la abundancia y comunidad fitoplanctónica (Pennington y Chávez, 2000). La concentración de clorofila estimada con la información de satélite presenta, al igual que la temperatura una variación anual muy marcada. Se observa que existen en general, dos máximos de clorofila por cada año que coinciden con las épocas de primavera y verano (Figura 22). La concentración más alta de clorofila se presentó durante la transición de invierno-primavera del 2008 con valores de hasta  $16 \text{ mg m}^{-3}$  de clorofila a, mientras que para otros años la concentración no fue mayor a los  $12 \text{ mg m}^{-3}$ . A partir del año 2009 las concentraciones registradas no son mayores a  $10 \text{ mg m}^{-3}$ , pero es hasta el 2012 cuando se observa una clara disminución de las concentraciones de clorofila, con valores menores a  $5 \text{ mg m}^{-3}$ . La disminución en la concentración de clorofila durante el máximo anual para 2014 y 2015 coincide con el aumento en la temperatura para los inviernos de estos años (Figura 22).

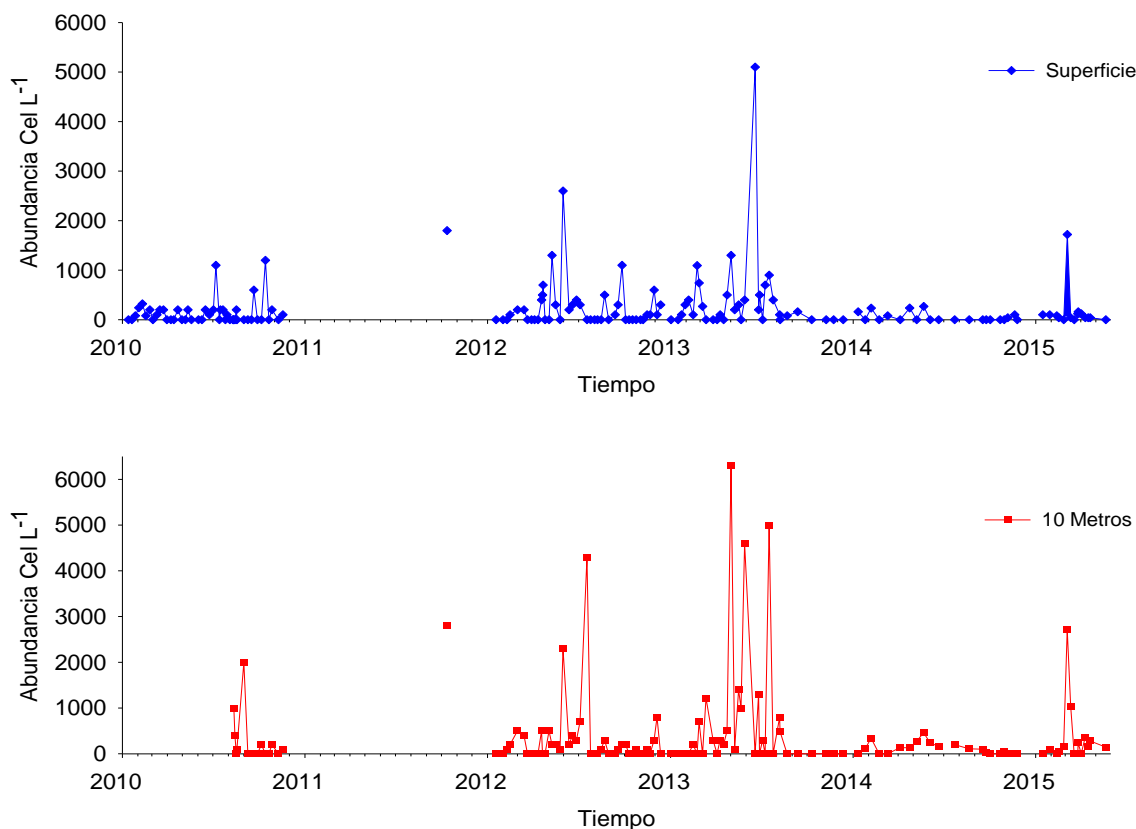


**Figura 22. Variabilidad anual de la temperatura superficial del mar de la Bahía de Todos Santos (A) y estimación de la concentración de clorofila de enero del 2002 a mayo del 2015 obtenida a partir de compuestos mensuales de datos obtenidos con el AVHRR-HRPT.**

Durante el periodo de estudio (2014-2015), *Dinophysis* sólo se presentó en abundancias importantes ( $>1000 \text{ Cel L}^{-1}$ ) en una sola fecha de muestreo, 5 de marzo del 2015. Ya que la información de la dinámica poblacional de las especies de este género es mínima, se desconoce si la abundancia baja de este organismo durante el periodo de muestreo es normal o estuvo relacionado con la reducción de la biomasa fitoplanctónica debido al calentamiento anormal que se presentó en la región. Por lo tanto, se realizó un análisis de la variación temporal del complejo *Dinophysis* para la Bahía de Todos Santos utilizando datos cuantitativos ( $\text{Cel L}^{-1}$ ) y cualitativos (%) de la comunidad fitoplanctónica en el área de Rincón de Ballenas desde el año 2010 hasta el 2015. La abundancia del fitoplancton fue analizada mediante el método de Utermöhl. Los datos fueron proporcionados por el área de

microscopía del Laboratorio de análisis e investigación de ficotoxinas marinas de CICESE (FICOTOX) que ha monitoreado la evolución de la comunidad fitoplanctónica desde enero del 2010 a la fecha.

*Dinophysis* está presente en abundancias bajas ( $<100$  Cel L<sup>-1</sup>) la mayor parte del año (Figura 23) y su abundancia aumenta generalmente al inicio del verano. Específicamente en junio y octubre del 2010 la abundancia de este género superó las 1000 Cel L<sup>-1</sup>. Para el 2011 sólo se cuenta con un dato puntual de octubre cuando este organismo alcanzó las 2500 Cel L<sup>-1</sup> tanto en superficie como en 10 m de profundidad. En el 2012 y 2013 *Dinophysis* presentó abundancias mayores a las 1000 Cel L<sup>-1</sup> en al menos 5 ocasiones durante el año, entre los meses de marzo-octubre. Incluso presentó abundancias alrededor de 6000 Cel L<sup>-1</sup> tanto en superficie como en 10 m de profundidad en mayo y junio del 2013 (Figura 23).

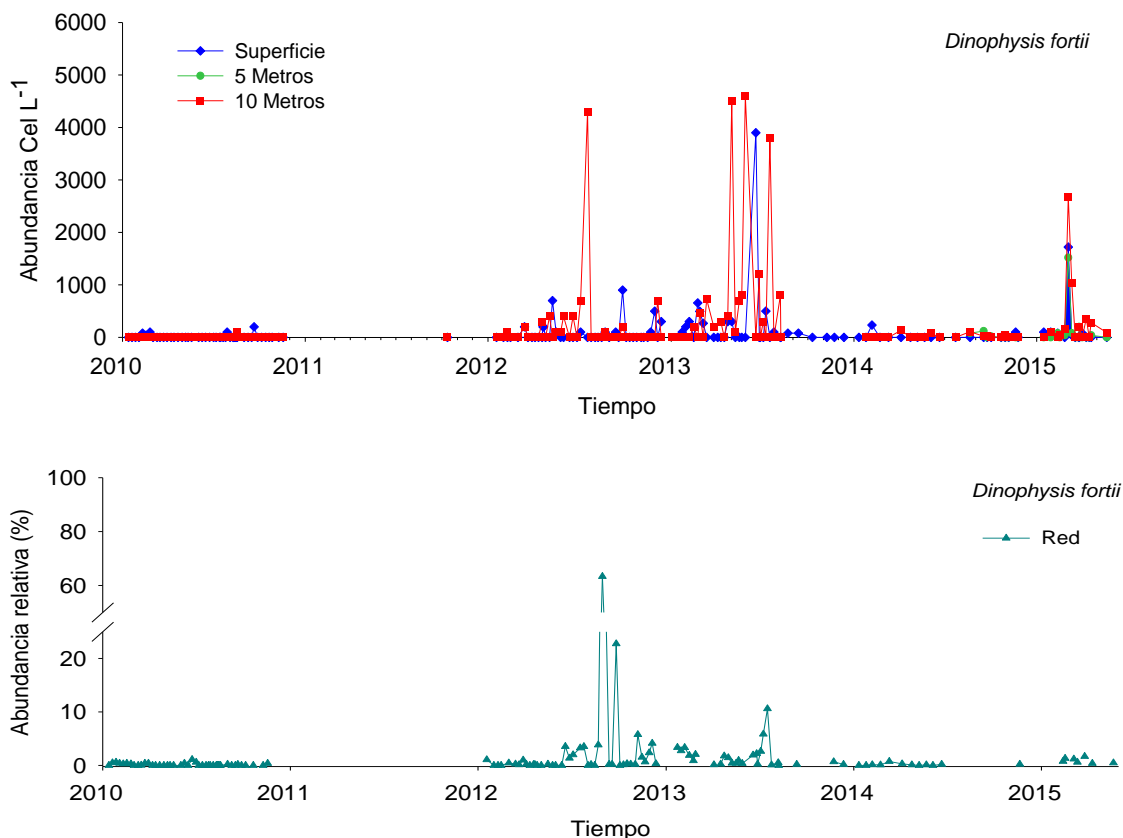


**Figura 23. Abundancia en Cel L<sup>-1</sup> del género *Dinophysis* en superficie (A) y 10 m (B) del 2010 a 2015 en el área de Rincón de Ballenas de la Bahía de Todos Santos.**



En contraste con años anteriores, en el 2014 las abundancias de este grupo fueron muy bajas y sólo se registraron 300 Cel L<sup>-1</sup> durante los meses de febrero y junio. El resto del año la abundancia fue menor a las 100 Cel L<sup>-1</sup>. Como se ha descrito anteriormente sólo en marzo del 2015 la abundancia fue mayor a las 2000 Cel L<sup>-1</sup>, tanto en superficie como en 10 metros, pero disminuye considerablemente en las semanas posteriores.

En el caso de la especie objetivo de este estudio, *Dinophysis fortii* (Figura 24) presentó abundancias superiores a las 5000 Cel L<sup>-1</sup> hasta el verano del 2012 y estuvo hasta el otoño del 2013 con abundancias superiores a las 1000 Cel L<sup>-1</sup> en más de una ocasión. Sin embargo, desde finales del 2013 y hasta principios del 2015 no se registraron abundancias mayores a las 100 Cel L<sup>-1</sup>. *D. fortii* fue más abundante en muestras de 10 metros de profundidad (Figura 24). Esta especie no suele representar porcentajes altos de la comunidad fitoplanctónica en muestras de red, generalmente representa menos del 15 % de los organismos colectados en red. En el 2014 y 2015 el porcentaje máximo registrado fue menor al 5 %.



**Figura 24. Variación anual de *Dinophysis fortii* en muestras de agua de profundidades discretas (A) y red (B) colectadas en Rincón de Ballenas de enero de 2010 a mayo de 2015.**

*D. fortii* no fue la especie más abundante del complejo *Dinophysis*. En el 2010 la especie más representativa de este grupo fue *D. caudata* y a partir del mes de abril hasta principios del 2012 la especie más abundante del género fue *D. acuminata* (Anexo 2). *D. fortii* estuvo presente desde 2010, aunque con abundancias bajas y comienza a representar una proporción importante hasta el mes de julio del 2012. Incluso durante septiembre es la especie dominante de la comunidad fitoplanctónica (Anexo 2). Para el año 2013 *D. fortii* es importante dentro del complejo *Dinophysis* pero *P. rotundata* y *D. acuminata* también presentaron abundancias importantes este año. Durante el 2014, aunque en abundancias bajas, la especie representativa del grupo fue *D. caudata*, la cual estuvo presente hasta el 2015 cuando junto con *D. fortii* son las especies más abundantes del género (Anexo 2).

### ***Dinophysis* vs Temperatura**

Como se mencionó anteriormente, en los últimos años se registró un aumento de la temperatura superficial del mar en la región, que aparentemente influyó de manera negativa sobre la presencia de una o varias especies de *Dinophysis*. Al graficar la variación de *Dinophysis* y la variación en la temperatura superficial del mar se observa que la abundancia de estos dinoflagelados aumenta cuando la temperatura del mar empieza a incrementarse después de la época de invierno y primavera, y durante los meses más cálidos del año la abundancia es menor (Figura 25). La relación entre la temperatura y la abundancia del género se presenta en la Figura 26. *Dinophysis* está presente cuando existen temperaturas entre los 13 °C y 21 °C; sin embargo, las mayores abundancias coinciden con temperaturas superficiales entre los 16 °C y 18 °C (Figura 26). Aunado a esto, las abundancias altas de este género parecen estar asociadas con inviernos fríos en periodos anteriores al incremento de la temperatura superficial del mar en abril y junio (Figura 25). Por lo tanto, en el 2014 *Dinophysis* fue poco abundante y en 2015 en solo una fecha se registraron abundancias mayores a las 2000 Cel L<sup>-1</sup>. Esto podría estar asociado a las altas temperaturas superficiales registradas en el invierno del 2014 y 2015.

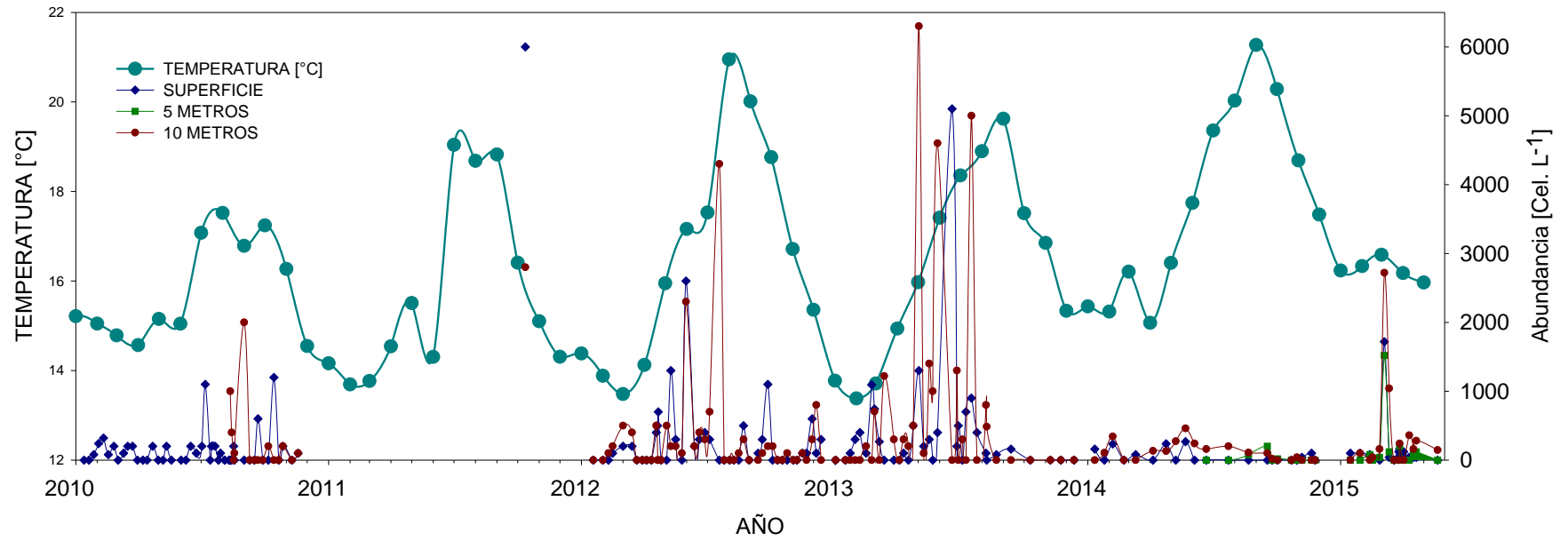


Figura 25. Variación anual de la abundancia de *Dinophysis* spp. y la temperatura superficial del mar de enero de 2010 a mayo de 2015.

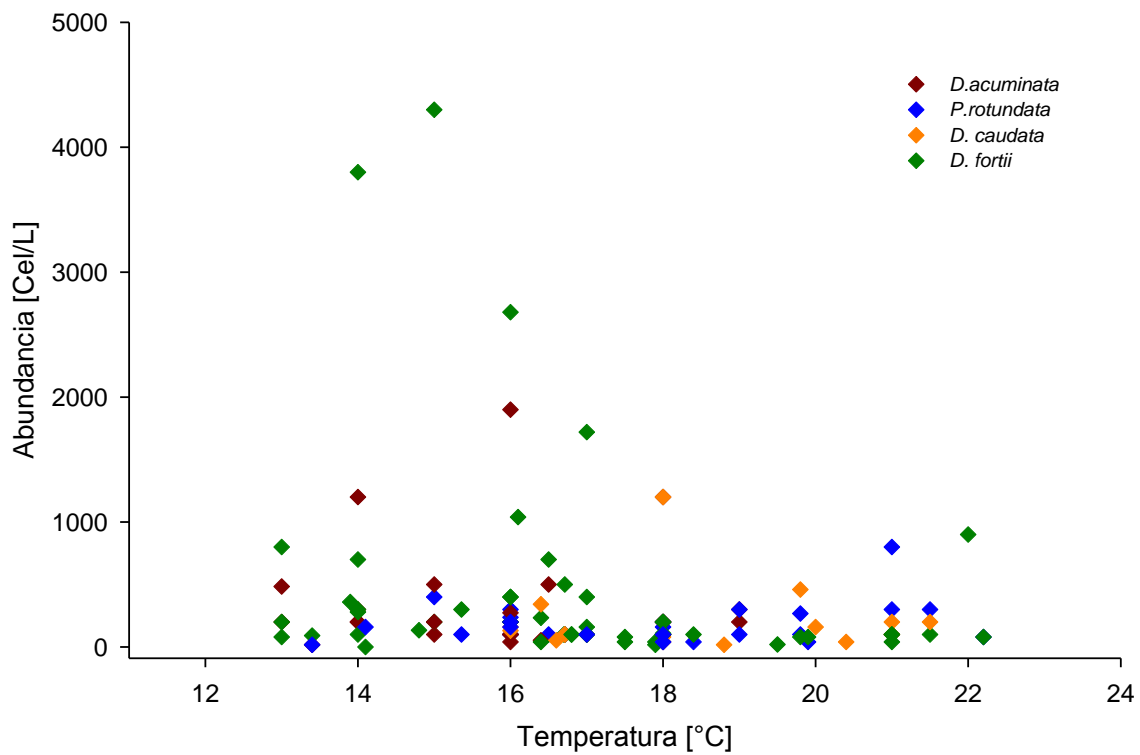


Figura 26. Relación de la abundancia de las distintas especies del género *Dinophysis* con la temperatura. Se consideran datos obtenidos de superficie, 5 y 10 metros de profundidad.

## Capítulo 8. Discusión

---

### 8.1. Comunidad fitoplanctónica y variables ambientales

La concentración de clorofila a superficial estimada de datos satelitales disminuyó a partir del 2013. Asimismo, desde el 2013 no se presentaron los dos máximos de clorofila a (uno en primavera y otro en verano) que se presentan en otros años. Esta reducción en la clorofila a coincide con la disminución en la abundancia del fitoplancton detectada durante el periodo de muestreo de este trabajo. Esta disminución estuvo probablemente relacionada a la presencia de inviernos relativamente más cálidos en los últimos dos años.

La temperatura del mar en la región de la Bahía de Todos Santos presenta una variación anual marcada con temperaturas superficiales promedio de aproximadamente 20 °C en primavera y verano y más bajas durante el invierno, de aproximadamente 13 °C. En el 2010, aparentemente un año anómalo, se registraron temperaturas de 15 °C en invierno y el verano fue relativamente frío con 17 °C. En los años posteriores y hasta el 2014 se presentaron veranos mucho más cálidos (18 a 20 °C) con una diferencia de temperatura superficial de hasta 8 °C con respecto al invierno. En los últimos 2 años se presentó un incremento de hasta 3 °C por arriba del promedio durante el invierno. Las condiciones anómalas de temperatura también están reflejadas en la variación espacial de esta variable en la región. Se observó que el interior de la BTS es más caliente que la región circundante, principalmente durante el verano del 2014 y la primavera del 2015. Asimismo, al norte se detecta una franja estrecha de agua fría que va de Punta Salsipuedes hacia la Isla Todos Santos. Esta franja fue más evidente durante el verano. La formación de esta franja fue reportada anteriormente por Calva (2014) y la asocia a la presencia de surgencias costeras. Sin embargo, en este trabajo la formación del frente de surgencia no fue tan intenso como en lo reportado por Calva (2014). El análisis de la distribución vertical de la temperatura permitió observar en subsuperficie agua más fría durante primavera y verano que durante el invierno posiblemente asociado a la presencia de surgencias aunque de poca

intensidad. Las condiciones anómalas registradas en este trabajo probablemente estuvieron asociadas a la presencia de la “alberca” de agua caliente en la bahía, condición que fue reportada para la corriente de California desde el otoño del 2014 por Leising et al. (2015). Estos autores describieron un aumento en la temperatura superficial del mar durante la segunda mitad del 2014 debido a la intrusión de una “alberca” de agua caliente (blob) a la costa.

