



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS



EFFECTO DE LA PROPORCIÓN N:P EN EL
CRECIMIENTO Y TOXICIDAD DE *Gymnodinium*
catenatum DE LA BAHÍA DE LA PAZ Y BAHÍA
DE MAZATLÁN

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS
MARINAS

PRESENTA

FRANCISCO EDUARDO HERNÁNDEZ SANDOVAL

LA PAZ, B.C.S. ABRIL DE 2010



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., siendo las 12:00 horas del día 4 del mes de Marzo del 2010 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CICIMAR para examinar la tesis titulada:

"EFECTO DE LA PROPORCIÓN N:P EN EL CRECIMIENTO Y TOXICIDAD DE
Gymnodinium catenatum DE BAHÍA DE LA PAZ Y BAHÍA DE MAZATLÁN"

Presentada por el alumno:

HERNÁNDEZ
Apellido paterno

SANDOVAL
materno

FRANCISCO EDUARDO
nombre(s)

Con registro:

B	0	6	1	1	4	9
---	---	---	---	---	---	---

Aspirante de:

DOCTORADO EN CIENCIAS MARINAS

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA DEFENSA DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISION REVISORA

Directores de Tesis

DR. JOSÉ JESÚS BUSTILLOS GUZMÁN
Director de Tesis

DRA. CHRISTINE JOHANNA BAND SCHMIDT
Director de Tesis

DRA. LIDIA MARTÍNEZ LÓPEZ

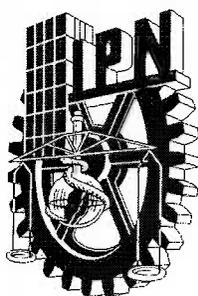
DR. JAIME GÓMEZ GUTIÉRREZ

DR. DAVID JAVIER LÓPEZ CORTÉS

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES



DR. RAFAEL CERVANTES DUARTE
IPN
CICIMAR
DIRECCIÓN



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., el día 12 del mes Marzo del año 2010, el (la) que suscribe MC. FRANCISCO EDUARDO HERNÁNDEZ SANDOVAL alumno(a) del Programa de DOCTORADO EN CIENCIAS MARINAS con número de registro B061149 adscrito al CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de tesis, bajo la dirección de: DR. JOSÉ JESÚS BUSTILLOS GUZMÁN y DRA. CHRISTINE JOHANNA BAND SCHMIDT y cede los derechos del trabajo titulado: "EFECTO DE LA PROPORCIÓN N:P EN EL CRECIMIENTO Y TOXICIDAD DE *Gymnodinium catenatum* DE BAHÍA DE LA PAZ Y BAHÍA DE MAZATLÁN" al Instituto Politécnico Nacional, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección: jose04@cibnor.mx cbands@ipn.mx fhernan04@cibnor.mx

Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

MC. FRANCISCO EDUARDO HERNÁNDEZ SANDOVAL

nombre y firma

CONFORMACIÓN DEL COMITÉ

Dirección:

Dr. José Jesús Bustillos Guzmán Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.

Comité tutorial, revisor y sinodal:

Dr. José Jesús Bustillos Guzmán Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.

Dra. Christine Johana Band Schmidt Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas.

Dra. Aída Martínez López Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas.

Dr. Jaime Gómez Gutiérrez Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas.

Dr. David Javier López Cortés Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.

Jurado Suplente:

Dr. Iván Murillo Álvarez Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas.

DEDICATORIA

Le dedico esta tesis a quienes renunciaron a mí durante este periodo de estudio para que pudiera cumplir con esta meta:

A mis hijas: Michelle y Janine, espero que las veces que preguntaron por mí cuando no estaba en casa, pueda recompensarles ahora que concluí esta tesis.

A mi esposa kiry, espero de todo corazón que algún día pueda compenzarte y que me des otra oportunidad de demostrarte todo lo que vales. Con todo mi amor, para ti que fuistes parte primordial de este documento aunque yo en su momento no lo supe reconocer. Te amo.

Con mucho cariño y admiración para mis padres Juan y Toñita Hernández a quienes les debo todo.

AGRADECIMIENTOS

La presente tesis fue financiada por los siguientes proyectos: Ecología y efectos de especies formadoras de proliferaciones algales nocivas: el caso de *Gymnodinium catenatum* Recursos fiscales CIBNOR, S.C., clave 3.8, PC 3.2, SNI 2008 del CIBNOR, S.C. y SEP-CONACyT 61226 y SIP 20100192 de CICIMAR.

Agradezco el apoyo otorgado por el consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT, 202241).

Al instituto Politécnico Nacional, al Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas y al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C., por todas las facilidades prestadas para la culminación de esta tesis.

A mis directores de tesis Dra. Christine J. Band Schmidt y Dr. José J. Bustillos Guzmán y a los miembros del comité revisor: Dra. Áida Martínez López, Dr. Jaime Gómez Gutiérrez, Dr. David J. López Cortés y Dr. Mán Murillo Álvarez por su apoyo y acertados comentarios. A todos los miembros del comité revisor por sus aportaciones que tuvieron con esta tesis. Así como por el seguimiento que le dieron al desarrollo de mis estudios y actividades, agradezco su buena disposición.

En especial agradezco a la Dra. Christine Band por todo su tiempo invertido en este trabajo y en especial cuando la miraba más preocupada que yo, muchas gracias por tus consejos y amistad. Al Dr. Bustillos por sus consejos académicos y personales durante este periodo. Al Dr. David López por su apoyo incondicional en todo momento.

Esta investigación fue posible gracias al apoyo de muchas personas que de una u otra manera estuvieron involucrados. El orden en el que los menciono es cronológico con la fase inicial de la tesis. Primeramente agradezco al Dr. José Bustillos, Dr. David López y Dra. Christine Band, por el apoyo en el trabajo de campo así como al personal de embarcaciones del CIBNOR, S.C., Enrique Calvillo, Jorge Angulo, Mario Cota, Juan José Ramírez y al MC. Horacio Bervera (me conozco doctor) por el apoyo en el monitoreo del trabajo de campo. A la MC. Diana Teresa Góngora G. por la ayuda en la identificación de las muestras de fitoplancton.

