



**PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIAS
EN ECOLOGÍA MARINA**

**MICROBIOS FOTÓTROFOS EN LA ZONA DE TRANSICIÓN DEL
PACÍFICO MEXICANO, BÚSQUEDA DE DIFERENCIAS
ESPECTRALES, CRUCERO FU/0205.**

TESIS

que para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de
MAESTRO EN CIENCIAS

Presenta:

MARY CARMEN RUIZ DE LA TORRE

Ensenada, Baja California, México, septiembre del 2007

TESIS DEFENDIDA POR
MARY CARMEN RUIZ DE LA TORRE
Y APROBADA POR EL SIGUIENTE COMITÉ

Dr. Helmut Maske Rubach

Director del Comité

Dr. Gilberto Gaxiola Castro

Miembro del Comité

Dra. Rosa Reyna Mouriño Pérez

Miembro del Comité

Dr. Luis Eduardo Calderón Aguilera
Coordinador del programa de posgrado en
Ecología Marina.

Dr. Edgar Gerardo Pavía López
Director de Estudios de Posgrado

Septiembre de 2007

RESUMEN de la Tesis de Mary Carmen Ruiz de la Torre presentada como requisito parcial para la obtención del grado de MAESTRO EN CIENCIAS en ECOLOGIA MARINA. Ensenada, Baja California, México. Septiembre de 2007.

MICROBIOS FOTÓTROFOS EN LA ZONA DE TRANSICIÓN DEL PACÍFICO MEXICANO, BÚSQUEDA DE DIFERENCIAS ESPECTRALES, CRUCERO FU/0205.

Resumen aprobado por:

Dr. Helmut Maske Rubach

El grupo numéricamente dominante en la columna de agua es el compuesto por microbios fotótrofos de tamaño pequeño que va de 0.5– 2 μm también conocido como picoplancton, y del cual se reconoce a las cianobacterias como componente principal. El rasgo más característico entre la mayoría de las cianobacterias es su antena captadora de luz, el ficobilisoma. En la mayoría de las cianobacterias, el complejo antena asociado con el fotosistema II consisten en un grupo de polipéptidos solubles de agua conocido como ficobiliproteínas que se unen covalentemente con cromóforos ó pigmentos con características espectrales específicas que hacen más eficiente la captación de luz y la transferencia de energía hasta el fotosistema II. Los avances recientes en el estudio de varios grupos de cianobacterias son consistentes con la hipótesis de que las diferencias en las características fotosintéticas permiten aprovechar diferentes nichos, permitiendo la utilización eficiente de la luz disponible y contribuyendo a la biodiversidad de microorganismos fototróficos (ecotipos) en los ecosistemas acuáticos. Con la finalidad de contestar a la pregunta ¿Existen diferencias significativas entre el carácter espectral de las poblaciones de cianobacterias en escala vertical y horizontal? se llevó a cabo un crucero en febrero/marzo del 2005 en la zona de transición del Pacífico mexicano (Cabo San Lucas, Isla Socorro, P.Vallarta, Cabo San Lucas) para documentar en una región oceanográfica oligotrófica, la relación entre la hidrografía y la biología superficial, tanto en actividad fisiológica como en abundancia, Se tomaron datos con resolución horizontal mediana (10-20km) con un perfilador (CTD, fluorescencia de clorofila y esparcimiento de partículas) y muestras de agua para (a) pigmentos apolares para medir Clorofila *a* fluorométricamente y pigmentos accesorios para medir en HPLC (b) pigmentos polares, ficobiliproteínas, (c) conteo microscópico de cianobacterias, (d) carácter espectral. Se encontró la presencia de cianobacterias, proclorofitas y picoeucariotas en un orden de magnitud de 10^3 células por ml. Sin embargo, la distribución vertical de los pigmentos marcadores (Zeaxantina, Divinil chl *a*) no corresponden con la distribución vertical de las abundancias relativas. Aproximadamente el 80% de la clorofila total medida pertenecía a la fracción que corresponde al picoplancton menor a $3\mu\text{m}$. Al analizar el carácter espectral de las células de cianobacterias se encontró que la mayoría de las células analizadas fluorescen al

excitarlas a 488nm lo cual nos indicó la presencia del cromóforo ficorubilina (PUB), mientras que al excitar a 545 nm para poder detectar el cromóforo ficoeritobilina (PEB) no se detectaron células. Los resultados del análisis del carácter espectral nos sugieren la presencia de dos poblaciones, sin embargo, estos resultados deben ser verificados con espectros de absorción de muestras de ficobiliproteínas.

Palabras claves: cianobacterias, ficobiliproteínas, carácter espectral, Pacífico mexicano.

PHOTOTROPHIC MICROBES IN THE MEXICAN PACIFIC TRANSITION ZONE, SEARCHING FOR SPECTRAL DIFFERENCES, CRUISE FU/0205.

Abstract approved by:

Dr. Helmut Maske Rubach

ABSTRACT

It is now widely recognized that photosynthetic picoplankton (0.5 to 2µm) dominate productivity in stratified euphotic layers, especially in oligotrophic oceans, and that cyanobacteria constitute the main component. The distinctive characteristic of a major part of cyanobacteria *Synechococcus sp.*, is its light harvesting antenna, the phycobilisome containing phycobiliproteins as their light harvesting pigments. There are 3 classes of water-soluble biliprotein: phycoerythrin (PE), phycocyanin (PC) and (APC), and there are two distinct PE chromophores with specific spectral-response characteristics Phycoerythrobilin (PEB) and phycourobilin (PUB). The distribution of PE pigments types are directly related to chromophore spectral absorption. Recent studies of several groups of cyanobacteria suggest that the differences in the photosynthetic characteristics allow cyanobacteria to take advantage of different spectral niches, allowing the efficient use of the available light in the water column and contributing to the biodiversity of phototrophic life (ecotypes) in the aquatic ecosystems. In order to answer the question: Are there significant differences between the spectral character of cyanobacteria populations in the vertical and horizontal scale?; vertical profiles were sampled at several stations during the FU/0502 cruise (February/March 2005) in the transition zone of the Mexican Pacific (Cabo San Lucas, Socorro Island, Puerto Vallarta, Cabos San Lucas). We aimed to document in an oligotrophic region, the relation between the hydrography and superficial biology, as much in physiological activity as in abundance, data with horizontal resolution were taken (10-20km). Water was sampled with a rosette equipped with Niskin bottles and a SeaBird CTD. Samples were filtered for Chlorophyll a measured by fluorometry and accessory pigments measured with HPLC. Water samples were taken for, phycobiliproteins, autofluorescent microscopy picoplankton count, and spectral characteristics of autofluorescence. Cyanobacteria, *Prochlorococcus* and picoeukaryotes were found at approximately 10^3 cells ml^{-1} , nevertheless, the vertical distribution of the marking pigments (Zeaxantina, Divinil chl a) do not correspond with the vertical distribution of the relative picoplankton abundances. Roughly 80% of the measured total chlorophyll belonged to the size fraction that corresponds to the picoplankton smaller than 3µm. The PUB chromophore was found in the majority of the samples. When exciting the autofluorescence at 545 nm no PEB

chromophore containing cells were detected. Further spectral analysis of the autofluorescence suggests the presence of at least two populations of marine cyanobacteria, but these results have to be verified by absorption measurements of phycobiliproteins.

Key words: cyanobacteria, phycobiliproteins, spectral characteristics, transition zone

Esta tesis está dedicada a:

Hiram por su paciencia y amor incondicional.

Mis padres y hermanas por su amor y confianza infinita.

Scarlett por ser la luz que ilumina nuestras vidas.

AGRADECIMIENTOS

Al Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada
por el apoyo otorgado

Al Posgrado de Ecología Marina, al departamento de Oceanografía Biológica
y su personal administrativo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico para la realización de mis
estudios de maestría.

Al Dr. Helmut Maske por enriquecer mi crecimiento profesional, por su guía, valiosa dedicación y
apoyo en todo momento.

Al Dr. Gilberto Gaxiola Castro por sus comentarios, su tiempo y sus aportaciones a este trabajo.

A la Dra. Rosa Reyna Mouriño Pérez, por la confianza depositada para hacer uso del Microscopio
confocal y del Laboratorio de Microbiología.

A César Almeda por todo el tiempo dedicado a esta tesis, por sus acertadas aportaciones y por todo el
exhaustivo trabajo para el procesamiento de los datos.

Al los miembros del Laboratorio de Ecología de Microbios Marinos (MICMAR), en especial a
Alejandrina Jiménez por sus comentarios, consejos y palabras de apoyo.

Al Dr. Charles Trees y al Centro de Hidro-óptica y sensores remotos (CHORS) de la Universidad
Estatad de San Diego por las facilidades otorgadas para el análisis de las muestras en HPLC.

A los miembros del CPP por el apoyo a mis solicitudes y el soporte económico para finalizar este
trabajo.

A mis profesores por enriquecer mi paso en el CICESE con su experiencia y conocimientos, en
especial al M.C. Vicente Ferreria y al Dr. Ernesto Mendoza García, por su apoyo y aportaciones a este
trabajo.

A Karen Solis, Aaron Albores, Karina Barba, Aline Jaimes, Jushiro Cepeda, Miguel Angel García, y
Aleph Jiménez por su tiempo, dedicación y paciencia para explicarme y ayudarme con el Matlab.

A los participantes del crucero FU-0502/1 y FU-0502/2 (*la revancha*).

A mis amigos Dario, Diego, Jimena, Karen, Aaron, Jhanely, Miguel, Brenda, Liz, Ruth, Conchita y
Jorge, por su amistad y apoyo en todo momento.

A todos los que han pasado por mi camino y me han tendido la mano.

CONTENIDO

1. INTRODUCCION	1
1.1.Características espectrales de las ficobiliproteínas.....	4
1.2 Variación ecotípica	5
1.3 Zona de estudio.....	6
2. METODOLOGIA.....	9
2.1 Trabajo de campo.....	10
2.1.1. Abundancia del picoplancton fototrópico y carácter espectral.....	10
2.1.2. Determinación de pigmentos apolares.....	10
2.1.3. Perfiles de fluorescencia <i>in situ</i> y esparcimiento de luz por partículas.....	11
2.2 Laboratorio.....	11
2.2.1 Determinación de la abundancia celular de picoplancton fototrófico.	14
2.2.2. Carácter espectral.....	15
2.2.3 Determinación de la composición pigmentaria.....	15
2.2.4 Determinación de la concentración de clorofila <i>a</i>	16
3. RESULTADOS	17
3.1 Características Biológicas de la zona de estudio.....	23
3.1.1 Distribución y abundancia de los grupos del picoplancton.	23
3.1.2. Composición pigmentaria	27
3.1.3. Carácter espectral de cianobacterias en muestra de microscopía.	31
4. DISCUSION	36
4.1. Entorno físico y oceanográfico	36
4.2. Picoplancton en la columna de agua	37
4.3. Búsqueda de Ecotipos	47
5. CONCLUSIONES.....	57
6. REFERENCIAS CITADAS.....	58

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 Ubicación geográfica de las estaciones de muestreo. La línea negra en el transecto de los Cabos hacia Isla Socorro representa la estación a partir de la cual se muestreo para los datos de este trabajo. 9
- Figura 2 Procedimiento general de captura de imágenes digitales. A. Representa el filtro de policarbonato negro y los diferentes campos analizados. B. Representa los tres niveles de enfoque (dz) tomadas en cada campo. C. Representa a las 6 imágenes de excitación /emisión específica para cada nivel de enfoque y D. Representa la imagen compuesta de 18 imágenes individuales de cada campo. 12
- Figura 3 Sección (profundidad vs distancia) de la distribución de los valores de σ_t . Las líneas de contorno representan la distribución de la densidad hidrográfica en toda la sección. Los círculos blancos representan diferentes regiones en el transecto con características hidrográficas diferentes. Z1. Z2. Z3. Las líneas verticales amarillas separan los diferentes transectos con rumbos distintos (ver Fig. 1) y significan IS = Isla Socorro, CC: Cabo Corrientes..... 18
- Figura 4 Sección (profundidad vs distancia) de la concentración de oxígeno (ml l^{-1}). El sensor de oxígeno no estaba calibrado recientemente y hay que considerar los valores como números relativos. Las líneas de contorno representan la distribución de la densidad hidrográfica en toda la sección. En Fig.3 se explican las líneas amarillas..... 19
- Figura 5 Sección (profundidad vs distancia) de la temperatura ($^{\circ}\text{C}$). Las líneas de contorno representan la distribución de la σ_t hidrográfica en toda la sección, ver Fig.3 para las líneas amarillas. 19
- Figura. 6 Sección (profundidad vs distancia) de la abundancia de A. cianobacterias (*Synechococcus sp*), B. Proclorofitas y C. Picoeucariotas. Las líneas de contorno representan la distribución de la σ_t en toda la sección. 25
- Figura 7. Sección (profundidad vs distancia) de la abundancia de células dobles de cianobacterias. Las líneas de contorno representan la distribución de σ_t en toda la sección. .. 26
- Figura 8. Sección (profundidad vs distancia) de la razón entre la abundancia de células dobles de cianobacterias y las células de cianobacterias totales. Las líneas de contorno representan la distribución de σ_t hidrográfica en toda la sección. 26
- Figura 9. Sección (profundidad vs distancia) de la concentración de A. monovinil clorofila a, B. zeaxantina y C. fucoxantina. Las isolíneas representan la distribución de σ_t en toda la sección. 29

LISTA DE FIGURAS (Continuación)

- Figura 10. Sección (profundidad vs distancia) de la concentración de A. divinial clorofila a B. divinial clorofila b y C. la razón entre divinial clorofila b/ divinial clorofila a. Las isolíneas representan la distribución de σ_t en toda la sección. 30
- Figura 11 Sección (profundidad vs distancia) de las razones Zeaxantina:Clorofila a total. Las isolíneas representan la distribución de σ_t en toda la sección. 31
- Figura 12 Sección (profundidad vs distancia) de la señal roja (A), verde (B) y naranja (C) emitida por las células de las cianobacterias durante el análisis digital de imágenes. La intensidad no refleja la abundancia pero es el promedio de la intensidad de las píxeles que representan las células. Las líneas de contorno representan la distribución de la densidad en toda la sección. 34
- Figura 13. Sección (profundidad vs distancia) de la razón entre la señal A) verde:roja, B) verde:naranja y C) naranja:roja. Las líneas de contorno representan la distribución de la densidad en toda la sección. 35
- Figura 14. Relación en la distribución de oxígeno con respecto a la densidad (A) y temperatura (B). 37
- Figura 15. Relación entre la concentración de cianobacterias y proclorofitas (células ml^{-1}) contra la concentración de zeaxantina (mg m^{-3}). 38
- Figura 16. Distribución de la concentración de zeaxantina, suma de xantofilas y zeaxantina y divinil clorofila a con respecto a σ_t . La suma de xantofila se refiere a los pigmentos fucoxantina, alloxantina, diadinoxantina, diatoxantina, multiplicando la escala por 0.2. 39
- Figura 17. Distribución de la media de las abundancias de cianobacterias, proclorofitas y picoeucariotas con respecto a la σ_t 41
- Figura 18. Distribución del promedio de la abundancia de células de proclorofitas con respecto a la concentración relativa de oxígeno. 44
- Figura 19. Distribución de la concentración de células dobles durante las horas muestreadas en el crucero. 47
- Figura 20. Representación de la estructura tubular de un ficobilisoma y las características espectrales de absorción y emisión de los pigmentos y estructuras involucradas. PUB. Ficourubilina, PEB ficoeritrubilina, PC ficocianina, APC aloficocianina. Chla Clorofila a, RC2 centro de reacción 2 o fotosistema II. Las flechas indican que se absorben longitudes de onda cortas y la emisión longitudes de onda largas. 48

LISTA DE FIGURAS (Continuación)

Figura 21 Relación entre las intensidades del canal verde con respecto a las intensidades del canal rojo.....	52
Figura 22. Relación entre las intensidades del canal naranja con respecto a las intensidades del canal rojo.....	53
Figura 23. Sección (profundidad vs distancia) de la distribución de la posible población 1 y población 2 obtenidas de la relación entre la intensidad del canal verde y la intensidad del canal rojo en la Fig.21. Las líneas de contorno representan la distribución de σ_t en toda la sección.	55

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
Tabla I.	Sistema de clasificación para identificar picoplancton en las imágenes digitales	15
Tabla II.	Abundancia celular en los océanos de <i>Synechococcus</i> , <i>Prochlorococcus</i> y Picoeucariotas, datos publicados	40

LISTA DE ANEXOS

Tabla		Página
Anexo 1	Esquema conceptual de las características de las ficobiliproteínas y sus cromóforos	66
Anexo 2	Programa utilizado para capturar la información del carácter espectral de las células de cianobacterias	67

1. INTRODUCCION

El fitoplancton marino está compuesto de organismos procariontes y eucariontes que se distribuyen desde la parte superior de la columna de agua, hasta el límite de penetración de la luz. La estructura y abundancia de estas comunidades fitoplanctónicas está limitada principalmente por factores como la luz, los nutrientes inorgánicos (e.g. nitrógeno, fósforo, sílice y hierro) y el pastoreo (Partensky *et al.*, 1996).

El grupo numéricamente dominante en la columna de agua es el picoplancton, organismos que tienen un tamaño que va de 0.5– 2 μm aproximadamente y del cual se reconoce a las cianobacterias como el componente principal. El éxito ecológico del picoplancton se atribuye al incremento en la eficiencia para captar la luz, la eficiencia para absorber nutrientes debido a su tamaño pequeño, su composición pigmentaria y a su baja tasa de hundimiento (Platt y Li, 1986; Glover, 1991).

Dentro de las cianobacterias unicelulares coales se pueden reconocer dos importantes géneros *Synechococcus* y *Prochlorococcus*. Ambos grupos presentan división mitótica o fisión binaria (Glover, 1985), y son fotótrofos oxigénicos, ya que obtienen su energía a través de la fotosíntesis utilizando dos fotosistemas, el agua como donador de electrones y oxígeno molecular como producto de desecho. Las células de *Synechococcus* tienen un diámetro que va típicamente de 1.0 – 1.4 μm (Wyman *et al.*, 1985; Waterbury, 1986), mientras que el de *Prochlorococcus* es de 0.5 - 1 μm (Moore y Chisholm, 1999).

Dentro de estos dos grupos existen diferencias entre su distribución espacial. Por un lado *Synechococcus* predomina en aguas cercanas a la plataforma o zonas costeras, mientras que *Prochlorococcus* domina las aguas oceánicas entre los 40°N y 30°S (Bertilson *et al.*, 2003). *Synechococcus* es más cosmopolita ya que ocupa una gran variedad de ambientes y sus células son más grandes, con alto contenido de carbono (Heldal, 2003) por lo que su contribución relativa a la producción primaria es significativa.

El océano abierto cerca de la superficie (~30 m) está iluminado con irradiancias de longitudes de onda azules y verdes, mientras que en las aguas profundas y oligotróficas domina la luz azul (Kirk, 1994). En zonas costeras, las longitudes de onda verde son las que generalmente predominan. La habilidad de absorber y utilizar eficientemente una longitud de onda específica en una región o profundidad en particular es lo que provee a los organismos fotosintéticos una ventaja competitiva en el ambiente. *Prochlorococcus* es muy eficiente captando longitudes de onda azules por las características de sus pigmentos principales divinil clorofila a (Chla2) y divinil clorofila b (Chlb2). Además, su pequeño tamaño (~0.6 μm) permite una absorción eficiente de luz con poco efecto de paquete, lo que le da una gran capacidad de tener una tasa fotosintética mayor por unidad de biomasa. Por otro lado, *Synechococcus* no absorbe tan bien en el azul como *Prochlorococcus*, pero está equipada con ficobiliproteínas, pigmentos que absorben en la región verde del espectro (~500-550 nm), las longitudes de onda que predominan en aguas costeras. En aguas superficiales, la luz verde penetra de forma similar a la azul, y esto puede contribuir a la habilidad de *Synechococcus* de proliferar en estas profundidades (Morel *et al.*, 1993).

Dentro de las diferencias más importantes entre los géneros *Prochlorococcus* y *Synechococcus*, resaltan las antenas captadoras de luz y el tipo de pigmentos accesorios que utilizan para absorber la luz y realizar la fotosíntesis. El rasgo más característico entre la mayoría de las cianobacterias es su antena captadora de luz, el ficobilisoma, mientras que en las proclorofitas los complejos captadores de luz están compuestos de los pigmentos chl_{a2} y chl_{b2}. El ficobilisoma es un complejo supramolecular captador de luz que funciona como antena principal del fotosistema II. Las antenas captadoras de luz incrementan la absorción efectiva y la sección transversal de los centros de reacción. En la mayoría de las cianobacterias, el complejo antena asociado con el fotosistema II consiste en un grupo de polipéptidos solubles en agua, ficobiliproteínas, que se unen en forma covalente con cromóforos (pigmentos). En cianobacterias del género *Synechococcus* existen tres grupos de ficobiliproteínas ubicadas en la superficie externa de la membrana intracitoplasmática (Gantt *et al.*, 1979), la ficoeritrina (PE), la ficocianina (PC) y la aloficocianina (APC). Los ficobilisomas de *Synechococcus* marino, contienen los cromóforos ficoeritrobilina (PEB) y ficorubilina (PUB), los cuales tienen su absorción máxima en la región azul-verde del espectro visible (Six *et al.*, 2004). Por otro lado, *Prochlorococcus* posee un complejo antena diferente a la mayoría de las cianobacterias, el cual está conformado por proteínas y pigmentos captadores de luz embebidos en la membrana intracitoplasmática (Ting *et al.*, 2002); los pigmentos principales que distinguen a este género incluye Chl_{a2} (in vivo A_{\max} =443-450 nm), y Chl_{b2} (in vivo A_{\max} =468 nm) (Goericke y Repeta, 1993). Este grupo de pigmentos es único entre los organismos fotosintéticos. Otros pigmentos adicionales incluyen a la zeaxantina y α -caroteno.