La Bahía de Todos Santos actúa como una trampa de surgencia cuando estos eventos son más intensos en la región (Calva, 2014). El agua fría y rica en nutrientes proveniente de la boca norte entra y es retenida dentro de la Bahía por un tiempo prolongado, ya que la península de Punta Banda actúa como frontera ocasionando una circulación interna y formación de remolinos (Miranda, 2012; Larrañaga, 2013; Piñones *et al.*, 2007). La retención y calentamiento del agua de surgencia en superficie así como los pulsos de agua fría en capas subsuperficiales deben de influir en el desarrollo de la comunidad fitoplanctónica dentro de la Bahía. El aporte de nutrientes asociado a surgencias permitiría la acumulación de células fitoplanctónicas dentro de la Bahía, por lo que es probable que el aporte de nutrientes haya sido menor debido a las condiciones anómalas registradas durante el periodo de muestreo.

Las condiciones anómalas de temperatura se vieron reflejadas en abundancias fitoplanctónicas extremadamente bajas durante el periodo de muestreo (julio de 2014 a mayo de 2015) de este trabajo. La abundancia máxima de diatomeas fue de  $800 \times 10^3 \text{ Cel L}^{-1}$ , detectada en octubre del 2014 en la región de Rincón de Ballenas y su acumulación estuvo asociada a una capa de mezcla de aproximadamente 10 metros con temperaturas alrededor de los  $21 \text{ }^\circ\text{C}$  en superficie. La abundancia de este grupo disminuyó de manera considerable en fechas posteriores y es hasta marzo y abril que su abundancia aumenta de nuevo, pero no superó las  $80 \times 10^3 \text{ Cel L}^{-1}$ . Esto contrasta con lo reportado por Sánchez (2013) que observó una abundancia de  $1200 \times 10^3 \text{ Cel L}^{-1}$  durante el mes de abril con temperaturas entre los  $12 \text{ a } 15 \text{ }^\circ\text{C}$  en superficie y una columna de agua mezclada. Paredes (2014) reporta para el 2013 una abundancia máxima de este

grupo de apenas  $286 \times 10^3$  Cel L<sup>-1</sup> que se presentó en el mes de mayo y nuevamente asociadas a temperaturas bajas (14 °C) pero con una columna estratificada. Por otro lado, los dinoflagelados presentaron abundancias muy bajas en comparación con registros anteriores y no se identificó un patrón de estacionalidad marcado. Se identificaron dos periodos en los que su abundancia fue mayor a las  $20 \times 10^3$  Cel L<sup>-1</sup>. El primero de ellos se presentó en octubre en la zona cercana a Punta Salsipuedes y el segundo durante abril en la zona de Rincón de Ballenas. Paredes (2014) reportó abundancias similares para esta zona durante el mes de noviembre del 2013. Sin embargo, otros autores han reportado abundancias mayores para la misma región. Sánchez (2013) registró abundancias de hasta  $180 \times 10^3$  Cel L<sup>-1</sup> en diciembre del 2012, pero se han documentado abundancias mayores de las  $1000 \times 10^3$  Cel L<sup>-1</sup> en la BTS (Peña-Manjarrez *et al.*, 2009).

Las condiciones ambientales asociadas a una alta biomasa fitoplanctónica de distintos grupos fitoplanctónicos se ha descrito ampliamente para el sistema de la Corriente de California e incluso para otras regiones donde las surgencias juegan un papel importante en la dinámica costera (Pennington y Chávez, 2000; Trainer *et al.*, 2010). Pennington y Chávez (2000) identificaron que aguas frías con concentraciones altas de nutrientes promueven el crecimiento de las diatomeas, mientras que los dinoflagelados proliferan en condiciones de estratificación de la columna de agua. Estos autores también observaron que la comunidad fitoplanctónica suele estar dominada por diatomeas de gran tamaño cuando se presentan surgencias y posteriormente la estructura de la comunidad fitoplanctónica cambia debido a una disminución de nutrientes inorgánicos. La ausencia de surgencias intensas no permitió observar este patrón durante el periodo de estudio.

La formación de la termoclina estacional se detectó durante la primavera del 2015, asociada a un incremento de la temperatura superficial del mar. Las temperaturas superficiales máximas registradas durante el periodo de muestreo fueron de 24 °C durante el mes de septiembre del 2014 y 22 °C en agosto del



2015. Estas temperaturas son de las más altas registradas recientemente. En el 2013 se reportó una temperatura superficial máxima de 22 °C en septiembre (Paredes, 2014) mientras que García-Mendoza *et al.* (2014) registraron la misma temperatura a 5 metros durante agosto del 2012. Durante otoño del 2014 y la primavera y verano del 2015 se observó una columna estratificada con una diferencia de temperatura de 6 a 8 °C entre la superficie y el fondo, similar a lo reportado en 2012 por García-Mendoza *et al.* (2014). La estratificación se pierde en la transición de otoño a invierno cuando la temperatura superficial comienza a disminuir y la capa de mezcla es mucho más profunda. Durante este periodo la diferencia de temperatura entre la superficie y el fondo fue menor a 2 °C. Asimismo, se presentaron pequeños pulsos de entrada de agua fría durante invierno y primavera del 2015, previos a periodos cortos de estratificación de la columna de agua. Estos pulsos fueron mucho más intensos durante los meses de abril a julio. Posteriormente, la temperatura superficial aumentó más de 4°C pero la estratificación se mantiene y los pulsos de agua fría continúan presentándose pero con menor intensidad. Estos pulsos de agua fría pueden estar relacionados a eventos de surgencia que ocurren fuera de la Bahía, los cuales no fueron detectados durante las campañas de muestreo pero si fueron claros durante el verano en el análisis de la distribución superficial de la temperatura de los datos de satélite. Esta entrada de agua fría y nutrientes asociados son importantes para el crecimiento de diversas poblaciones de fitoplancton, entre ellas *Dinophysis* durante el 2012 (Sánchez, 2013; García-Mendoza *et al.*, 2014).

## **8.2. *Dinophysis***

*Dinophysis* es un género cosmopolita con aproximadamente 100 especies registradas (Gómez, 2005). Okolodkov y Gárate-Lizárraga (2006) señalan a México como un país con una alta riqueza de especies de este género, ya que reportaron 35 especies en las costas del Pacífico mexicano. Hernández-Becerril (1992) describió 7 especies del género *Dinophysis* (*D. acuminata*, *D. caudata*, *D.*

*diegensis*, *D. porodictyum*, *D. schuettii*, *D. taylorii* y *D. tripos*) en muestras provenientes del Golfo de California. Asimismo, se han reportado abundancias de hasta  $90 \times 10^3$  Cel L<sup>-1</sup> en esa misma región en el área de Bahía Concepción (Lechuga *et al.*, 1998). En la región de la Bahía de Todos Santos hay muy pocos registros de especies de *Dinophysis*. Peña-Manjarrez (2008) registró a *D. acuminata*, *D. acuta*, *D. caudata*, *D. fortii*, *P. rotundata*, *D. tripos* y una especie no identificada. Sánchez (2013) registró 7 especies durante un muestreo anual en el 2012, de las cuales *D. sp. cf. odiosa* y *P. mitra* son nuevos registros para la zona. En el presente trabajo se registraron 8 especies de *Dinophysis*, 2 de *Phalacroma* y 4 especies más identificadas solo a nivel de género (Anexo 5), 6 de ellas han sido asociadas a la producción de toxinas -*D. acuminata*, *D. caudata*, *D. fortii*, *D. tripos*, *P. rotundata* y *P. mitra* (Reguera *et al.*, 2014).

Durante el 2012 *D. acuminata* y *D. fortii* fueron las especies más abundantes superando las 6000 Cel L<sup>-1</sup> (Sánchez, 2013). Las concentraciones altas de toxinas de tipo diarreico (ácido okadaico y dinophysistoxinas) que se detectaron en moluscos cultivados de la región se asociaron a la presencia de estas dos especies (García-Mendoza *et al.*, 2014). En el presente trabajo *D. fortii* se presentó en abundancias altas solamente en una fecha de muestreo del 5 marzo del 2015. La abundancia registrada durante esta fecha fue mayor a 2000 Cel L<sup>-1</sup>. De acuerdo con Escalera *et al.* (2012), abundancias mayores a  $10^3$  Cel L<sup>-1</sup> pueden ser consideradas un florecimiento algal y es suficiente para acumular toxinas en moluscos por arriba del nivel regulatorio (Yasumoto *et al.*, 1980). Sin embargo, esto depende del potencial tóxico de cada especie y puede variar de región a región. Es por ello que se intentó evaluar la concentración de toxinas en células de *D. fortii* y *D. caudata* de la BTS. Se detectó una concentración de 14.4 pg Cel<sup>-1</sup> de pectenotoxinas (PTX2) en muestras de *D. fortii* pero sólo se detectaron trazas de ácido okadaico (AO) y dinofisistoxinas 1 y 2 (DTX1 y DTX2) en ambas especies. En muestras de campo en Japón se reportan concentraciones de 23 pg Cel<sup>-1</sup> de AO, 51 a 64 pg Cel<sup>-1</sup> de PTX2 y 8 a 11 pg Cel<sup>-1</sup> de DTX1 en *D. fortii* (Lee *et al.*, 1989; Susuki *et al.*, 2009). En cultivos, cepas de esta especie pueden contener altos niveles de PTX2 (180 pg Cel<sup>-1</sup>), niveles moderados de AO (<10 pg

$\text{Cel}^{-1}$ ) y trazas de DTX1 ( $<0.6 \text{ pg Cel}^{-1}$ ) (Nagai *et al.*, 2011). Los valores registrados en este trabajo son bajos comparados con registros existentes. Esto se asocia a un problema metodológico ya que existió interferencia de las sales presentes en la muestra que no permitió la ionización de las toxinas e impidió su detección.

A diferencia del 2012 cuando se registraron las abundancias altas en verano y otoño (Sánchez, 2013; García-Mendoza *et al.*, 2014) la abundancia más alta de *D. fortii* para el periodo de muestreo de este trabajo se presentó a principios de primavera. En las Rías de Vigo se han presentado florecimientos de *D. acuminata* en primavera (Reguera *et al.*, 2012) y se han asociado con un probable aumento de la temperatura superficial durante esta época. Asimismo, en la costa portuguesa se ha reportado la presencia de *D. acuta* y *D. caudata* en abundancias altas desde finales de primavera hasta principios de otoño (Moita *et al.*, 2006).

El florecimiento de *D. fortii* detectado en el presente trabajo ocurrió después de un periodo de mezcla vertical presente en el invierno y coincidió con una leve estratificación de la columna de agua precedida por pequeños pulsos subsuperficiales de agua fría. Los florecimientos reportados durante el 2012 en la Bahía se presentaron cuando existía estratificación en la columna de agua posterior a eventos de surgencia (García-Mendoza *et al.*, 2014). Este patrón del incremento poblacional de *Dinophysis* relacionado con pulsos de surgencia, estratificación y viento ha sido reportado por varios autores para diferentes regiones (Maestrini, 1998; Reguera *et al.*, 2003; Moita *et al.*, 2006; Trainer *et al.*, 2010; Reguera *et al.*, 2012; Velo-Suarez *et al.*, 2014). Asimismo, la relación de la presencia de altas abundancias de *Dinophysis* con condiciones de estratificación de la columna de agua se ha documentado desde hace más de 20 años (Delmas *et al.*, 1992; Reguera *et al.*, 1995; Peperzak *et al.*, 1996). Incluso Delmas *et al.* (1992) sugirió que una estratificación fuerte con un gradiente de temperatura de al menos  $5 \text{ }^{\circ}\text{C}$  entre la capa de mezcla y aguas profundas y una duración de por lo menos 2 semanas de esta condición son factores necesarios para un incremento en la abundancia de *Dinophysis*. En este trabajo, el florecimiento de *D. fortii* se

presentó cuando existió una estratificación leve con un gradiente de temperatura mayor a 3 °C. Esta condición no se mantuvo por más de una semana y probablemente este fue un factor importante para la desaparición tan abrupta del florecimiento de *Dinophysis*.

El análisis de la presencia de este dinoflagelado en los últimos 5 años en la Bahía de Todos Santos demostró que existe un patrón muy marcado donde las abundancias máximas se presentan principalmente durante la transición primavera a verano, cuando hay un incremento en la temperatura superficial del agua después de la época de invierno. Las abundancias más altas de este género se encontraron frecuentemente en muestras a 10 metros lo que coincide con Carpenter *et al.* (1995) y Moita *et al.* (2006), que reportan que *Dinophysis* se acumula en abundancias altas en capas subsuperficiales de la columna de agua. Durante 2012 y 2013 se registraron abundancias mayores de las 5000 Cel L<sup>-1</sup>, que estuvieron asociadas a las vedas sanitarias impuestas por la detección de toxinas DSP por arriba del límite permitido en moluscos cultivados de la región (<http://www.cofepris.gob.mx/AZ/Paginas/Marea%20roja>). *Dinophysis* no se presentó en abundancias altas prácticamente desde el otoño del 2013 y hasta principios de primavera de 2015. Esto probablemente estuvo relacionado con las condiciones ambientales asociadas a las temperaturas altas registradas durante el periodo de estudio.

Escalera *et al.* (2006) registraron que la especie dominante de *Dinophysis* en las Rías de Vigo cambiaba dependiendo de las condiciones ambientales. *D. acuminata* estuvo presente desde abril hasta octubre del 2002, coincidiendo con una temperatura superficial del mar de alrededor de 17 °C y desaparece una vez que la temperatura aumenta. En la misma región, *D. acuta* se presentó de septiembre a noviembre del 2003 (Escalera *et al.*, 2006). Este retraso en la aparición de *Dinophysis acuta* estuvo relacionado a las temperaturas elevadas registradas en las Rías de Vigo durante primavera y verano para ese año y es hasta septiembre donde la temperatura bajo a 17 °C (Escalera *et al.*, 2006). El análisis de la variación anual de *Dinophysis* en la BTS indica que la especie más

abundante ha variado en los últimos 5 años. *D. fortii* no fue siempre la especie más abundante. El intervalo de temperatura que esta especie puede soportar es muy amplio y varía de región a región. Por ejemplo, en la bahía de Mutsu en Japón se ha reportado la presencia de *D. fortii* a una temperatura de entre los 2 a 4 °C (Fukuyo, 1984), mientras la misma especie se presenta entre los 7 y 22 °C en la bahía de Okkirai (Koike *et al.*, 2001). En cambio, en la Bahía de Todos Santos las abundancias más altas de *D. fortii* se han registrado entre los 16 y 18 °C. Probablemente el cambio de especies más abundantes de este género, y la presencia de *D. fortii*, está relacionado con procesos físicos (ciclos de surgencias y estratificación de la columna de agua) y presencia de presas potenciales (ver siguiente sección) y no con la preferencia térmica de cada especie.

### 8.3. Interacción predador-presa

La presencia de plástidos polimórficos en *Dinophysis* indica que es capaz de alimentarse de diversos organismos de los cuales puede obtener estos organelos (Reguera *et al.*, 2012). *D. caudata* posee en cultivo dichos plástidos polimórficos que provienen del ciliado *Mesodinium rubrum*, única presa identificada para esta especie (Park *et al.*, 2010), *D. caudata* absorbe los cloroplastos de *M. rubrum* mediante el uso de un pedúnculo (Park *et al.*, 2006). Este ciliado es cosmopolita, común en ambientes costeros y se han registrado florecimientos de esta especie en el Pacífico Mexicano (Cortez-Altamirano *et al.*, 1996). *Mesodinium rubrum* presenta un comportamiento de cleptoplastía ya que secuestra los cloroplastos de diversas especies de criptofitas (Gustafson *et al.*, 2000; Johnson y Stoecker, 2005). La presencia de las criptofitas y *M. rubrum* en el medio natural favorece el crecimiento poblacional de *Dinophysis* (Kim *et al.*, 2008).

*M. rubrum* estuvo presente en Rincón de Ballenas prácticamente todo el año con abundancias de entre las 500 a 1500 Cel L<sup>-1</sup>. De igual manera las criptofitas debieron estar presentes prácticamente todo el año considerando que se detectó aloxantina en la mayoría de las muestras con una relación alo/chla-a de

0.5 a 1.5. Hasta el momento no se ha identificado con certeza cuál es el rol que juega la aloxantina dentro de estos tres grupos algales. Henriksen *et al.* (2002) identificaron que en criptofitas la concentración de aloxantina puede ser hasta 4 veces mayor que la concentración de clorofila a en condiciones de deficiencia de nitrógeno o alta irradiancia, incluso Schlüter *et al.* (2000) reportaron que la alta irradiancia promueve el aumento de la proporción aloxantina/clorofila-a como una función de fotoprotección. El rol de este pigmento, la funcionalidad de los cloroplastos, así como la importancia de estos organelos en el metabolismo de *Dinophysis* no se ha estudiado.

Durante el septiembre de 2014 *M. rubrum* alcanzó abundancias mayores a 600 Cel L<sup>-1</sup> pero no fue el grupo dominante de la columna de agua. Sin embargo, en esta época se detectó una razón aloxantina/clorofila-a alta, con valores de hasta 2 en superficie. Es probable que para esta época la abundancia relativa de criptofitas fuera alta, ya que *Dinophysis* y *Mesodinium rubrum* se presentaron en muy bajas abundancias. El evaluar la abundancia de criptofitas por microscopía es difícil debido a su tamaño celular. La concentración de clorofila y de aloxantina aumenta a partir de la segunda semana de enero y las concentraciones más altas de este último pigmento se registraron en abril, coincidiendo con las abundancias más altas registradas de *Mesodinium rubrum* y *Dinophysis* durante el periodo de muestreo. Sin embargo, la razones bajas de la aloxantina/clorofila a para estas épocas indican que la biomasa relativa de estos grupos en la comunidad (clorofila a) fue baja debido al incremento poblacional de otros grupos fitoplanctónicos carentes de pigmento huella aloxantina.

*M. rubrum* se distribuyó en toda la zona de estudio durante el periodo de muestreo pero las abundancias más altas se localizaron en el área de Rincón de Ballenas. Las altas abundancias registradas durante el mes de febrero (6000 Cel L<sup>-1</sup>), pudieron ser un factor clave en el aumento de *Dinophysis* en las semanas posteriores.

Los resultados demostraron que existió una segregación espacial y temporal entre *D. fortii* y *M. rubrum*. Durante la campaña del 5 de marzo del 2015,

fecha en la que se presentó el florecimiento de *Dinophysis fortii* en Rincón de Ballenas, *M. rubrum* no se detectó en esta área y fue más abundante en estaciones alejadas (hacia Punta Salsipuedes y la Isla Todos Santos). Es probable que la distribución esté relacionada con la predación de *Dinophysis* sobre *M. rubrum* o de un probable comportamiento de evasión de esta última especie. Sjöqvist y Lindholm (2011) sugieren que *M. rubrum* migra a capas más profundas cuando *D. acuminata* migra a capas con abundancias altas de *M. rubrum*, lo que sugiere un comportamiento de evasión por una interacción predador-presa entre ambas especies. El patrón de distribución que se encontró en el presente trabajo es similar al reportado para *M. rubrum* y *D. acuminata* por Sjöqvist y Lindholm (2011).

La interacción predador a presa entre *D. fortii* y *M. rubrum* sugerida por la distribución temporal y espacial de estas especies se vio reflejada también en el porcentaje de células de *D. fortii* con vacuolas digestivas en su interior. La presencia de estas vacuolas es utilizada como indicador de una alimentación fagotrófica reciente (Nagai *et al.*, 2013). Reguera (2012) reportó que las células vegetativas de diversas especies de *Dinophysis* presentan cambios morfológicos tras alimentarse fagotróficamente. El volumen de las células aumenta de manera considerable y adquieren una pigmentación intensa, además de contener un gran número de vacuolas en el citoplasma (Reguera, 2012). En este trabajo el tamaño y número de vacuolas contenidas en *Dinophysis* varió en las diferentes campañas de muestreo. Sin embargo, los porcentajes más altos de células con vacuolas de mayor tamaño se detectaron después de presentarse una abundancia alta de *Mesodinium rubrum* en el medio. Durante el otoño de 2014 las células presentaban vacuolas menores de 6  $\mu\text{m}$ , mientras que las células colectadas en los meses de marzo a abril contenían un mayor número de vacuolas con tamaños mayores de 6  $\mu\text{m}$ . En condiciones de cultivo, la desaparición de cloroplastos de gran tamaño (> 6  $\mu\text{m}$ ) en *D. fortii* ocurre aproximadamente 4 semanas después de eliminarle el alimento (Nagai *et al.*, 2008). Asimismo, *D. tripos* pierde sus cloroplastos después de 5 semanas de inanición y puede adquirirlos nuevamente al ser alimentados fagotróficamente (Nagai *et al.*, 2013).

En este trabajo además de detectarse células con vacuolas digestivas o cloroplastos también se observaron células con gránulos de almidón solamente. Las células con estas características se presentaron en octubre del 2014. Esto sugiere que estas células habían pasado por un periodo de inanición prolongado y se acumularon sustancias de reserva. Probablemente las condiciones ambientales no fueron favorables durante los meses previos con una abundancia baja de la presa de este dinoflagelado.