Agradezco al MC. Ismael Gárate Lizárraga por sus acertadas observaciones durante el transcurso de este periodo así como la bibliografía recomendada.

El trabajo experimental de esta tesis sin lugar a duda fue otra etapa en la cual el CEPARIO del CIBNOR, S.C., intervino significativamente, en especial agradezco por su disposición de servicio al responsable del área, QFB. Marte Felix Virgen y a la exresponsable Biol. Minerva Cerro por el apoyo en los cultivos de *Gymnodinium catenatum*. A Marte por su participación en la colecta de muestras durante los ensayos realizados. A los Biólogos Erick Núñez y Leyberth Fernández por su gran ayuda y disposición de siempre apoyarme en los ensayos experimentales (aunque estos fueran de madrugada) así como en los conteos celulares, mi más sincero

agradecimiento. En especial a Erick por su gran capacidad académica siempre presente en el momento que lo necesitaba, carnal infinitamente agradecido contigo (espero que pronto me toque regresarte la ayuda prestada en tu próximo ingreso al doctorado).

Agradezco a la Colección de dinoflagelados marinos del CIBNOR, S.C. (CODIMAR) y a la responsable Dra. Lourdes Morquecho por la venta de la cepa GCMQ-4 utilizada en este trabajo.

Al MC. Iban Murillo Murillo por la gran ayuda y siempre disponibilidad en los análisis químicos de las muestras de agua generadas durante los muestreos de campo y trabajo experimental.

Al MC. Manuel Moreno Legorreta por las consultas en los análisis estadísticos.

A Oscar Armendariz del departamento de diseño gráfico del CIBNOR, S.C. y al Ecólogo Miguel Angel (Parna) por su apoyo en la elaboración de la figuras. Al Ing. Edgar Yuen por el apoyo en búsquedas bibliográficas.

Al jefe del departamento de servicios educativos del CICIMAR-IPN, LCP. Humberto Ceseña Amador por las facilidades y apoyo.

Seguramente habra muchas personas que no mencioné en estos parrafos, sin embargo, ellos saben que sinceramente les agradezco todo su apoyo, disponibilidad académica y de amistad en la terminación de mis estudios y de esta tesis.

A mis hermanos Janet, Martha, Adrián, Hector, Juan, Perla y Mario, por su apoyo incondicional en todo momento y por el ánimo que me dieron en el momento que mas lo necesite . Gracias.

Agradezco a todos los que directa o indirectamente intervinieron en este trabajo.

A toda la palomilla, por ser amigos (as). Gracias.

ÍNDICE

Lista de figuras	vii
Lista de tablas	ix
Glosario	x
Abreviaciones.....	xiv
Resumen.....	xv
Abstract	xvi
1. Introducción.....	1
2. Antecedentes	8
3. Justificación.....	12
4. Hipótesis	13
5. Objetivos	14
5.1 Objetivo general.....	14
5.2 Objetivos particulares	14
6. Área de estudio.....	15
7. Material y métodos	18
7.1 Trabajo de campo	18
7.1.1 Muestreo y medición de variables físicas, químicas y biológicas.....	18
7.1.2 Seguimiento del FAN de <i>Gymnodinium catenatum</i> en la Bahía de La Paz	19
7.2 Procesamiento de muestras	23
7.2.1 Conteo e identificación de <i>G. catenatum</i> y otros dinoflagelados	23
7.2.2 Análisis de nutrientes	23
7.2.3 Análisis de toxinas paralizantes	24
7.3 Trabajo experimental	26
7.3.1 Cepas utilizadas.....	26
7.3.2 Mantenimiento y cultivo de <i>Gymnodinium catenatum</i>	26
7.3.3 Curvas de crecimiento	26
7.3.4 Tasas de asimilación.....	27
7.3.5 Crecimiento semicontinuo de <i>Gymnodinium catenatum</i> con diferentes proporciones de N:P	29
7.4 Análisis estadísticos.....	31
8. Resultados.....	32
8.1 Muestreo anual de Bahía de La Paz y Bahía de Mazatlán.....	32
8.1.1 Temperatura	32
8.1.2 Oxígeno disuelto	34
8.1.3 Índice de estratificación térmica (IET; °Cm ⁻¹)	34
8.2 Nutrientes	35
8.2.1 Nitritos.....	35
8.2.2 Nitratos.....	39

8.2.3 Amonio.....	39
8.2.4 Nitrógeno inorgánico disuelto (NID)	39
8.2.5 Proporción N:P	40
8.2.6 Fosfatos	41
8.3 Abundancia de dinoflagelados totales, con énfasis en <i>Gymnodinium catenatum</i>	43
8.3.1 Concentración de toxinas de <i>Gymnodinium catenatum</i> recolectadas en condiciones naturales de la Bahía de La Paz y la Bahía de Mazatlán	46
8.4. FAN de <i>Gymnodinium catenatum</i> en la Bahía de La Paz.....	47
8.4.1 Variables ambientales	47
8.4.2 Toxinas paralizantes en muestras de red y moluscos bivalvos	48
8.5. Trabajo experimental. Cultivo de cepas de <i>Gymnodinium catenatum</i> de Bahía de La Paz y Bahía de Mazatlán a diferentes proporciones N:P	54
8.5.1. Cultivos de lote (batch)	54
8.5.1.1 Tasa de crecimiento	57
8.5.1.2 Tasas de asimilación de nitratos, amonio y fosfatos	58
8.5.2 Cultivos semicontinuos	61
8.5.2.1 Toxicidad (pg cél ⁻¹ y pg STX _{eq} cél ⁻¹) de cepas de <i>Gymnodinium catenatum</i>	62
8.5.2.2 Perfil de toxinas de <i>Gymnodinium catenatum</i>	66
9. Discusión	69
9.1. Discusión general.....	85
10. Conclusiones	88
11. Recomendaciones	90
12. Literatura citada	91
13. Anexo 1	108