1.1. Características espectrales de las ficobiliproteínas.

Las ficobiliproteínas que se encuentran organizadas en los ficobilisomas de las cianobacterias tienen características espectrales que les permite absorber la luz eficientemente. El núcleo de aloficocianina absorbe a $\lambda_{\max} \sim 650$ nm, mientras que las estructuras tubulares compuestas de ficocianina absorben $\lambda_{\max} \sim 620$ nm y las compuestas por ficoeritrina absorben a $\lambda_{\max} \sim 565$ nm (Grossman *et al.*, 1993; Ting *et al.*, 2002). La mayoría de *Synechococcus* marinos contienen ficoeritrina como principal pigmento captador de luz (Waterbury *et al.*, 1979). Las características de fluorescencia naranja/amarillo de la ficoeritrina se ha utilizado para distinguir a las poblaciones de *Synechococcus* utilizando citometría de flujo y microscopia de epifluorescencia (Li y Wood, 1988; Campbell y Vaultot, 1993). Las cepas de *Synechococcus* marino tienen dos tipos de ficoeritrinas presentes en el ficobilisoma PE(I) y PE(II) (Ong y Glazer, 1988). La principal ficoeritrina en *Synechococcus* marino es la forma PE (II), que contiene mayor proporción del cromóforo PUB que la forma PE (I). La banda de absorción de PUB se centra alrededor de los 490 nm, lo que complementa muy bien las longitudes de luz de máxima transmitancia en agua de mar, específicamente a las de longitudes de onda en la región azul-verde, por lo que la ficoeritrina rica en PUB es típica de las cepas marinas de *Synechococcus* (Ong y Glazer, 1988). La mayoría de las formas oceánicas de *Synechococcus* produce una alta concentración de ficoeritrina asociada al cromóforo que absorbe luz azul (PUB, $\lambda_{\text{AbsMax}} \sim 495\text{nm}$), más que cuando está asociada al cromóforo que absorbe luz verde (PEB, $\lambda_{\text{AbsMax}} \sim 550\text{nm}$) (Palenik, 2001) ver Anexo 1. La habilidad de absorber y utilizar eficientemente longitudes específicas presentes en regiones y profundidades particulares en el

océano proveen a estos organismos una ventaja competitiva en los ambientes. Estas características espectrales fueron las que se utilizaron como base para este trabajo.

1.2 Variación ecotípica

Las variaciones en el medio generan distintos nichos en donde los organismos se pueden reproducir y crecer, mediante la aclimatación o adaptación a este medio. Dentro de estos nichos se ha podido demostrar que existen particiones que les permite a los organismos ocupar nichos ecológicos en la columna de agua, como es el caso de *Prochlorococcus*, en donde esta partición se refleja en organismos de superficie, “adaptados a alta luz” y organismos de fondo “adaptados a baja luz” (Moore *et al.*, 1998). Otra evidencia es la que se observa en diferentes “cepas” de *Synechococcus* de agua dulce que también presentan distinta tolerancia a la luz, con ecotipos adaptados a baja y alta luz (Postius *et al.*, 1999). El género *Synechococcus* está formado de numerosos grupos diferenciados genéticamente, de los cuales el mejor caracterizado es el clado móvil. Los miembros de este clado tienen una forma de movilidad diferente (Toledo, 1999). Otro clado diferenciado genéticamente consiste en cepas en las cuales no domina el cromóforo PUB (Rocap *et al.*, 2003). Este ecotipo es dominante en células presentes en aguas costeras, mientras que los clados en los que domina el cromóforo PUB están presentes en aguas oceánicas (Wood *et al.*, 1998).

Palenik (2001) observó que diferentes cepas de *Synechococcus* son capaces de tener adaptación cromática, incrementando la proporción de los cromóforos PUB/PEB cuando crecen bajo luz azul. Estos resultados sugieren que la existencia de una distinta composición pigmentaria en cepas de *Synechococcus* son el resultado de una aclimatación a diferentes nichos de irradiancia

espectral. Los estudios fisiológicos y geonómicos sugieren que la selección natural promueve la diferenciación entre los microorganismos fototróficos, particularmente con respecto a sus características fotosintéticas. Las diferencias entre los ecotipos de un género puede ser importante para determinar la distribución relativa de las cianobacterias en la columna de agua y a lo largo de los océanos. Stomp *et al.* (2004) analizaron la competencia por la luz entre dos cianobacterias muy relacionadas al grupo de *Synechococcus* y aisladas del Mar Báltico. Una de las dos cianobacterias contiene el pigmento ficoeritrina, mientras que otra contiene ficocianina. A partir de experimentos competitivos se demostró la coexistencia de las dos cianobacterias. En un tercer experimento con una tercera cianobacteria capaz de adaptar su composición pigmentaria, el autor demuestra que las células de esta cianobacteria persisten en invertir en el pigmento que absorbe el color que no es absorbido por sus competidores. Estos resultados demostraron la variedad adaptativa en la composición pigmentaria de estos microorganismos fototróficos, la cual les permite la utilización de la luz favoreciendo así la coexistencia de las especies (Stomp *et al.*, 2004).

1.3 Zona de estudio

La entrada al Golfo de California (GC), se localiza en el Pacífico central mexicano, en la zona de convergencia del Giro del Pacífico Norte donde la Corriente de California se separa del continente para formar parte de la Corriente Nor-Ecuatorial. Abarca aproximadamente de 19° a 24° N y de 104° a 112° W (Fig. 3). La entrada del Golfo de California tiene una profundidad promedio de 2,500 m llegando hasta los 4,000 m. Por esto, las masas de agua pueden intercambiarse libremente entre el Golfo de California y el Océano Pacífico conducidos por factores como los vientos regionales. Ésta es una región de transición caracterizada por la

interacción de masas de agua de muy distintos orígenes y se localiza en el extremo norte de la región oceanográfica del Pacífico Tropical Oriental. (López-Bojórquez, 1996). Durante el periodo de muestreo, febrero-marzo 2005, esta región se caracterizó por la presencia de aguas de orígenes diversos, en donde convergen Agua Tropical Superficial (ATS), Agua del Golfo de California (AGC) y Agua de la Corriente de California (ACC). Por otro lado, se encontró debajo de la superficie la señal del Agua Subtropical (ASS), Agua Intermedia del Pacífico (AIP) y Agua Profunda del Pacífico (APP) (Jaimes-Hernández, 2006). La convergencia de masas de agua de diferentes orígenes, hace de esta región una zona de transición entre aguas frías, ricas en nutrientes, provenientes de otras corrientes o de aguas profundas exportadas hacia superficie producidas por procesos de mezcla, surgencias costeras y las aguas cálidas del océano abierto.

La diversidad del fitoplancton se atribuye comúnmente a una variedad de factores, incluyendo la utilización diferencial de nutrientes a la depredación, la heterogeneidad en espacio y tiempo, y al complejo dinamismo del ambiente. Los avances recientes en el estudio de varios grupos de cianobacterias son consistentes con la hipótesis de que las diferencias en las características fotosintéticas les permiten aprovechar diferentes nichos, y con ello utilizar eficientemente la luz disponible contribuyendo a la biodiversidad de microorganismos fototróficos (ecotipos) en los ecosistemas acuáticos. En base a lo anterior la intención del presente trabajo fue evaluar diferencias en las características espectrales de ficobiliproteínas de cianobacterias con el fin de encontrar diferentes poblaciones o ecotipos adaptados a un nicho en una región oceánica de transición que presenta diferencias en su hidrografía.

Con la finalidad de contestar a la pregunta ¿Existen diferencias significativas entre el carácter espectral de las poblaciones de cianobacterias en escala vertical y horizontal? se plantearon los siguientes objetivos particulares:

1. Documentar la distribución de la abundancia de cianobacterias y comparar con la concentración de ficobiliproteínas.
2. Comparar la abundancia de las cianobacterias con zeaxantina, pigmento indicador de cianobacterias, *chl*a₂, pigmento indicador de *Prochlorococcus* y la biomasa de todo el fitoplancton determinado por *chl*a₁ y *chl*a₂ en la zona de estudio.
3. Identificación de cambios en el carácter espectral de células de cianobacterias mediante el análisis digital de imágenes.
4. Comparar la distribución regional de los parámetros relacionados con el picoplancton con las condiciones hidrográficas regionales.

2. METODOLOGIA

Se llevó a cabo un crucero abordo del buque oceanográfico Francisco de Ulloa del 22 de febrero al 13 de marzo de 2005 (FU/0205) en el cual se realizó un muestreo de un total de 48 estaciones con el fin de obtener información oceanográfica tanto física como biológica de la zona de estudio. El muestreo se llevo acabo siguiendo tres transectos: desde Cabo San Lucas a Isla Socorro, de Isla Socorro a Cabo Corrientes y de Cabo Corrientes a Cabo San Lucas (Figura 1).

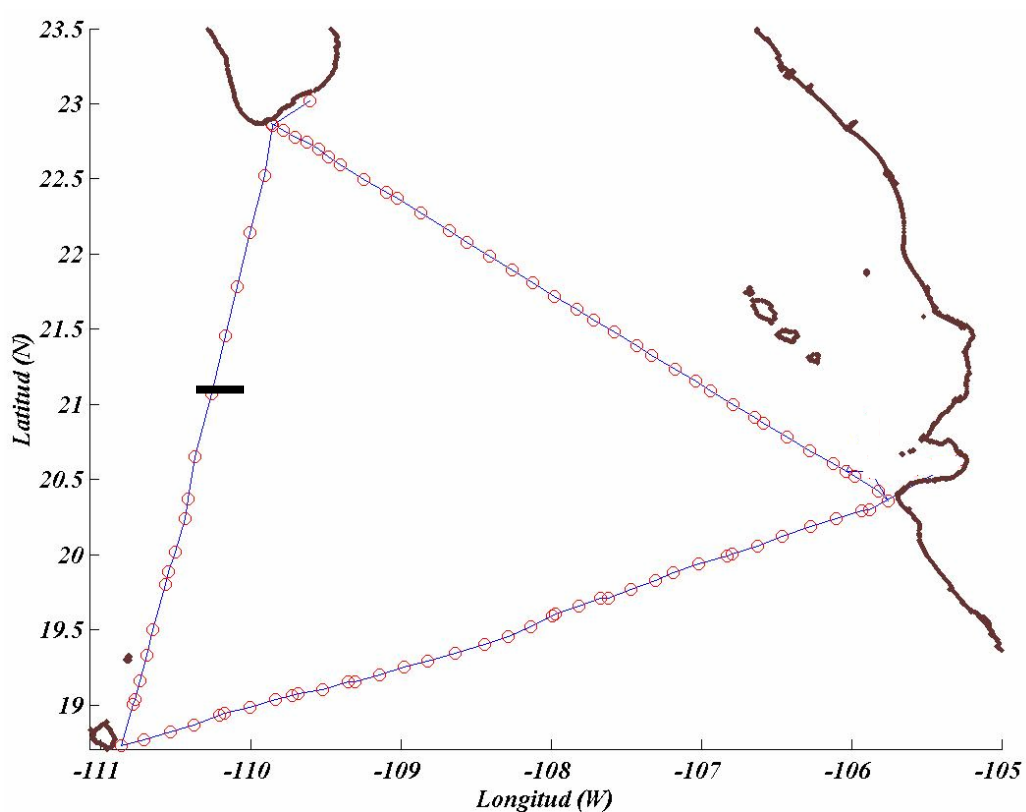


Figura 1 Ubicación geográfica de las estaciones de muestreo para los datos hidrográficos del crucero FU/0205 La línea negra en el transecto de los Cabos hacia Isla Socorro representa la estación a partir de la cual se muestreo para los datos de este trabajo.

2.1 Trabajo de campo

Durante el crucero (FU0502-155) que se llevó a cabo en los meses de febrero-marzo de 2005, típicamente se muestrearon 4 estaciones al día (6:00, 12:00, 18:00, 24:00 hrs) y cada estación a 6 profundidades (1, 25, max clorofila, 75, 100 m). En los muestreos se midieron una serie de variables físicas y biológicas, las cuales fueron: mediciones de conductividad, temperatura y presión mediante un CTD (Seabird, Inc), abundancia de picoplancton y concentración de pigmentos. Se colectó agua en botellas Niskin de 5 litros (*General Oceanics*) para obtener datos sobre abundancia celular de picoplancton, carácter espectral, concentración de pigmentos polares y apolares, y composición pigmentaria. Adicionalmente se tomaron lances del CTD aproximadamente cada 20 km.

2.1.1. Abundancia del picoplancton fototrófico y carácter espectral

Las muestras utilizadas para la cuantificación del picoplancton fototrófico y el carácter espectral se obtuvieron filtrando ~7 ml de agua de mar en un sistema de filtración por vacío. El agua se filtro a través de filtros de policarbonato negro (0.2 μm de tamaño de poro). El filtro se montó en un portaobjetos que contenía una gota de glicerol con el fin de detectar con mayor intensidad la autofluorescencia naranja proveniente de las ficobiliproteínas de cianobacterias del genero *Synechococcus* (Wyman, 1992).

2.1.2. Determinación de pigmentos apolares

Las muestras para la determinación de la concentración de clorofila se obtuvieron filtrando por presión aproximadamente 1.5 litros de agua en filtros de microfibras de vidrio GFF (Whatman). La fracción de tamaño se obtuvo filtrando muestras de agua en filtros de vidrio GFF (total) y para la fracción de tamaño $> 3 \mu\text{m}$, se filtró agua por filtros de policarbonato con un tamaño

de poro de 3 μm . Los filtros doblados y envueltos en papel de aluminio se guardaron en nitrógeno líquido hasta su posterior análisis.

2.1.3. Perfiles de fluorescencia *in situ* y esparcimiento de luz por partículas.

Para estimar la concentración de clorofila a *in situ* fluorescencia, se hicieron lances con un instrumento de caída de 0.5 m s⁻¹ con una frecuencia 2 Hz y un CTD Sea-Bird-SEACAT al cuál estaban acoplados un fluorómetro *ECOFLX* (Environmental Characterization Optics) de WetLabs y un sensor de dispersión de luz por partículas *LSS* de WetLabs (Light Scattering Sensor).

2.2 Laboratorio

a. Captura de imágenes

El conteo y el carácter espectral de las células se llevó a cabo mediante el análisis digital de imágenes el cual consistió en capturar imágenes para detectar la autofluorescencia de picoplancton fotoautotrófico y así cuantificarlos. Para la captura digital de imágenes fluorescentes se programó una subrutina de captura mediante un microscopio confocal Axiovert100 (Carl Zeiss, Inc. New York, N.Y.). Las condiciones para la captura de las imágenes de fluorescencia fueron: filtro de excitación de 488 y 543 nm, filtros de banda de emisión 552-584 nm, 627-659 nm, 659-713 nm y lente objetivo Plan-Neofluor 100x/1.3 oil (Carl Zeiss, Inc. New York, N.Y.). La subrutina permitió capturar una imagen digital de 2048 x 2048 píxeles en tres planos focales tomados cada 1 μm de profundidad (dz). Las condiciones de captura fueron: tiempo de exposición de 1.15 minutos por imagen, y una profundidad de color de 36 bits/canal rojo, verde y azul (RGB por sus siglas en inglés). Al final de la captura

se obtuvo de cada campo tres imágenes a diferentes niveles focales. Cada una de ellas contenía seis imágenes con excitación y emisión específica. Al final de la captura de cada campo en cada filtro se obtuvo una imagen compuesta de 18 imágenes individuales (Fig. 2). Adicionalmente, el programa almacenó las imágenes capturadas en formato TIF y en un archivo para su posterior análisis. Cada imagen tenía un área de $8100 \mu\text{m}^2$ y cada filtro un área efectiva de $1.77 \times 10^8 \mu\text{m}^2$, con una resolución óptica de alrededor de $0.2 \mu\text{m}$ o 4 píxeles. La resolución numérica de la imagen fue de $0.05 \mu\text{m}/\text{píxel}$. Para detectar a los organismos se establecieron colores falsos para cada banda espectral. Por lo que la señal en el rojo y en el verde tendrían un color falso igual (rojo y verde) respectivamente y el canal azul un color falso naranja.

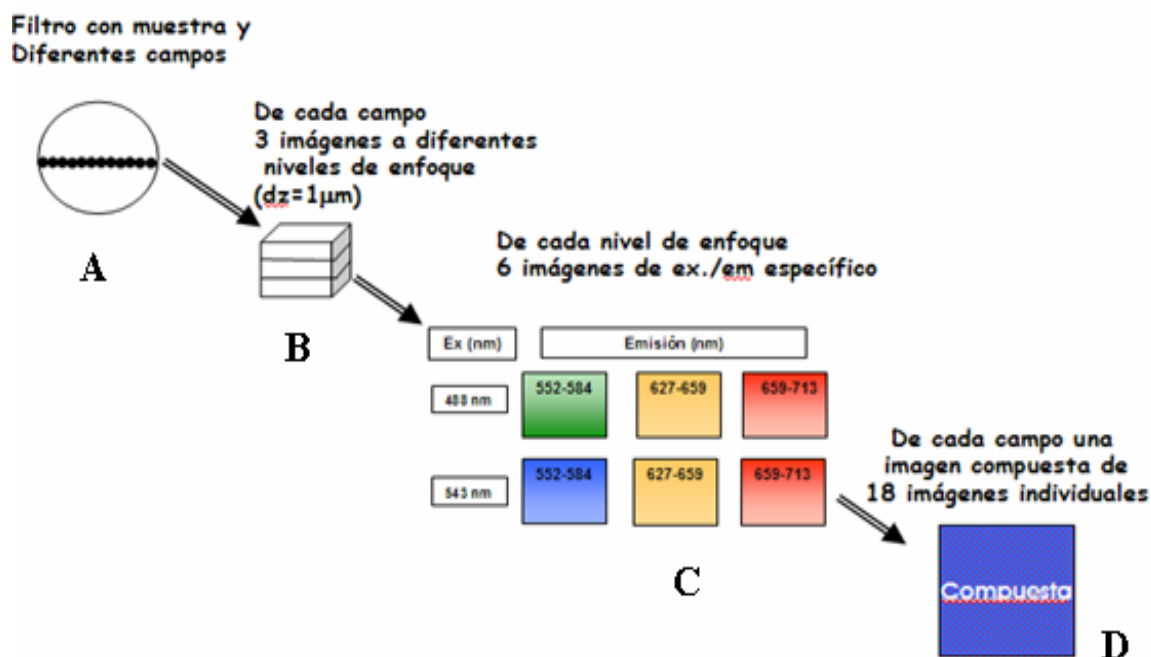


Figura 2 Procedimiento general de captura de imágenes digitales. A. Representa el filtro de policarbonato negro y los diferentes campos analizados. B. Representa los tres niveles de enfoque (dz) tomadas en cada campo. C. Representa a las 6 imágenes de excitación /emisión específica para cada nivel de enfoque y D. Representa la imagen compuesta de 18 imágenes individuales de cada campo.

b. Análisis de Imágenes fluorescentes

El análisis de imágenes se llevó a cabo mediante el desarrollo de rutinas en el programa **ImageJ** (<http://rsb.info.nih.gov/ij/index.html>), en el cual se aplicó una subrutina para unir en una sola imagen los tres niveles **dz** uniendo en una sola imagen los diferentes canales, para obtener por canal de excitación tres canales de emisión y una imagen compuesta por las imágenes de los tres canales.

c. Reconocimiento de células en las imágenes digitales.

Se reconocieron a las diferentes células de acuerdo a sus características espectrales, de acuerdo a la excitación y emisión registrada con respecto a sus pigmentos. Como se mencionó en la introducción los distintos grupos del fitoplancton tienen huellas espectrales que permiten reconocerlos. Dichas huellas o señales espectrales se encuentran resumidas en el anexo 1 y son las que se utilizaron para reconocer y detectar a los organismos del picoplancton de interés en las imágenes digitales. Por lo tanto las células que aparecían cuando se excitaba a 488 nm y las células emitían entre los 552-584 nm, 627-659 nm y 659-713 nm se les consideraba cianobacterias que contenían el cromóforo ficorubilina (PUB). Cuando se excitaba a 488 nm y aparecían células con emisión entre los 627-659 nm y entre los 659-713 nm se les consideraba también cianobacterias, mientras que cuando se excitaba tanto a 488 nm como a 543 nm y las células únicamente emitían entre los 659-713 nm se les consideraba proclorofitas si eran de tamaño pequeño, y si eran de tamaño grande picoeucariotas (Tabla I). Por otro lado si se excitaba a 543 nm y emitían entre 552-584 nm, 627-659 y 659-713 nm se les consideró cianobacterias que contenían el cromóforo ficoeritrobilina PEB al igual que si emitían entre los

627-659 nm y entre 659-713 nm. Estas longitudes de onda se establecieron a partir de la información de la literatura (ver Anexo 1).

Una vez que se tenían las imágenes y que se reconocieron las células, se analizaron las imágenes para obtener tres diferentes tipos de datos:

- a. Abundancia de células por imagen
- b. Ausencia y presencia de las células reconocidas como cianobacterias (*Synechococcus*) en los diferentes canales espectrales.