Un factor que también pudo influir en la desaparición del florecimiento de *Dinophysis* registrado en marzo del 2015 es la presencia del dinoflagelado *Fragilidium* sp. Estos dinoflagelados son mixótrofos facultativos que se alimentan de otros dinoflagelados, y presentan cierta selectividad por un grupo específico (Park y Kim, 2010; Rodríguez *et al.*, 2014; Park *et al.*, 2015). Rodríguez *et al.* (2014) reportaron que *F. duplocampanaeforme* tiene preferencia por las especies de *Dinophysis*, mientras que *F. subglobosum* y *F. mexicanum* prefieren alimentarse de otros géneros como *Ceratium* y *Alexandrium*. Asimismo, Park *et al.* (2015) observaron que a pesar de que *F. duplocampanaeforme* no ingería todas las especies de *Dinophysis*, sí mostraba efectos alelopáticos en todas ellas, afectando principalmente su movilidad.

No se cuantificó la abundancia de *Fragilidium* sp debido a la dificultad en la identificación de esta especie mediante técnicas de microscopia tradicionales, pero estuvo presente principalmente en muestras de los meses de noviembre de 2014 y marzo de 2015. Se necesita investigar si esta especie es un factor importante para la desaparición de los florecimientos de *Dinophysis fortii* en la región y por lo tanto, es necesario evaluar la presencia y abundancia de *Fragilidium* y su impacto sobre otras especies de dinoflagelados en la zona.

La hipótesis planteada en este trabajo sugiere que los florecimientos de *Dinophysis fortii* se desarrollan fuera de la Bahía, en la zona de los frentes de surgencia que se presentan al noroeste de la región. El modelo conceptual derivado de esta hipótesis indica que en los frentes es donde se presenta la interacción con el ciliado *Mesodinium rubrum*. La información derivada de los



diferentes muestreos no sustenta este modelo conceptual. Durante el periodo de muestreo no existió un frente de surgencia intenso como en otros años y probablemente debido a esto no se detectó una población importante de *M. rubrum* o *D. fortii* en estas zonas que sugiera que esta última especie fuera transportada hacia la Bahía. Sin embargo, sí se detectó un florecimiento al interior de la Bahía y la presencia del ciliado *M. rubrum* influyó en el desarrollo de este florecimiento de *D. fortii*. Probablemente este dinoflagelado está presente en abundancias bajas al interior de la Bahía y específicamente cerca de la zona de cultivo de moluscos bivalvos, hasta que las condiciones ambientales o de alimentación favorecen su incremento poblacional.

A pesar de que se observó la formación de un florecimiento de *D. fortii* asociado a la presencia de *M. rubrum* en las fechas previas, éste desapareció rápidamente. No se conocen los factores que influyen en el mantenimiento de un florecimiento de este tipo en la región. Es fundamental conocer la ecología, pero también por sus implicaciones sanitarias, de las poblaciones con potencial tóxico y nocivo en la región de la BTS.

## Capítulo 9. Conclusiones

---

- Se registraron 8 especies del género *Dinophysis* y 2 del género *Phalacroma* en la Bahía de Todos Santos: *D. acuminata*, *D. caudata*, *D. diegensis*, *D. fortii*, *D. odiosa*, *D. tripos*, *P. mitra*, *P. rotundata* y 2 especies más sin identificar.
- *D. fortii* fue la especie más abundante, presentándose un florecimiento de esta especie con aproximadamente 3000 Cel L<sup>-1</sup> el 5 de marzo del 2015.
- *Dinophysis* se presentó de primavera a otoño, coincidiendo con periodos de estratificación de la columna de agua después de una intrusión de agua fría en la zona de Rincón de Ballenas. El florecimiento de *D. fortii* se localizó en el área de Rincón de Ballenas posterior a un periodo de mezcla vertical durante invierno y asociado a una leve estratificación de la columna de agua precedida por un pulso de entrada de agua fría a la zona.
- *Mesodinium rubrum* se presentó durante todo el año. Se registró una abundancia máxima de 6000 Cel L<sup>-1</sup> durante el invierno en el área de Rincón de Ballenas. Existió una separación espacial y temporal de las poblaciones de *D. fortii* y *M. rubrum* lo que refleja una probable interacción predador y presa entre ambas especies.
- Se registró un incremento en el número y tamaño de las vacuolas digestivas de *D. fortii* durante el florecimiento de esta especie, lo que indica que existió una alimentación fagotrófica reciente.
- Durante el periodo de muestreo se presentaron condiciones ambientales anómalas caracterizadas por la formación de un frente de surgencia no tan intenso y un invierno cálido en comparación con años anteriores. Estas condiciones ocasionaron probablemente la reducción importante de la abundancia fitoplanctónica y en específico de *Dinophysis*.

## Lista de referencias bibliográficas

- Abé, T.H. (1967). The armoured dinoflagellata: II. Prorocentridae and dinophysidae (B)- *Dinophysis* and its allied genera. *Marine Biological Laboratory*, 15, 37-78.
- Almazán-Becerril, A. (2007). *Características fisiológicas y composición pigmentaria de las comunidades fitoplanctónicas en la región sur de la Corriente de California (RSCC) y el Pacífico Nororiental Tropical (ENTP)*. Tesis de doctorado. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. 139 p.
- Almazan-Becerril, A., García-Mendoza, E. (2008). La eficiencia cuántica máxima de separación de carga del fotosistema II de la comunidad de fitoplancton en el Pacífico Nororiental Tropical Mexicano: ¿Una herramienta adecuada para diagnosticar el estrés por nutrientes?. *Ciencias Marinas*, 34 (1), 29-43.
- Argote, E., Gavidia, F.J., Amador, A. (1991). Wind-induced circulation in Todos Santos Bay, B.C., México. *Atmósfera*, 4(2), 101-115.
- Balech, E. (1988). Los dinoflagelados del Atlántico Sudoccidental. Publ. Espec., Inst. Español Oceanográfico, 1, 310 pp.
- Barker, H.A. (1935). The culture and physiology of the marine dinoflagellates. *Arch. Microbiol.*, 6(1), 157–181.
- Calva-Chávez, A. (2014). *Variación estacional y sinóptica de la trampa de surgencia en la Bahía de Todos Santos, B.C.* Tesis de maestría. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California. 49 p.
- Carlucci, A. F., Eppley, R. W., Beers, J.R. (1986). Introduction to the Southern California Bight. In: Eppley RW (ed.), *Lecture Notes on Coastal and Estuarine Studies: Plankton Dynamics of the Southern California Bight* (pp. 1–12). Springer-Verlag.
- Carpenter, E.J., Janson, S.; Boje, R., Pollehne, F., Chang, J. (1995). The dinoflagellate *Dinophysis norvegica*: biological and ecological observations in the Baltic Sea. *Eur. J. Phycol.*, 30(1), 1–9.
- Cortés-Altamirano, R., Hernández-Becerril, D.U., Luna-Soria, R. (1996). Red tides in Mexico: A review.101-104 p. In: Yasumoto, T; Oshima, Y; and Fukuyo, Y. (eds). *Harmful and toxic algal blooms*. I OC- UNESCO
- Cupp, E.E. (1943). Marine Plankton Diatoms of the West Coast of North America. *Bulletin of the Scripps Institution of Oceanography*, 5, 1-238.

- Delmas, D., Herbland, A., Maestrini, S.Y. (1992). Environmental conditions which lead to increase in cell density of the toxic dinoflagellates *Dinophysis* spp. in nutrient-rich and nutrient-poor waters of French Atlantic coast. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 89(1), 53–61.
- Doubell, M., Prairie, J.C., Yamazaki, H. (2014). Millimeter-scale profiles of chlorophyll fluorescence: deciphering the microscale spatial structure of phytoplankton. *Deep-Sea Res. II*, 101, 207-215.
- Escalera, L., Reguera, B., Pazos, Y., Morono, A., Cabanas, J. M. (2006). Are different species of *Dinophysis* selected by climatological conditions?. *Afr. J. Mar. Sci.*, 28(2), 283–288.
- Escalera, L., Pazos, Y., Doval, M. D., Reguera, B. (2012). A comparison of integrated and discrete depth sampling for monitoring toxic species of *Dinophysis*. *Marine Pollution Bulletin*, 64(1), 106-113.
- Fukuyo, Y. (1984). Okkirai Bay with the occurrence of dinoflagellates. En: Marumo, R. y Kouseikaku, K. (Ed) *Kaiyo-no-seibutsukatei*. (pp. 10-13).
- García-Cuetos, L., Moestrup, O., Hansen, P.J., (2012). Studies on the genus *Mesodinium* II. Ultrastructural and molecular investigations of five marine species help clarifying the taxonomy. *Journal of Eukariotic Microbiology*, 59 (4), 374-400.
- García-Mendoza, E., Sánchez-Bravo, Y.A., Turner, A., Blanco, J., O’Neil, A., Mancera-Flores, J., Pérez-Brunius, P., Rivas, D., Almazán-Becerril, A., Peña-Manjarrez, J.L., (2014). Lipophilic toxins in cultivated mussels (*Mytilus galloprovincialis*) from Baja California, México. *Toxicon*, 90, 111-123.
- Gomez, F. (2005). A list of free-living dinoflagellate species in the world’s oceans. *Acta Botanica Croatia*, 64(1), 129-212.
- Gustafson, D. E., Stoecker, D.K., Jhonson, M.D., Van-Heukelem, W. F., Sneider, K. (2000). Cryptophyte algae are robbed of their organelles by the marine ciliate *Mesodinium rubrum*. *Nature*, 405 (6790), 1049-1052.
- Hackett, J., Maranda, L., Yoon, H., Bhattacharya, D. (2003). Phylogenetic evidence for the cryptophyte origin of the plastid of *Dinophysis* (Dinophysiales, Dinophyceae). *J. Phycol.*, 39 (2), 440–448.
- Hallegraeff, G.M. (2003). Harmful algal blooms: a global overview. En: Hallegraeff, G.M., Anderson, D.M., Cembella, A.D. (Ed). *Manual on Harmful Marine Microalgae*. (pp. 25-50). UNESCO Publishing.
- Hansen, P. J., Nielsen, L.T., Johnson, M., Berge, T., Flynn, K.J. (2013). Acquired phototrophy in *Mesodinium* and *Dinophysis*. A review of cellular

organization, prey selectivity, nutrient uptake and bioenergetics. *Harmful Algae*, 28, 126-139.

- Henriksen, P., Riemann, B., Kaas, H., Munk, H., Sorensen, H. M., Sorensen, H.L., (2002). Effects of nutrient-limitation and irradiance on marine phytoplankton pigments. *Journal of Plankton Research*, 24 (9), 835-858.
- Heredia-Tapia, A., Arredondo-Vega, B.O., Nuñez-Vásquez, E.J., Yasumoto, T., Yasuda, M., Ochoa, J.L. (2002). Isolation of *Prorocentrum lima* (Syn. *Exuviella lima*) and diarrheic shellfish poisoning (DSP) risk assesment in the Gulf of California. México. *Toxicon*, 40(8), 1121-1127.
- Hernández-Becerril, D.U., (1992). *Dinophysis taylorii*, sp.nov. y otros *Dinophysis* de Baja California, México (Dinophyceae). *Rev. Biol. Trop.*, 40(1), 101-109.
- Ishimaru, T., Inoue, H., Fukuyo, Y., Ogata, T., Kodama, M. (1988). Cultures of *Dinophysis fortii* and *D. acuminata* with the cryptomonad, *Plagioselmis* sp. En: Aibara, K., Kumagai, S., Ohtsubo, K., Yoshizawa, T. (Eds.), *Mycotoxins and Phycotoxins*. (pp. 19–20). Jap. Ass. Microtoxicol. Fac. Pharm. Sci., Univ. Tokyo.
- Johnsen, T.M., Lømsland, E.R. (2010). Observations of *Dinophysis tripos* in Norwegian coastal waters. In: Book of Abstracts and Programme, 14th International Conference on Harmful Algae, Hersonissos-Crete, Greece p. 138.
- Johnson, M. D., Stoecker, D. K. (2005). Role of feeding in growth and photophysiology of *Myrionecta rubra*. *Aquatic Microbial Ecology*, 39(3), 303-312.
- Jorgensen, E. (1923). Mediterranean Dinophysiaceae. Rep. Dan. *Oceanogr. Exped.*, 2 (J2), 1–48.
- Kim, S., Kang, Y. G., Kim, H. S., Yih, W., Coats, D. W., Park, M. G., (2008). Growth and grazing responses of the mixotrophic dinoflagellate *Dinophysis acuminata* as functions of light intensity and prey concentration. *Aquatic Microbial Ecology*, 51, 301-310.
- Kofoed, C.A., Skogsberg, T. (1928). The Dinophysoideae. Mem. Mus. Comp. Zool. Har., 51, 1–766.
- Koike, K., Otake, H., Takahagi, M., Yoshida, T., Ogata, T., Ishimaru, T. D. W., Park, M. G., (2001). Recent occurrences of *Dinophysis fortii* (Dinophyceae) in the Okkirai Bay, Sanriku, Northern Japan, and Related Enviromental Factors. *Journal of Oceanography*, 57(2), 165-175.

- Larrañaga- Fu, M. A. (2013). *Variabilidad de la circulación superficial en la Bahía Todos Santos, Baja California, México*. Tesis de maestría. Universidad Autónoma de Baja California. 64 p.
- Lechuga-Devéze, C. H., Morquecho-Escamilla, M. L. (1998). Early spring potentially harmful phytoplankton in Bahía Concepción, Gulf of California. *Bulletin of marine science*. 63 (3), 503-512.
- Lee, J.S., Igarashi, T., Fraga, S., Dahl, E., Hovgaard, P., Yasumoto, T., (1989). Determination of Diarrhetic Shellfish toxins in various dinoflagellate species. *J. Apply. Phycol.*, 1(2), 147-152.
- Leising, A.W., Schroeder, I.D., Bograd, S.J., Abell, J., Durazo, R., Gaxiola-Castro, G., Bjorkstedt, E.P., Field, J., Sakuma, K., Robertson, R.R., Goericke, R., Peterson, W.T., Brodeur, R., Barceló, C., Auth, T.D., Daly, E.A., Suryan, R.M., Gladics, A.J., Porquez, J.M., McClatchie, S., Weber, E.D., Watson, W., Santora, J.A., Sydeman, W.J., Melin, S.R., Chavez, F.P., Golightly, R.T., Schneider, S.R., Fisher, J., Morgan, C., Bradley, R., Warybok, P., (2015). State of the California Current 2014-2015: El Niño vs the "Blob". *CalCOFI Reports*, 56, 31-68.
- Lembeye, G., Yasumoto, T., Zhao, J., Fernandez, R., (1993). DSP outbreaks in Chilean fiords. In: Smayda, T.J., Shimidzu, Y. (Ed.). *Toxic Phytoplankton Blooms in the sea*. (pp 525-529). Elsevier, Amsterdam,
- Lips, U., Lips, I., Líblik, T., Kikas, V., Altoja, K., Buhhalko, N., Rünk, N. (2011). Vertical dynamics of summer phytoplankton in a stratified estuary (Gulf of Finland, Baltic Sea). *Ocean Dyn*, 61(7), 903-915.
- Lucas, I.A.N., Vesik, M., (1990). The fine structure of two photosynthetic species of *Dinophysis* (Dinophysiales, Dinophyceae). *J. Phycol.* 26 (2): 345–357.
- Lewis, J., Higman, W., Kuenster, S., (1995). Occurrence of *Alexandrium* sp. cysts in sediments from the North East coast of Britian. In: P. Lassus, G. Arzul, E. Erard, P. Gentain y C. Marcaillou-LeBaut (Ed.). *Harmful marine algal blooms* (pp 175-180). Lavoisier Science Publishers, Paris.
- Mackezie, L., (1992). Does *Dinophysis* (Dinophyceae) have a sexual life cycle?. *Journal of Phytoplankton*, 28(3), 399-406.
- Maestrini, S.Y., Berland, B.R., Grzebyk, D., Spanò , A.M. (1995). *Dinophysis* spp. cells concentrated from nature for experimental purposes, using size fractionation and reverse migration. *Aquat. Microb. Ecol.* 9(2), 177–182.
- Maestrini, S.Y. (1998). Bloom dynamics and ecophysiology of *Dinophysis* spp. En: Anderson, D.M., Cembella, A.D., Hallegraeff, G.M. (Ed.), *Physiological Ecology of Harmful Algal Blooms*. (pp 243-266) NATO ASI Series,

Series G, Ecological Science. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.

- Margalef, R., (1969). Counting. In: R.A. Vollenweider, J.F. Talling y D.F. Westlake (Ed.). *A manual on methods for measuring primary production in aquatic environments including a chapter on bacteria. London International Biological Programme.* (pp 7-14). Blackwell Scient. Publ., Oxford.
- Miranda, B. L., (2012). Caracterización de las Corrientes en las entradas y alrededores de la Bahía de Todos Santos. Tesis de maestría. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. 57p.
- Moita, M. T., Sobrinho-Goncalvez, L., Oliveira, P.B. Palma, S., Falcao, M. (2006). A bloom of *Dinophysis acuta* in a thin layer off North-West Portugal. *Afr. J. Mar. Sci.*, 28(2), 265-269
- Nagai, S., Nishitani, G., Tomaru, Y., Sakiyama, S., Kamiyama, T. (2008). Predation by the toxic dinoflagellate *Dinophysis fortii* on the ciliate *Myrionecta rubra* and observation of sequestration of ciliate chloroplasts. *Journal of Phycology*, 44 (4), 909-922.
- Nagai, S., Susuki, T., Nishikawa, T., Kamiyama, T., (2011). Differences in the production and excretion kinetics of okadaic acid, dinophysistoxina-1, and pectenotoxina-2 between cultures of *Dinophysis acuminata* and *Dinophysis fortii* isolated from western Japan. *J. Phycol.* , 47(6), 1326-1337.
- Nagai, S., Suzuki, T., Kamiyama, T. (2013). Successful cultivation of the toxic dinoflagellate *Dinophysis tripos* (Dinophyceae). *Plankton Benthos Res.*, 8(4), 171–177.
- Nishitani, G., Sugioka, H., Imai, I., (2002). Seasonal distribution of species of the toxic dinoflagellate genus *Dinophysis* in Maizuru Bay (Japan), with comments on their autofluorescence and attachment of picophytoplankton. *Harmful Algae*, 1(3), 253-264.
- Nishitani, G., Miyamura, K., Imai, I. (2003). Trying to cultivation of *Dinophysis caudata* (Dinophyceae) and the appearance of small cells. *Plankton Biol. Ecol.*, 50(2), 31–36.
- Nishitani, G.; Nagai, S.; Sakiyama, S.; Kamiyama, T. (2008). Successful cultivation of the toxic dinoflagellate *Dinophysis caudata* (Dinophyceae). *Plankton Benthos Res.*, 3(2), 78–85.
- Ochoa, J.L., Sánchez-Paz, A., Cruz-Villacorta, A., Núñez-Vázquez, E., Sierra-Beltrán, A. (1997). Toxic events in the northwest Pacific coastline of Mexico during 1992-1995: origin and impacts. *Hidrobiología*, 352, 195-200.

- Okolodkov, Y.B., Garate-Lizárraga, I. (2006). An annotated checklist of dinoflagellates (Dinophyceae) from the Mexican Pacific. *Acta Botanica Mexicana*, 74, 1-154.
- Omura, T., Iwataki, M., Borja, V.M., Takayama, H., Fukuyo, Y., (2012). Marine Phytoplankton of Western Pacific. Kouseisha Kouseikaku, Tokyo, 160 pp.
- Paredes-Banda, P. E. (2014). *Identificación de Alexandrium ostenfeldii como especie productora de espirólidos y su acumulación en Mytilus galloprovincialis cultivado*. Tesis de maestría. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California. 95 p.
- Park, M.G., Kim, S., Kim, H.S., Myung, G., Kang, Y.G., Yih, W., (2006). First successful culture of the marine dinoflagellate *Dinophysis acuminata* in cultures. *Aquat. Microb. Ecol.*, 45(2), 10-106.
- Park, M.G.; Park, J.S.; Kim, M.; Yih, W. (2008). Plastid dynamics during survival of *Dinophysis caudata* without its ciliate prey. *J. Phycol.*, 44(5), 1154–1163.
- Park, M.G., Kim, M. (2010). Prey specificity and feeding of the thecate mixotrophic dinoflagellate *Fragilidium duplocampanaeforme*. *J. Phycol.*, 46(3), 424–432.
- Park, M.G., Kim, M., Kim, S., Yih, W. (2010). Does *Dinophysis caudata* (Dinophyceae) have permanent plastids?. *J. Phycol.*, 46(2), 236–242.
- Park, M.G., Kim, M., Kim, S., (2015). Phased cell division and facultative mixotrophy of the marine dinoflagellate *Fragilidium duplocampanaeforme* and its trophic interactions with the dinoflagellates *Dinophysis* spp. and a ciliate *Mesodinium rubrum*. *Harmful Algae*, 43, 20-30.
- Pavillard, J. (1916). Recherches sur les péridininiens du Golfe du Lion. Trav. Inst. Bot. Univ. Montpellier. Sér. Mixte. 4, 9–73.
- Pennington, J.T., Chávez, F.P. (2000). Seasonal fluctuations of temperature, salinity, nitrate, chlorophyll and primary production at station H3/M1 over 1989–1996 in Monterey Bay, California. *Deep-Sea Res. II*, 47(5), 947–973.
- Peña-Manjarrez, J.L. (2008). *Ecología de Dinoflagelados Productores de Florecimientos en la Bahía de Todos Santos, Baja California*. Tesis de Doctorado en ciencias. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. 196 p.