Lista de figuras

- Figura 1. Áreas de estudio y localización de las estaciones de muestreo en la Bahía de La Paz (a) y la Bahía de Mazatlán (b). 17
- Figura 2. Localización de las estaciones de muestreo en el sur de la Bahía de La Paz, México. ●(Recolecta de fitoplancton) ? (Recolecta de bivalvos)..... 20
- Figura 3. Diseño experimental y procedimiento para la obtención de muestras durante el experimento de tasas de asimilación de *Gymnodinium catenatum* de NO_3^- . Los experimentos para determinar las tasas de asimilación de NH_4^+ y PO_4^{3-} se realizaron con las concentraciones resumidas en la tabla 4. 29
- Figura 4. Diseño experimental y procedimiento para obtención de muestras de cepas de *Gymnodinium catenatum* crecidas bajo diferentes proporciones N:P (4:1, 8:1, 16:1, 32:1 y 64:1). 31
- Figura 5. Variación mensual superficial de la temperatura (a, b) y el oxígeno disuelto (c, d) en la Bahía de La Paz (a, c) y la Bahía de Mazatlán (b, d) de julio de 2006 a mayo de 2007 en las estaciones de muestreo. 33
- Figura 6. Índice de estratificación térmica (IET) estimado para la Bahía de La Paz (E1) y la Bahía de Mazatlán (E6) de junio de 2006 a mayo de 2007, las líneas horizontales representan el límite del periodo de transición hacia mezcla o estratificación. 35
- Figura 7. Variación mensual de nitritos (NO_2^-) y nitratos (NO_3^-) en superficie en la Bahía de La Paz (a, c) y en la Bahía de Mazatlán (b, d) de julio de 2006 a mayo de 2007 en las estaciones de muestreo. 37
- Figura 8. Variación mensual de amonio (NH_4^+) y nitrógeno inorgánico disuelto (NID) en superficie de la Bahía de La Paz (a, c) y la Bahía de Mazatlán (b, d) de julio de 2006 a mayo de 2007 en las estaciones de muestreo. 38
- Figura 9. Variación de la proporción N:P y fosfatos (PO_4^{3-}) en la superficie del mar de la Bahía de La Paz (a, c) y la Bahía de Mazatlán (b, d) de julio de 2006 a mayo de 2007 en las diferentes estaciones de muestreo. El eje secundario Y en el gráfico (c) corresponde a la estación E3. 42
- Figura 10. Variación mensual de la abundancia de *Gymnodinium catenatum* y dinoflagelados totales en la Bahía de La Paz, de junio de 2006 a mayo de 2007 (E1, E2, E3, E4 y E5)..... 44
- Figura 11. Variación mensual de la abundancia de *Gymnodinium catenatum* y dinoflagelados totales en la Bahía de Mazatlán, de junio de 2006 a mayo de 2007 (E6 y E7)..... 45

Figura 12. Temperatura superficial (promedio diario, 24.45 N, 110.5 W) de la Bahía de La Paz de enero a abril del 2007 (Programa CoastWatch de la National Oceanic and Atmospheric Administration, http://coastwatch.pfeg.noaa.gov/coastwatch).....	48
Figura 13. Relación lineal entre los diversos tipos de toxinas paralizantes (% molar) de diversas especies de moluscos A) correlación de toxinas carbamatadas y sulfocarbamatadas; B) correlación de toxinas decarbamatadas y sulfocarbamatadas; C) correlación de toxinas decarbamatadas y carbamatadas; *relación significativa ($\alpha = 0.01$).....	53
Figura 14. Cambio celular relativo de <i>Gymnodinium catenatum</i> cultivada con diferentes proporciones N:P (a) 4:1; b) 8:1; c) 16:1; d) 32:1; e) 64:1) en cultivos de lote.....	56
Figura 15. Tasa de crecimiento máxima de las distintas cepas de <i>Gymnodinium catenatum</i> de la Bahía de La Paz y la Bahía de Mazatlán con diferentes proporciones N:P.....	58
Figura 16. Tasa de asimilación promedio de nitratos (a), amonio (b) y fosfatos (c) de cepas de <i>Gymnodinium catenatum</i> de la Bahía de La Paz y la Bahía de Mazatlán como una función de la concentración de nutrientes.....	60
Figura 17. Densidad celular máxima (datos promedios) de <i>Gymnodinium catenatum</i> de la Bahía de La Paz (BAPAZ-7 y BAPAZ-5) y la Bahía de Mazatlán (GCMQ-4 y BAMAZ-2) crecida con diferentes proporciones N:P (4:1, 8:1, 16:1, 32:1 y 64:1) en cultivo semicontinuo.....	62
Figura 18. Toxicidad promedio pg cél^{-1} (a) y pg STXeq cél^{-1} (b) promedio de <i>Gymnodinium catenatum</i> cepa (BAPAZ-5) crecida con diferentes proporciones N:P (4:1, 8:1, 16:1, 32:1 y 64:1) en cultivo semicontinuo.....	63
Figura 19. Toxicidad promedio pg cél^{-1} (a) y pg STXeq cél^{-1} (b) promedio de <i>Gymnodinium catenatum</i> cepa (BAPAZ-7) crecida con diferentes proporciones N:P (4:1, 8:1, 16:1, 32:1 y 64:1) en cultivos semicontinuo.....	64
Figura 20. Toxicidad promedio pg cél^{-1} (a) y pg STXeq cél^{-1} (b) promedio de <i>Gymnodinium catenatum</i> cepa (BAMAZ-2) crecida con diferentes proporciones N:P (4:1, 8:1, 16:1, 32:1 y 64:1) en cultivos semicontinuos.....	65
Figura 21. Toxicidad promedio pg cél^{-1} (a) y pg STXeq cél^{-1} (b) promedio de <i>Gymnodinium catenatum</i> cepa (GCMQ-4) crecida con diferentes proporciones N:P (4:1, 8:1, 16:1, 32:1 y 64:1) en cultivos semicontinuos.....	66
Figura 22. Toxinas paralizantes (% molar) en cepas de <i>Gymnodinium catenatum</i> de la Bahía de Mazatlán (GCMQ-4 y BAMAZ-2) (a y b, respectivamente) y de la Bahía de La Paz (BAPAZ-5 y BAPAZ-7) (c y d, respectivamente) crecida con diferentes proporciones N:P (4:1, 8:1, 16:1, 32:1 y 64:1) en cultivo semicontinuo.....	68