2.2.1 Determinación de la abundancia celular de picoplancton fototrófico.

El análisis de imágenes para el conteo de picoplancton se llevó a cabo con una subrutina del ImageJ (“*count plugin*”) la cual permitía contar manualmente las células dependiendo de los tipos de células que existían en la imagen. Estos tipos de células fueron especificados al programa con anterioridad como se muestra en la Tabla I. Una vez cuantificadas se obtuvieron las células por mililitro siguiendo la fórmula 1.

$$Abundancia(cel \text{ } ml^{-1}) = \frac{cel \times Af}{n_i \times A_i \times vf} \dots\dots\dots (1)$$

cel = células contadas en un imagen

Af = área efectiva del filtro,

A_i = el área de la imagen

n_i = numero de imágenes tomadas

vf = volumen filtrado

Tabla I. Sistema de clasificación para identificar picoplancton en las imágenes digitales.

Tipo de células	Color Falso utilizado.	Organismo	Características consideradas.
1	Verde Amarillo	Cianobacterias	Señal en el 552-584 nm, 627-659 nm, 659-713 nm Tamaño pequeño < 2 μm <i>Prochlorococcus.</i>
2	Rojo	Proclorofitas	Señal en 659-713 nm Tamaño pequeño <1 μm
3	Rojo	Células grandes Picoeucariotas	Señal en 659-713 nm Tamaño < 3 μm >1 μm
4	Verde Amarillo	Células dobles	Células de cianobacterias en división

2.2.2. Carácter espectral

El carácter espectral de cada célula de cianobacteria detectada se determinó mediante la elaboración de un programa en MATLAB[®], el cual consistía en detectar las partículas mediante píxeles con una señal arriba de un limite inferior de intensidad seleccionada (>50), se seleccionaba la partícula de interés y se registró los valores de RGB para cada partícula seleccionada en cada imagen. Los detalles del programa se pueden consultar en el anexo 2.

2.2.3 Determinación de la composición pigmentaria

Las muestras ya filtradas para pigmentos se analizaron por Cromatografía Líquida de alto rendimiento (HPLC) en el Centro de Hidro-óptica y sensores remotos (CHORS, ingl) de la

Universidad Estatal de San Diego (SDSU) utilizando el método descrito por (Trees *et al.*, 2000). El método utilizado fue el propuesto por Van Heukelem 1994 el cual permite separar el *chl_a2* (característico de Proclorofitas) de la *chl_a*.

2.2.4 Determinación de la concentración de clorofila *a*

Una vez en el laboratorio el análisis se realizó mediante la extracción en 90% de acetona (Sigma-Aldrich) y tratamiento por ultrasonido. La concentración de clorofila se estimó mediante análisis fluorométrico, siguiendo el método de Welschmeyer (1994).

Datos auxiliares e información adicional

El presente trabajo se llevó a cabo en conjunto con otros participantes del crucero, Dr. Armando Trasviña-CICESE y M.C. Aline Jaimes-Hernández CICESE-CIBNOR, M.C. Alejandrina Jiménez-UABC. Las figuras de secciones se hicieron utilizando el programa Ocean Data View (<http://odv.awi-bremerhaven.de/home.html>). Arriba de la distribución del parámetro principal se presentan las isolíneas del σ_t del agua calculado a partir de los datos del CTD por el programa ODV.

3. RESULTADOS

En la sección de densidad se observaron tres zonas con características diferentes (Fig. 3). La primera zona (Z1) abarca de los 100 a los 450 km de la sección. En la parte media de esta zona se ubica Isla Socorro (IS) aproximadamente a los 250 km. Esta zona está caracterizada por una corriente de chorro cercana a Cabo San Lucas (Jaimes-Hernández, 2006), una corriente que se puede ver en la sección como una disminución en la concentración de oxígeno (Fig. 4) y la intrusión de aguas frías. Jaimes-Hernández (2006) encuentra que en esta región hay una confluencia de aguas de la Corriente de California y aguas de transición superficial. En Z1, la relación de los isolíneas de oxígeno y densidad es diferente de todo el resto del crucero. La segunda zona (Z2) abarca de los 500 a 900 km en la sección. A los 750 km de la sección se puede ubicar la región de Cabo Corrientes (CC). El mínimo de oxígeno se ubica a los 50 m y cerca de la CC se observa un mínimo a los 75 m aproximadamente. La Z2 se caracteriza con concentraciones altas de oxígeno a los 75 metros. En esta región Jaimes-Hernández (2006) encuentra un giro cálido anticiclónico y agua de transición, el cual produce condiciones oligotróficas. Además observa la presencia de una pared fría. Esta región tiene un comportamiento distinto a las otras zonas debido a la cercanía con la zona costera de Bahía Banderas. La tercera zona (Z3) abarca de los 1000 a los 1500 km de la sección y se caracteriza por un aumento en la concentración de oxígeno, el cual se alinea con la temperatura hacia la superficie (Fig. 5). Esta zona se ubica cerca de las costas de Cabo San Lucas. La corriente de chorro que se dirige hacia el interior del golfo se puede observar una subida en la concentración de oxígeno. Por otro lado, el giro cálido provoca una depresión de la capa de mezcla más profunda con condiciones oligotróficas.

En la sección de oxígeno se observó que las isolíneas van siguiendo las líneas de σ_t en toda la sección, aparte de Z1 donde la alta concentración de oxígeno se ubica a mayor profundidad. La máxima concentración de oxígeno encontrada esta dentro del intervalo de 3.5 a 4 ml l⁻¹. En Z1 la oxiclina se ubica por debajo de los 75 m (2 ml ml l⁻¹) y coincide con la σ_t 25.5 y 26. En Z2 la oxiclina sube y se ubica en los 40 m (2-3 ml ml l⁻¹) coincidiendo con el σ_t de 24. En Z3 la oxiclina está a los 60 m alineándose con la σ_t de 24.5. En este trabajo se utilizó la concentración de oxígeno para tener una idea de la profundidad de la nutriclina, suponiendo una relación inversa ente el oxígeno y la concentración de nutrientes en donde una nutriclina somera facilita más el transporte de nutrientes hacia la superficie.

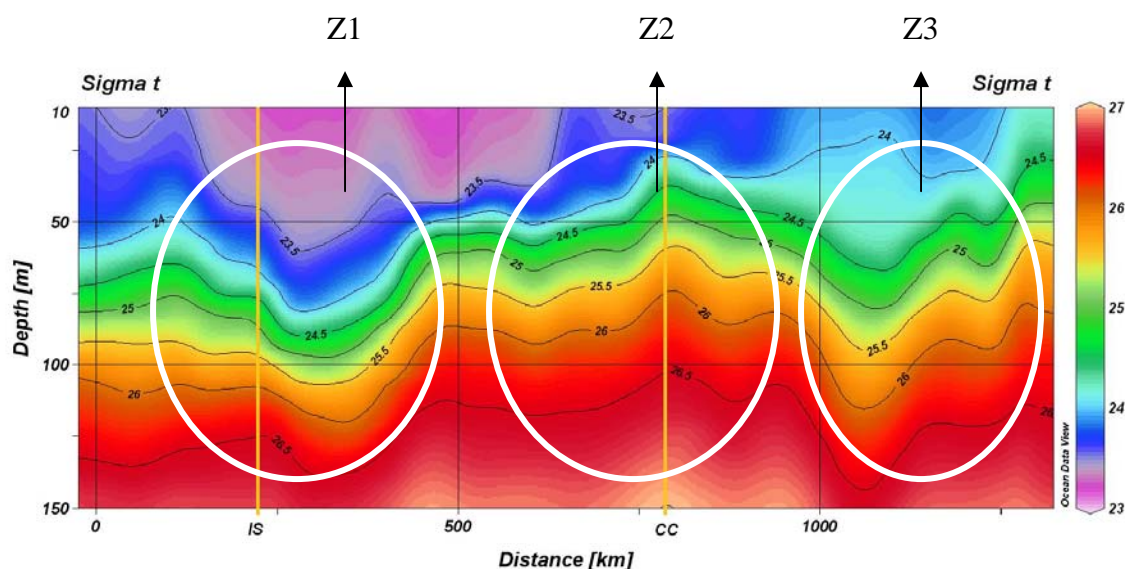


Figura 3 Sección (profundidad vs distancia) de la distribución de los valores de σ_t . Las líneas de contorno representan la distribución de la densidad hidrográfica en toda la sección. Los círculos blancos representan diferentes regiones en el transecto con características hidrográficas diferentes. Z1. Z2. Z3. Las líneas verticales amarillas separan los diferentes transectos con rumbos distintos (ver Fig. 1) y significan IS = Isla Socorro, CC: Cabo Corrientes.

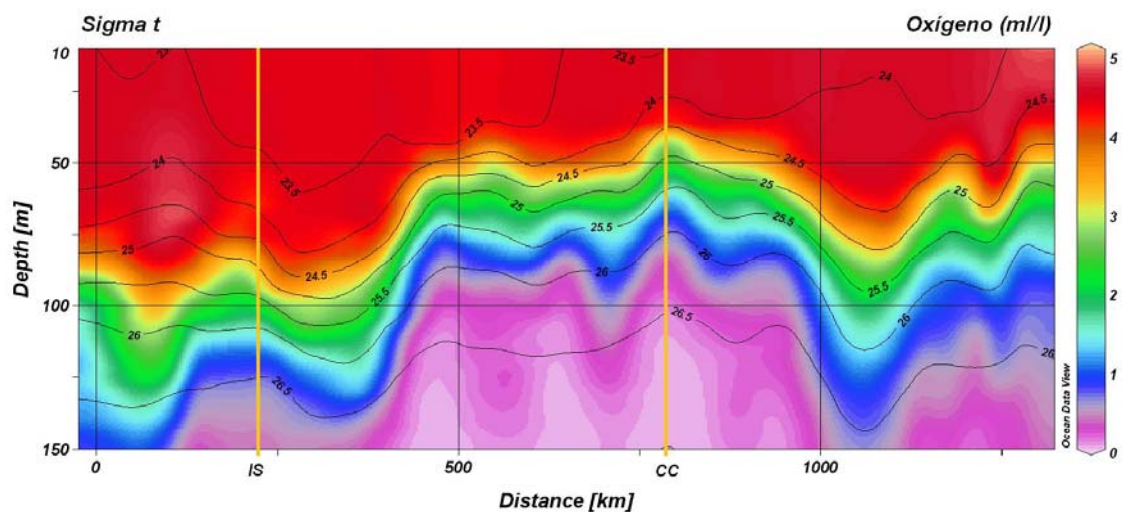


Figura 4 Sección (profundidad vs distancia) de la concentración de oxígeno (ml l^{-1}). El sensor de oxígeno no estaba calibrado recientemente y hay que considerar los valores como números relativos. Las líneas de contorno representan la distribución de la densidad hidrográfica en toda la sección. En Fig.3 se explican las líneas amarillas.

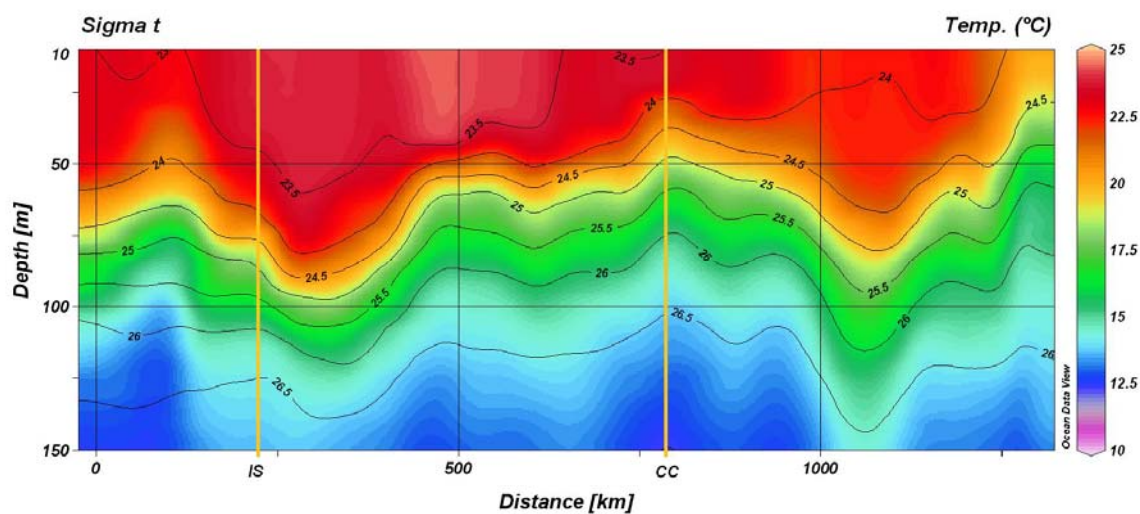


Figura 5 Sección (profundidad vs distancia) de la temperatura ($^{\circ}\text{C}$). Las líneas de contorno representan la distribución de la σ_t hidrográfica en toda la sección, ver Fig.3 para las líneas amarillas.

El máximo de la fluorescencia (Fig. 6) sigue a la isolínea de $24 \sigma_t$ y está delimitada hacia abajo por la de 25.5. La señal de fluorescencia en Z1 es menos intensa que en Z2 y Z3. Esta señal va aumentando conforme se acerca a la pared fría y rica en nutrientes en Z2. En Z3 aumenta conforme se acerca a la costa de los Cabos. Los valores de fluorescencia fluctuaron entre 0.2 y 0.8 mV. La distribución de la señal máxima de fluorescencia en la vertical se ubicó en el intervalo de 40 a 75 m. En Z1 se observa un máximo por debajo de los 40 m el cual corresponde al máximo profundo de clorofilas o DCM ('deep chlorophyll maximum'). Los valores que se registran en esta zona fueron <0.3 mV. La profundidad del DCM sigue la forma de la termoclina. En Z2 se observan valores más altos en la fluorescencia de la DCM que van de 0.3-0.4 mV. La señal de fluorescencia del DCM sigue la base de la termoclina. Aparentemente hay un transporte de aguas frías, ricas en nutrientes que coinciden con el incremento de la señal del DCM en la región de Cabo Corrientes. La señal de fluorescencia aumenta conforme nos acercamos a la costa de Cabo San Lucas. En la sección de esparcimiento de partículas (Fig. 7) se puede observar que en la mayor parte de la sección los máximos siguen la señal de fluorescencia. Se observa típicamente el máximo de esparcimiento por partículas en la misma profundidad del máximo de clorofila, y los máximos de ambas señales son proporcionales. Sólo cerca a Cabo Corriente se encuentran dos máximos en diferentes profundidades.

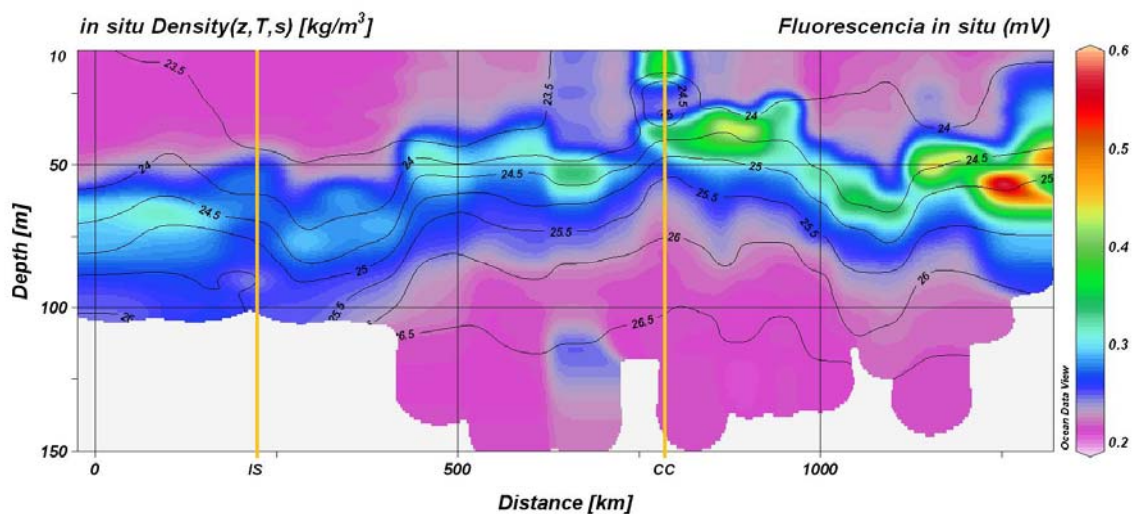


Figura 6 Sección (profundidad vs distancia) de la distribución de la fluorescencia *in situ* del Minioptics convertida a concentración de clorofila a (mg m^{-3}).

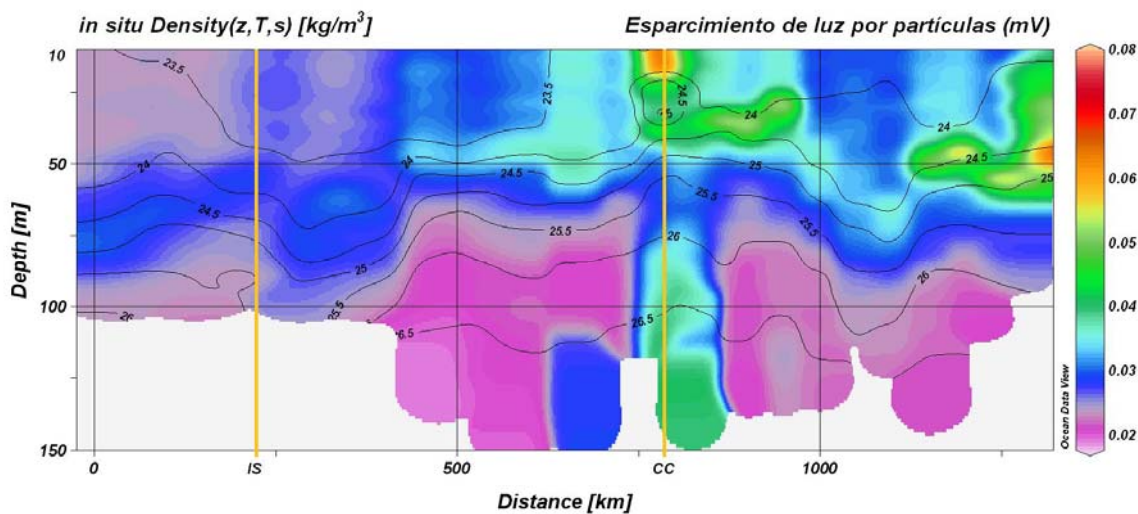


Figura 7. Sección (profundidad vs distancia) de la dispersión de partículas (backscattering) tomadas del sensor del Minioptics.

La caracterización superficial de la convergencia de agua con diferente temperatura superficial, durante el periodo del crucero se puede observar en la figura 8. Al sur de la región se puede notar la presencia de agua cálida consistente con la presencia de Agua Tropical superficial, cuya influencia en superficie abarca desde la Isla Socorro hasta la costa de Jalisco. En la zona sur de Cabo Corrientes se puede observar la presencia de agua menos cálida a lo largo de la costa. Hacia la región de los Cabos se observa una lengua menos cálida que entra hacia el interior del golfo de California. En el centro de la región, se observaron masa de agua con rasgos de temperatura intermedios y que son producto de transición por mezcla (Jaimes-Hernández, 2006).

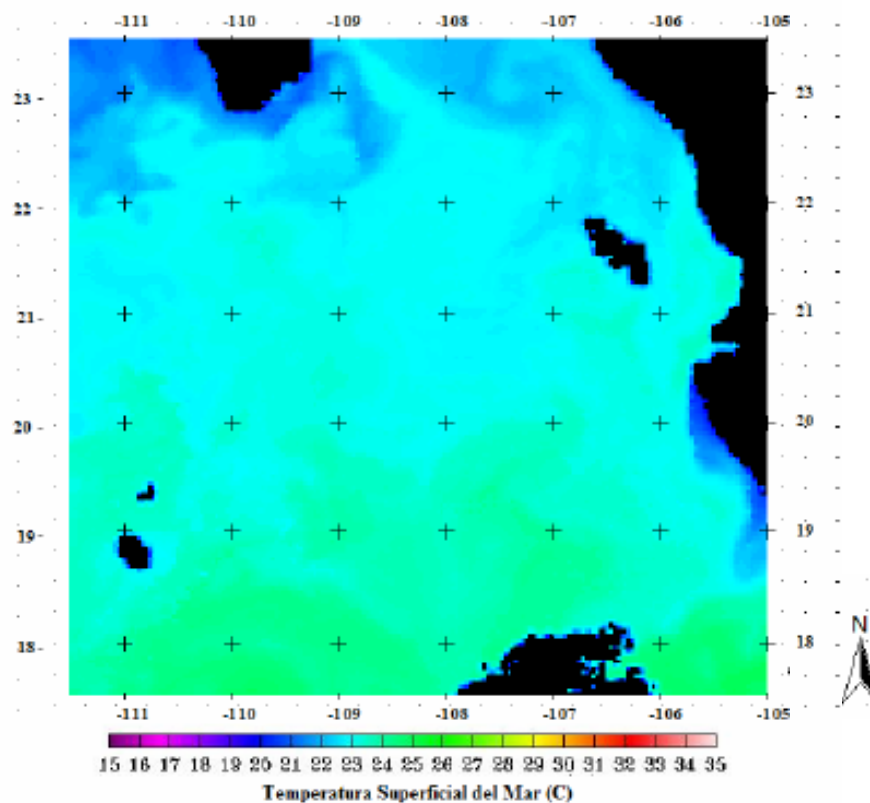


Figura 8. Temperatura Superficial del Mar (TSM). Marzo 2005. Imagen compuesta para todo el mes. Fuente MODISAQUA (Jaimes-Hernández, 2006).