- Peña-Manjarrez, J.L., Gaxiola-Castro, G., Helenes-Escamilla, J. (2009). Factores ambientales que influyen en la variabilidad de la producción de quistes de *Lingulodinium polyedrum* y *Scripsiella trochoidea* (Dinophyceae). *Ciencias Marinas*, 35 (1), 1-14.
- Peperzak, L., Snoeijer, G.J., Dijkema, R., Gieskes, W., Joordens, J., Peeters, J., Schol, C., Vrieling, E., Zevenboom, W. (1996). Development of a *Dinophysis acuminata* bloom in the River Rine Plume (North Sea). En: Yasumoto, T., Oshima, Y., Fukuyo, Y. (Ed). *Harmful and Toxic Algal Blooms*. (pp. 273-276). IOC/UNESCO, Paris.
- Pérez-Brunius, P., López, M., Pineda, J.P., (2006). Hydrographic conditions near the coast of northwestern Baja California: 1997-2004. *Continental Shelf Research*, 26 (8), 885-901.
- Piñones, A., Castilla, J.C., Guiñez, R., Largier, J.L., (2007). Temperaturas superficiales en sitios cercanos a la costa en la bahía de Anfogasta (Chile) y centros de surgencia adyacentes. *Ciencias Marinas*, 33(1), 37-48.
- Raine, R., Farrell, H., Gentien, P., Fernand, L., Lunven, M., Reguera, B., Gonzalez-Gil, S., (2010). Transport of toxin producing dinoflagellate populations along the coast of Ireland within a seasonal jet. *ICES CM*, 5, 1-8.
- Reguera, B.; Bravo, I.; Fraga, S. (1995). Autoecology and some life history stages of *Dinophysis acuta* Ehrenberg. *J. Plankton Res.*, 17(5), 999–1015.
- Reguera, B., Garcés, E., Bravo, I., Pazos, Y., Ramilo, I. (2003). In situ division rates of several species of *Dinophysis* estimated by a postmitotic index. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 249, 117–131.
- Reguera, B., Velo-Suárez, L., Raine, R., Myung, G.P. (2012). Harmful *Dinophysis* species: A review. *Harmful Algae*, 14, 87-107.
- Reguera, B., Riobó, P., Rodríguez F., Díaz, P.A., Pizarro, G., Paz, B., Franco, J.M., Blanco, J. (2014). *Dinophysis* Toxins: Causative Organisms, Distribution and Fate in Shellfish. *Marine Drugs*, 12(1), 394-461.
- Rial, P., Garrido, J.L., Jaén, D., Rodríguez, F., (2012). Pigment composition in three *Dinophysis* species (Dinophyceae) and the associated cultures of *Mesodinium rubrum* and *Teleaulax amphioxeia*. *Journal of Plankton Research*, 1-5.
- Rodríguez, F., Escalera, L., Reguera, B., Rial, P., Riobó, P., Da Silva, T., (2014). Feeding of *Fragilidium cf. Duplocampanaeforme* and *F. subglobosum* on four *Dinophysis* species: prey specificity, local adaptation and fate of toxins. *Aquat. Microb. Ecol.*, 72, 241-253.

- Sánchez-Bravo, Y.S., (2013). *Concentración de toxinas lipofílicas en el mejillón mediterráneo (Mytilus galloprovincialis) asociadas a la presencia de dinoflagelados del género Dinophysis durante enero a diciembre del 2012, en la Bahía de Todos Santos, B. C., México*. Tesis de Licenciatura en ciencias. Universidad Autónoma de Baja California. 129p.
- Sar, E.A., Sunesen, I., Goya, A.B., Lavigne, A.S., Tapia, E., García, C., Lagos, N., (2012). First report of diarrhetic Shellfish toxins in mollusks from Buenos Aires Province (Argentina) associated with *Dinophysis* spp.: evidence of okadaic acid, dinophysistoxina-1 and their acyl-derivatives. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 47 (1-2):5-14.
- Setälä, O., Autio, R., Rintala, J., Ylöstalo, P., (2005). Survival and photosynthetic activity of different *Dinophysis acuminata* pupulations in the northern Baltic Sea. *Harmful Algae*, 4(2), 337-350.
- Sjöqvist, C. O., Lindholm, T. (2011). Natural co-occurrence of *Dinophysis acuminata* (Dinoflagellata) and *Mesodinium rubrum* (Ciliophora) in thin Layers in a coastal inlet. *Journal of Eukariotic Microbiology*, 58(4), 365-372.
- Schlüter, L., Mohlenberg, F., Havskum, H., (2000). The use of phytoplankton pigments for identifying and quantifying phytoplankton groups in coastal areas: testing the influence of light and nutrients on pigment/chlorophyll a ratios. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 192, 49-63.
- Schnepf, E., Elbrächter, M., (1999). Dinophyte chloroplasts and phylogeny- a review. *Grana*, 38(2-3), 81-97.
- Sournia, A., (1978). *Phytoplankton Manual*. Monographs on Oceanographic Methodology. UNESCO. 337pp.
- Sournia, A., (1995). Red tide and toxic marine phytoplankton of the world ocean : An inquiry into biodiversity. In: *Harmful Marine Algal Blooms*. (pp 103-112). Proc. 6th Int. conf. on Toxic Marine Phytoplankton. Lavoisier.
- Steidinger, K. A., Tangen, K. (1995). *Dinoflagellates, Identifying Marine Diatoms and Dinoflagellates*. San Diego Academic Press. ( pp 387-584).
- Stoecker, D., (1998). Conceptual models of mixotrophy in planktonic protists and some ecological and evolutionary implications. *Eur. J. Protistol.*, 34(3), 281-290.
- Susuki, T., Miyazono, A., Baba, K., Sugawara, R., Kamiyama, T., (2009). LC-MS/MS analysis of okadaic acid analogues and other lipophilic toxins in single-cell isolates of several *Dinophysis* species collected in Hokkaido, Japan. *Harmful Algae*, 8(2), 233-238.

- Taylor, F.J.R., (1976). Dinoflagellates from the International Indian Ocean Expedition. A report on material collected by the R.V. "Anton Bruun" 1963-1964. (132 pp). Institute of Oceanography and Department of Botany, University of British Columbia, Vancouver, Canada.
- Thronsdon, J. (1978). Phytoplankton preservation and storage. En: A., Sournia. (Ed.). *Phytoplankton Manual*. (pp 69-74). UNESCO, Paris.
- Tomas, C.R., (1997). Identifying Marine Phytoplankton. ( 858 pp). San Diego, California.U.S.
- Torres, C.R., Mejía, A., Argote, M.L., Ramírez, I., Mancillas, M., (2006). Three-dimensional circulation in Todos Santos Bay, Ensenada, BC, México. En: Gámez, B., Ojeda, D., Larrazabal, G., Cerrolaza, M. (Ed.). Simulación y Modelado en Ingeniería y Ciencias. SVMNI: MF115–MF122.
- Trainer, V.L.; Pitcher, G.C.; Reguera, B.; Smayda, T.J. (2010). The distribution and impacts of harmful algal bloom species in eastern boundary upwelling systems. *Prog. Oceanogr.*, 85(1), 33–52.
- Van-Heukelem, L. y Thomas, C., (2001). Computer-assisted high-performance liquid chromatography method development with applications to the isolation and analysis of phytoplankton pigments. *Journal of Chromatography A*, 31-49.
- Velo-Suarez, L., González-Gil, S., Pazos, Y., Reguera, B., (2014). The growth season of *Dinophysis acuminata* in an upwelling system embayment: a conceptual model based on in situ measurements. *Deep Sea Research Part II Tropical Studies in Oceanography*. 101, 141-151.
- Wright, S. y Montoura. R. F. C., (1997). Guidelines for collection and pigment analysis of marine samples. In: Jeffrey, S. W., Montoura, R. F. C. y Wright S. (Eds) *Phytoplankton Pigments in Oceanography: Guidelines to Modern Methods*. (pp 429-445). UNESCO, Paris.
- Yasumoto, T., Oshima, Y., Sugawara, W., Fukuyo, Y., Oguri, H., Igarashi, T., Fujita, N., (1980). Identification of *Dinophysis fortii* as the causative organism of diarrhetic shellfish poisoning in the Tohoku district. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 46(11), 1405–1411.

## Anexos

### Anexo 1

Las figuras 19-28 representan la variación espacio-temporal de los distintos grupos algales en la Bahía de Todos Santos. En cada una de las imágenes se muestra en el panel izquierdo los valores correspondientes al transecto interior (estaciones 17-11) y en el panel derecho las correspondientes al transecto exterior (estaciones 11-1), de las campañas oceanográficas realizadas en la BTS.

Los datos presentados corresponden a las campañas realizadas los días 02 de octubre (A-B) y 25 de noviembre de 2014 (C-D); 16 de febrero (E-F), 05 de marzo (G-H) y 20 de abril de 2015 (I-J).

Para una mejor apreciación se separaron los datos por grupos algales, como se muestra a continuación:

- Diatomeas: centrales y pennales
- Dinoflagelados: Gonyaulacales, Gymnodimiales, Prorocentrales, Peridinales y Dinophysiales.
- Ciliados
- Otros: Este incluye a todos los grupos encontrados que no entran en ninguna de las categorías anteriores; tales como silicoflagelados, criptofitas y euglenófitas.

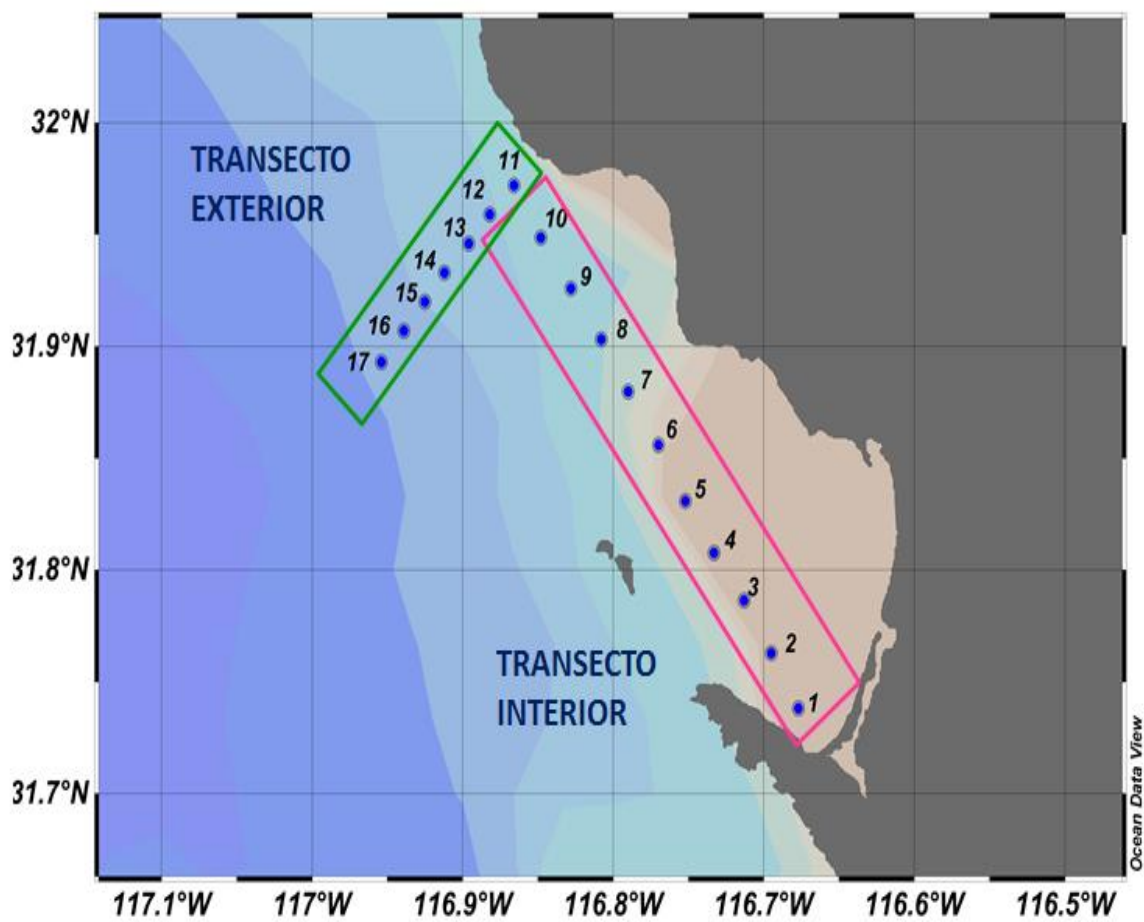


Figura 27. Ubicación de transectos monitoreados en la Bahía de Todos Santos, Baja California, México durante octubre 2014-abril 2015.

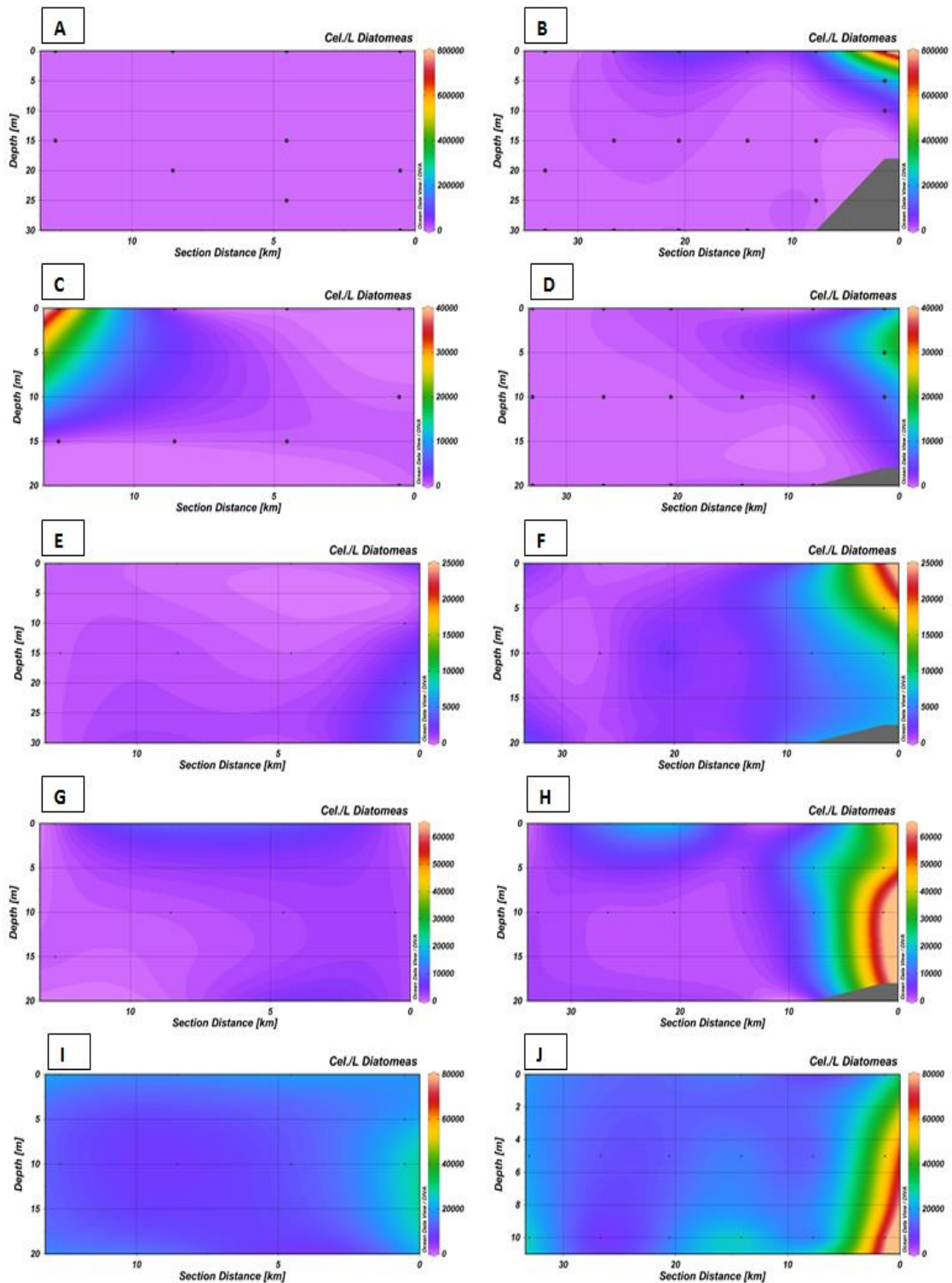


Figura 28. Variación espacio-temporal de diatomeas colectadas en la BTS los días 02 de octubre (A-B) y 25 de noviembre de 2014 (C-D); 16 de febrero (E-F), 05 de marzo (G-H) y 20 de abril de 2015 (I-J). El panel izquierdo corresponde al transecto externo y el derecho al transecto interno.

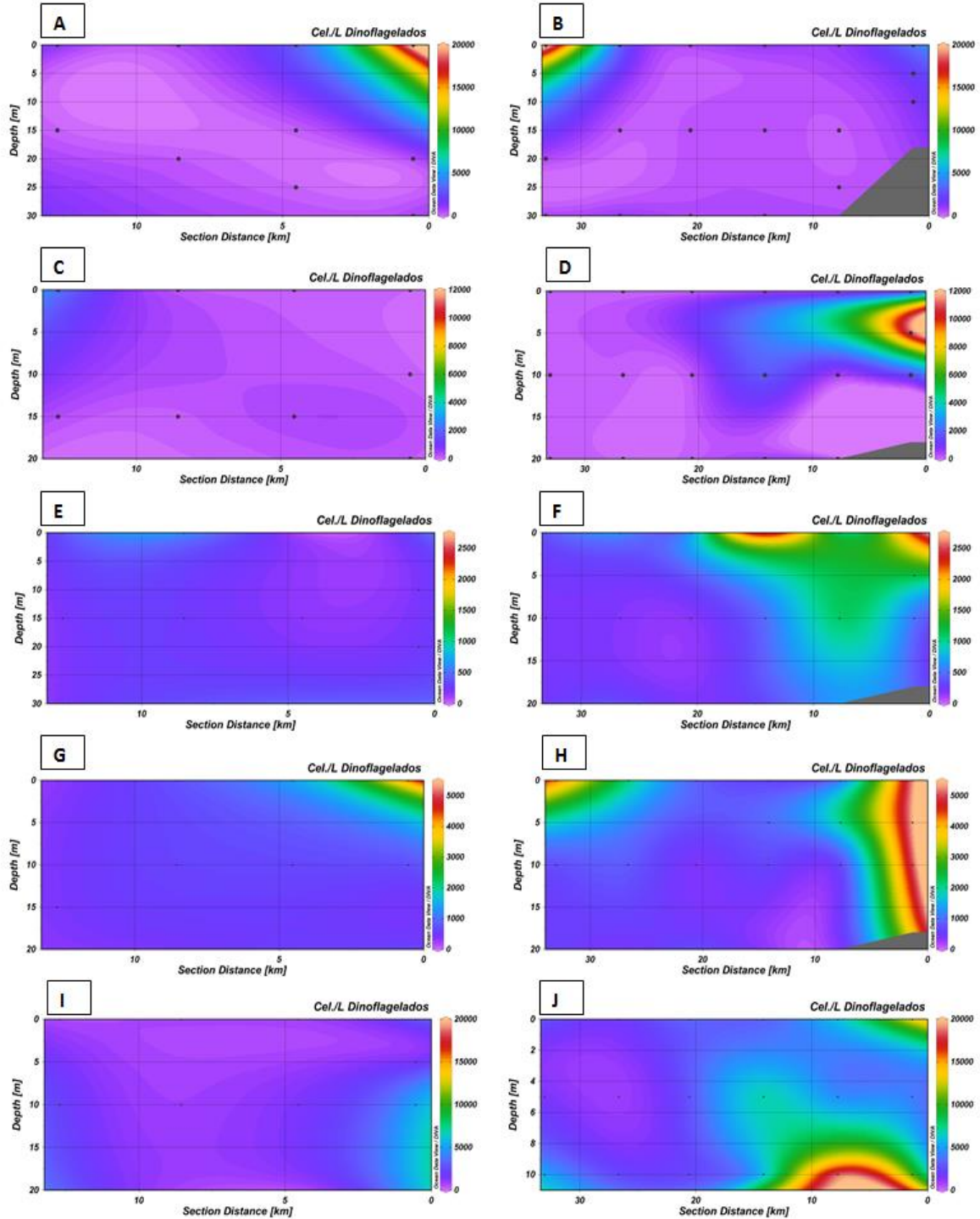


Figura 29. Variación espacio-temporal de dinoflagelados colectados en la BTS los días 02 de octubre (A-B) y 25 de noviembre de 2014 (C-D); 16 de febrero (E-F), 05 de marzo (G-H) y 20 de abril de 2015 (I-J). El panel izquierdo corresponde al transecto externo y el derecho al transecto interno.