Lista de tablas

Tabla 1. Estaciones de muestreo, ubicación geográfica y profundidad de muestreo en la zona de estudio Bahía de La Paz y Bahía de Mazatlán.	19
Tabla 2. Fechas de muestreo de fitoplancton, nutrientes, oxígeno disuelto, temperatura y moluscos en la Bahía de La Paz de enero a marzo de 2007 durante un FAN de <i>Gymnodinium catenatum</i>	22
Tabla 3. Estándares de calibración, factores respuestas y factores de toxicidad relativa aplicado para calcular la toxicidad total de las diferentes toxinas encontradas en <i>Gymnodinium catenatum</i> de Bahía de La Paz y Bahía de Mazatlán.	25
Tabla 4. Concentración (μM) de los nutrientes utilizados para determinar experimentalmente las tasas de asimilación de <i>Gymnodinium catenatum</i> en función de la disponibilidad de nutrientes.	28
Tabla 5. Temperatura ($^{\circ}\text{C}$), oxígeno disuelto (mg L^{-1}) y concentración de nutrientes (μM) en aguas superficiales de la Bahía de La Paz (7 marzo, 2007), en localidades con presencia de <i>Gymnodinium catenatum</i>	47
Tabla 6. Porcentaje molar de toxinas paralizantes en muestras de fitoplancton recolectadas con red de fitoplancton de diversas localidades de la Bahía de La Paz durante un FAN de <i>Gymnodinium catenatum</i> (marzo 7, 2007).	49
Tabla 7. Toxicidad total ($\mu\text{g STXeq } 100 \text{ g}^{-1}$) en moluscos colectados en la Bahía de La Paz de enero a marzo de 2007 durante un FAN de <i>Gymnodinium catenatum</i>	50
Tabla 8. Porcentaje molar de cada tipo de toxina en diversas especies de moluscos durante el FAN de <i>Gymnodinium catenatum</i> de la Bahía de La Paz.	52
Tabla 9. Promedios de temperatura, nutrientes (NO_2^- , NO_3^- , NH_4^+ , PO_4^{3-} , N:P) de diferentes sitios del Golfo de California donde se ha registrado <i>Gymnodinium catenatum</i>	71
Tabla 10. Promedio y rangos de la tasa de crecimiento y densidad celular máxima de cepas de <i>Gymnodinium catenatum</i> aisladas de diferentes localidades del Golfo de California.	80

Glosario

Biosíntesis: Procesos celulares que requieren de energía química (Lehninger, 1981).

Cepa: Variante genética de una especie o, incluso, de un taxón inferior, usualmente propagada clonalmente debido al interés en la conservación de sus cualidades definitorias (Garay *et al.*, 2006).

Constante de saturación: Es la concentración del sustrato en la cual la tasa de consumo es máxima (Harrison, 1980).

Cromatografía: Método físico de separación en el cual los componentes a separar se distribuyen en dos fases, una de las cuales constituye la fase estacionaria, de gran área superficial y la otra es un fluido (fase móvil) que pasa a través de la fase estacionaria (Yuan *et al.*, 2002).

Curva de crecimiento: Es aquella donde se pueden conocer las diferentes fases (iniciación, exponencial, estacionaria y de muerte) en el desarrollo de un organismo en condiciones de cultivo bajo condiciones controladas (Castrejón *et al.*, 1994).

Cultivo de lote: Sistema de cultivo, consiste en añadir una pequeña cantidad de organismos en un volumen determinado de medio de cultivo que se agita o se ventila para resuspender las células, reabastecer el CO₂, mantener homogéneo la concentración de nutrientes y células (Castrejón *et al.*, 1994).

Estratificación térmica: Es la condición por la que, como consecuencia de un calentamiento de las aguas superficiales y en condiciones de calma, se produce la formación de un estrato superficial más caliente y un estrato inferior más frío, condición típica del periodo de verano. La estratificación térmica impide los intercambios gaseosos entre la superficie y el fondo (Cox, 1970).

Estrés: Estado de agotamiento, desajuste, debilitamiento, presión, choque y/o alteración fisiológica que presenta un organismo como consecuencia de las condiciones ambientales adversas (Lehninger, 1981).

Fase logarítmica: Etapa del desarrollo de un cultivo biológico en donde la velocidad de crecimiento adquiere su máximo y permanece aproximadamente constante hasta presentarse un factor limitante (Castrejón *et al.*, 1994).

Glutamato deshidrogenasa: Enzima que cataliza la formación del glutamato a partir de la aminación del α -oxoglutarato (Lehninger, 1981).

Glutamina sintetasa: Enzima que cataliza la reacción para la formación de la glutamina a partir de glutamato y amonio a expensas de la energía del ATP. (Lehninger, 1981).

Hidrólisis: Reacción química mediante la cual se generados nuevos compuestos a partir de una sustancia compleja mediante la adición de agua y su posterior descomposición (Lehninger, 1981).

Isocitrato deshidrogenasa: Enzima directamente relacionada con la asimilación del nitrógeno (Camacho *et al.*, 1995; Ochoa *et al.*, 1995).

Neosaxitoxina: Toxina derivada de las tetrahidropurinas, cuyo mecanismo de acción a nivel molecular produce un bloqueo reversible de los canales de sodio a nivel neuronal. Esta actividad se expresa como bloqueo de la conducción de los axones, deteniendo la propagación del impulso nervioso y la contracción muscular (Llewellyn, 2006).

Nitrato reductasa: Enzima que cataliza la oxidación de nitrito a nitrato en presencia de NADP^+ (Lehninger, 1981; Berges, 1997).

Nitrito reductasa: Enzima que cataliza la reducción de nitrito a amonio (Berges, 1997).

Proporción N:P: Cociente utilizado para conocer si un sistema acuático tiene deficiencias de nitrógeno o fósforo (Redfield, 1958).

Proporción de Redfield: Es un promedio de la proporción de nutrientes (C, N, P y Si) para la comunidad del fitoplancton y el agua de mar (Lagus *et al.*, 2004).