3.1 Características Biológicas de la zona de estudio.

3.1.1 Distribución y abundancia de los grupos del picoplancton.

El análisis digital de las imágenes de epifluorescencia mostró que los valores máximos de abundancia de cianobacterias estaban alrededor de 30,000 células ml^{-1} en superficie (0-30 m) en la Z1 (Fig. 9A), cerca de la σ_t de 23.5, mientras que los mínimos (<2000 células ml^{-1}) se encuentran por debajo de los 60 metros. La abundancia en profundidad fue constante a lo largo del trayecto. La distribución de las proclorofitas se observa en la figura 9B. Los máximos en la concentración de proclorofitas se encuentran entre los σ_t de 24 y 25. En Z1 se observa un primer máximo aproximadamente a los 75 m de profundidad y un segundo máximo que se ubica alrededor de los 50 m en Z2. De igual manera en Z3 se pueden observar dos máximos. El primero se ubica cerca de σ_t 24.5 por arriba de los 50 m, mientras que el segundo se ubica por debajo de los 50 m entre la σ_t de 24.5 y 25. En toda la sección los mínimos se distribuyen a lo largo de la superficie con una concentración <5000 células ml^{-1} . La profundidad del máximo de proclorofitas coincide con la profundidad del límite inferior de cianobacterias. Con respecto a las piceucariotas encontradas (Fig. 9C), los máximos se distribuyen en la sección aproximadamente con un valor de 15,000 células ml^{-1} y estos máximos se encuentran cerca del σ_t de 24.5. Valores arriba de las 5000 células ml^{-1} se pueden observar en la sección cerca a la Isla Socorro (Z1) y en Cabo Corrientes (Z2). Cerca de la entrada al Golfo de California (Z3) se observó un máximo dentro de los límites σ_t de 24 y 25, que sigue la línea de σ_t 24.5, y que se extiende hasta las zonas costeras cerca de los Cabos. En general, se observó que las concentraciones mínimas se ubicaron en la superficie y por debajo de los 75 m, y que los

máximos se distribuyeron en la mayoría de la sección entre los 40 y 75 m. La distribución de los valores máximos coincide con la distribución de los valores máximos de proclorofitas y con los valores mínimos de cianobacterias.

Los máximos de células dobles detectadas durante el análisis digital de las imágenes muestran un máximo en la región cercana a Z2 (Fig. 10). El máximo es de >4000 células ml^{-1} . Este máximo se ubica en σ_t 23.5 y se pueden observar valores de 2000 células ml^{-1} a 50 m cercana a Z1 y Z3. Este máximo coincide con el de la abundancia de cianobacterias, por lo que se sugiere que *Synechococcus* se está dividiendo en superficie. En la figura 11 se graficó la razón entre las células dobles encontradas y las células totales de cianobacterias detectadas, lo cual nos dice cuanto del total de cianobacterias observadas estaban en división. Se puede observar una razón baja en toda la sección de la superficie hasta aproximadamente 25 m. En Z1 la razón es mayor a los 50 m y en la Z3 cerca a Cabos San Lucas a los 100 m. La razón entre células dobles y células totales de cianobacterias fueron de 0.3 a 0.5 en ambos máximos.

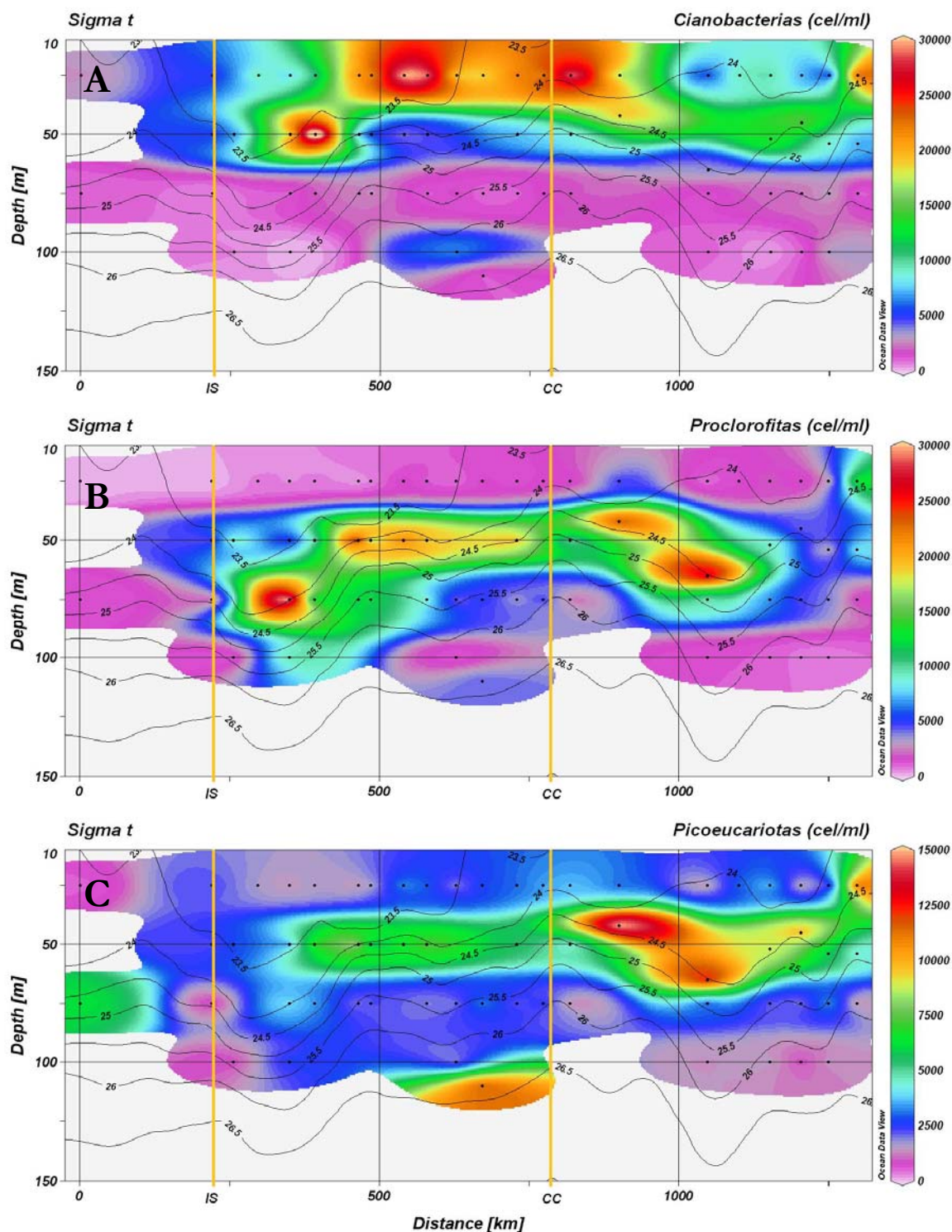


Figura. 6 Sección (profundidad vs distancia) de la abundancia de A. cianobacterias (*Synechococcus sp*), B. Prochlorofitas y C. Picoeucariotas. Las líneas de contorno representan la distribución de la σ_t en toda la sección.

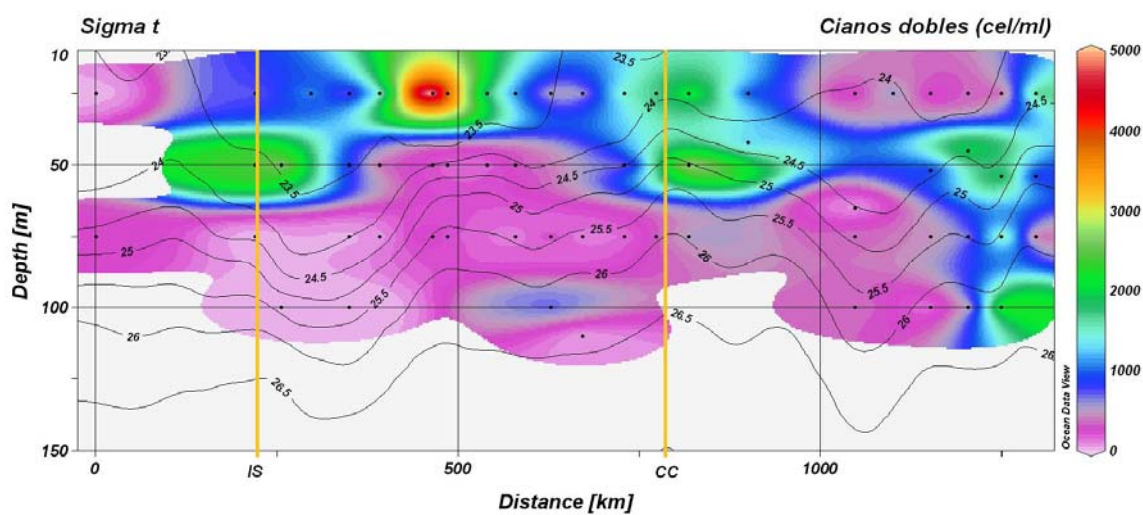


Figura 7. Sección (profundidad vs distancia) de la abundancia de células dobles de cianobacterias. Las líneas de contorno representan la distribución de σ_t en toda la sección.

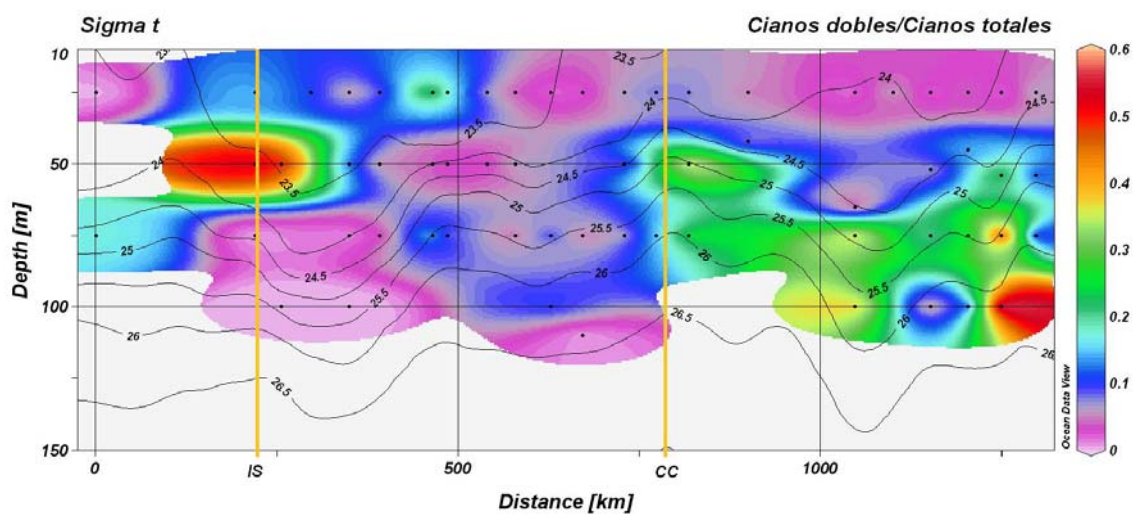


Figura 8. Sección (profundidad vs distancia) de la razón entre la abundancia de células dobles de cianobacterias y las células de cianobacterias totales. Las líneas de contorno representan la distribución de σ_t hidrogáfica en toda la sección.

3.1.2. Composición pigmentaria

La concentración de monovinil clorofila total encontrados en la sección (Fig. 12 A) se ubican en Z1 por debajo de los 50 m entre la líneas σ_t de los 24.5 y 25 con concentraciones de 0.5 mg m^{-3} . Conforme avanza la sección la señal disminuye cerca de Isla Socorro y aumenta cerca de la zona de Cabo Corrientes en superficie (Z2). Las concentraciones máximas fueron de 2 a 3 mg m^{-3} . Esta señal permaneció alta en Z3 por ser la zona más costera cerca de las costas de Cabo San Lucas. Los máximos en Z3 están limitados por la σ_t 24 y la de 24.5. En general, por debajo de los 60 metros las concentraciones tienden al valor mínimo de aguas profundas en casi toda la sección, excepto en la Z1 donde se ubicó por debajo de los 100 m. El máximo que se ubica en superficie en Z2 coincide con la señal de zeaxantina y la abundancia de cianobacterias en superficie. En la zona cercana a cabo Corrientes y a la entrada de Golfo se puede observar una concentración de entre 0.75 y 1 mg m^{-3} y una concentración máxima de 1.75 mg m^{-3} cercana a la zona de Los Cabos. Esta concentración máxima se ubica por debajo de los 25 m y coincide con una alta concentración de zeaxantina encontrada en esta zona de entre 0.06 y 0.08 mg m^{-3} (Fig. 12B). Los máximos en la concentración de zeaxantina coinciden con los máximos encontrados en superficie de cianobacterias. Se puede observar concentraciones de 0.04 mg m^{-3} siguiendo la σ_t de 24 y 24.5 en toda la sección. Esta señal posiblemente sea resultado de la presencia de proclorofitas que también contienen zeaxantina. La razón zeaxantina/clorofila es mayor en superficie y va de 0.25 a 0.3 (Fig. 14). La concentración de fucoxantina, un indicador de varios grupos de eucariotas fototrofos como principalmente diatomeas, primnesiaficeae y crisófitas, se observa en la figura 12C con las máximas concentraciones de 0.1 a 0.4 mg m^{-3} . En Z2 la concentración máxima se ubica entre los 25 y 30 m y coincide con el máximo de fluorescencia encontrado en esta zona. Con

respecto a la distribución de los pigmentos marcadores de proclorofitas, se obtuvo que los máximos en la concentración de chl_{a2} y chl_{b2} (Fig. 13 A y 13 B) se ubicaron por debajo de los 40 m, en Z1 y en Z3. La señal de chl_{a2} disminuye conforme nos acercamos a Z2 y vuelve a aumentar en Z3 lo cual coincide con la señal de proclorofitas encontrada en esta zona. El máximo de chl_{b2} en Z3 se ubica por debajo del máximo ubicado de chl_{a2} (por debajo 60 m). La concentración de chl_{b2} está limitada por la σ_t de 24.5 y la de 25.5. Al igual que la chl_{a2} los máximos de chl_{b2} coinciden en Z3, zona en la cual se encontraron los máximos en la concentración de proclorofitas. Los máximos de chl_{b2} están en un intervalo de 0.1–0.2 mg m⁻³. Las razones entre chl_{b2} y chl_{a2} (Fig. 13C) en Z1 fueron menores a 1, mientras en Z2 fue de 3 a 4, y en Z3 de 2-3, con máximos por debajo de los 50 metros. La razón zeaxantina:clorofila total a puede indicar la importancia de las cianobacterias en relación a fitoplancton total (Fig. 14). Esta razón mostró un máximo en Z1 y Z3 en superficie entre los 10 y 40 m lo cual coincide con los máximos encontrados en la concentración de zeaxantina. Mientras que en Z2 cerca de Cabo Corrientes se encontró una razón de 0.1-0.15 que coincide con el máximo de chl_{a1} y fucoxantina.

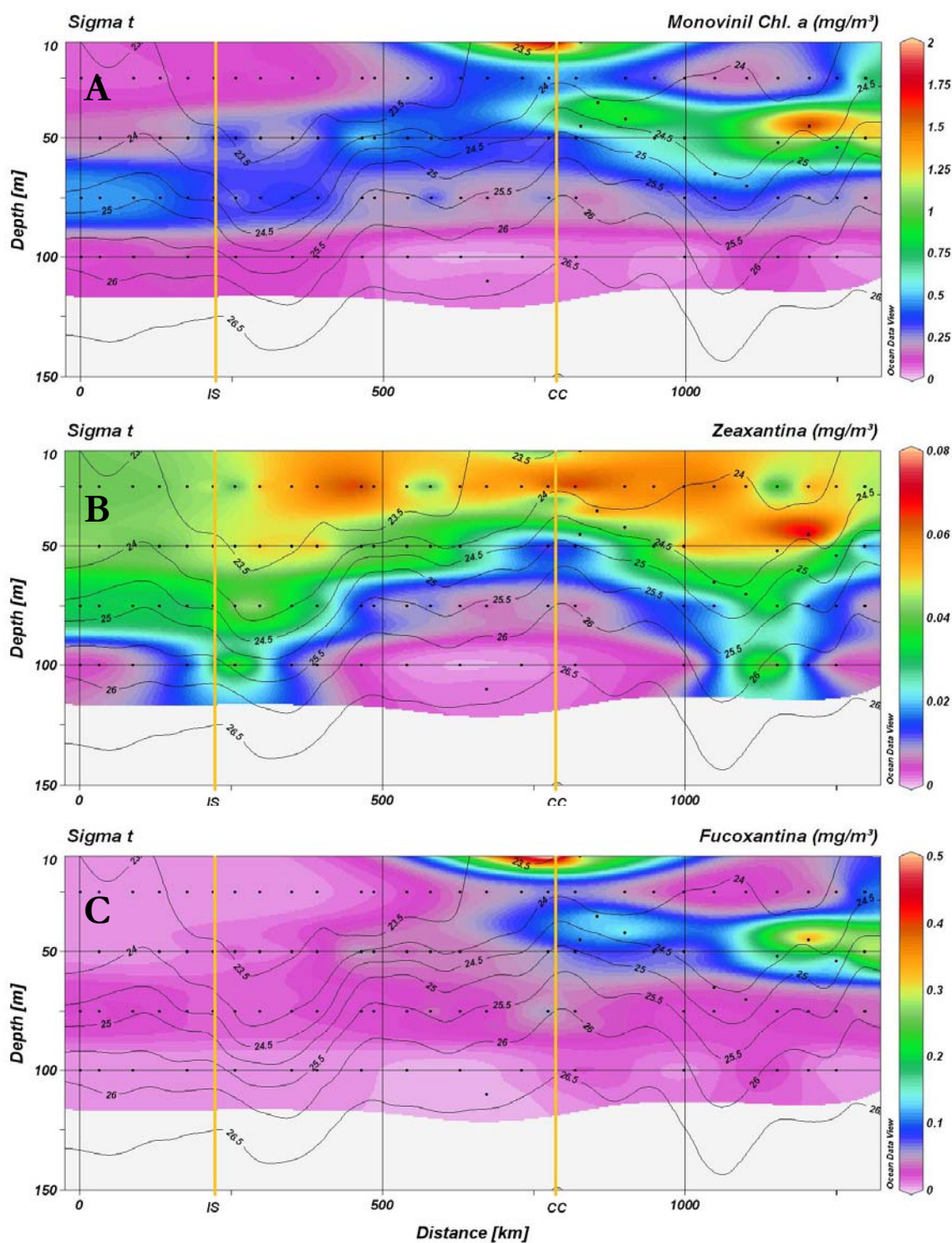


Figura 9. Sección (profundidad vs distancia) de la concentración de A. monovinil clorofila a, B. zeaxantina y C. fucoxantina. Las isóneas representan la distribución de σ_t en toda la sección.

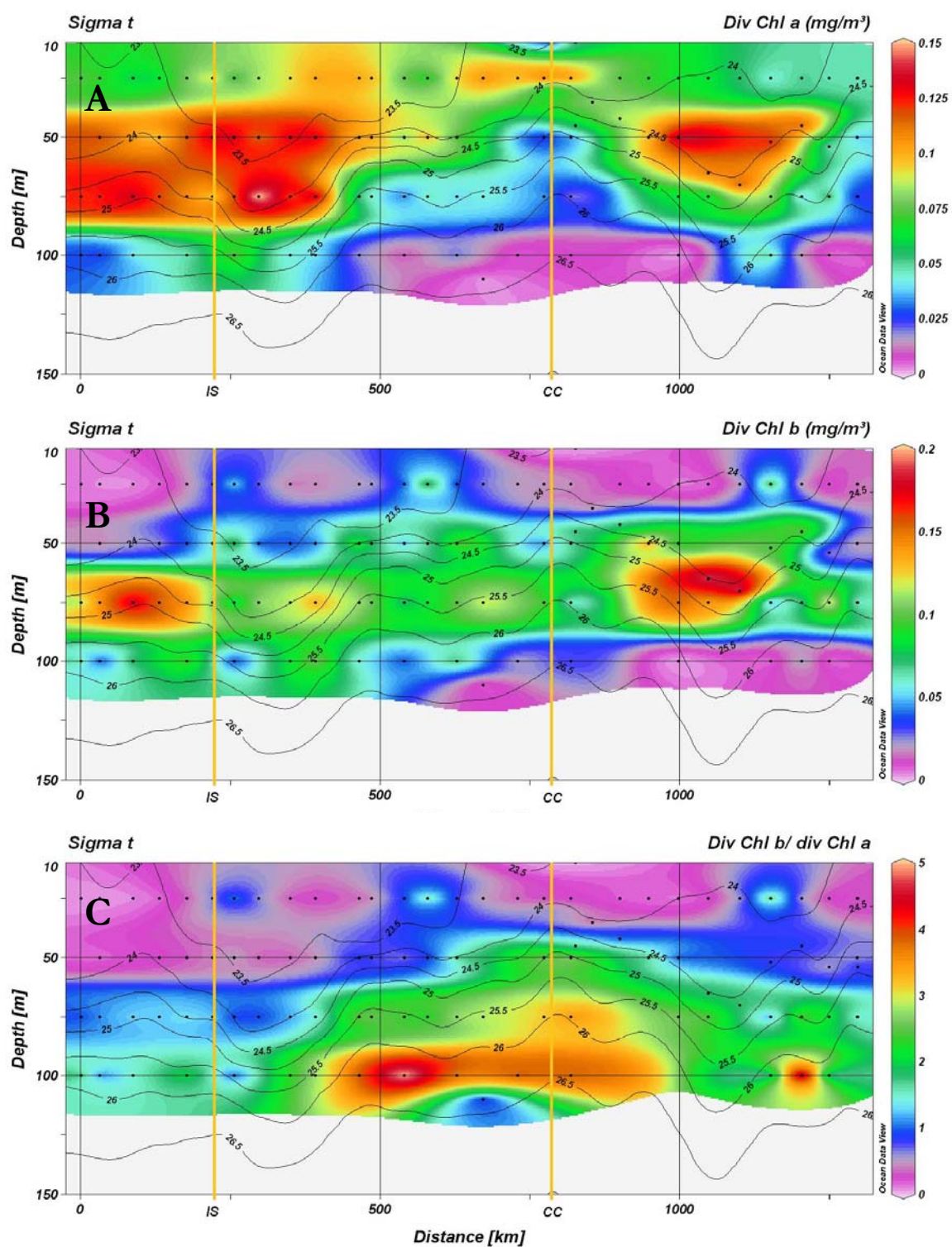


Figura 10. Sección (profundidad vs distancia) de la concentración de A. divinal clorofila a B. divinal clorofila b y C. la razón entre divinal clorofila b/ divinal clorofila a. Las isolíneas representan la distribución de σ_t en toda la sección.