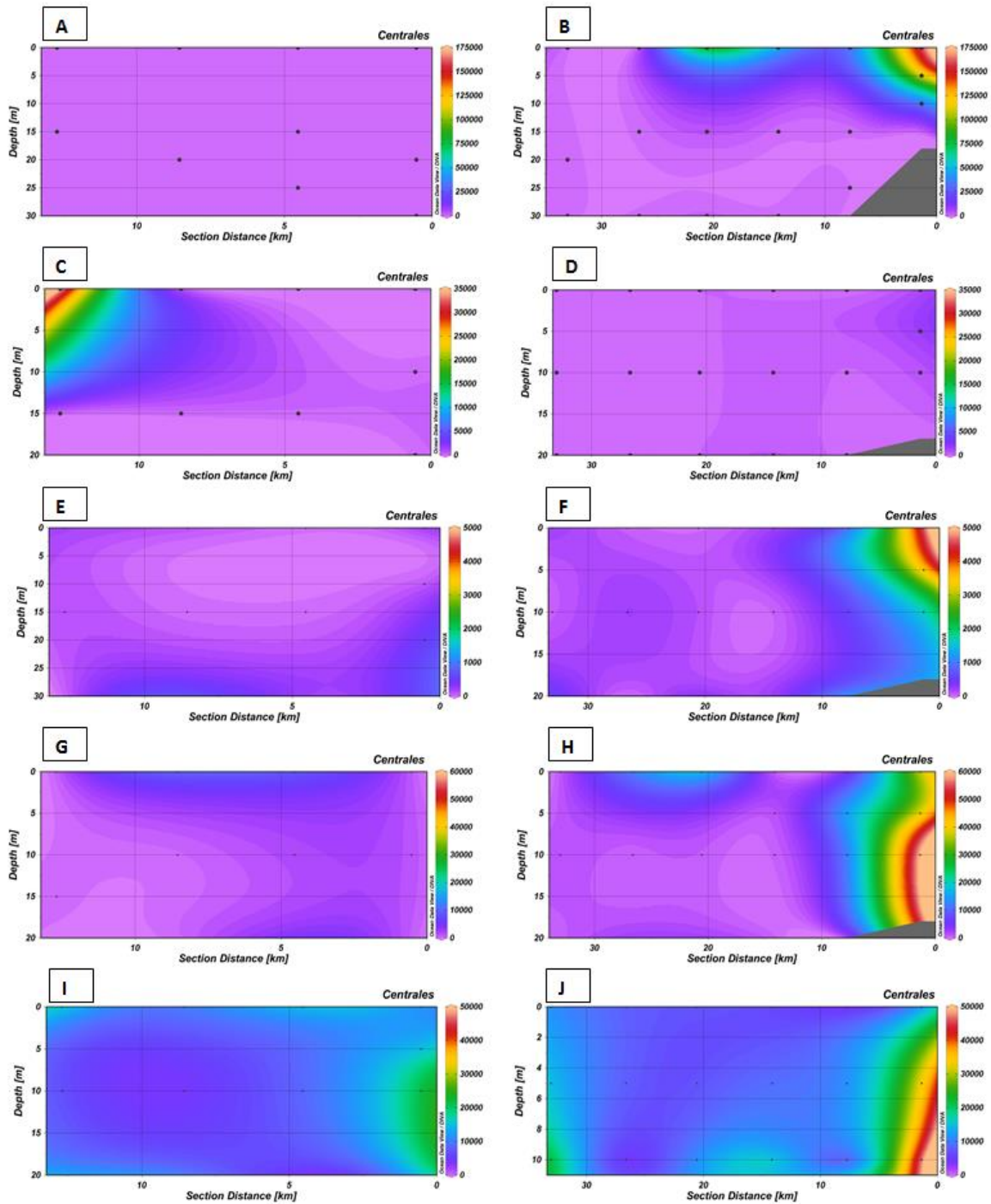


Figura 30. Variación espacio-temporal de diatomeas centrales colectadas en la BTS los días 02 de octubre (A-B) y 25 de noviembre de 2014 (C-D); 16 de febrero (E-F), 05 de marzo (G-H) y 20 de abril de 2015 (I-J). El panel izquierdo corresponde al transecto externo y el derecho al transecto interno.



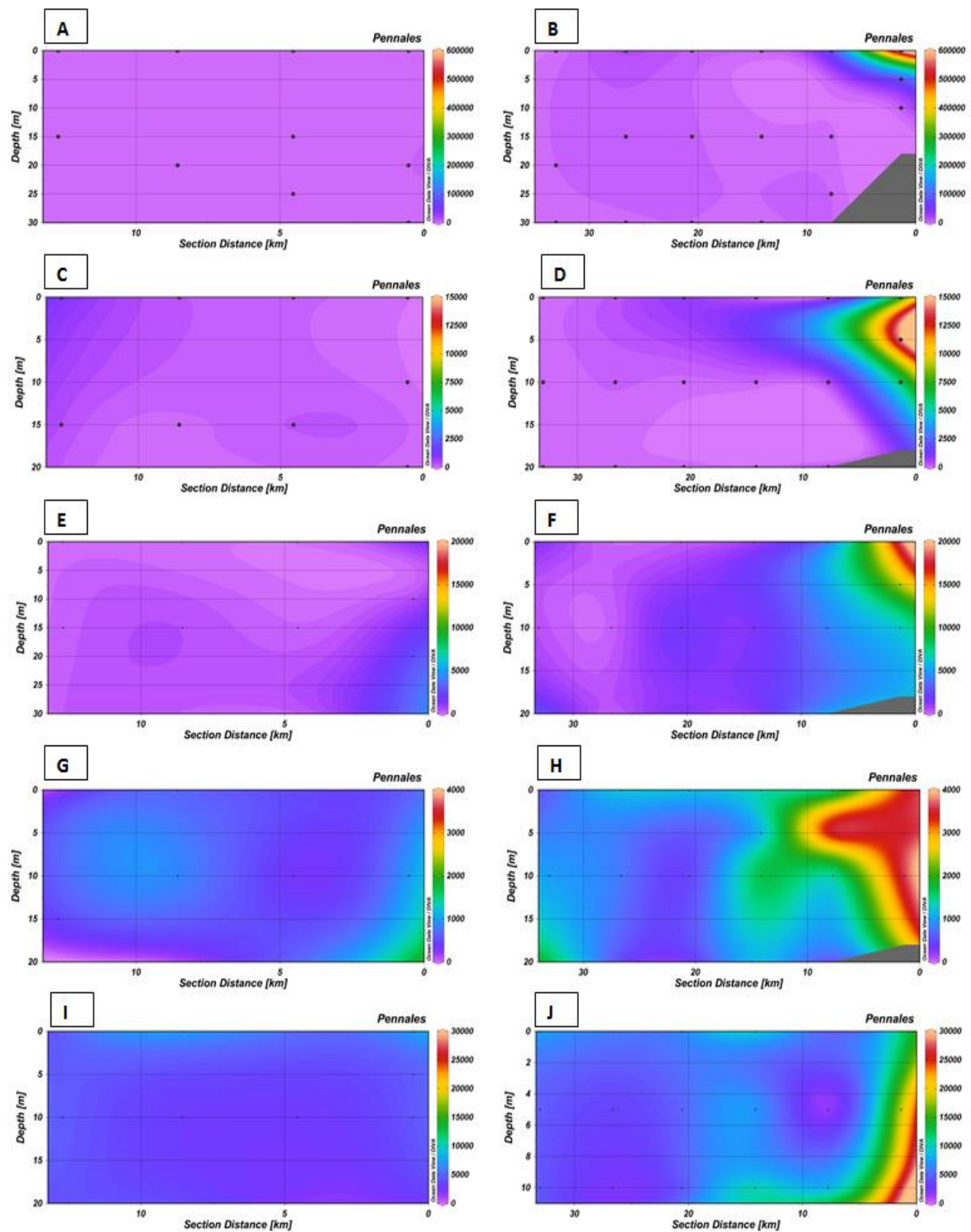


Figura 31. Variación espacio-temporal de diatomeas pennales colectadas en la BTS los días 02 de octubre (A-B) y 25 de noviembre de 2014 (C-D); 16 de febrero (E-F), 05 de marzo (G-H) y 20 de abril de 2015 (I-J). El panel izquierdo corresponde al transecto externo y el derecho al transecto interno.

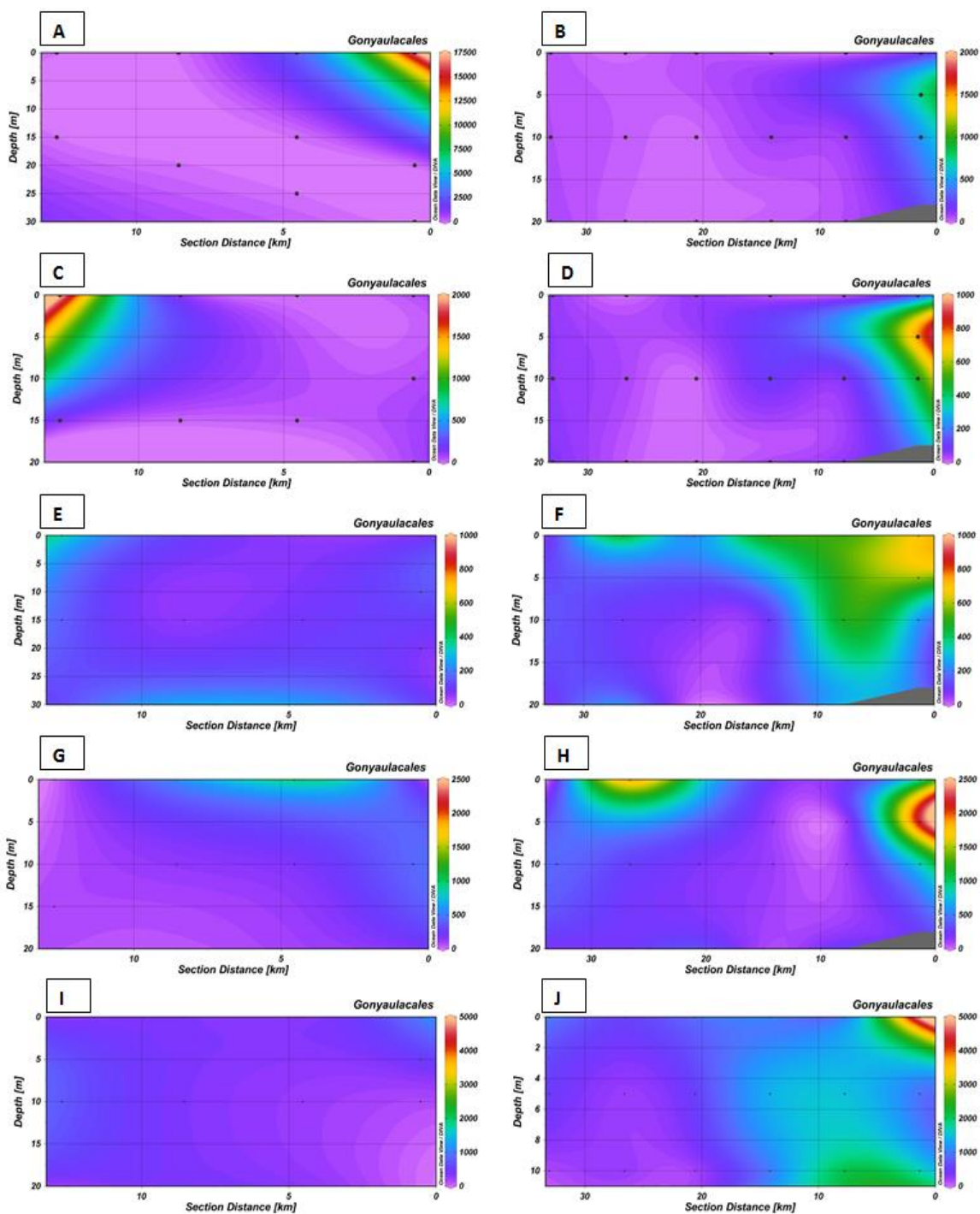


Figura 32. Variación espacio-temporal de dinoflagelados del grupo Gonyaulacales colectados en la BTS los días 02 de octubre (A-B) y 25 de noviembre de 2014 (C-D); 16 de febrero (E-F), 05 de marzo (G-H) y 20 de abril de 2015 (I-J). El panel izquierdo corresponde al transecto externo y el derecho al transecto interno.

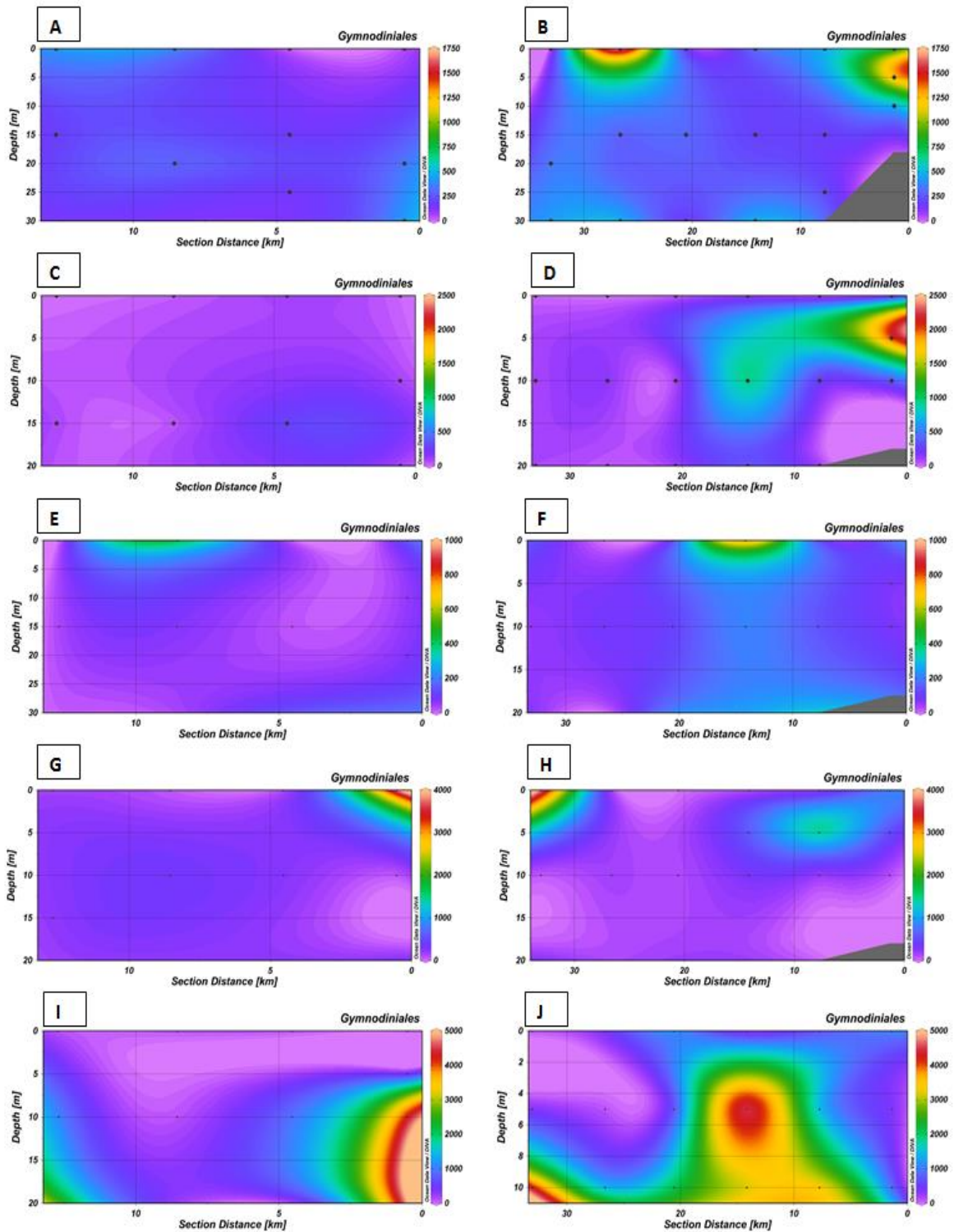


Figura 33. Variación espacio-temporal de dinoflagelados del grupo Gymnodimiales colectados en la BTS los días 02 de octubre (A-B) y 25 de noviembre de 2014 (C-D); 16 de febrero (E-F), 05 de marzo (G-H) y 20 de abril de 2015 (I-J). El panel izquierdo corresponde al transecto externo y el derecho al transecto interno.

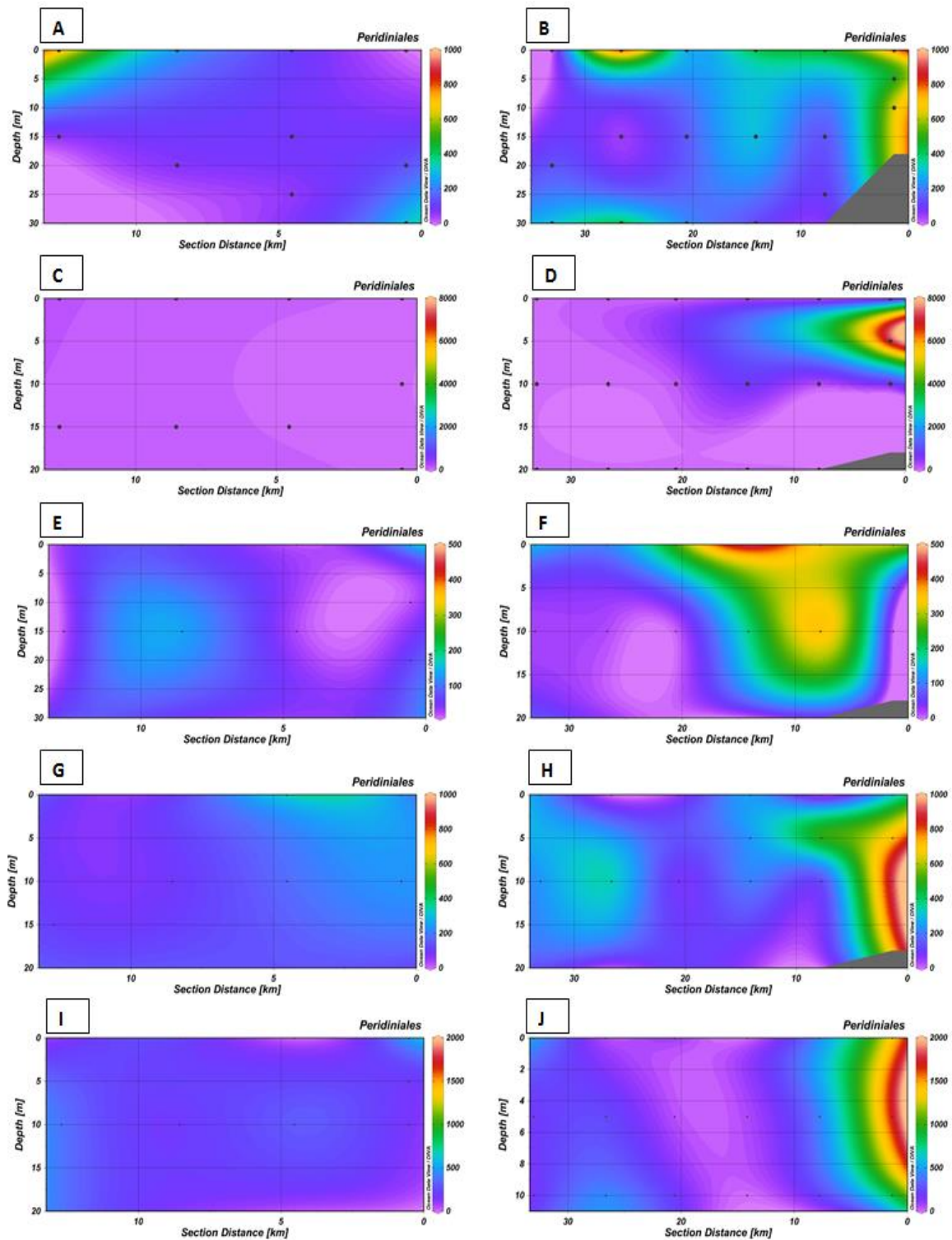


Figura 34. Variación espacio-temporal de dinoflagelados del grupo Peridinales colectados en la BTS los días 02 de octubre (A-B) y 25 de noviembre de 2014 (C-D); 16 de febrero (E-F), 05 de marzo (G-H) y 20 de abril de 2015 (I-J). El panel izquierdo corresponde al transecto externo y el derecho al transecto interno.