Saxitoxina: Toxina neuromuscular que actúa directamente sobre el sistema nervioso periférico y músculo esquelético. Afecta la actividad de la membrana celular por bloqueo selectivo del transporte de sodio (Guo *et al.*, 1987; Llewellyn, 2006).

Sulfotransferasa: Enzima que participa en la síntesis de saxitoxina específica para la posición N-21 de la saxitoxina (Sako *et al.*, 2001).

Tasa de asimilación: Tiempo en el cual la célula incorpora sustancias aptas para la formación de moléculas complejas: proteínas, carbohidratos, lípidos, etc. (Lehninger, 1981).

Toxicidad: Se refiere al efecto de un veneno sobre un organismo completo, en nuestro caso la utilizaremos como el cálculo de la suma de todas las toxinas detectadas, considerando la toxicidad específica de cada una de ellas, se calcula la toxicidad total (Vale & Taleb, 2005)

Toxina: Sustancias de naturaleza proteica o no proteica de origen vegetal, animal o bacteriológico que cuentan con una estructura química determinada que desencadenan desordenes fisiológicos específicos (Williams & Clarke, 1998).

Toxinas paralizantes: Toxinas que actúan principalmente en el sistema nervioso, bloqueando los canales de sodio lo que ocasiona parálisis muscular. La intoxicación

puede ser leve manifestándose en adormecimiento de labios o aguda provocando la muerte por paro respiratorio, síntomas típicos del envenenamiento paralizante por consumo de moluscos (Guo *et al.*, 1987).

Abreviaciones

FAN	Florecimientos algales nocivos	FOD	Fósforo orgánico disuelto
TP	Toxinas paralizantes	FID	Fósforo inorgánico disuelto
STX	Saxitoxina	NID	Nitrógeno inorgánico disuelto
neoSTX	Neosaxitoxina	CAT	Ciclo de ácido tricarboxílico
GTX 1	Goniautoxina 1	NR	Nitrato reductasa
GTX 2	Goniautoxina 2	NiR	Nitrito reductasa
GTX 3	Goniautoxina 3	ST	Sulfotransferasa
GTX 4	Goniautoxina 4	GS	Glutamina sintetasa
GTX 5	Goniautoxina 5	GS-GOCAT	Glutamina sintetasa-Glutamato
dc STX	Decarbamoil saxitoxina	GDH	Glutamato deshidrogenasa
dc Neo	Decarbamoil neosaxitoxina	IDH	Isocitrato deshidrogenasa
dc GTX 1	Decarbamoil goniautoxina 1	Ks	Constante de saturación
dc GTX 2	Decarbamoil goniautoxina 2		
dc GTX 3	Decarbamoil goniautoxina 3		
dc GTX 4	Decarbamoil goniautoxina 4		
HPLC	Cromatografía líquida de alta precisión		

Resumen

Gymnodinium catenatum es un dinoflagelado desnudo capaz de producir toxinas paralizantes. Es una especie común en las costas del Pacífico Mexicano, que se ha relacionado con intoxicaciones y decesos de humanos por el consumo de moluscos contaminados. En este estudio se evaluó la proporción nitrógeno:fósforo (N:P) sobre la abundancia de *G. catenatum* bajo condiciones naturales. Para ello se obtuvieron muestras mensuales de Bahía de La Paz y Bahía de Mazatlán de junio de 2006 a mayo 2007 midiendo las siguientes variables físico-químicas y biológicas: temperatura, concentración de oxígeno disuelto, nitratos (NO_3^-), nitritos (NO_2^-), amonio (NH_4^+), fósforo inorgánico disuelto en forma de ortofosfatos (PO_4^{3-}), toxinas paralizantes y abundancia de dinoflagelados. También se evaluó las tasas de crecimiento y la producción de toxinas del dinoflagelado bajo condiciones controladas de cultivo bajo diferentes condiciones experimentales, para lo cual se aislaron 2 cepas de cada región, utilizando las siguientes proporciones N:P: 4:1, 8:1, 16:1, 32:1 y 64:1. Adicionalmente se determinaron las tasas de asimilación de NO_3^- , NH_4^+ y PO_4^{3-} para cada cepa. En ambas bahías se registraron bajas densidades de *G. catenatum* durante el periodo de estudio (≈ 6000 céls L^{-1}), lo que no permitió la detección de toxinas paralizantes en las muestras de fitoplancton. En Bahía de La Paz, las concentraciones promedio de nitrógeno inorgánico disuelto y fósforo fueron bajas (5 y 0.5 μM , respectivamente). En Bahía de Mazatlán fueron 7 y 1.5 μM , respectivamente. El rango de temperatura para ambas bahías fue de 19 a 32 °C y las proporciones N:P fluctuaron entre 2 y 7. Las bajas proporciones N:P, así como la ausencia de estratificación de la columna de agua durante el periodo de estudio, no favorecieron las proliferaciones de *G. catenatum*. Las tasas de asimilación de NO_3^- , NH_4^+ y PO_4^{3-} en *G. catenatum* de Bahía de La Paz fueron de 4.01 ± 0.17 , 9.18 ± 2.47 y 0.75 ± 0.03 pmol cel $^{-1}$ h $^{-1}$, respectivamente. Para las cepas Bahía de Mazatlán fueron de 3.62 ± 0.17 , 4.73 ± 1.69 y 8.25 ± 1.37 pmol cel $^{-1}$ h $^{-1}$, respectivamente. Los resultados en condiciones controladas muestran que las máximas densidades celulares se registraron en los cultivos con proporción N:P de 64:1, con 4000 céls mL^{-1} para Bahía de Mazatlán y 3983 céls mL^{-1} para Bahía de La Paz. Respecto a la toxicidad total observamos que no se registró diferencia significativa entre las diversas proporciones N:P utilizadas. El perfil de toxinas fue dominado por toxinas sulfocarbamatadas (B y C) con un 60 a 80 % en base molar, seguidas por las toxinas decarbamatadas (10 a 20 %) y en menor porcentaje las carbamatadas (10 a 15 %). Estos resultados sugieren que los cambios en las proporciones N:P no afectan la toxicidad ni el perfil de toxinas de *G. catenatum* de Bahía de La Paz y Bahía de Mazatlán.