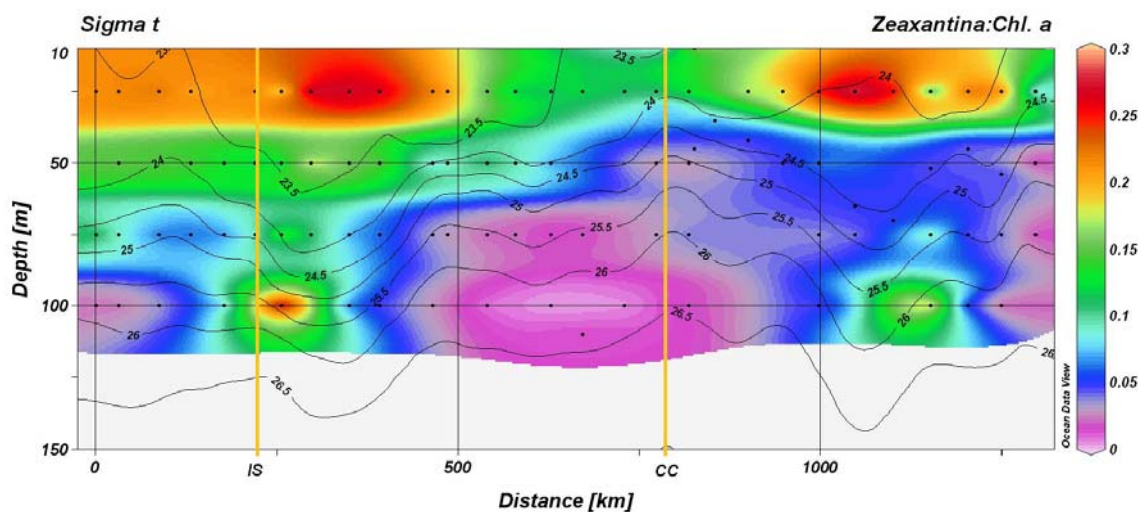


Figura 11 Sección (profundidad vs distancia) de las razones Zeaxantina:Clorofila a total. Las isolíneas representan la distribución de σ_t en toda la sección.

3.1.3. Carácter espectral de cianobacterias en muestra de microscopía.

Debido a que la luz dominante en la parte superficial del océano es de 495 y 595 nm, el almacenamiento de la luz en estas longitudes de onda es de gran importancia para los organismos como las cianobacterias. A partir del análisis digital de imágenes se detectaron cianobacterias que emitían a diferentes longitudes de onda. Al excitar a 488 nm, esta señal emitida se registró como valores de intensidad en cada canal de emisión que iban de 50 a 256 niveles de intensidad. El nivel de la señal de los píxeles representando las células en el canal rojo (Fig. 15 A) muestran generalmente valores bajos en la capa superficial y máximos en profundidades de 50 m o más. Horizontalmente se encuentra una estructura de máximos ubicada en Z2 cerca de las costas de Cabo Corrientes. El intervalo de los máximos se ubica entre los 100-175 de 256 niveles de intensidad. En superficie se pueden observar valores entre 75 y 100 de intensidad entre los 10 y 30 metros. En Z2 se observó un máximo de intensidad

de 125-175 muy cercano a Cabo Corrientes. En esta zona se observan dos máximos uno a 50 metros y otro por debajo de los 75 m. La señal en el canal rojo corresponde a la señal de fluorescencia de la clorofila *a*, la cual está presente en todos los organismos que llevan a cabo fotosíntesis oxigénica. El canal verde (Fig. 15B) mostró un patrón muy diferente al canal rojo o al canal naranja. Los máximos se observaron en Z2 y Z3 entre superficie y los 75m de profundidad. En Z2 los máximos coinciden con los máximos encontrados en el canal rojo. Las intensidades en Z1 y Z2 se encuentran en el intervalo de 175-250 de 256 niveles de intensidad. El canal naranja (Fig. 15C) muestra un patrón similar al canal rojo y presenta 4 máximos, Z1, Z2, y 2 en Z3. El primer máximo coincide con los máximos encontrados en el canal rojo y en el canal verde. El segundo máximo ubicado a los 50 metros y cerca de las costas de Cabo Corrientes con un máximo dentro Z2. En Z3 se observan dos máximos, uno ubicado por arriba de los 50 metros y otro ubicado a 75 metros aproximadamente. Estos máximos tienen valores de intensidad que van desde 60 hasta 80. En superficie se observan intensidades menores a 40, que es menor a la registrada para el canal verde. Hay que resaltar que los intervalos de intensidad varían en los tres canales. La razón entre las intensidades de los diferentes canales de emisión se muestra en la figura 16. La razón entre el canal verde y el canal rojo (Fig. 16A) mostró un máximo por debajo de los 50 m en Z2, cerca de Cabo Corrientes, y en Z3 cerca de la entrada al Golfo de California. Aquí el intervalo de las razones iba de entre 3 a 5 mientras que en superficie iba de 2 a 3. Los máximos de la razón entre el canal verde y el canal naranja (Fig. 16) se ubican en superficie tanto en Z2 como en Z3 cerca de los 100 0 km. En Z2 el máximo se distribuye por debajo de los 50 m mientras para la razón entre el canal naranja y el canal rojo (Fig. 16C) se observaron máximos en Z2 cerca de Isla Socorro y a Cabo Corrientes. El intervalo en estas zonas fue de 0.6-1. Se puede observar que la razón entre el

canal verde y el canal naranja sugiere que cerca de la superficie hay células que contienen el pigmento que emite en el color verde mientras que por debajo de 40 m hay células que contienen el pigmento que emite en el naranja. La razón de los diferentes canales varía en únicamente dos órdenes de magnitud.

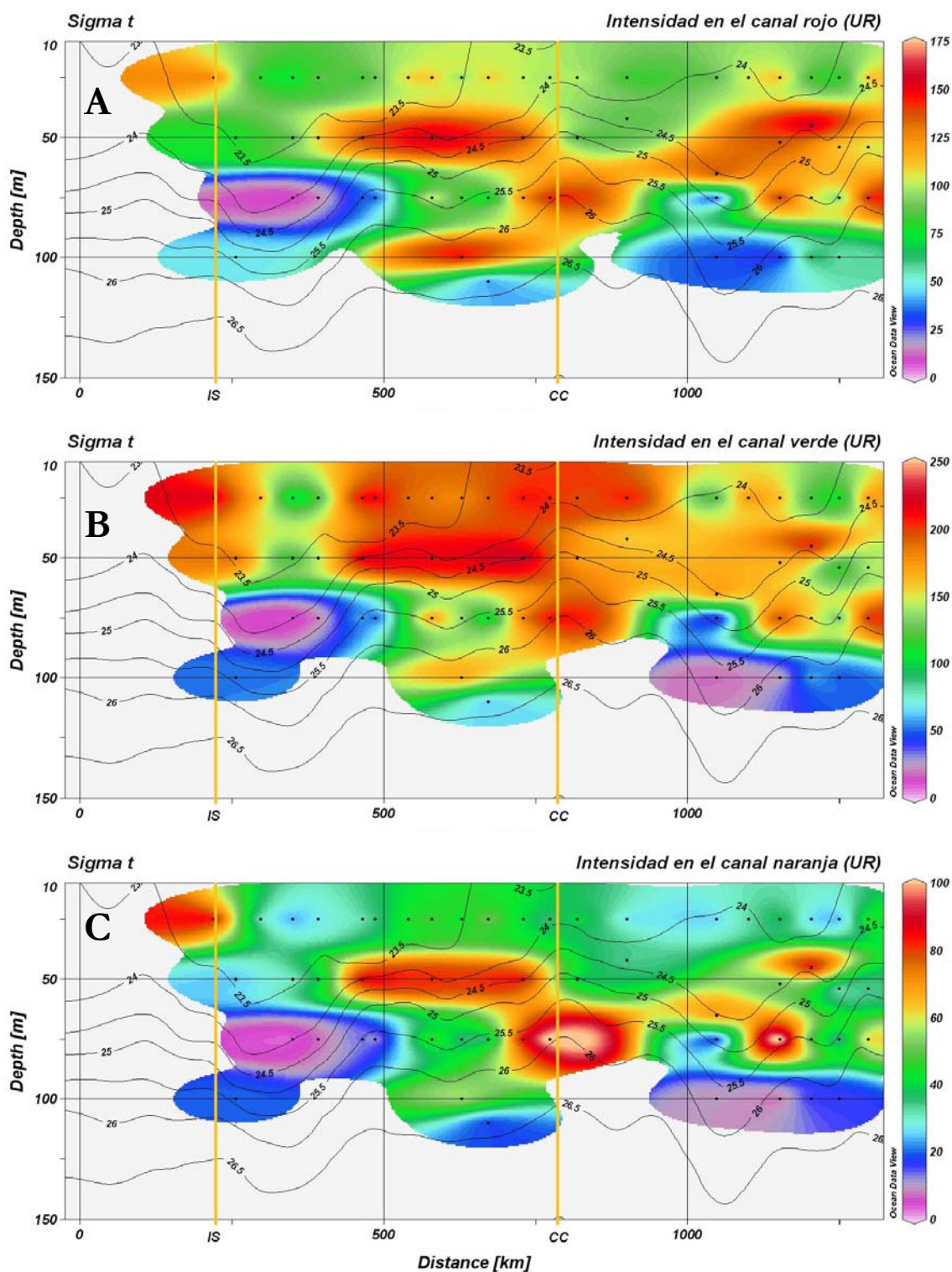


Figura 12 Sección (profundidad vs distancia) de la señal roja (A), verde (B) y naranja (C) emitida por las células de las cianobacterias durante el análisis digital de imágenes. La intensidad no refleja la abundancia pero es el promedio de la intensidad de las píxeles que representan las células. Las líneas de contorno representan la distribución de la densidad en toda la sección.

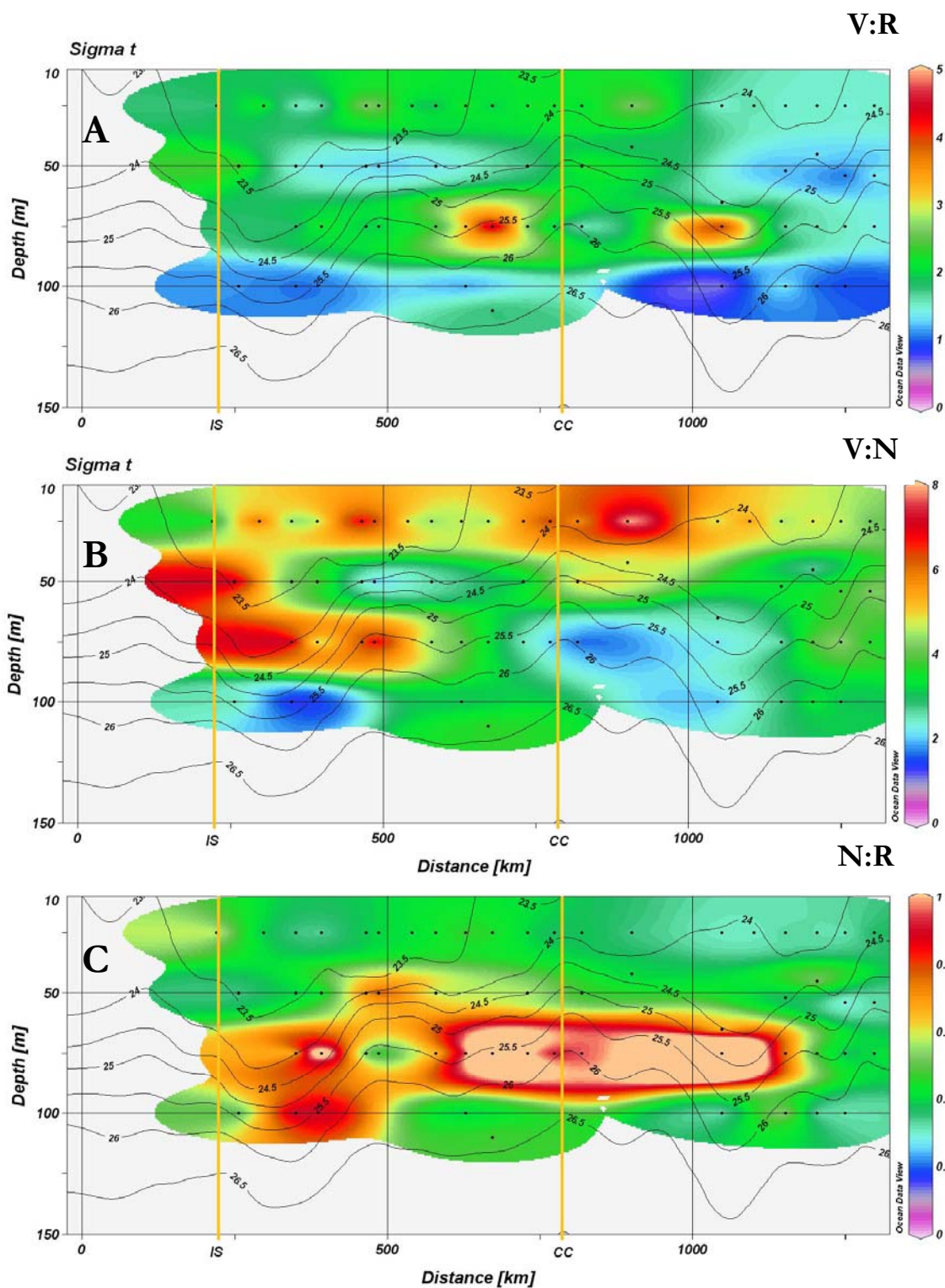


Figura 13. Sección (profundidad vs distancia) de la razón entre la señal A) verde:roja, B) verde:naranja y C) naranja:roja. Las líneas de contorno representan la distribución de la densidad en toda la sección.

4. DISCUSION

4.1. Entorno físico y oceanográfico

Para fines de este trabajo, la zona de estudio durante invierno se ha definido como una región de transición caracterizada por la interacción de masas de agua de distintos orígenes y propiedades tróficas. Se localiza en el extremo norte de la región oceanográfica del Pacífico Tropical Oriental. El análisis de los datos hidrográficos se llevó a cabo por el grupo de Oceanografía Física del Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE)-Unidad La Paz. Éstos datos y el análisis completo de la hidrografía se encuentran en el trabajo desarrollado por Jaimes-Hernández (2006). La distribución vertical de las variables físicas permite identificar lugares en las secciones con condiciones similares o diferentes para compararlos con la distribución de los organismos. Suponemos que las variables físicas sirven como indicadores de las condiciones ambientales. Por ejemplo, la disponibilidad de nutrientes en los cuales los organismos se desarrollan. En el presente trabajo se utilizó la densidad como referencia hidrográfica basándonos en la comparación de oxígeno disuelto con densidad y temperatura (Fig. 14), donde se encuentra claramente una mejor relación entre la densidad y el oxígeno. La razón de usar el oxígeno en esta comparación es porque suponemos que el oxígeno en estas aguas tiene relación con la estratificación hidrográfica y la nutriclina. En la figura 14a se observa que los datos con respecto a la densidad tienen una menor dispersión que los datos graficados con respecto a la temperatura (Fig.14b). La comparación entre densidad y temperatura versus fluorescencia *in situ* muestra datos menos dispersos (datos no presentados). Lo anterior justifica trabajar con las isolíneas de σ_t en las secciones que se mostraron en los resultados.

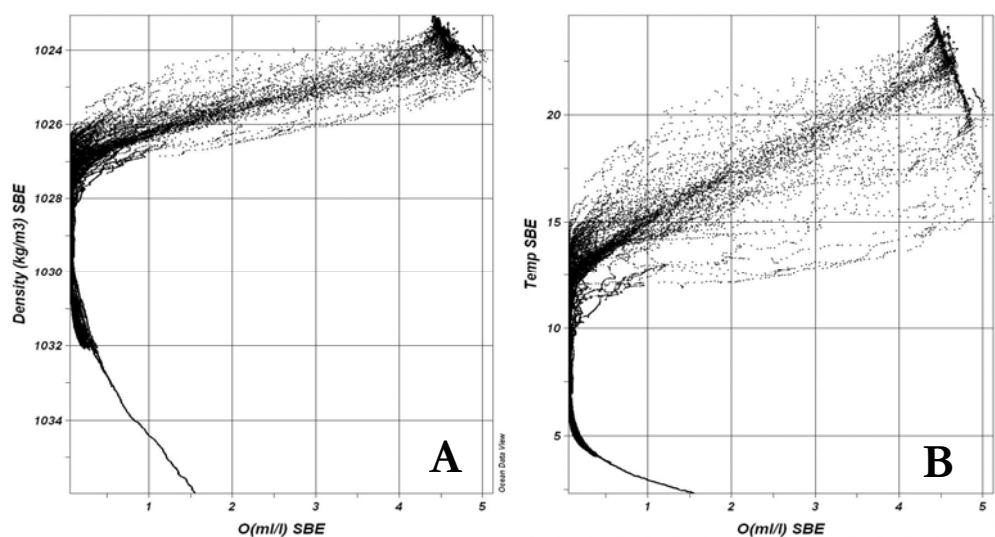


Figura 14. Relación en la distribución de oxígeno con respecto a la densidad (A) y temperatura (B).

4.2. Picoplancton en la columna de agua

En nuestros resultados no se obtuvo una relación significativa entre la concentración de zeaxantina y la densidad celular encontrada de la suma de cianobacterias y proclorofitas (Fig. 15). Esto puede ser debido a que la concentración de pigmento por célula puede estar afectada por la intensidad de luz, el estado fisiológico de los organismos y el estatus de nutrientes en las aguas oceánicas. En aguas estratificadas, el proceso de aclimatación incrementa la concentración de pigmentos captadores de luz en ambientes de baja luz, lo que ocasiona que el máximo en la distribución de biomasa pigmentario sea más profunda que la distribución correspondiente de la abundancia algal (Mackey *et al.*, 2002). En la figura 16 podemos observar que la concentración de zeaxantina se mantiene casi constante en superficie hasta el σ_t de 24.25, lo cual es un patrón distinto al observado en la distribución de la abundancia en donde hay un máximo en superficie. La diferencia de los patrones de distribución con profundidad

entre la abundancia de cianobacterias y zeaxantina sugiere un proceso de fotoaclimatación con más zeaxantina por célula de cianobacteria cerca de la superficie. Se ha demostrado que la zeaxantina es un pigmento minoritario en células que crecen en baja luz y más abundante en células que crecen a alta luz al contrario del patrón esperado para pigmentos fotosintéticos (Kana *et al.*, 1988). La dominancia de carotenoides sobre la clorofila en cianobacterias que crecen a altas irradiancias se ha reportado por Paerl *et al.* (1983) para especies de agua dulce y que forman afloramientos. Ellos sugieren que los valores altos en la razón carotenoide:chl_a tiene un doble papel en la células, uno es para mantener la capacidad para absorber luz y la otra para proteger a la células de la foto-oxidación. Los resultados de Kana *et al.* (1988) muestran que una razón alta zeaxantina:chl_a es característica de las poblaciones de superficie, lo cual coincide con lo encontrado en nuestros resultados.

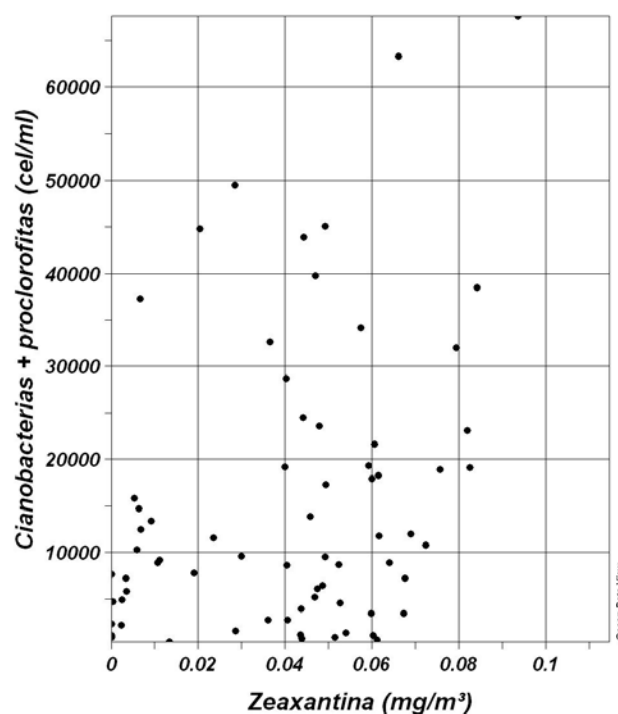


Figura 15. Relación entre la concentración de cianobacterias y proclorofitas (células ml⁻¹) contra la concentración de zeaxantina (mg m⁻³).