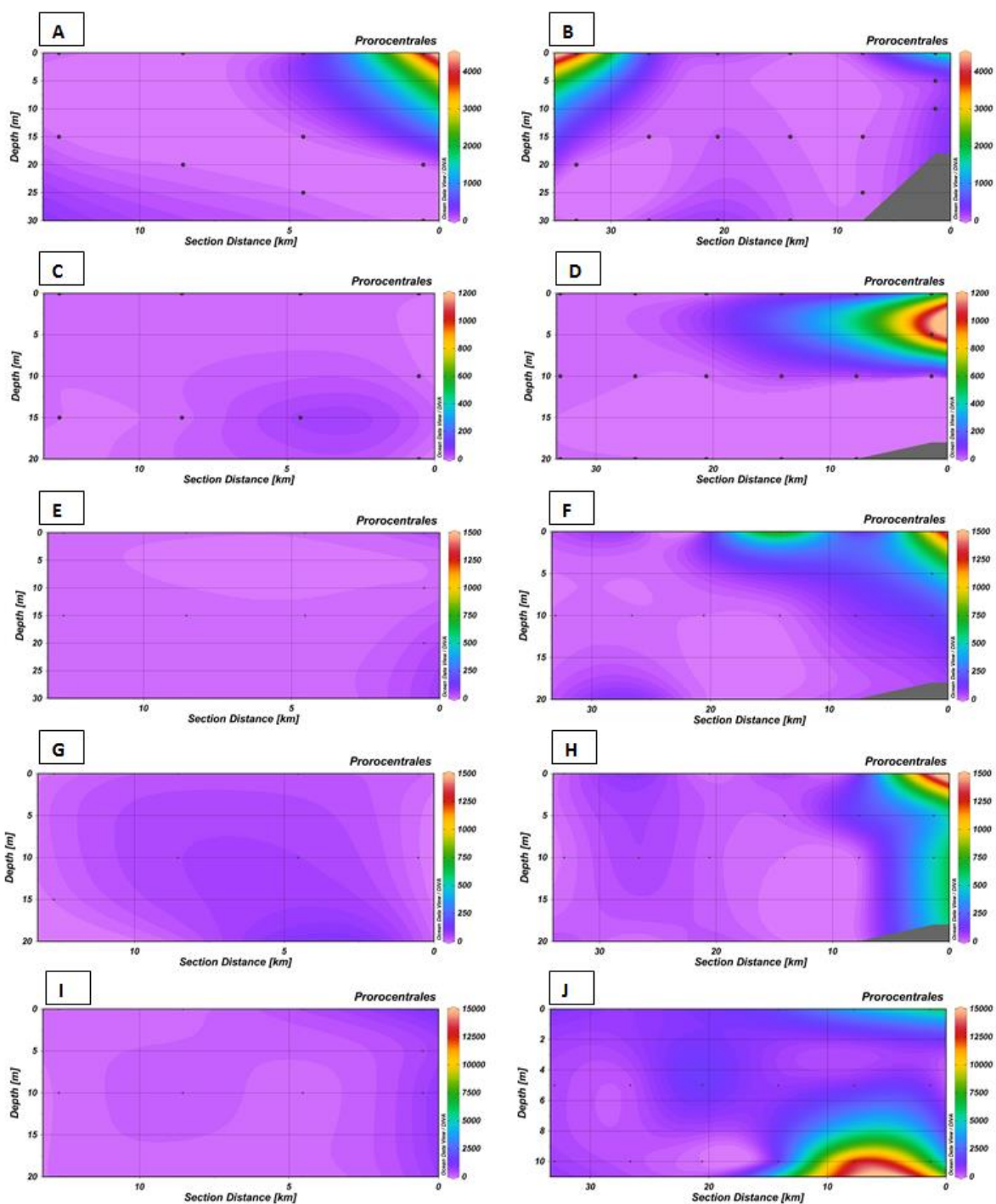


Figura 35. Variación espacio-temporal de dinoflagelados del grupo Prorocentrales colectados en la BTS los días 02 de octubre (A-B) y 25 de noviembre de 2014 (C-D); 16 de febrero (E-F), 05 de marzo (G-H) y 20 de abril de 2015 (I-J). El panel izquierdo corresponde al transecto externo y el derecho al transecto interno.

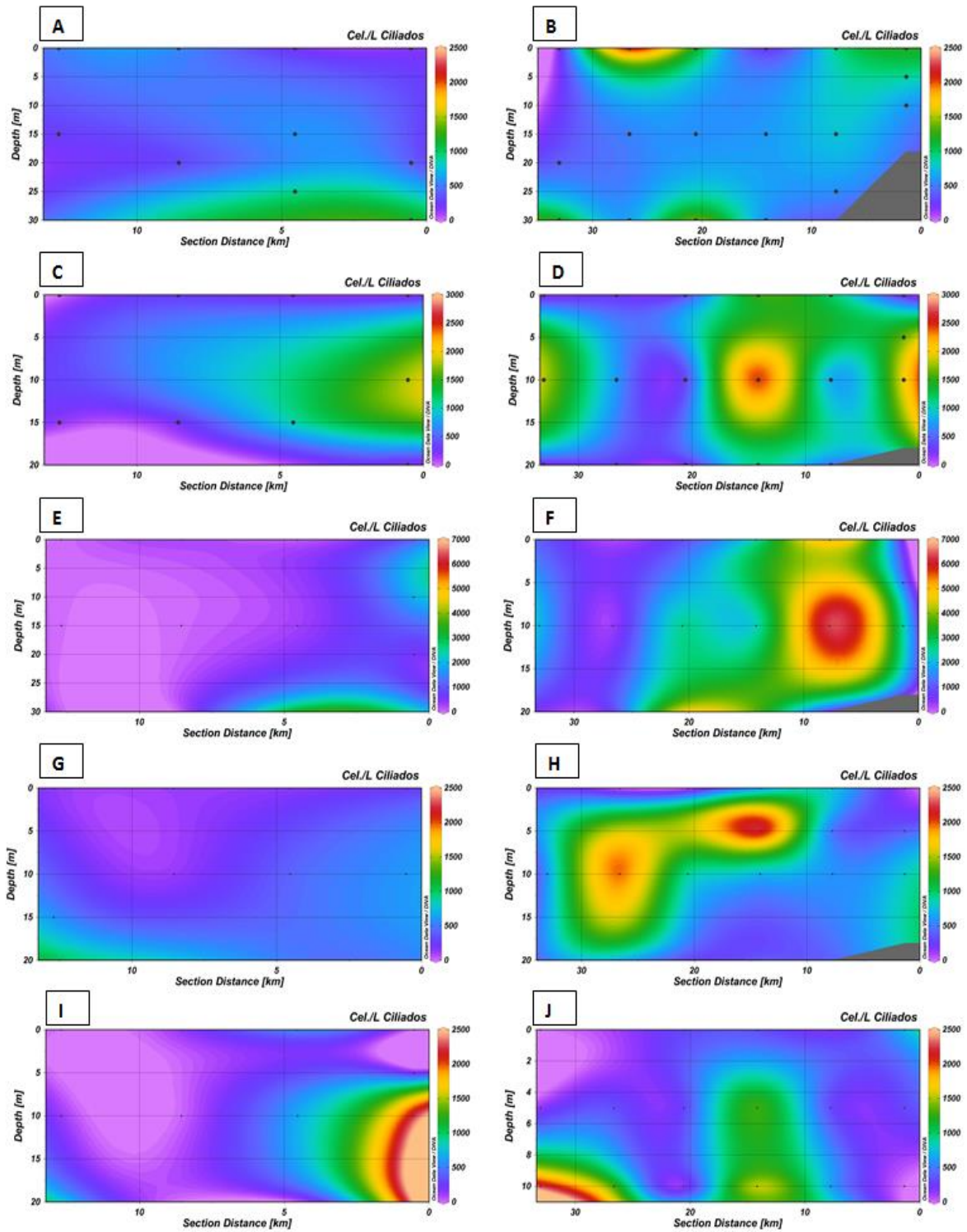


Figura 36. Variación espacio-temporal de ciliados colectados en la BTS los días 02 de octubre (A-B) y 25 de noviembre de 2014 (C-D); 16 de febrero (E-F), 05 de marzo (G-H) y 20 de abril de 2015 (I-J). El panel izquierdo corresponde al transecto externo y el derecho al transecto interno.

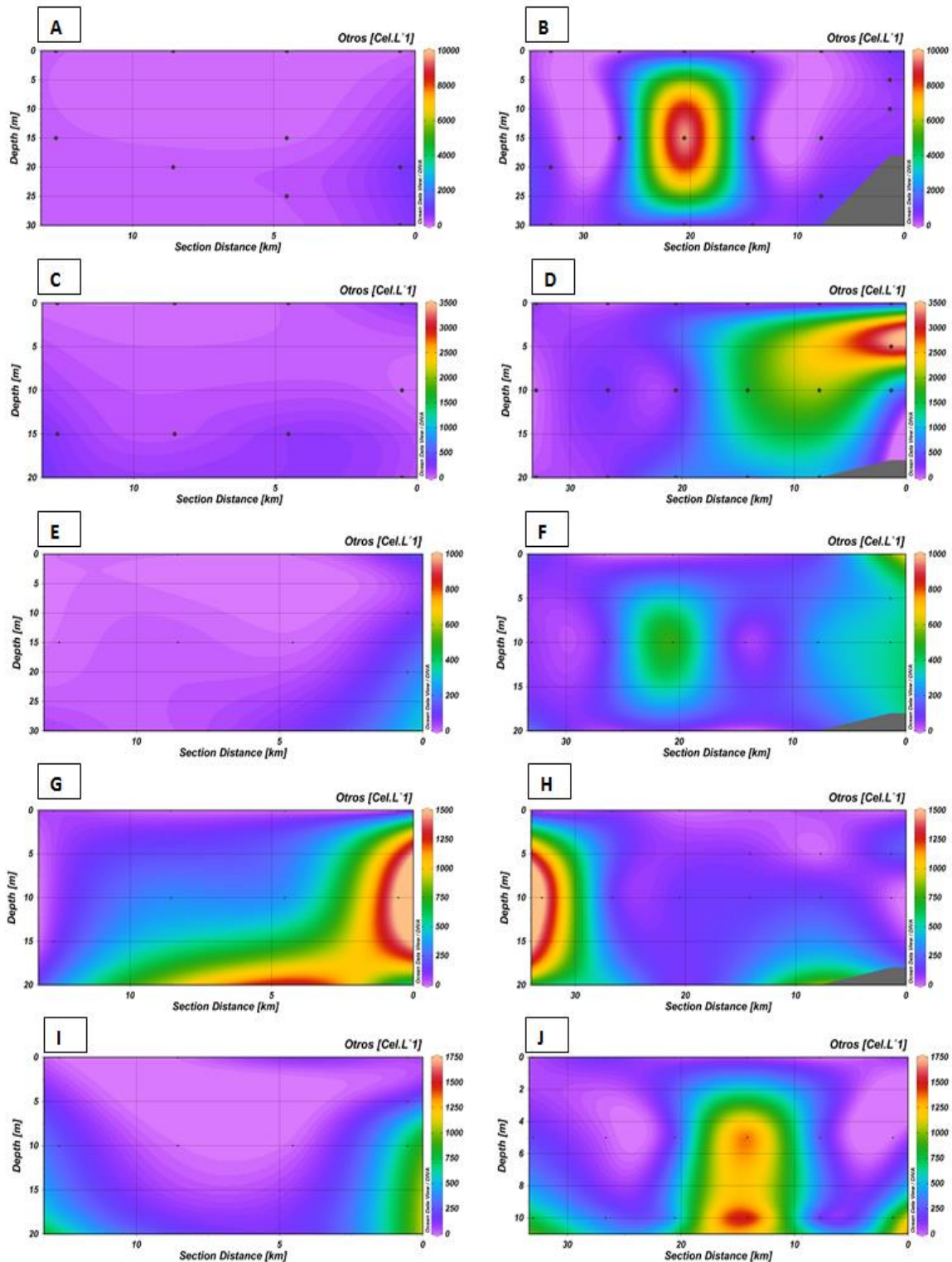


Figura 37. Variación espacio-temporal de otros grupos fitoplanctónicos (silicoflagelados, euglenofitas y criptofitas) colectados en la BTS los días 02 de octubre (A-B) y 25 de noviembre de 2014 (C-D); 16 de febrero (E-F), 05 de marzo (G-H) y 20 de abril de 2015 (I-J). El panel izquierdo corresponde al transecto externo y el derecho al transecto interno.

## Anexo 2

Variación anual de diversas especies de *Dinophysis* en la Bahía de Todos Santos.

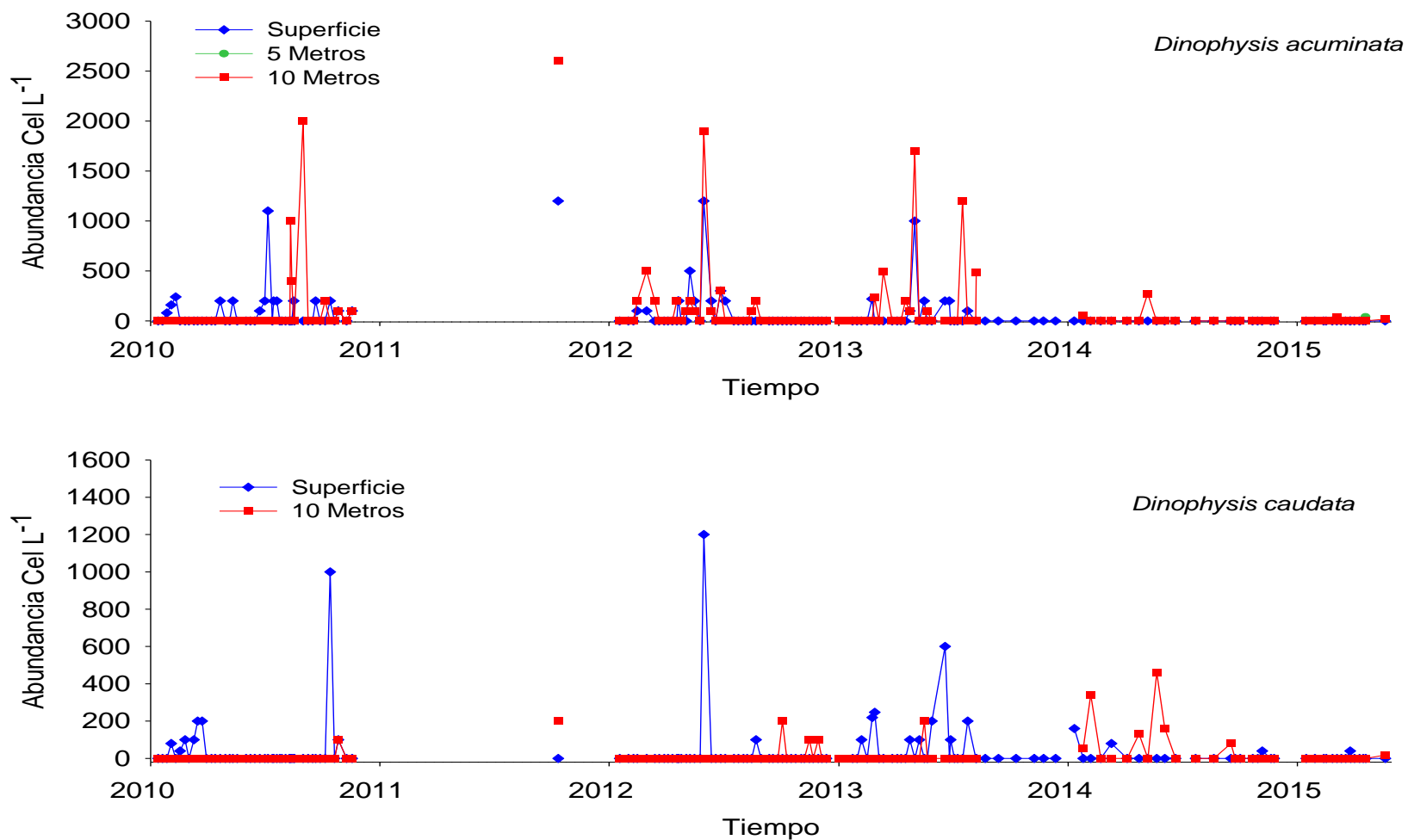


Figura 38. Variación anual de la abundancia (Cel/L) de las 4 especies más frecuentes de *Dinophysis* a partir de muestras colectadas en el área de Rincón de Ballenas, Baja California de enero del 2010 a mayo del 2015. .



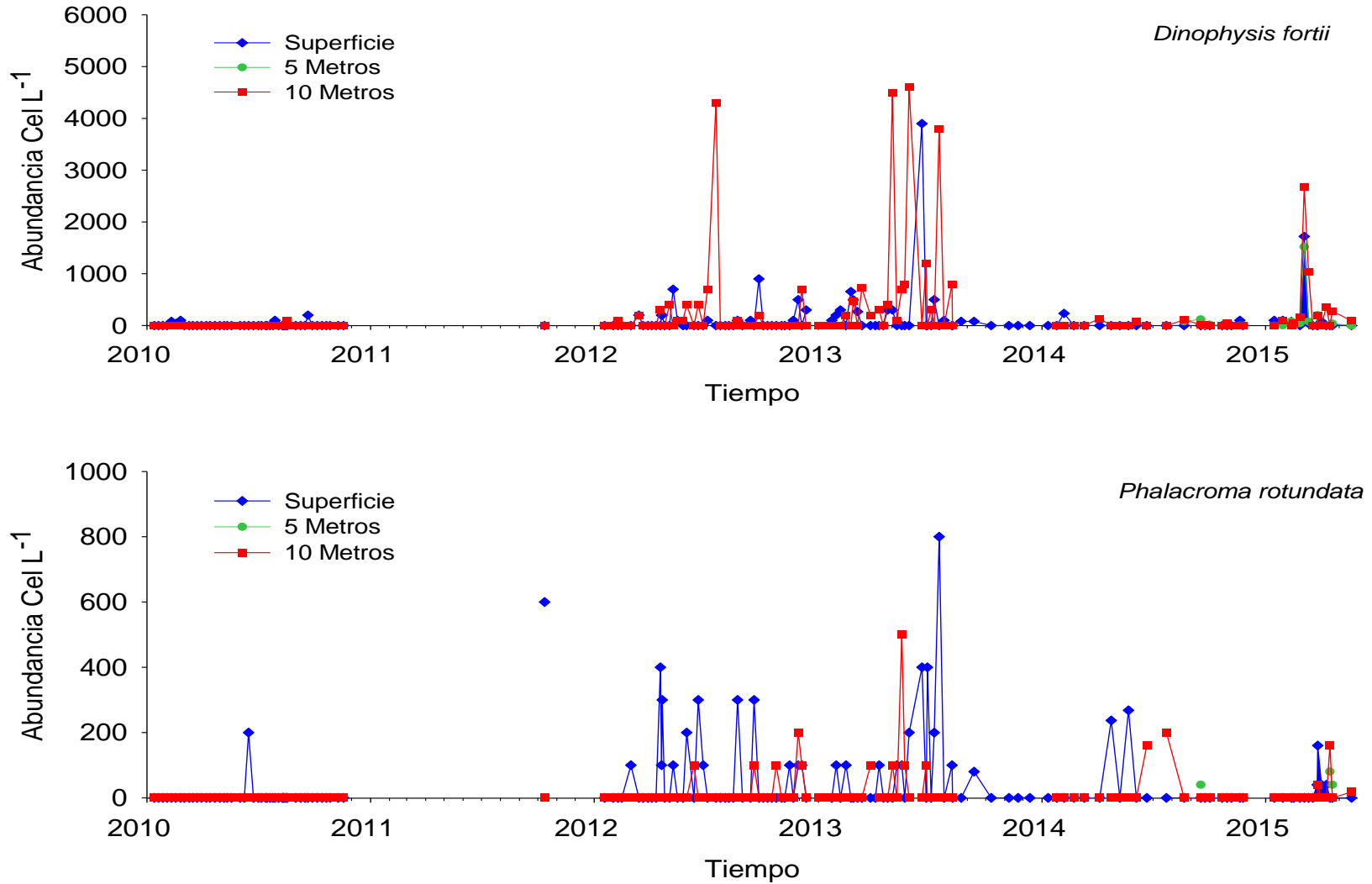
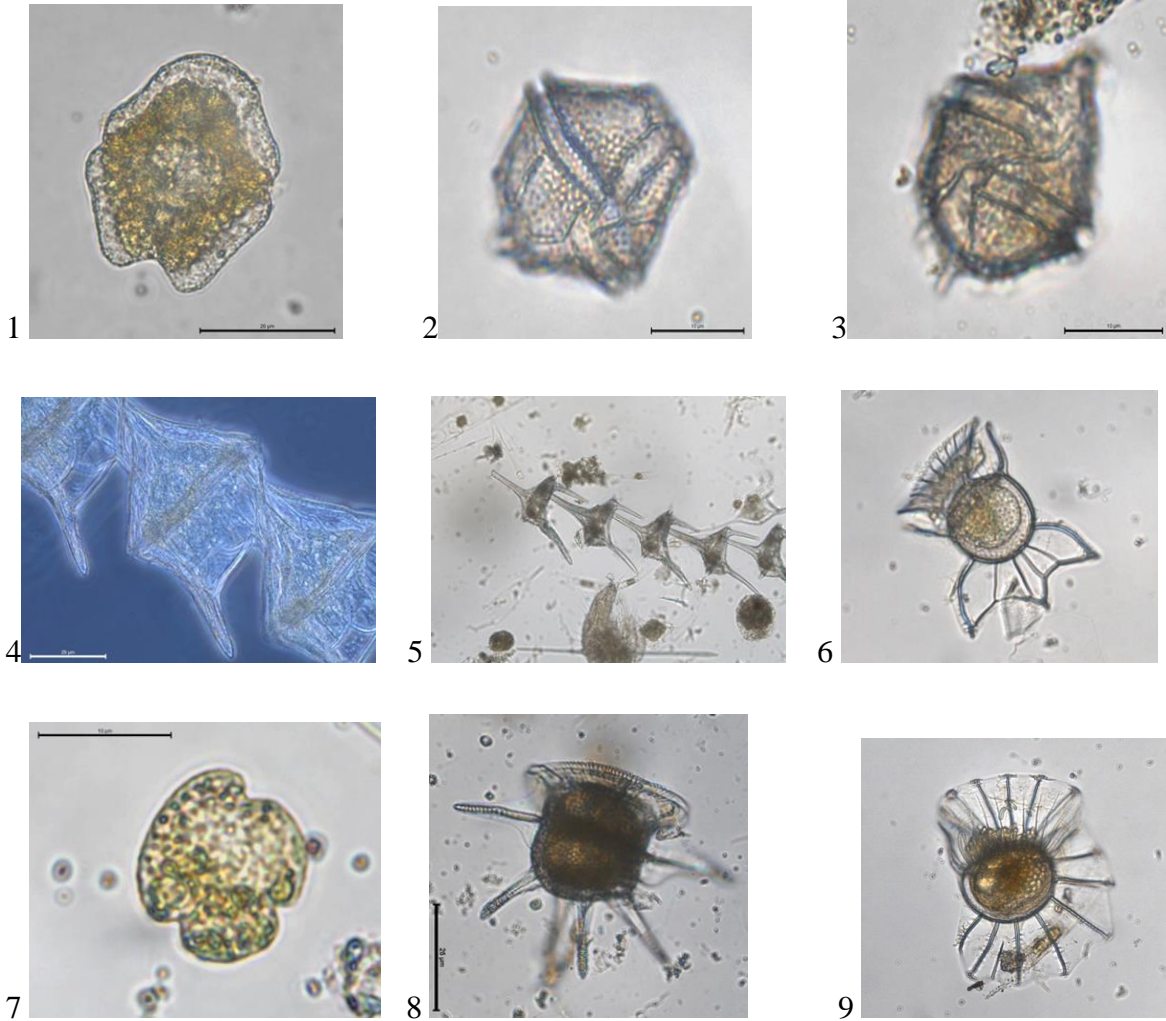


Figura 39. Variación anual de la abundancia (Cel/L) de las 4 especies más frecuentes de *Dinophysis* a partir de muestras colectadas en el área de Rincón de Ballenas, Baja California de enero del 2010 a mayo del 2015.