Abstract

Gymnodinium catenatum is a unique, naked dinoflagellate that produces paralytic toxins. It is a common species along the Pacific coasts of Mexico that has been related with poisoning and death of humans that consumed contaminated mollusks. This study measured N:P ratios in the sea with abundance of *G. catenatum* under natural conditions. From June 2006 through May 2007, monthly samples were collected from Bahía de La Paz and Bahía de Mazatlán. Physical, chemical and biological variables were determined: Temperature, dissolved oxygen, nitrates (NO_3^-), nitrites (NO_2^-), ammonium (NH_4^+), dissolved inorganic phosphate in orthophosphate form (PO_4^{3-}), paralytic toxins, and abundance of dinoflagellates. We also measured growth and the production of toxins of *G. catenatum* under controlled conditions with two strains of *G. catenatum* isolated from each of the source regions. All strains were cultivated in f/2 media using the following N:P ratios: 4:1, 8:1, 16:1, 32:1, and 64:1. Additionally, the uptake rates of NO_3^- , NH_4^+ , and PO_4^{3-} were determined for each strain. In both bays, low densities of *G. catenatum* occurred during the sampling period (1000 and 6000 cells L^{-1}). The low densities did not allow detection of paralytic toxins in the samples of phytoplankton. In Bahía de Lapaz, the average concentrations of dissolved inorganic nitrogen and phosphate were low (5 and 0.5 μM , respectively). In Bahía de Mazatlán, the average concentrations of dissolved inorganic nitrogen and phosphate were 7 and 1.5 μM , respectively. The range of temperature in both bays ranged from 19 to 32 °C and the N:P ratios fluctuated between 2 and 7. Low N:P ratios, as well as the absence of stratification of the water column did not favor the proliferation of *G. catenatum*. The rates of assimilation of NO_3^- , NH_4^+ , and PO_4^{3-} in *G. catenatum* in the Bahía de La Paz were of 4.01 ± 0.17 , 9.18 ± 2.47 , and 0.75 ± 0.03 $\text{pmol cell}^{-1} \text{h}^{-1}$, respectively. For Bahía de Mazatlán they were of 3.62 ± 0.17 , 4.73 ± 1.69 , and 8.25 ± 1.37 $\text{pmol cell}^{-1} \text{h}^{-1}$, respectively. The maximum cellular densities were obtained at a N:P relation of 64:1, with 4000 cells mL^{-1} for Bahía de Mazatlán and 3983 cells mL^{-1} for Bahía de La Paz. Regarding total toxicity, there was no significant effect of the several proportions of N:P. The toxin profile was dominated by N-sulfocarbamoyl toxins B and C, with a 60-80% in base molar, followed by decarbamoyl toxins (10-20%), and then by carbamoyl toxins (10-15%). These results suggest that the changes in the N:P ratios does not stimulate the production of toxins and the kind of toxin profile of *G. catenatum* of Bahía de La Paz and Bahía de Mazatlán.

1. Introducción

A nivel mundial existe un consenso general acerca del aumento de los eventos de florecimientos algales nocivos (FAN) (Hallegraeff, 1993; Anderson, 1994; Zingone & Oksfeld, 2000; Smayda, 2002). Los dinoflagelados son uno de los grupos que produce FAN y que se les ha asociado con la producción de toxinas paralizantes (TP) (Lehane, 2000). Las TP se encuentran en 3 géneros de dinoflagelados, los principales productores son *Pyrodinium* spp., *Alexandrium* spp. y *Gymnodinium catenatum* (FAO, 2000; Lehane, 2000). *G. catenatum* fue descrita a partir de material recolectado en la parte norte del Golfo de California en 1939 (Graham, 1943) y es la única especie conocida del orden de los gimnodiniales que produce TP (Hallegraeff & Fraga, 1996). El conocimiento de la distribución global de *G. catenatum* se ha incrementado en pocas décadas y es actualmente reportado en cada continente (Lehane, 2000). El caso de las costas mexicanas no es la excepción, particularmente en el Pacífico y Golfo de California (Cortés-Altamirano *et al.*, 1999; Gárate-Lizárraga *et al.*, 2006 a). *G. catenatum* se distribuye en diferentes ecosistemas marinos del mundo (Hallegraeff & Fraga, 1996; Negri *et al.*, 2001; Park *et al.*, 2004; Amorin & Dale, 2006). En México se ha registrado únicamente en las costas del Pacífico y Golfo de California (Mee *et al.*, 1986; Cortés-Altamirano, 1987; Gárate-Lizárraga *et al.*, 2005, Hernández-Becerril *et al.*, 2007; Band-Schmidt *et al.*, 2008, Hernández-Sandoval *et al.*, 2009). Su amplia tolerancia a la salinidad y temperatura (Band-Schmidt *et al.*, 2004), formación de quistes (Amorin & Dale, 2006) y diferentes regímenes de nutrientes (Smayda, 1977) parecen favorecer las proliferaciones en diferentes ecosistemas marinos.

Luego del reporte de *G. catenatum* no hubo registros hasta 1979 cuando se reporta nuevamente una proliferación de esta especie en la costa de Sinaloa (Mee *et al.*, 1986) y posteriormente en 1999 en la Bahía de Acapulco y costa de Oaxaca y se asoció a intoxicaciones y decesos de humanos (Mee *et al.*, 1986; Licea *et al.*, 1999; Ronsón-Paulín, 1999; Cabrera-Mancilla *et al.*, 2000; Saldate-Castañeda *et al.*, 1990, 1991). A partir de entonces, los registros de esta especie han continuado y actualmente se distribuye desde Ensenada, Baja California hasta Chiapas (Mee *et al.*, 1986; Cortés-Altamirano, 1987; Cortés-Altamirano & Alonso-Rodríguez, 1997;

Cortés-Altamirano *et al.*, 1999; Gárate-Lizárraga *et al.*, 2001, 2008). Los eventos de FAN de *G. catenatum* se han asociado con incrementos de compuestos nitrogenados, principalmente cuando ocurren eventos de surgencias y periodos de transición de la columna de agua en invierno-primavera (Cortés-Altamirano & Núñez-Pasten, 1991; Alonso-Rodríguez *et al.*, 2000; Gárate-Lizárraga *et al.*, 2006). *G. catenatum* ha generado problemas, además de la salud pública, en diversas actividades socioeconómicas debido a que durante sus proliferaciones se prohíbe la extracción de moluscos en nichos naturales, aunque también afecta áreas dedicadas a la acuicultura.