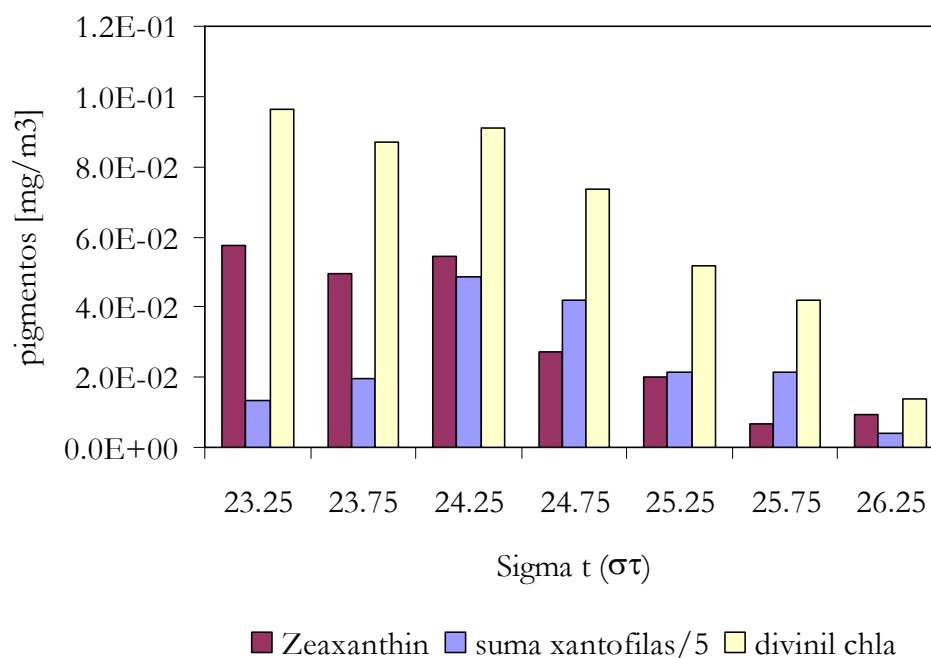


Figura 16. Distribución de la concentración de zeaxantina, suma de xantofilas y zeaxantina y divinil clorofila a con respecto a $\sigma\tau$. La suma de xantofila se refiere a los pigmentos fucoxantina, alloxantina, diadinoxantina, diatoxantina, multiplicando la escala por 0.2.

Dentro del picoplancton predominan las cianobacterias cocales del genero *Synechococcus* sp. (Jonhson y Sieburth, 1979; Waterbury *et al.*, 1979), y son estos organismos los que más contribuyen a la biomasa fitoplanctónica en la capa mezclada superficial en latitudes bajas (Olson *et al.*, 1990). En aguas oligotróficas *Prochlorococcus* spp típicamente tiene una distribución vertical diferente de *Synechococcus* y se puede encontrar muchas veces en concentraciones mayores que *Synechococcus*. Li (1998) reporta un promedio anual de concentración de *Synechococcus* de 5×10^6 células l^{-1} hasta un máximo de 2×10^8 células l^{-1} en la superficie y en la zona eufórica en Atlántico Norte. La concentración de cianobacterias cocales cuantificada en el área de estudio fue similar a las concentraciones publicadas para otras regiones oceánicas (Tabla II). Dentro de la zona de estudio los valores de abundancia de *Synechococcus* y

Prochlorococcus muestran una complementariedad en la distribución hasta por debajo de la zona eufótica, ya que cuando se incrementa un grupo disminuye el otro. En la figura 17, se puede observar que *Synechococcus* se distribuye por arriba de *Prochlorococcus*, este es un patrón que ha sido observado previamente en otras regiones oceánicas (Partensky *et al.*, 1999; Scalan y West, 2002).

Tabla II. Abundancia celular en los océanos de *Synechococcus*, *Prochlorococcus* y Picoeucariotas, datos publicados.

Referencia	Región	Células ml ⁻¹	Células ml ⁻¹	Células ml ⁻¹
		<i>Synechococcus</i>	<i>Prochlorococcus</i>	Picoeucariotas
Whitman (1998)	Océano Abierto	5 x 10 ⁵		
Grob (2007)	Pacífico Sur- región Mesotrófica	4 x 10 ⁴	25 x 10 ⁴	2 x 10 ⁴
Grob (2007)	Costa Chilena	15 x 10 ³		
Partensky (1999)	Atlántico Norte		1 a 4 x 10 ⁵	
Zwirgmaire <i>et al</i> (2007)	Océano Atlántico / Mesotrófico	1 x 10 ⁵	1.5 - 5 x 10 ⁴	
Olson (1990)	Entrada al Golfo de California	1-2 x 10 ⁴		
André (1999)	Pacífico Ecuatorial	12 x 10 ³	2 x 10 ⁵	7 x 10 ³
Katano (2007)	Región Kuroshio	< 3 x 10 ³	10 x 10 ³	
Vaulot and Marie (1999)	Pacífico Ecuatorial	25 x 10 ³	15 x 10 ³	5 x 10 ³
Church (2006)	Estación Aloha	1.3 x 10 ³	1.3 x 10 ⁵	1 x 10 ³
Este trabajo	Pacífico Tropical	3 x 10 ³	3 x 10 ⁴	1.5 x 10 ³

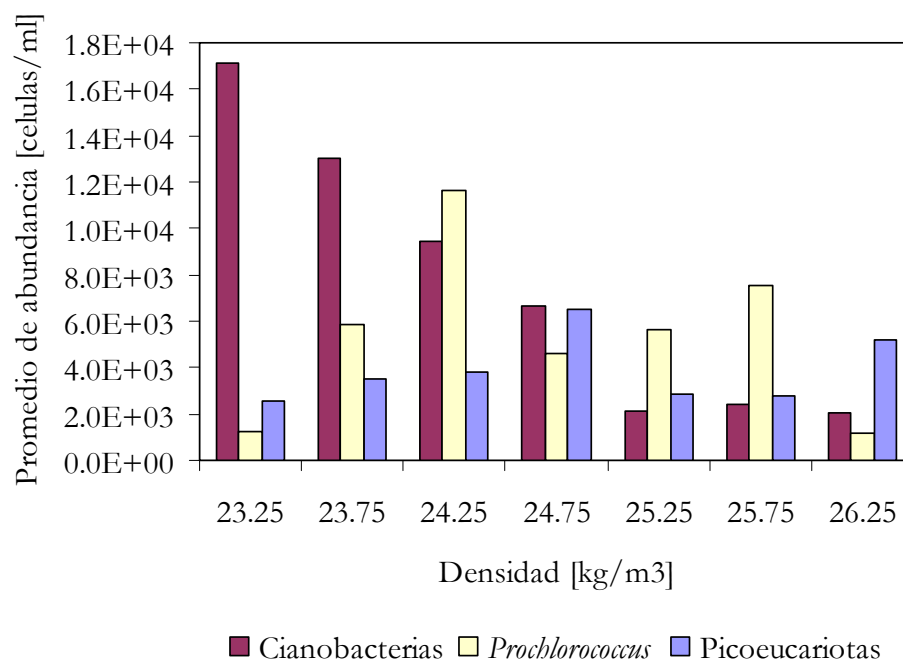


Figura 17. Distribución de la media de las abundancias de cianobacterias, proclorofitas y picoeucariotas con respecto a la σ_t .

Los mecanismos de control de la abundancia de *Synechococcus* no están muy claros. Sin embargo, éstos organismos, se encuentran típicamente en aguas con temperaturas arriba de 10°C, y con concentraciones de nutrientes inorgánicos, específicamente de nitrógeno que tienen un papel importante como factores limitantes (Díaz y Maske, 2000). Existen numerosos mecanismos de control que determinan los patrones de variación de la abundancia y producción del bacterioplancton: condiciones físicas (irradiancia superficial y temperatura), disponibilidad de recursos nutritivos (control *bottom-up*) y mecanismos bióticos como la depredación o la infección viral (control *topdown*) (Furhman *et al.*, 1980; Fuhrman y Suttle, 1993; Gasol y Duarte, 2000). Los micropredadores de cianobacterias (*Prochlorococcus* y *Synechococcus*), por ejemplo los nanoflagelados tienen una mayor tasa de reproducción que estas, por lo que tiene una

capacidad de regular eficientemente la abundancia del picoplancton (Mackey *et al.*, 2002). Con respecto a los organismos picoeucariotas no se distinguieron grupos de eucariotas debido a la técnica utilizada, la cual únicamente permitió detectar la presencia de picoeucariotas por la fluorescencia roja de la clorofila *a*, pigmento presente en todos los organismos que llevan a cabo la fotosíntesis oxigénica. De primera vista se observó que las máximas abundancias están cerca de las regiones costeras de Cabo San Lucas. Se ha observado que los organismos eucariontes de la fracción picoplanctónica fototrófica o *picoeucariontes*, con una abundancia un tanto menor que otros grupos (10^2 - 10^4 células ml^{-1}) (Johnson y Sieburth 1982; Hall y Vincent 1990) están ampliamente distribuidos en el océano y a lo largo de toda la columna fótica (López-García *et al.* 2001). Partensky *et al.* (1996) estudiaron la estructura vertical de las poblaciones de picoplancton en el noreste del océano Atlántico, en un gradiente de situaciones eutrófica a oligotrófica en distintos momentos del año. Ellos observaron que en el sitio más costero, en momentos de surgencia y alta concentración de nutrientes, las poblaciones picofitoplanctónicas procariotas en general estaban en bajas concentraciones y la abundancia relativa de picoeucariontes era alta. Nuestros datos sugieren que los picoeucariotas encontrados en toda la sección se comportan de manera similar a la distribución de las proclorofitas cerca del máximo de clorofila. En los sitios mesotróficos, donde hay mayor estratificación por temperatura y los nutrientes son bajos, situación tropical similar a la de nuestra área de estudio, se puede dar la co-dominancia en número de *Synechococcus* y *Prochlorococcus*. En general, la distribución vertical de picoeucariontes está caracterizada por un máximo muy cercano al máximo profundo de clorofila *a* (Campbell y Vaultot 1993; Campbell *et al.*, 1998; Partensky *et al.*, 1996) lo cual coincide con nuestros datos.

En el caso de los otros grupos fitoplanctónicos se observó que la distribución de la concentración de la fucoxantina los máximos se encontraron en la superficie cerca de Cabo Corrientes y en el máximo profundo de clorofila. También se observó que los máximos de fucoxantina coinciden con los máximos encontrados para la concentración de chl_a1 lo que sugiere que mucha de la biomasa fotosintética está compuesta de organismos que tienen fucoxantina, por ejemplo las diatomeas. De lo anterior y acoplando la información de HPLC, es posible considerar la existencia de diferentes grupos fitoplanctónicos a lo largo de la columna de agua, los cuales se distribuyen de acuerdo a condiciones que favorezcan su crecimiento. Este patrón es evidencia del aprovechamiento diferenciado de la columna de agua como parte del mecanismo de partición de nicho, donde las capas superiores son mejor explotadas por las cianobacterias del género *Synechococcus* y algunos géneros de organismo eucariontes fotosintéticos, mientras que las capas profundas son mejor explotadas por otros grupos de fitoplancton como las diatomeas y por procariontes adaptados a bajas intensidad de luz, menor temperatura y baja concentración de oxígeno como las proclorofitas.

Otro aspecto importante que se encontró acerca de la distribución de proclorofitas es que los máximos de concentración celular de *Prochlorococcus* se ubican en las zonas en donde disminuye la concentración de oxígeno (Fig. 18), lo cual coincide con lo descrito para este género. Goericke *et al.* (2000) realizó un estudio en la región del Pacífico Mexicano, en donde muestra que la distribución vertical de la Chl-a se caracteriza por la presencia de dos máximos. Los resultados de este trabajo no muestran éste patrón en la distribución vertical de la Chl-a en la región de estudio. Este patrón de dos máximos se ha observado en transectos más cercanos a las costas de Colima pero no para zonas cercanas a la entrada del golfo de California

(López-Sandoval, 2007). Los miembros del género *Prochlorococcus* son pequeños comparados con otras cianobacterias (0.6-0.8 μm diámetro), además no contienen Chla1 en lugar de esta, contienen Chla2, Chlb2 y α -caroteno.

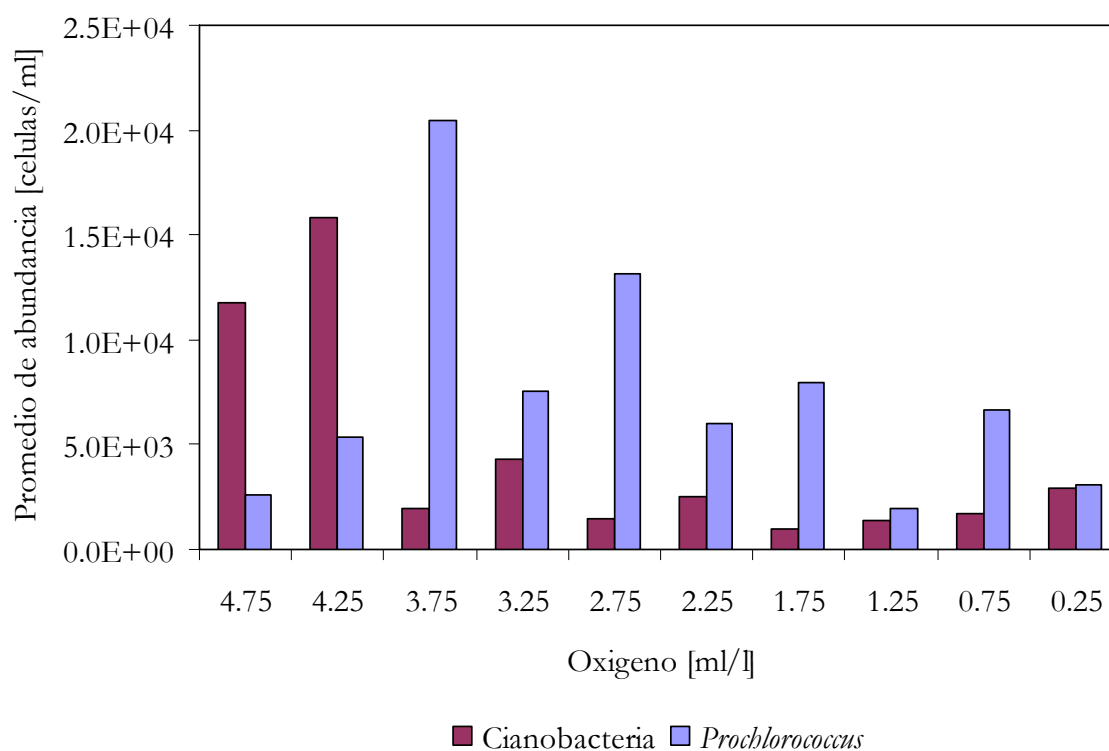


Figura 18. Distribución del promedio de la abundancia de células de proclorofitas con respecto a la concentración relativa de oxígeno.

Una variedad de cepas de este género se han estudiado en detalle y se ha observado que cepas adaptadas a baja luz, contienen una razón de Chlb2/Chla2 de 3 (Goericke *et al.*, 2000) similar al encontrado por nosotros (3-4). Estas mismas cepas adaptadas a alta luz contienen una razón Chlb2/Chla2 baja. Datos de campo han mostrado que las cepas de *Prochlorococcus* adaptadas a baja luz y que contiene alta Chlb2 dominan en la base de la zona eufótica de los océanos subtropicales y tropicales (Goericke y Repeta, 1993; Moore *et al.*, 1998). Conforme la luz

decrece con la profundidad, las células se adaptan a bajas irradiancias incrementando el contenido de sus pigmentos. Las células de *Prochlorococcus* adaptan su razón chl_{b2}/chl_{a2} ya que la clorofila b₂ absorbe más eficientemente la luz azul que es la última en atenuarse con la profundidad. Los resultados acerca de la concentración de chl_{a2} muestran dos máximos que coinciden con las regiones en donde se encontraron células de proclorofitas. En las zonas donde se encontraron proclorofitas por debajo de los 60 metros también se observaron las razones máximas de chl_{b2} y chl_{a2}, lo cual sugiere la presencia de cepas adaptadas a baja luz. Por otro lado, las razones menores entre estos dos pigmentos se ubican en superficie sugiriendo la presencia de cepas adaptadas a alta luz, lo cual coincide con lo descrito por Moore *et al.* (1998).

Con respecto a los nutrientes es bien sabido que estos juegan un papel primordial. En muchas regiones oceánicas donde *Prochlorococcus* y *Synechococcus* co-ocurren son consideradas zonas oligotróficas, ya que contienen una baja concentración y baja tasa de transporte vertical de nutrientes esenciales como el nitrógeno, fósforo y hierro. En estas aguas las proclorofitas son más abundantes (Partensky *et al.*, 1999). Por arriba de los 100 m en el Pacífico Norte, *Synechococcus* contribuye de menor forma a la biomasa procariota con respecto a *Prochlorococcus* el cual en esta región contribuye aproximadamente con una fracción del 40% de la biomasa procariótica (Campbell *et al.*, 1997). En el área de estudio la distribución de oxígeno permitió inferir en donde se encuentra la nutriclina para tener un panorama general acerca de los nutrientes. Tanto proclorofitas como picoeucariotas se distribuyeron por debajo de los 25 metros en las regiones en donde se observaron estructuras de mesoescala que producen condiciones oligotróficas (Jaimes-Hernández, 2006). Estas condiciones favorecen la presencia

de proclorofitas. Las diferencias entre los requerimientos celulares con respecto al nitrógeno entre cianobacterias y proclorofitas pueden ser un factor determinante para su distribución en la columna de agua. La forma específica del nitrógeno presente en el ambiente puede jugar un papel importante en la distribución diferente de los dos géneros. La mayoría de las células de *Synechococcus* tiene un gran potencial utilizando el nitrato, y urea, por otro lado, los ecotipos de *Prochlorococcus* con una alta razón chl_b2/chl_a2 se encuentran generalmente en la base de la zona eufótica cerca de la nutriclina, mientras que los ecotipos con una baja razón chl_b2/chl_a2 se ubican en las superficie. Esta partición del nicho ha sugerido que las cepas en la base de la zona eufótica deben estar adaptadas para utilizar NO₃⁻, NO₂⁻², o ambas, mientras que las que se ubican en las capas superficiales están adaptadas a utilizar NH₄⁺ regenerado. Actualmente se sabe que algunas cepas de *Prochlorococcus* utilizan tanto NH₄⁺ como urea (Moore *et al.*, 2002).

Otro de los grupos de células analizados fueron las células dobles observadas durante el conteo de células de cianobacterias. Existen dos procesos que están involucrados en el crecimiento de cualquier población, el crecimiento de biomasa celular y la división celular o reproducción. Estos procesos están acoplados y cada uno está regulado de forma diferente por distintos factores ambientales (Binder y Chisholm, 1995). En este trabajo, se consideró analizar los datos de frecuencia de células en división como indicador de la tasa de crecimiento regional. Sin embargo, para un análisis cuantitativo falta información fisiológica. Nuestros resultados no muestran algún tipo de patrón que sugiera de que manera se están dividiendo las células y a qué velocidad. En general las concentraciones de células dobles encontradas se mantuvieron relativamente constantes durante todo el crucero independientemente de la hora del día (Fig.19). No en todas las estaciones se observaron células dobles, pero esto no significa que no

hubiera, si no quizás que sus periodos del ciclo celular no era lo suficientemente corta para observar una mayor frecuencia de células dobles. Binder y Chisholm (1995) encuentran tiempos de división de 14 a 16 horas para cepas oceánicas. Los resultados también mostraron como primera impresión una más alta frecuencia de células a profundidad (aprox. a 50 m), lo cual no concuerda con lo reportado en otros trabajos en donde la tasa de división celular decrece con la profundidad tanto antes como después de la replicación de los cromosomas, concluyendo que la oscuridad puede inhibir el inicio de la replicación (Binder y Chisholm, 1995).