### Anexo 3

Imágenes de algunas de las especies identificadas.

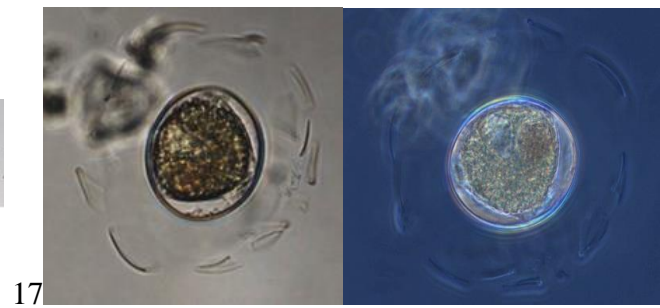
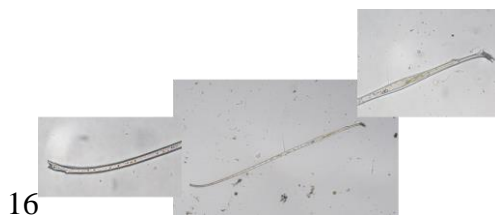
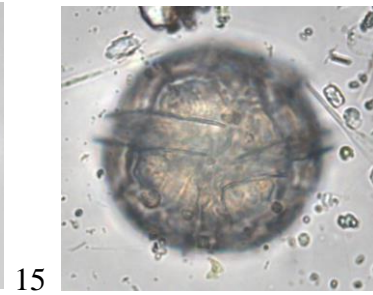
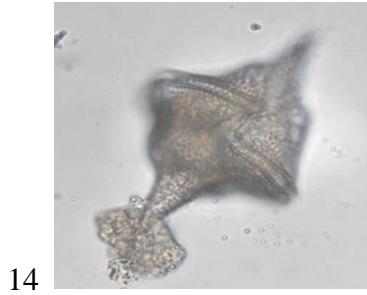
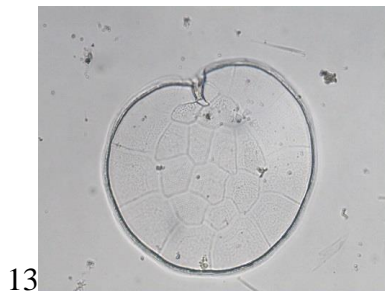
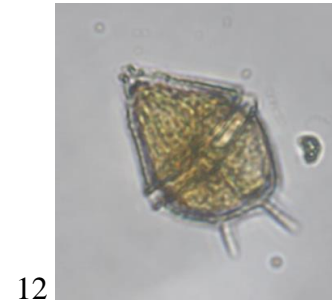
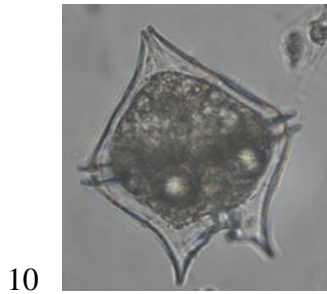
- **DINOFLAGELADOS<sup>2</sup>**




---

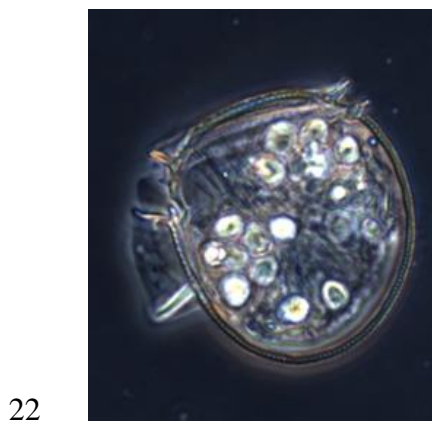
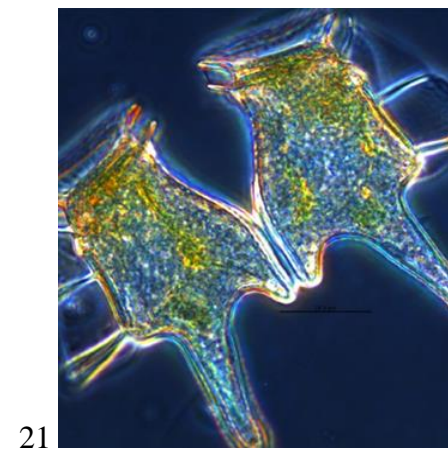
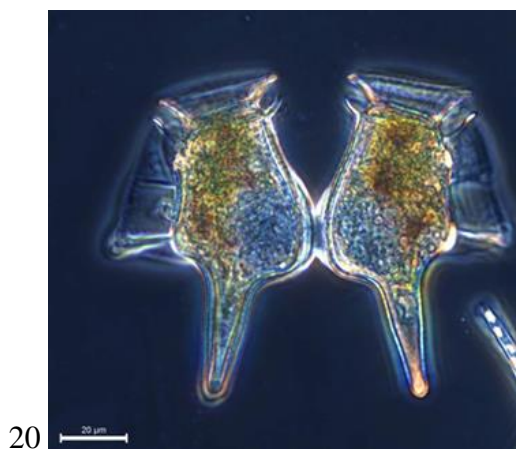
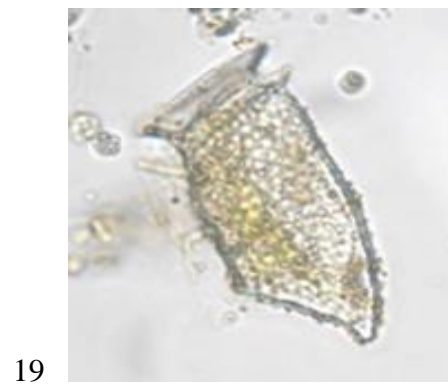
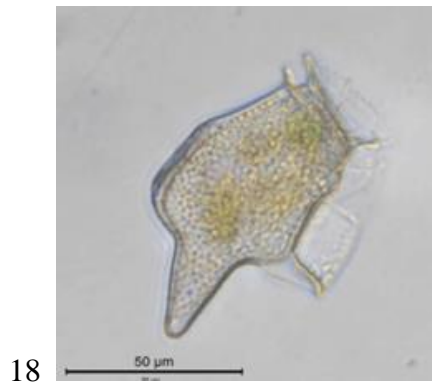
<sup>2</sup> 1. *Akashiwo* sp.  
 2. *Lingulodinium polyedrum*.  
 3. *Gonyaulax* sp.  
 4. *Ceratium* sp. 1  
 5. *Ceratium* sp. 2  
 6. *Ornithocercus* sp.1  
 7. *Karenia* sp.  
 8. *Ceratocorys* sp.  
 9. *Ornithocercus* sp.2

- DINOFLAGELADOS<sup>3</sup>



- 
- <sup>3</sup> 10. *Protoperidinium* sp.  
 11. *Oxitoxum* sp.  
 12. *Protoperidinium bipens*  
 13. *Pyrophacus* sp.  
 14. *Gonyaulax* sp.  
 15. *Protoceratium* sp.  
 16. *Amphisolenia bidentata*  
 17. *Fragilidium* sp.

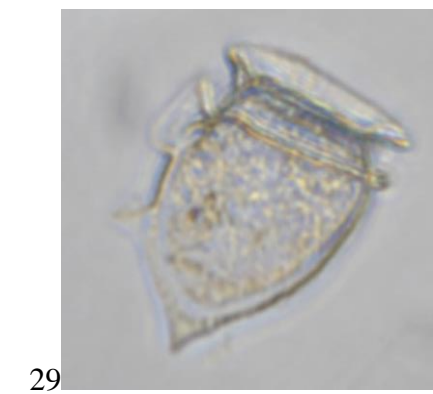
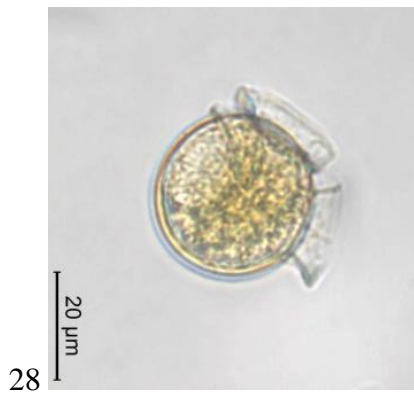
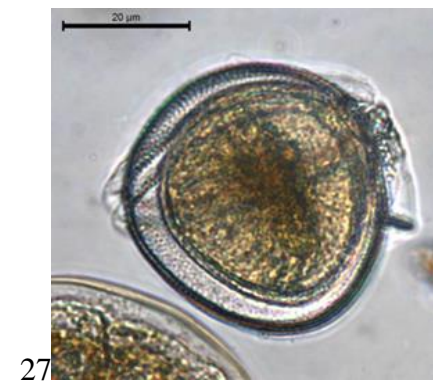
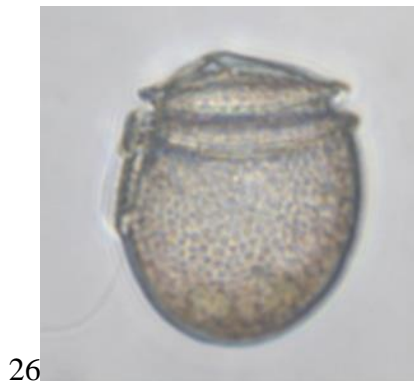
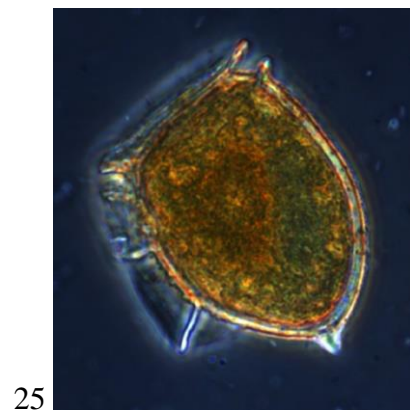
- DINOFLAGELADOS<sup>4</sup>




---

<sup>4</sup> 18. *Dinophysis caudata* var. 1  
 19. *Dinophysis diegensis*  
 20. *Dinophysis caudata* var. 2  
 21. *Dinophysis tripos*  
 22. *Phalacroma rotundata*  
 23. *Dinophysis fortii*

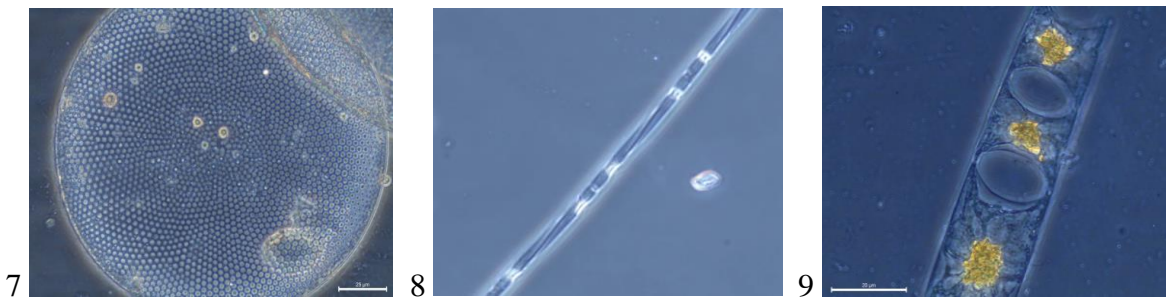
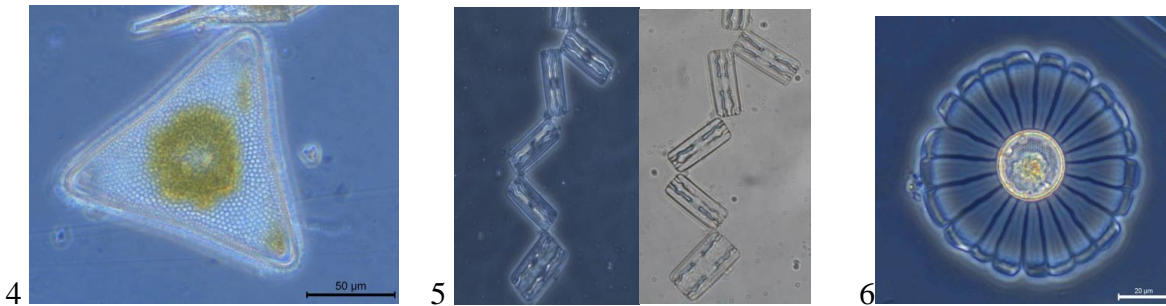
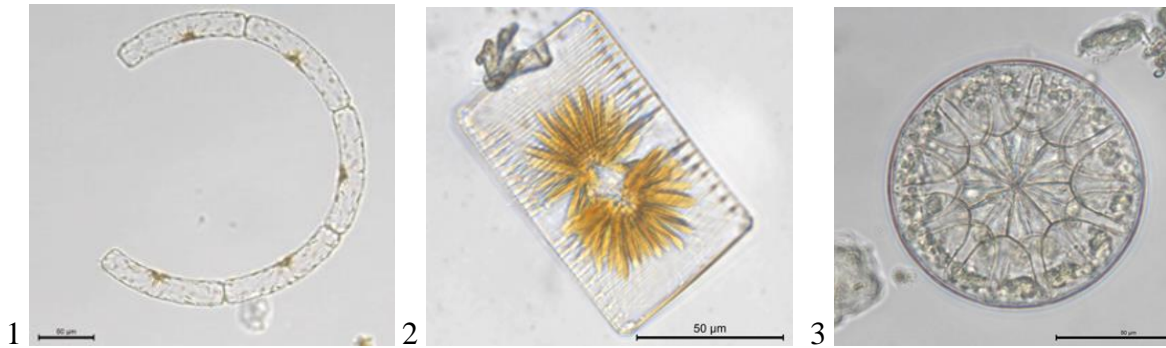
- DINOFLAGELADOS<sup>5</sup>




---

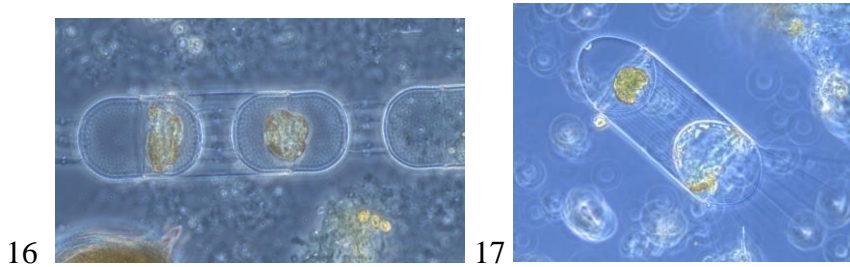
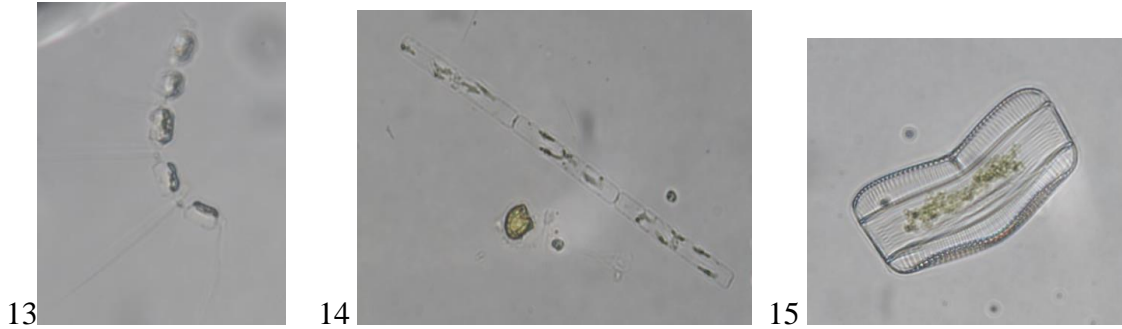
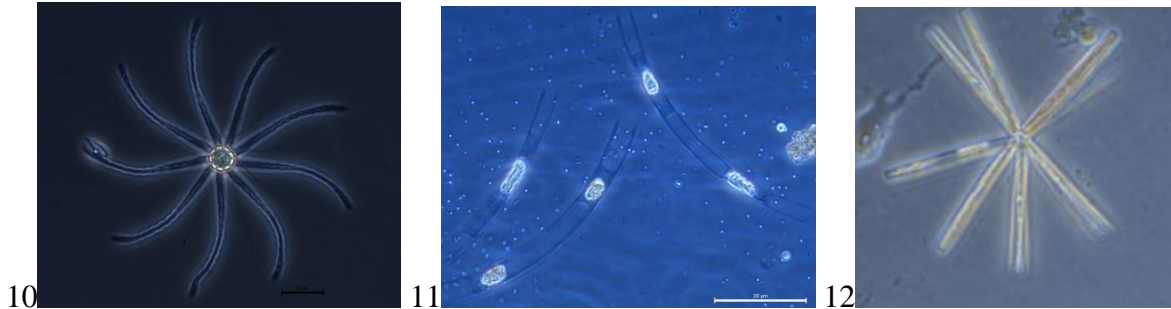
<sup>5</sup> 24. *Dinophysis cf. mitra*  
 25. *Dinophysis odiosa*  
 26. *Dinophysis sp. 1*  
 27. *Dinophysis sp. 2*  
 28. *Dinophysis sp. 3*  
 29. *Dinophysis sp. 4*

- DIATOMEAS<sup>6</sup>



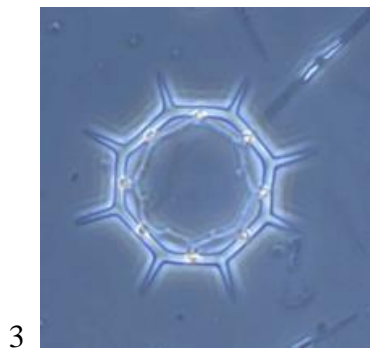
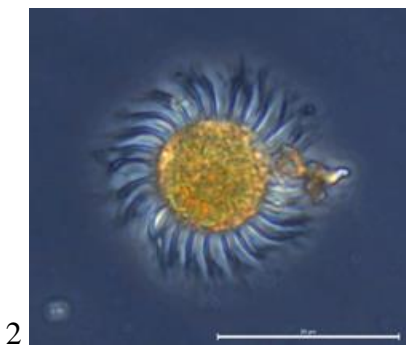
- 
- <sup>6</sup>
1. *Guinardia striatta*
  2. *Striatella* sp.
  3. *Asteromphalus* sp.
  4. *Triceratium* sp.
  5. *Gramatophora* sp.
  6. *Platoniella* sol
  7. *Coscinodiscus* sp.
  8. *Pseudo-Nitzschia australis*
  9. *Eucampia* sp.