En condiciones naturales *G. catenatum* forma cadenas, que en algunos casos alcanza hasta 64 células por cadena, las células varían ampliamente en tamaño y forma (Blackburn *et al.*, 1989; Rees & Hallegraeff, 1991). Aunque bajo condiciones óptimas de crecimiento predominan las cadenas de 2-4 células (Blackburn *et al.*, 1989). Las células vegetativas de *G. catenatum* en promedio miden 23-41 μm de longitud y de 27-36 μm de ancho (Rees & Hallegraeff, 1991). Bajo condiciones desfavorables en las condiciones de cultivo *G. catenatum* tiene la capacidad de formar quistes de resistencia y temporales (Blackburn *et al.*, 1989). La formación de quistes permite sugerir, que pueden tener una función en su dinámica poblacional permitiendo sobrevivir a sus poblaciones por tiempos prolongados hasta cuando existan las condiciones óptimas para su germinación. Estos quistes le permiten ampliar su distribución y actuar como iniciador de proliferaciones estacionales (Morquecho, 2004).

La nutrición de los dinoflagelados puede ser autotrófica, fagotrófica y mixotrófica, pero la mayoría requiere nutrición orgánica (Steidinger & Haddad, 1981; Oh *et al.*, 2002; Yamamoto *et al.*, 2004; Glibert *et al.*, 2005; Jeong *et al.*, 2005). Recientemente, Jeong *et al.* (2005) reportó vacuolas de material orgánico dentro de células de 5 especies de dinoflagelados productores de FAN (*Prorocentrum donghaiense*, *P. triestinum*, *Lingulodinium polyedrum*, *Gymnodinium impudicum* y *G. catenatum*) los cuales anteriormente solo los habían identificado como dinoflagelados autotróficos. Sin embargo, puede existir diferencias entre cepas de fitoplancton de la misma especie, en cuanto a las respuestas fisiológicas hacia características de

crecimiento, comportamiento en la formación de FAN, toxicidad, factores ambientales y nutrientes (Glibert *et al.*, 2005).

Los principales factores que influyen en las tasas de crecimiento y toxicidad de los dinoflagelados son: intensidad luminosa, temperatura, salinidad, nutrientes en términos de concentración y proporción N:P, entre otros (Cembella, 1998). Con respecto a los nutrientes, las actividades antropogénicas (descargas de aguas residuales, incremento del uso de la zona costera, etc.) y naturales (arrastre por agua de ríos, escurrimiento pluviales, etc.) han incrementado en los ecosistemas la concentración de compuestos de nitrógeno y fósforo (Páez-Osuna, 2005; Elser *et al.*, 2007). Por lo tanto, estos aportes de nutrientes a la zona costera han modificado la proporción atómica de Redfield C, N y P de 106:16:1 (Redfield, 1958). La proporción promedio de estos compuestos, sugiere una relación relativa entre la composición de organismos y la proporción química del agua. En cuanto al balance estequiométrico de C:N:P, la composición de estos en el fitoplancton y en los nutrientes disueltos son similares, sugiriendo que la proporción N:P puede ser el resultado de procesos asociados a la síntesis celular y descomposición de la materia orgánica (Redfield, 1958; Lagus *et al.*, 2004). La proporción de Redfield es utilizada como indicadora promedio en un ecosistema para definir cual de los nutrientes inorgánicos se encuentra limitado (Redfield, 1958).

El metabolismo de las especies del fitoplancton, principalmente de compuestos nitrogenados y fosforados tiene una significativa influencia en los procesos biológicos en los océanos (William, 1987). Para poder metabolizar el NO_3^- y NO_2^- requieren ser reducidos previamente a amonio (NH_4^+) por acción de dos enzimas la nitrato reductasa y la nitrito reductasa (NR y NiR, respectivamente). Posteriormente el NH_4^+ es convertido a glucosamato mediante la enzima glucosamato deshidrogenasa (Hu *et al.*, 2006; Francois *et al.*, 2007). Esta es una de las principales razones por las que algunas especies del fitoplancton metabolizan primero el NH_4^+ disponible en el medio antes de realizar la reducción de NO_3^- y NO_2^- (Francois *et al.*, 2007; Rees, 2007). Es decir, desde el punto de vista fisiológico, existen diferencias en el gasto energético que utiliza la célula para asimilar formas oxidadas y reducidas como el NO_2^- , NO_3^- y NH_4^+ . Elevadas concentraciones de NH_4^+

directamente inhiben la asimilación y reducción de NO_3^- , suprimiendo la síntesis de la NR y la NiR (Francois *et al.*, 2007). Por tal razón, en ambientes donde la concentración de NH_4^+ se encuentra entre 0.5-1.0 μM , la absorción de los NO_2^- y NO_3^- se reduce parcialmente asimilando primero el NH_4^+ (Francois *et al.*, 2007; Rees, 2007).

Además de las formas nitrogenadas inorgánicas, la mayoría de las microalgas también pueden utilizar fuentes orgánicas de nitrógeno (N), como: urea, glicina, triptófano, arginina, glutamina, guanina, adenina, xantina e hipoxantina, obteniendo tasas de crecimientos similares a los logrados con fuentes inorgánicas de N (Fidalgo, 1996; Carlsson & Granéli, 1998; Oh *et al.*, 2002).

Algunos experimentos se han enfocado al estudio de las relaciones y metabolismo diferencial que tienen las microalgas por las distintas fuentes de N. Al respecto, Francois *et al.* (2007) encontraron que el dinoflagelado *Alexandrium minutum*, disminuye de 64 al 90 % el consumo de NO_3^- debido a las altas concentraciones de NH_4^+ ($>1 \mu\text{M}$). Esta disminución fue directamente influenciada por la enzima glutamina sintetasa (GS). Sin embargo, los resultados obtenidos por Yamamoto *et al.* (2004) demuestran que *G. catenatum* aislado de la Bahía de Hiroshima tiene mayor afinidad para asimilar NO_3^- , lo cual indica que la preferencia de metabolizar directamente NH_4^+ no se puede generalizar para todas las especies de fitoplancton. Harrison (1973) reportó que la actividad de la nitrato reductasa se incrementó con el desarrollo del FAN del dinoflagelado *Peridinium triquetrum* y concluyó que el NO_3^- es una significativa fuente de N para el dinoflagelado a pesar de haber encontrado en este evento altas concentraciones de NH_4^+ .