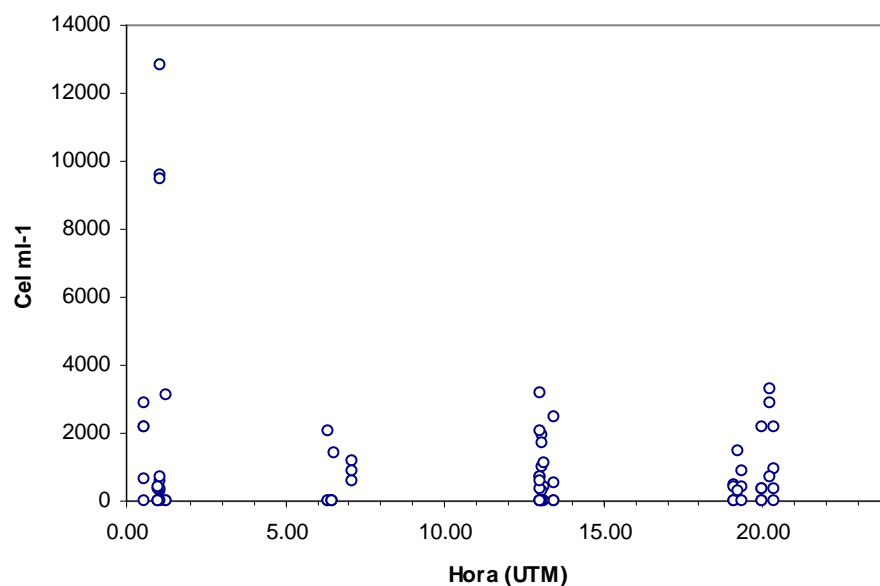


Figura 19. Distribución de la concentración de células dobles durante las horas muestreadas en el crucero.

4.3. Búsqueda de Ecotipos

El aparato captador de luz en cianobacterias está compuesto de un conjunto de proteínas fluorescentes o ficobiliproteínas. La ficoeritrina (PE) es la ficobiliproteína más abundante en

organismos marinos. Este complejo pigmento-proteína contiene dos cromóforos PUB y PEB que están ubicados en la zona más periférica en el ficobilisoma (Fig. 20). La PE es la bilina que capta más fotones. Otras ficobiliproteínas consecutivamente más cercanas al centro de reacción el cual es el receptor de la energía, son la ficocianina (PC) y la aloficocianina (APC) (Fig.20). La energía absorbida de cualquier bilina tiende a caer energéticamente como cascada hacia la aloficocianina, de la cual la energía pasa al centro de reacción a través de la clorofila. Cada una de las bilinas tiene cierta probabilidad de emitir fluorescencia. La fluorescencia emitida por los pigmentos captadores de luz no es más que la señal emitida de longitudes de onda más largas y de menor energía, a las longitudes de onda absorbidas (Fig. 20).

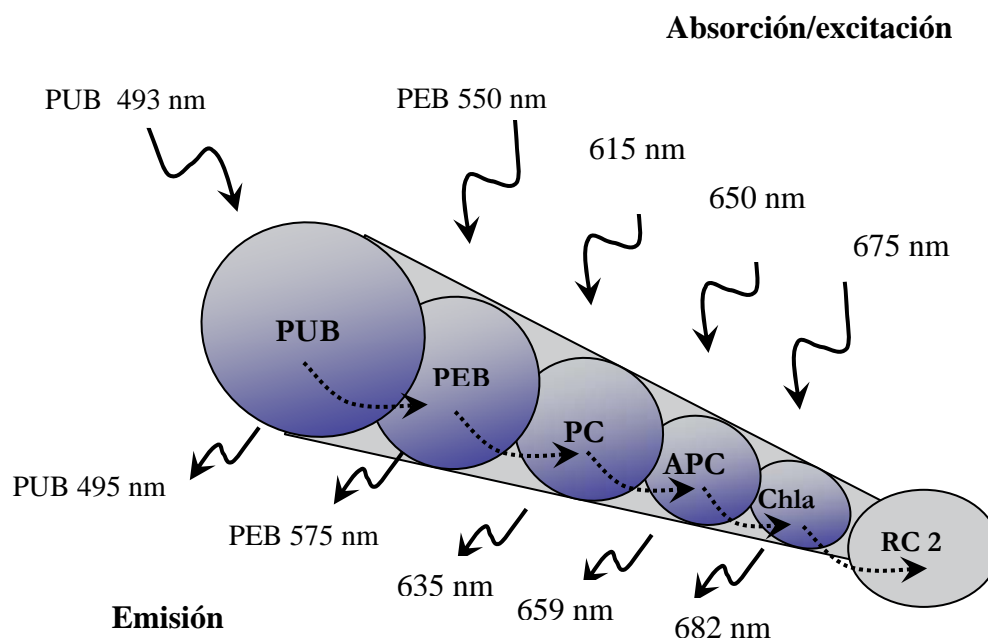


Figura 20. Representación de la estructura tubular de un ficobilisoma y las características espectrales de absorción y emisión de los pigmentos y estructuras involucradas. PUB. Ficourubilina, PEB ficoeritrubilina, PC ficocianina, APC aloficocianina. Chla Clorofila a, RC2 centro de reacción 2 o fotosistema II. Las flechas indican que se absorben longitudes de onda cortas y la emisión longitudes de onda largas.

Dada la gran variedad que existe en los ecosistemas oceánicos y a su complejidad, el estudio de la fisiología del picoplancton fotótrofo se ha enfocado principalmente en la capacidad de estos organismos de absorber nutrientes a concentraciones muy pequeñas, y a su capacidad de captar luz en un rango de intensidades y con cambios a diferentes frecuencias. Por ejemplo periodos de minutos (nubes), horas (mezcla vertical), periodos diurnos y estacionales en donde la irradiancia varía de manera importante. Dado lo anterior, se puede esperar que estos organismos fotótrofos, particularmente las cianobacterias, sean capaces de responder a un espectro amplio de cambios ambientales, y que estos cambios o condiciones actúen como una presión selectiva para la especialización de un nicho. Durante los últimos veinte años y debido al gran avance en el estudio de la genética y la fisiología de estos organismos, ha surgido la idea de que los nichos ecológicos pueden estar ocupados por un genotipo particular (West y Scalan, 2002). En el genero *Prochlorococcus*, por ejemplo, se han encontrado distintos ecotipos que comparten un mismo nicho, un ecotipo de superficie adaptado a alta luz y un ecotipo de profundidad adaptado a baja luz (Moore *et al.*, 1998; West y Scalan, 1999). En cepas de *Synechococcus* de agua dulce también se ha observado ecotipos adaptadas a baja y alta luz (Postius *et al.*, 1998).

Debido a la amplia distribución que presenta el género *Synechococcus* en aguas marinas, se podría pensar que existe una gran cantidad de nichos ocupados por estas células lo cual se sugiere la presencia de ecotipos de este genero que se pudieran adaptar a un nicho. Con la idea de una adaptación al nicho, en el presente trabajo se intentó observar diferencias en el carácter espectral de células obtenidas en muestras oceánicas. Nuestros resultados sugieren que el cromóforo con mayor presencia fue el cromóforo conocido como ficourubilina (PUB), ya que

al excitar a 480 nm se obtuvo una señal de emisión en los tres canales espectrales. Esto indica que las células analizadas representan organismos del género *Synechococcus* oceánicos que contienen el cromóforo PUB. Lantoine y Neveux (1997) y Neveux *et al.* (1999), encuentran una tendencia en la distribución de los cromóforos principales de células oceánicas de *Synechococcus* (ficorubilina o PUB) y ficoeritrobilina o PEB). Esta tendencia muestra que las poblaciones ricas en el contenido del cromóforo PEB dominan en regiones mesotróficas o aguas costeras, y las poblaciones ricas en el contenido del cromóforo PUB se detectan únicamente en aguas oligotróficas o más oceánicas como lo observado en este trabajo. También Olson *et al.* (1988) han asumido que un tipo de *Synechococcus* marino con alto contenido del cromóforo PUB domina en habitas fuera de la costa. En algunas ocasiones se observó la señal que sugería la presencia del cromóforo PEB. Esta señal se detectó en regiones más costeras como cerca de la Isla Socorro y de la región de Cabo Corrientes. Sin embargo, no se pudieron cuantificar los valores de intensidad en cada banda espectral.

A pesar de que la señal de PEB fue prácticamente nula en la mayoría de las muestras, no podemos aseverar su ausencia porque forma parte de la cascada para transportar la energía hacia los centros de reacción (Fig.20), ya que es un cromóforo que está presente en organismos de este género (Palenik, 2001). La cuantificación de la señal de dicho cromóforo permitiría observar la razón entre PUB:PEB de nuestras muestras, y este era el propósito principal para utilizar las diferentes combinaciones de excitación y emisión en el microscopio confocal. Sin embargo, no se logró tener suficiente señal de PEB. La razón PUB:PEB ha sido reportada como marcador de linajes en cepas aisladas de diferentes profundidades en la Corriente de California. Una cepa estaba caracterizada por células con alto contenido del cromóforo PUB

y otra cepa por bajo contenido del cromóforo PUB y en las cuales la razón PUB:PEB incrementa con la profundidad y con la distancia a la costa (Lantoine y Neveux, 1997). Es notorio que la información publicada se ha obtenido a partir de datos de citometría de flujo y no con microscopia. Existen algunas explicaciones del porqué nuestros datos han salido diferente: que nuestras muestras no representan aguas suficientemente mesotróficas, y/o que la microscopia confocal no produce la misma señal fluorescente. Esto último puede ser resultado de la preparación de la muestra, glicerol para muestras microscópicos y glutaldehído para citometría de flujo, o de condiciones ópticas como el nivel de irradiancia de excitación. Eventualmente se espera corroborar los datos de microscopia confocal con espectros de absorción de extractos de ficobiliproteínas.

A pesar de no encontrar un patrón muy claro entre las razones de los diferentes canales, en algunas estaciones se observó la señal de emisión en 552-584 nm (verde), 627-659 nm (naranja), 659-713 nm (rojo) al excitar a 488 nm es decir. Mientras que en otras estaciones se observó que al excitar a los 488 nm únicamente se detectaba la señal de emisión en la banda de los 627-659 nm (naranja) y en la banda de 659-713 nm (rojo). Esto sugiere que existen dos tipos de células, una que al excitar a 488 nm emiten en los tres canales y otro tipo de célula que emiten fuertemente en dos canales. En la figura 21 se puede observar la relación entre la intensidad del canal verde y la intensidad en el canal rojo. Estos resultados sugieren la presencia de una población que presenta una relación lineal con un $r^2=0.92$ (círculos), y otra población (triángulos) que se distingue por altas intensidades en el canal verde. Al graficar la relación entre la intensidad encontrada para el canal naranja con respecto al canal rojo (Fig. 22), los datos sugieren la posible presencia de una población con valores de intensidad menores a

100 (círculos) y otra población que tiene valores de intensidad mayores de 100 (triángulos). La población 1 (círculos) tiene una relación lineal con un $r^2=0.84$. Lo anterior nos sugiere la posible presencia de dos poblaciones de cianobacterias que comparten un mismo nicho y que cambian la proporción de sus pigmentos con el fin de eficientizar la captación de luz en regiones del espectro que quizás su competidor no esté aprovechando como lo encontrado por Stomp *et al.* (2004).

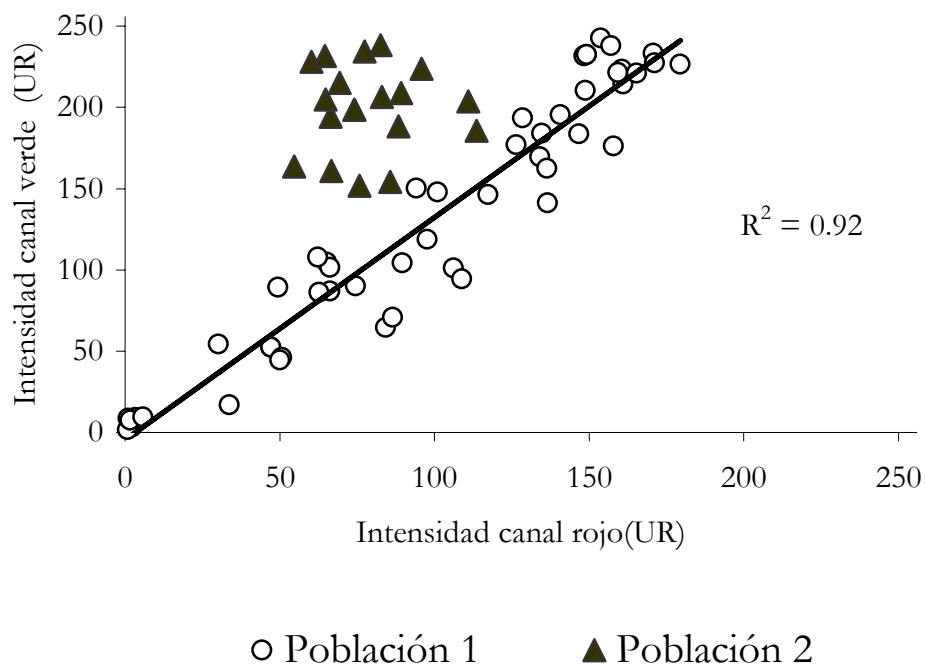


Figura 21 Relación entre las intensidades del canal verde con respecto a las intensidades del canal rojo.

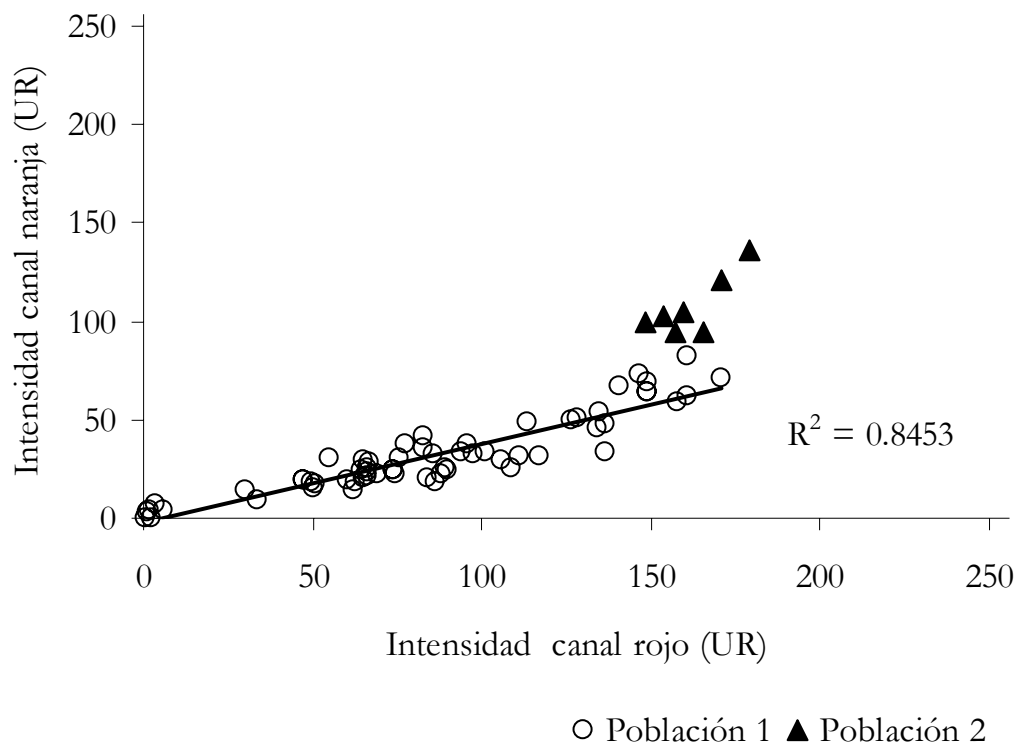


Figura 22. Relación entre las intensidades del canal naranja con respecto a las intensidades del canal rojo.

Para poder observar si la distribución de las diferencias espectrales antes mencionadas con respecto a la estaciones de muestreo tenía un patrón regional, se graficó una sección con los datos de la posibles población 1 y la posible población 2 identificados en la figura 21. La distribución de las dos poblaciones en la figura 23 sugiere que la población 2 se distribuye en zonas más costeras, cerca de Cabo Corrientes y cerca de Isla Socorro con la tendencia superficial.

La interpretación de la información de la emisión espectral se complica porque la energía captada por los pigmentos más periféricos tiene cierta probabilidad de emisión por los

diferentes pigmentos que sirven como intermedios de transporte hacia el centro de reacción. Se ha encontrado que el recorrido en la transferencia de energía en el ficobilisoma va de la ficoeritrina a la ficocianina para llegar a la alofocianina de la cual se transferirá la energía al fotosistema II (Adir, 2005). Dado lo anterior se sugiere que la señal que se encontró a 627-659 nm pudiera ser de la alofocianina presente en las células de las cianobacterias analizadas.

Es importante recordar que las moléculas fluorescentes (ficobiliproteínas) absorben la luz de una determinada longitud de onda y emiten luz de una longitud de onda más larga. Esta señal espectral cuantitativa tiene una limitante ya que si los ficobilisomas están desconectados van a fluorescer más fuerte y que si sus pigmentos están transfiriendo los fotones absorbidos eficientemente hacia el fotosistema II se reducirá la probabilidad de emisión de fluorescencia. Por lo tanto, la fluorescencia tiene inherentemente más variabilidad cuantitativa que los espectros de absorción. La mejor reproducibilidad de las propiedades de absorción constituye una mayor ventaja sobre las mediciones de fluorescencia, ya que la señal en los espectros no dependerá del estado de conexión sino de la composición pigmentaria.

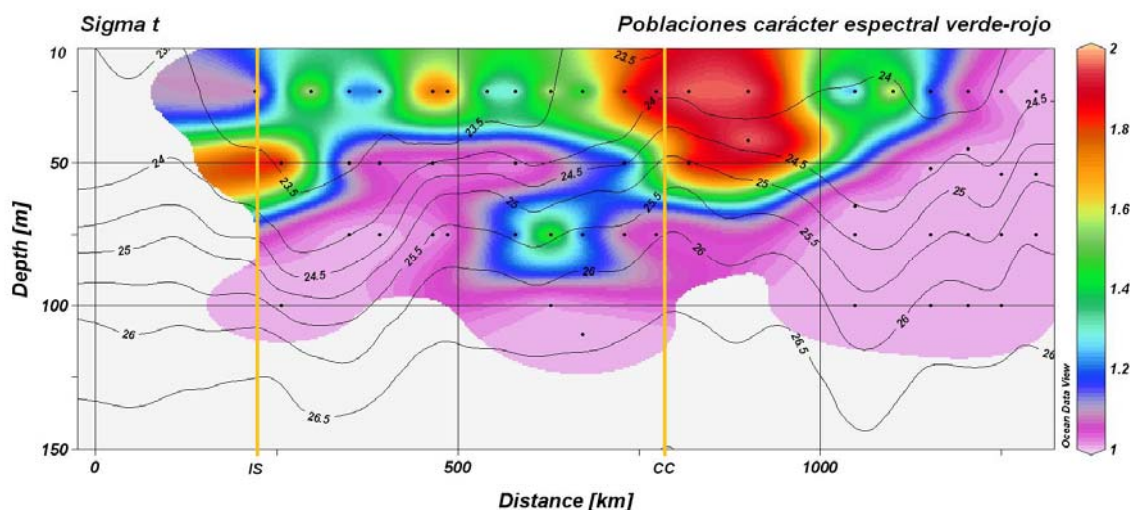


Figura 23. Sección (profundidad vs distancia) de la distribución de la posible población 1 y población 2 obtenidas de la relación entre la intensidad del canal verde y la intensidad del canal rojo en la Fig.21. Las líneas de contorno representan la distribución de σ_t en toda la sección.

Algunos autores han utilizado el espectro de excitación de la PE para evaluar la distribución de las distintas formas espectrales de PE en el océano (Wood *et al.*, 1999). La emisión de la PE *in vivo* ha sido utilizada en el océano Atlántico y en el mar negro para identificar patrones en la distribución de las comunidades de *Synechococcus*. En ambos ecosistemas, las comunidades se caracterizan por la predominancia de PE con baja PUB en aguas con mayor atenuación de luz, particularmente en la plataforma continental al noroeste del Atlántico y comunidad en donde la PE que contiene PUB aparece en aguas más transparentes.

En las últimas décadas se ha utilizado la fluorescencia de la PE para estimar la abundancia de *Synechococcus* (Glover *et al.*, 1985; Wood *et al.*, 1999). Wyman (1992) probó el uso de la fluorescencia para muestras naturales utilizando glicerol con el fin de desacoplar la ficoeritrina

de otros biliproteínas, y así aumentar la fluorescencia de las cianobacterias. Sin embargo, este método sigue siendo hasta ahora cualitativo y fue el método de detección utilizado en este trabajo. Gran parte de la incertidumbre en la estimación de la concentración de la ficoeritrina radica en la falta de una rutina o de un método estándar para muestras naturales. El tamaño pequeño y la resistencia de la pared celular de *Synechococcus* hacen muy difícil la extracción eficiente de la ficoeritrina. Viskari y Colyer (2003) desarrollaron recientemente un método para extraer ficoeritrina a partir de cepas de *Synechococcus*, utilizando un buffer especial que contiene una mezcla de detergentes que facilitan el rompimiento y debilitan la pared celular, permitiendo la solubilización de las proteínas sin desnaturalizarse, i.e. manteniendo las características espectrales. Los autores encuentran una eficiencia de extracción mayor del 85% comparada con la eficiencia del 24% obtenida por el método de extracción de Stewart y Farmer (1984) que utilizan un amortiguador de fosfato. En base a lo anterior se esperaba poder extraer de las muestras colectadas las ficobiliproteínas con el fin de generar espectros de absorción para cuantificar las ficobiliproteínas con sus diferentes cromóforos. Desafortunadamente las primeras pruebas del método de extracción (datos no presentados) mostraron que no se logró separar las ficobiliproteínas de otros pigmentos (lipofílicos). Se encontraron algunas limitantes como el costo del método de Viskari y Colyer (2003). Por ello, se intentará en un futuro probar y combinar diferentes métodos más accesibles con el fin de encontrar un método reproducible para extraer las ficobiliproteínas. A partir de la extracción se intentará hacer la medición de los espectros de absorción de los extractos en una celda de trayectoria larga de luz para deconstruir numéricamente los espectros medidos y así identificar diferentes clases de ficobiliproteínas y su relación cuantitativa entre ellos.