- DIATOMEAS<sup>7</sup>



- 
- <sup>7</sup> 10. *Bacteristrum* sp  
 11. *Hemiaulus* sp.  
 12. *Thalassionema* sp.  
 13. *Chaetoceros curvisetus*  
 14. *Guniardia delicatula*  
 15. *Amphiprora* sp.  
 16. *Stephanophysis* sp.  
 17. *Corethron histrix*

- OTROS<sup>8</sup>



<sup>8</sup> 1. *Mesodinium rubrum*  
 2. *Leegardiella sol*  
 3. *Octactis octonaria*  
 4. *Quistes Lingulodinium polyedrum*



## Anexo 4

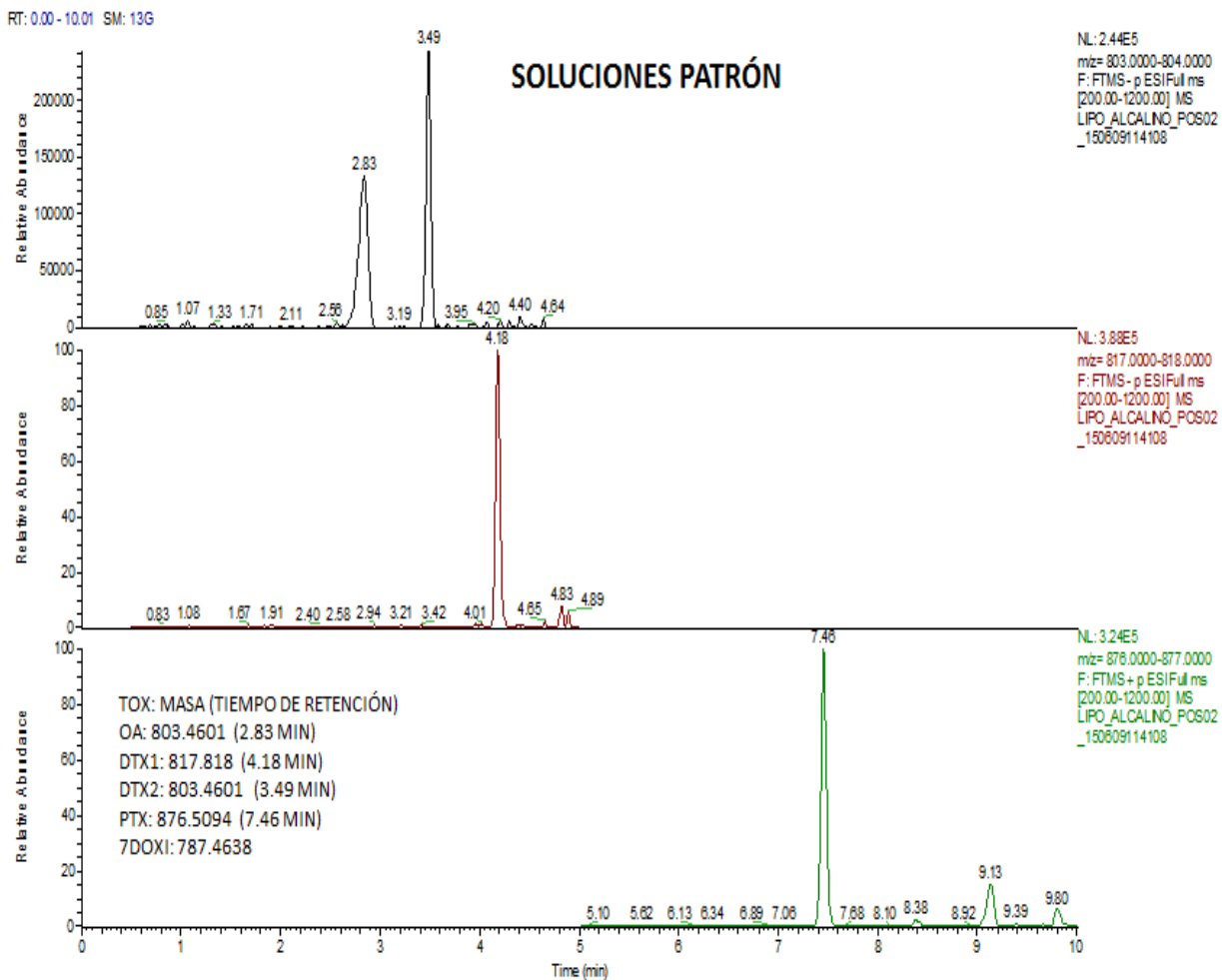
### Determinación de toxinas en células de *Dinophysis* colectadas en la Bahía de Todos Santos.

Las muestras colectadas mediante arrastres verticales con red para fitoplancton (40µm) se mantuvieron a baja temperatura y en obscuridad hasta su llegada al laboratorio. A partir de dichas muestras se aislaron de 50-100 células de *Dinophysis fortii* y *Dinophysis caudata* por medio de micromanipulación. Con pipeta capilar se separó célula por célula con un posterior enjuague en agua de mar filtrada (x3). Una vez limpias las células y tratando de succionar la menor cantidad de H<sub>2</sub>O<sub>M</sub> posible, se colocaron en un tubo Eppendorf con tapa de rosca y se adicionó metanol al 100%. Para su almacenaje se mantuvieron a <0°C.

Debido al alto contenido de sales, las muestras fueron sometidas a un proceso de limpieza previo a su análisis por LC-MS. Cada muestra se sonicó por aproximadamente 30 segundos para favorecer la ruptura de las células y se pasó por un filtro de 0.45µm para eliminar las sales precipitadas y cualquier partícula que pudiera interferir en la inyección. Posteriormente, para eliminar el agua/metanol y reducir el volumen de la muestra, se evaporó en un concentrador al vacío “speed-vac” hasta sequedad. El pellet se resuspendió en 200-300 µl de MeOH y se pasó por un filtro GF-C de 0.45 µm antes de inyectar.

Para el análisis se utilizó un espectrómetro de masas Exactive Plus Orbitrap equipado con una columna GeminiNX-C18 (2.1 x 50mm diámetro interno, 3.5µm de tamaño de poro) siguiendo un método de 14 minutos de corrida con un flujo constante de 0.4 ml/min y manteniendo la columna a 40°C. Para la fase móvil se empleó un gradiente con MeCN siguiendo una proporción de 90:10 para la solución B y amonio al 0.05% para la solución A. El bombeo de dicha fase fue (Min, %B): 0min, 25%; 1.5min, 25%; 7.5min, 95%; 9.5min, 95%; 12.5min, 25%; 14min, 25%. Para la calibración del método se utilizaron los estándares de AO, DTX1, DTX2, PTX y 7DOXI.

En la figura 40 se muestran los tiempos de retención y masas típicas de las distintas toxinas empleadas en la estandarización del método. Para la muestra de *D. caudata* se colectaron 100 células, tras analizarlas mediante LC-MS sólo se detectaron trazas de AO, DTX1 y PTX2 pero no se logró cuantificar su contenido (Figura 41). En el caso de *D. fortii* se colectaron 200 células, el análisis de dicha muestra permitió detectar trazas de AO, DTX1 y DTX2, así como la cuantificación de PTX2 (Figura 42-43). De acuerdo con dicho análisis, *D. fortii* presente en la Bahía de Todos Santos contiene  $14 \text{ pg cel}^{-1}$  de pectenotoxinas (Tabla 6). Estos valores son bajos en comparación con registros existentes en otras regiones del mundo, por lo que es probable que existiera algún tipo de interferencia en la ionización de las moléculas. Al realizar la micromanipulación es casi imposible no extraer agua al separar las células, dejando así un alto contenido de sales en la muestra. Dichas sales podrían inhibir la ionización de las toxinas y por ende impedir la separación de las moléculas dificultando su detección.



**Figura 40. Espectrogramas de las soluciones estándares de ácido okadaico, dinophysistoxinas 1 y 2, pectenotoxinas y 7 d-oxiokadaico.**

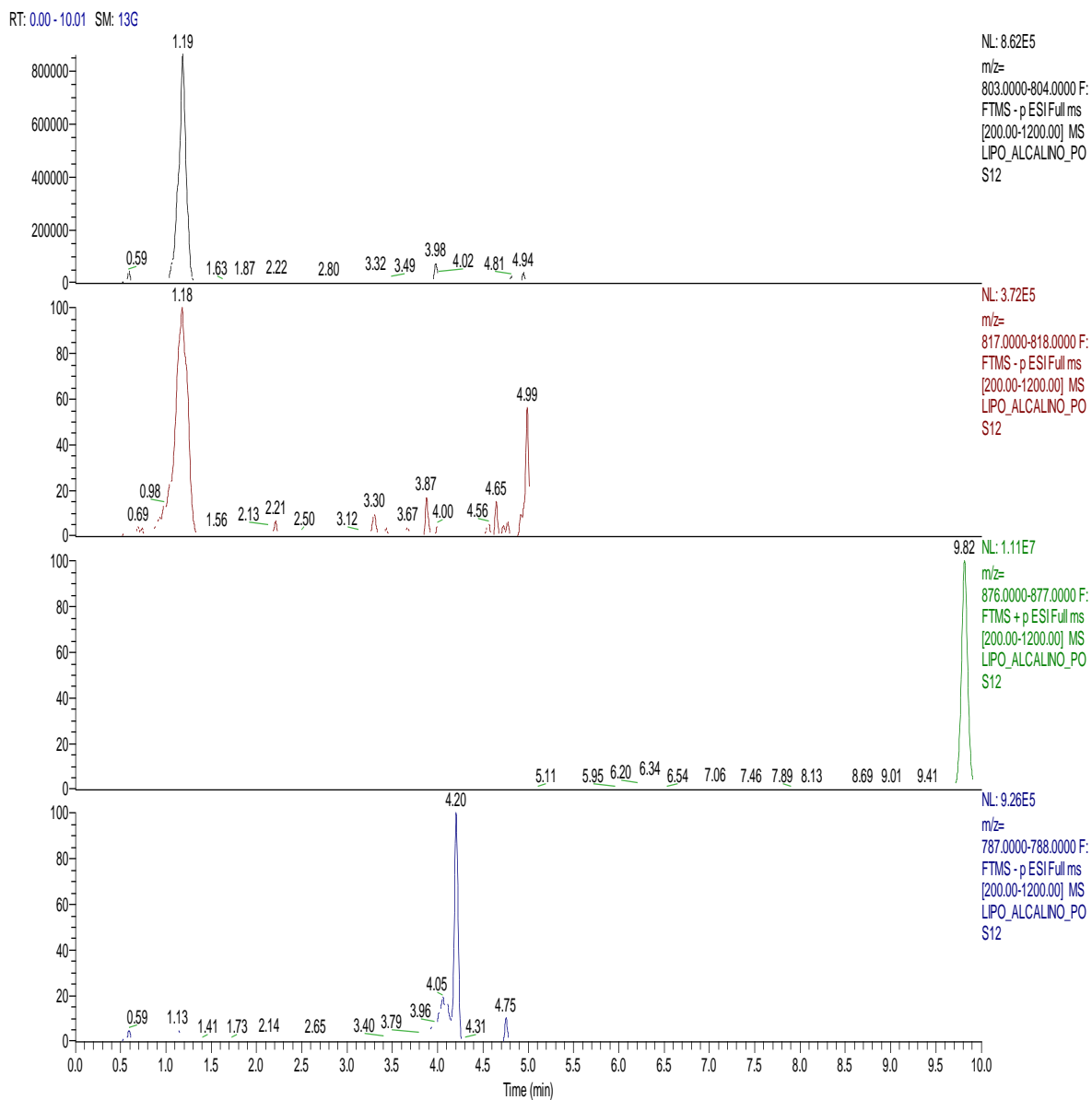
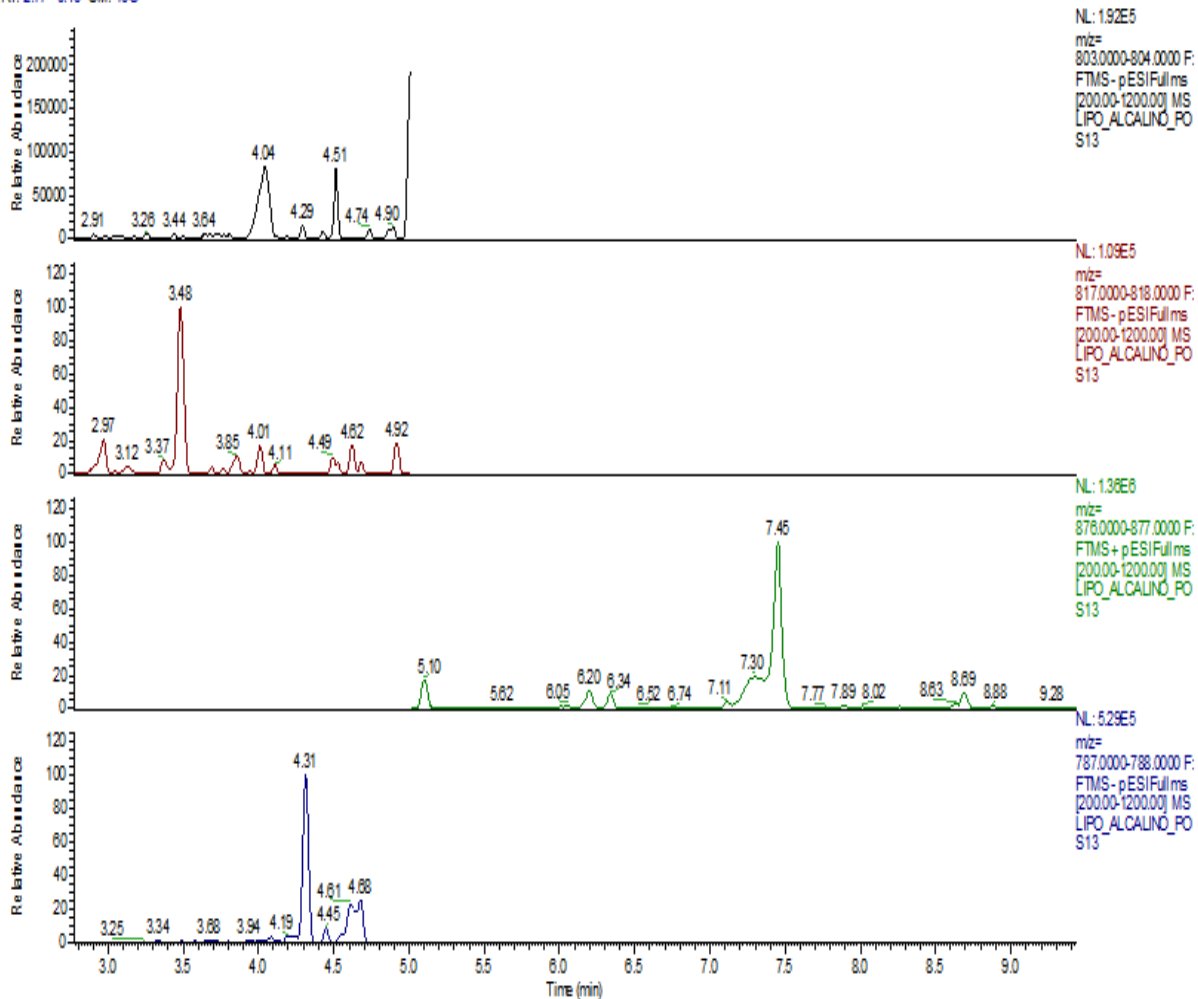


Figura 41. Espectrogramas de células de *Dinophysis caudata* colectadas en la Bahía de Todos Santos durante el mes de marzo del 2015.

RT: 2.77-9.43 SM: 13G



TOX: MASA (TIEMPO DE RETENCIÓN)

OA: 803.4601 (2.83 MIN)

DTX1: 817.818 (4.18 MIN)

DTX2: 803.4601 (3.49 MIN)

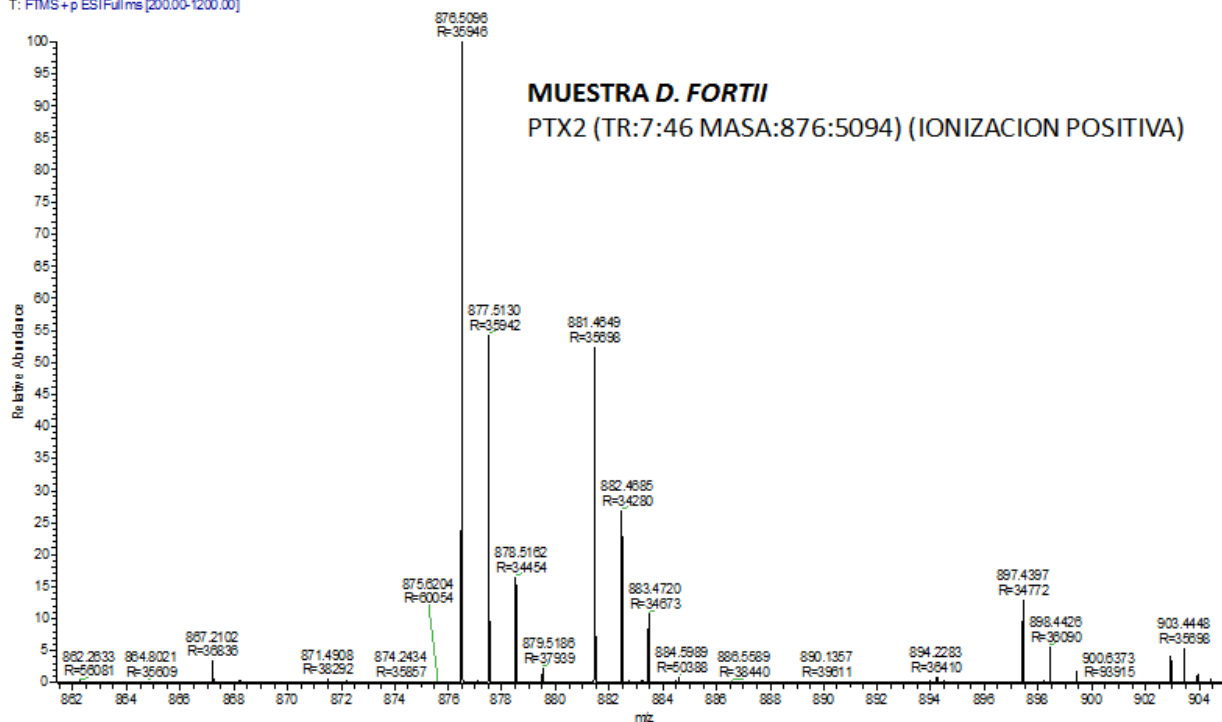
PTX: 876.5094 (7.46 MIN)

7DOXI: 787.4638

**Muestra *D. fortii* (300 uL MeOH)**

**Figura 42.** Espectrogramas de células de *Dinophysis fortii* colectadas en la Bahía de Todos Santos durante el mes de marzo del 2015.

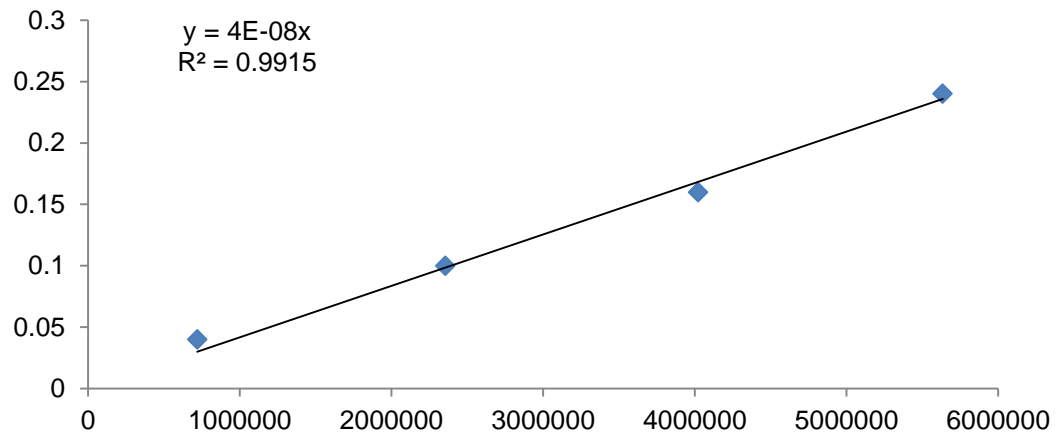
LPO ALCALINO POS1: #1414-1427 RT: 7.42-7.48 AV: 14 SB: 431 4.16-5.03 , 7.00-9.07 NL: 9.43E5  
T: FTMS+p ESIFullms [200.00-1200.00]



**Figura 43. Espectrograma correspondiente a la pectenotoxina-2 de células de *D. fortii* colectadas en la Bahía de Todos Santos durante marzo del 2015.**

**Tabla 5. Cuantificación de la concentración de PTX2 en células de *D. fortii* colectadas en la Bahía de Todos Santos durante marzo del 2015.**

SOLUCIÓN/ VOL.INYECCIÓN	Area	vol iny. (uL)	ng totales teóricos	ng totales calculados	ng en 300 uL	células totales	Pg cél <sup>-1</sup>
D. fortii_300uL	4657248	20		0.1862899	2.7943488	194	<b>14.40386</b>
PTX_20ngmL	719717	2	0.04	0.0287886			
PTX_20ngmL	2356488	5	0.1	0.0942595			
PTX_20ngmL	4022859	8	0.16	0.1609143			
PTX_20ngmL	5635292	12	0.24	0.2254116			



**Figura 44.** Curva de calibración para la cuantificación de PTX2 en células de *D. fortii* colectadas en la Bahía de Todos Santos durante marzo del 2015.