5. CONCLUSIONES

En la región de transición del Pacífico Mexicano se encontró que la distribución de la abundancia de picoplancton observada en una trayectoria de Los Cabos, Isla Socorro, Cabo Corrientes, Los Cabos muestra una distribución de cianobacterias del genero *Synechococcus* en la capa superficial de la zona eufótica., con concentraciones de 10^3 células por ml. Además se detectó la presencia de proclorofitas y picoeucariotas principalmente en la capa inferior de la zona eufótica. La máxima concentración de clorofila se ubica sub-superficialmente por debajo de los 25 m y coincide con los máximos de proclorofitas y picoeucariotas, mientras que la distribución de cianobacterias en superficie coincide con los máximos concentraciones de la xantofila zeaxantina. Se encontró que aproximadamente el 80% de la clorofila total pertenecía a la fracción $<3\mu\text{m}$ que corresponde al picoplancton. Se detectó la fluorescencia de células en un microscopio confocal al excitar a 488 nm lo que sugiere la presencia del cromóforo PUB en la mayoría de las muestras. No se detectó la fluorescencia de células al excitar en 545 nm. Esto sugiere la ausencia del cromóforo PEB en las muestras de la región. La distribución vertical de los pigmentos marcadores de cianobacterias y *Prochlorococcus* (Zeaxantina, Divinil chl a) no corresponden con la distribución vertical de las abundancias relativas y este sugiere cambios en la relación cuantitativa entre los grupos de picoplancton y sus pigmentos indicadores. Se encontró un posible patrón con los resultados encontrados para el carácter espectral. Estos resultados sugieren la presencia de dos poblaciones de *Synechococcus* en la región. Falta confirmar la existencia de las dos poblaciones con otros, datos por ejemplo espectros de ficobiliproteínas.

6. REFERENCIAS CITADAS

André J.M., C. Navarrete, J. Blanchot, M.H. Radenac.1999. Picophytoplankton dynamics in the equatorial Pacific; growth and grazing rates from cytometric counts. *Journal of Geophysical Research*, 104(C2):3369–3380.

Adir N.2005. Elucidation of the molecular structures of components of the phycobilisome: reconstructing a giant. *Photosynthesis Research*, 85:15-32.

Bertilsson S., O. Berglund, D. Karl, y S. Chisholm. 2003. Elemental composition of marine *Prochlorococcus* and *Synechococcus*: Implications for the ecological stiochiometry of the sea. *Limnology and Oceanography*, 48(5):1721-1731.

Binder J., y S.Chisholm.1995. Cell cycle regulation in marine *Synechococcus* sp. strains, *Applied and Environmental Microbiology*, 61(2):708-717.

Campbell D., V. Hurry, A. Clarke, P. Gusafsoon, G. Oquist.. 1998. Chlorophyll fluorescence analysis of cyanobacterial photosynthesis and acclimation. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62(3):667-683.

Campbell L., y D. Vaultot 1993 Photosynthetic picoplankton community structure in the subtropical North Pacific Ocean near Hawaii (station ALOHA). *Deep-Sea Research*, 40(10):2043-2060.

Campbell L., H. Liu, H. Nolla, D. Vaultot. 1997. Annual variability of phytoplankton and bacteria in the subtropical North Pacific ocean at station ALOHA during the 1991-1994 ENSO event. *Deep-Sea Research I*, 44:167-192.

Chisholm S. 2003. Genome divergence in two *Prochlorococcus* ecotypes reflects oceanic niche differentiation. *Nature*, 424:1042-1047.

Church M., H. Ducklow, R. Letelier, D. Karl. 2006. Temporal and vertical dynamics in picoplankton photoheterotrophic production in the subtropical North Pacific Ocean. *Aquatic Microbial Ecology*.45:41-53.

Díaz C., y H. Maske 2000. Abundanciaa de cianobacterias cocales, parámetros hidrográficos y la posible subestimación de la clorofila a in situ en el norte del Golfo de California y la corriente de California, México. *Ciencias Marinas*, 2(3):441-461.

Farber-Lorda J., Trasviña A., y P. Cortes.2004. Trophic conditions and zooplankton distribution in the entrance of the Sea of Cortes during summer. *Deep-Sea Research II*, 51: 615-627.

Fuhrman, J.A., J.W. Ammerman, y F. Azam.1980. Bacterioplankton in the coastal euphotic zone: distribution, activity, and possible relationships with phytoplankton. *Mar. Biol.*, 60: 201-207

Fuhrman, J.A., y C. A. Suttle. 1993. Viruses in marine plankton. *Oceanography*, 6: 51-63

Gantt E., C. Lipshultz, J. Grabowski, B. Zimmerman 1979. Phycobilisomes from Blue-Green and Red algae. *Plant physiology*, 63:615-620.

Gasol, JM, C. Duarte. 2000. Comparative analyses in aquatic microbial ecology: How far do they go? *FEMS Microbial Ecology*, 31:99–106.

Glover H., 1985. The physiology and ecology of the marine cyanobacterial genus *Synechococcus*. En Janasch, H.W. Williams P.J. Leeb (eds). *Advances in aquatic microbiology*. Academic Press, Londres pp. 46-107.

Glover H., 1991. Oceanic phytoplankton communities our changing perception. *Reviews in Aquatic sciences*, 5(3-4):307-331.

Goericke R., R.J. Olson, A. Shalapyonok. 2000. A novel niche for *Prochlorococcus* sp. In low-light suboxic environments in the Arabian Sea and the Eastern Tropical North Pacific. *Deep-Sea Research I*, 47:1183-1205.

Goericke R., y D. Repeta. 1993. Chlorophylls a and b and divinyl chlorophylls a and b in the open subtropical North Atlantic Ocean. *Marines Ecology Progress Series*, 101:307-313.

Grob C., O. Ulloa, W. Li, G. Alarcón, M. Fukasawa, S. Watanabe. 2007. Picoplankton abundance and biomass across the eastern south Pacific ocean along latitude 32.5°S. *Marine Ecology Progress Series*, 332:53-62.

Grossman A.R., M.R. Schaefer, G.G. Chiang, J.L. Collier. 1993. The phycobilisome, a light-harvesting complex responsive to environmental conditions. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 57(3):725-749.

Hall J., y W. Vincent. 1990. Vertical and horizontal structure in the picoplankton communities of a coastal upwelling system. *Marine Biology*, 106:465-471.

Hedal M, D. Scalan, S. Norland, F. Thingstad, N. Mann. 2003. Elemental composition of single cells of various strains of marine *Prochlorococcus* and *Synechococcus* using x-ray microanalysis. *Limnology and Oceanography*, 48(5):1732-1743.

Iturriaga R., y B. Mitchell. 1986. Chroococcoid cyanobacteria: a significant component in the food web dynamics of the open ocean. *Marine Ecology*, 28:291-297.

Jaimes-Hernández A. 2006. Efecto de las estructuras de mesoescala en la distribución de los máximos sub-superficiales de clorofila y partículas en la entrada del Golfo de California Tesis de Maestría. CIBNOR, La Paz, B.C.S., México.

Johnson P. y J. Sieburth. 1982. *In situ* morphology and occurrence of eukaryotic prototrophs of bacterial size in the picoplankton of estuarine and oceanic waters. *Journal of Phycology*, 18:318-327.

Johnson P., y j. Sieburth. 1979. Chroococcoid cyanobacteria in the sea: a ubiquitous and diverse phototrophic biomass. *Limnology and Oceanography*, 24:928-935.

Kana T., P. Gilbert, R. Goericke, N. Welshchmeyer. 1988 Zeaxanthin and β -carotene in *Synechococcus* WH7803 respond differently to irradiance. *Limnology and Oceanography*, 33(6, parte 2):1623-1627.

Katano T., A. Kaneda, N. Kanzaki, Y. Obayayashi, A. Morimoto, G. Onitsuka, H. Yasuda, S. Mizutani, Y. Kon, K. Hata, H. Takeoka, S. Nakano. 2007. Distribution of prokaryotic

picophytoplankton from Seto Inland Sea to the Kuroshio region, with special reference to 'Kyucho' events. *Aquatic Microbial Ecology*, 46:191-201.

Kirk, J. T. O. 1994. *Light and Photosynthesis in Aquatic Ecosystems*. Second edition. Cambridge, Gran Bretaña, Cambridge University Press: 407 pp.

Lantoine F., J. Neveux. 1997. Spatial and seasonal variations in abundance and spectral characteristics of phycoerythrins in the tropical northeastern Atlantic ocean. *Deep-Sea Research I*, 44 (2):223-246.

Li, W. 1998. Annual average abundance of heterotrophic bacteria and *Synechococcus* in surface ocean waters. *Limnology and Oceanography*, 43:1746-1753.

Li W., Wood A. 1988. Vertical distribution of North Atlantic ultraplankton: analysis by flow cytometry and epifluorescence microscopy. *Deep-Sea Research*, 35:1615-1638.

Li W., S. Subb Rao, W. Harrison, J. Smith, J. Cullen, B. Irwin, T. Platt. 1983. Autotrophic picoplankton in the tropical oceans. *Science*, 219:292-295.

Li, W. 2002. Macroecological patterns of phytoplankton in the northwestern North Atlantic Ocean. *Nature*, 419:154-157.

López-García P., F. Rodríguez-Valera, C. Pedrós-Alió y O. Moreira. 2001. Unexpected diversity of small eukaryotes in deep sea Atlantic plankton. *Nature*, 409:603-607.

López-Sandoval D. 2007. Variabilidad de la productividad primaria en la región de Cabo Corrientes, México. Tesis de Maestría. CICESE. Ensenada, Baja California, México.

Mackey D.J., J. Blanchot, H. Higgins, J. Neveux. 2002. Phytoplankton abundance and community structure in the equatorial Pacific. *Deep-Sea Research II*, 49: 2561-2582.

Moore L., G. Rocoap., W. Sallie. 1998. Physiology and molecular phylogeny of coexisting *Prochlorococcus* ecotypes. *Nature*, vol. 395: 464-467.

Moore L., A. Post., G. Rocap, W. Sallie. 2002. Utilization of different nitrogen sources by the marine cyanobacteria *Prochlorococcus* and *Synechococcus*. *Limnology and Oceanography*, 47(4) 989-996.

Moore LR., S.Chisholm. 1999. Photophysiology of the marine cyanobacterium *Prochlorococcus*: Ecotypic differences among cultured isolates. *Limnology and Oceanography*, 44(3):628-638, May 1999.

Morel A., Y. Ahn, F. Partensky, D. Vaultot y H. Claustre. 1993. *Prochlorococcus* and *Synechococcus*: A comparative study of their optical properties in relation to their size and pigmentation. *Journal of Marine Research*, 51:617-649.

Neveux J., F. Lantoiné, D. Vaultot, D. Marie, J. Blanchot. 1999. Phycoerythrins in the southern tropical and equatorial Pacific ocean: Evidence for new cyanobacterial types. *Journal of Geophysical Research*, 104(C2):3311-3321.

Olson R., S. Chisholm, E. Zettler, V. Armbrust 1988. Analysis of *Synechococcus* pigment types in the sea using single and dual pigment types in the sea using single and dual beam flow cytometry. *Deep-Sea Research*, 35:425-440.

Olson R., S. Chisholm, E. Zettler, V. Armbrust 1990. Pigments size, and distribution of *Synechococcus* in the North Atlantic and Pacific Oceans. *Limnology and Oceanography*, 35(1) 45-58

Ong L.J., A.N. Glazer. 1991. Phycoerythrins of marine unicellular cyanobacteria. I. Bilin types and locations and energy transfer pathways in *Synechococcus* spp. *Phycoerythrins*. *J. Biol. Chem.*, 266(15): 9515-9527.

Ong, L. J., y A. N. Glazer. 1988. Structural studies of phycobiliproteins in unicellular marine cyanobacteria. *In* Light-Energy Transduction in Photosynthesis: Higher Plant and Bacterial Models. S. E. Stevens, Jr., and D. A. Bryant, editors. The American Society of Plant Physiologists, Rockville, MD. 102-121.

Paerl H., J. Tucker, P. Bland. 1983. Carotenoid enhancement and its role in maintaining blue-green algae (*Microcystis aeruginosa*) surface blooms. *Limnology and Oceanography*, 28(5):847-857.

Palenik B., 2001 Chromatic adaptation in marine *Synechococcus* strains. Applied and Environmental Microbiology, 67(2):991-994.

Partensky F., W. Hess., D. Vaultot. 1999. *Prochlorococcus*, a marine photosynthetic prokaryote of global significance. Microbiology and molecular biology, Vol. 63 (1): 106-127.

Partensky F., J. Blanchot, F. Lantoine, J. Neveux, D. Marie. 1996 Vertical structure of picophytoplankton at different trophic sites of the tropical northeastern Atlantic Ocean. Deep Sea Research, 43(8).1191-1213.

Platt T y W. Li, 1986. Photosynthetic picoplankton. Can. Bull. Fish. Aquat. Sci., 214:583 pp.

Postius C., A. Ernst. 1999. Mechanisms of dominance: coexistence of picocyanobacterial genotypes in a freshwater ecosystem. Archive of Microbiology, 172(2):69-75.

Rocap G., F Larimer, J Lamerdin, S Malfatti, P Chain, N Ahlgren, A Arellano, M Coleman, L Hauser, W Hess, Z Johnson, M Land, D Lindell, A Post, W Regala, M Shah, S Shaw, C Steglich, M Sullivan, C Ting, A Tolonen, E Webb, E Zinser, and S Chisholm. 2003. Genome divergence in two *Prochlorococcus* ecotypes reflects oceanic niche differentiation. Nature, 424:1042-1047.

Scanlan, D. J., West, N. J. 2002. Molecular ecology of the marine cyanobacterial genera *Prochlorococcus* and *Synechococcus*. FEMS Microbiology Ecology, 40, 1-12

Six C., J. Thomas, B. Brahamsha, Y. Lemoine, F. Partensky 2004. Photophysiology of the marine cyanobacterium *Synechococcus* sp. Wh8102, a new model organism, 35:17-29.

Stewart D., F. Framer. 1984. Extraction identification, and quantitation of phycobiliprotein pigments from phototrophic plankton. Limnology and Oceanography, 29(2):392-397.

Stomp M., J. Huisman, F. Jongh, A. Verann, D. Gerla, M. Rijkeboer, B. Ibelings, U. Wollensien, L. Stal. 2004. Adaptive divergence in pigment composition promotes phytoplankton biodiversity. Nature, 432:104-107.

Ting C., G. Rocap, J. King, S. Chisholm. 2002. Cyanobacterial photosynthesis in the oceans: the origins and significance of divergent light-harvesting strategies. Trends in Microbiology, <http://tim.trends.com>

Toledo, G., Palenik, B., y Brahamsha, B. 1999. Swimming marine *Synechococcus* strains with widely different photosynthetic pigment ratios form a monophyletic group. *Applied Environmental Microbiology*, 65: 5247–5251.

Trees C., D. Clark, R. Bidigare, M. Ondrusek, J. Mueller. 2000. Accessory pigments versus chlorophyll a concentrations within the euphotic zone: A ubiquitous relationship. *Limnology and Oceanography*, 45(5):1130-1143.

Van Heukelem, L., A.J. Lewitus, T.M. Kana, N.E. Craft. 1994. Improved separations of phytoplankton pigments using temperature-controlled high performance liquid chromatography. *Marine Ecology Progress Series*, 114:303-313.

Vaulot D., y D. Marie. 1999. Diel variability of photosynthetic picoplankton in the equatorial Pacific, *Journal of Geophysical Research*. Vol.104. NO. C2.3297-3310.

Viskari P.J., C. Colyer. 2003. Rapid extraction of phycobiliproteins from cultured cyanobacteria samples. *Anal. Biochem*, 319:263-271.

Waterbury J., S. W. Watson, F. W. Valois, D. G. Franks. 1986. Biological and ecological characterization of the marine unicellular cyanobacterium *Synechococcus*. *Can.Bull. Fish. Aquat. Sci.*, 214: 71–120.

Waterbury J., S. Watson. R. Guillard, L. Brand.1979 . Widespread occurrence of a unicellular marine planktonic cyanobacterium. *Nature*, 277:293-294.

Welschmeyer N.1994. Fluorometric Analysis of Chlorophyll a in the Presence of Chlorophyll b and Pheopigments. *Limnology and Oceanography*, 39(8):1985-192.

West J., D. Scalan 1999. Niche-partitioning of *Prochlorococcus* populations in a stratified water column un the eastern north Atlantic ocean. *Applied and environmental microbiology*, 65(6): 2585-2591.

Whitman W., D. Coleman, W. Wiebe. 1998. Prokaryotes: The unseen majority. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 95:6578-6583.

Wood A., D. Phinney, C. Yentsh 1998 Water column transparency and the distribution of spectrally distinct forms of phycoerythrin containing organisms. *Marine Ecology Progress Series*, 162:25-31.

Wood A., M. Lipsen, P. Coble. 1999. Fluorescence-based characterization of phycoerythrin containing cyanobacterial communities in the Arabian Sea during the Northeast and early Southwest Monsoon (1994-95). *Deep-Sea Research*, 46:1769-1790.

Wyman 1992 An in vivo method for the estimation of phycoerythrin concentrations in marine cyanobacteria (*Synechococcus sp.*) *Limnology and Oceanography*, 37(6):1300-1306

Wyman M., R. Gregory. 1985. Novel role for phycoerythrin in a marine cyanobacterium, *Synechococcus* strain DC2. *Science*, 230: 818-820.

Zwirgmaier K., J. Heywood, K. Chamberlain, E. Malcom, S. Woodward, Mikhail V. 2007. Basin-scale distribution patterns of picocyanobacterial lineages in the Atlantic Ocean. *Environmental Microbiology*, 9(5):1278-1290.

ANEXOS

Anexo 1 Esquema conceptual de las características de las ficobiliproteínas y sus cromóforos. PCB:ficocianobilina, PEB:ficoeritrobilina, PUB:ficourobilina

Ficobiliproteína	Cromóforo	Espectro emisión	Referencia
<i>Aloficocianina (APC)</i>	PCB	650 nm	Grossman 1993
<i>Ficocianina (PC)</i>	PCB, PEB	620 nm	Grossman 1993
<i>Ficoeritrina (PE)</i>	PE (I)	?	Ong y Glazer 1988, 1991
	PE (II)	PEB	540-570 nm Lantoine y Neveux, 1997
		PUB	495-500 nm Lantoine y Neveux, 1997

Anexo 2 Programa utilizado para capturar la información del carácter espectral de las células de cianobacterias.

```

close all; clear; clc;

folder=15; % número del folder en donde se ubicaban las imágenes .tif
subfolder = 116 % número del subfolder en donde se ubicaban las imágenes .tif

permiso=['D:\Imágenes confocal\RGB\' num2str(folder) '\' num2str(subfolder) '\'];

path(path,permiso);
directorio=permiso;
list=dir([directorio '*.tif']);
[rf,cf]=size(list)
    for ik=1:rf;

        namfil=[list(ik).name];

        figure(ik)
        nombrefig1=['Color ' namfil];
        set(gcf,'name',nombrefig1,'Color','white','NumberTitle','off','visible','on')
        imshow(namfil)

    n=input('cuantos cianobacterias ves? ')
    %close
        figure(ik)
        nombrefig2=['B&N ' namfil];
        set(gcf,'name',nombrefig2,'Color','white','NumberTitle','off','visible','on')
        im=imread (namfil);%leer la imagen
        A=im(:,:,1); %capa 1 rojo
        B=im(:,:,2); %capa 1 verde
        C=im(:,:,3); %capa 1 azul

        for jj=1:n;

            [x,y,zoo,x1,y1] = roipoly(A);
            psx_min=floor(min(x1)); % Delimita el área de selección
            psx_max=ceil(max(x1));
            psy_min=floor(min(y1));
            psy_max=ceil(max(y1));

            difx=psx_max-psx_min; % Define el tamaño de la ventana seleccionada
            dify=psy_max-psy_min;

```

```

for i=1:dify
    for j=1:difx
        New(i,j)=A(i+(psy_min-1),j+(psx_min-1)); % Recorte del área
    end
end

% Definir los índices originales del área recortada, para recortar todas
% las capas en esa área
[x,y]=find(New>50);
xn=x+(psy_min-1);
yn=y+(psx_min-1);

% Se evalúan las capas en esos índices
Capa1 = A(xn,yn);
Capa2 = B(xn,yn);
Capa3 = C(xn,yn);

% Promedios y razones entre canales
Rojo(jj)=mean(mean(Capa1));
Verde(jj)=mean(mean(Capa2));
Azul(jj)=mean(mean(Capa3));

VR(jj)= Verde(jj) / Rojo(jj);
AR(jj)= Azul(jj) / Rojo(jj);
VA(jj)= Verde(jj) / Azul(jj)

matriz(jj,:)=[Rojo(jj) Verde(jj) Azul(jj) VR(jj) AR(jj) VA(jj)];

end % Finaliza el ciclo para una cianobacteria
archivo_salida = [permiso 'Archivos de texto\' namfil(1:end-4) '.txt'];
save(archivo_salida,'matriz','-ascii');

end % Finaliza el ciclo de una imagen con n cianobacterias

display ('LISTO');
% Programa realizado con la asesoría de la M.C. Karen Solis y M.C. Aaron Albores
% Estudiantes del Posgrado en Electrónica y Telecomunicaciones (CICESE)

```