La capacidad de algunas especies de fitoplancton para producir toxinas todavía no es bien conocida, debido a que se asume la interacción de bacterias que favorecen la producción de toxinas o que la producción de toxinas sea directamente regulada por procesos genéticos de los dinoflagelados (Silva, 1979; Kodama *et al.*, 1988, 1990a). Aunque, el contenido de TP por célula también puede variar debido a factores intrínsecos de los dinoflagelados, como la fase de crecimiento de la población o a factores ambientales abióticos como la temperatura, luz, disponibilidad de nutrientes, proporción N:P, deficiencia de fósforo, salinidad, medio de cultivo

utilizado entre otros (Johansson & Graneli, 1999; John & Flynn, 2000; Yoshida *et al.*, 2001; Band-Schmidt *et al.*, 2005, 2006).

Se han realizado diversos estudios sobre la función de los nutrientes en la producción de TP, principalmente en especies del género *Alexandrium* (Cembella, 1998; Flynn & Flynn, 2000; Lippemeier *et al.*, 2003) y flagelados (Johansson *et al.*, 1996). Estos estudios demuestran cambios en la composición bioquímica celular y disminución en la producción de toxinas cuando el suministro de N es deficiente, repercutiendo en su división celular afectando la densidad celular. La función del fósforo (P) en la síntesis de TP no está bien comprendido, aunque algunos estudios demostraron que en medios de cultivo deficientes de fósforo se incrementa la producción de TP y se reduce la división celular (Boyer *et al.*, 1987; Anderson *et al.*, 1990; Lim *et al.*, 2006), lo cual sugiere un mecanismo de la microalga para acumular más N durante condiciones deficientes de fósforo.

Anderson *et al.* (1990) analizaron diferentes metabolitos producidos por *A. fundyense* cultivada bajo condiciones de limitación de P, detectando un aumento en la concentración de la arginina, un aminoácido precursor de la saxitoxina (STX). Resultados similares en la misma especie fueron encontrados por John & Flynn (2000). Cuando el P es añadido como nutriente a medios deficientes de este elemento se incrementa la división celular, causando una disminución en la concentración de toxinas de cada célula (Gavin *et al.*, 1997; Taroncher *et al.*, 1997). Posteriormente, Yamamoto *et al.* (2004) realizaron experimentos relacionados con tasas de consumo de nutrientes y cinéticas de crecimiento con *G. catenatum* utilizando medios de cultivo con deficiencia de N y P. Sus resultados sugieren que *G. catenatum* tiene una desventaja metabólica para competir con otras especies de dinoflagelados u otros grupos de fitoplancton por la asimilación de nutrientes bajo condiciones oligotróficas, debido a que tiene una constante de saturación alta (K_s) de N y P (7.59 y 3.40, respectivamente).

Los compuestos de N y P influyen en los cambios metabólicos y la producción de toxinas, con respecto, a la toxicidad entre cepas de la misma especie puede variar de un lugar geográfico a otro, considerándola en algunos como un biomarcador muy estable para los dinoflagelados que las producen. Oshima *et al.* (1993) demostró que

el perfil de toxinas de *G. catenatum* de tres diferentes sitios (Japón, Tasmania y Galicia) podría ser utilizado como biomarcador, ellos encontraron en común las toxinas menos potentes del grupo de las N-sulfocarbamoil (C1-C4, goniautoxinas 5 y 6) aunque su abundancia relativa difiere del lugar geográfico. Adicionalmente *G. catenatum* de Tasmania (Australia) presentó una toxina que no se había registrado (13-deoxidecarbamoil) y que podría ser utilizada para diferenciarla de las cepas de los otros dos sitios. Por otro lado, al comparar el perfil de toxinas de cepas de *G. catenatum* de seis sitios (Australia, Japón, Portugal, España, Uruguay y Hong Kong) encontraron que las cepas de Hong Kong y Uruguay presentan perfiles similares a los perfiles de las cepas de España y Portugal difiriendo en su baja proporción de GTX 5-6, estas toxinas en común se pueden utilizar como marcador bioquímico para las cepas de estos sitios (Negri *et al.*, 2001).

Algunos estudios de cepas de *G. catenatum* aisladas de zonas costeras como la Bahía de La Paz (BAPAZ) y Bahía Concepción (BACO) en el Golfo de California, han demostrado que los perfiles de toxinas de *G. catenatum* de ambas localidades son similares (Gárate-Lizárraga *et al.*, 2005). Sin embargo, los ambientes nutricionales dentro del Golfo de California son altamente variables por lo que *G. catenatum* parece estar adaptado a esta variabilidad y ser oportunista en condiciones propicias para su proliferación. Por tal razón, en este estudio tratamos de observar bajo condiciones experimentales el efecto de las diferentes proporciones nitrógeno:fósforo (N:P) en la densidad celular, tasa de crecimiento, toxicidad y perfil de toxinas de *G. catenatum* aisladas de la Bahía de La Paz y Bahía de Mazatlán (BAMAZ). También es relevante la forma química del nutriente (orgánico o inorgánico), el cual regula la proliferación de distintas especies (Glibert *et al.*, 2005; Jeong *et al.*, 2005).

La tasa de asimilación, así como el efecto del N y P en las tasas de crecimiento y toxicidad de las cepas del Golfo de California de *G. catenatum* son desconocidas. Esta información fisiológica permitiría posiblemente ayudar a entender los mecanismos de formación de los FAN y sus toxinas de esta especie en condiciones naturales. En esta tesis, se realizó un estudio de cuantificación de diferentes nutrientes asociado a la abundancia y el contenido de toxinas de *G.*

catenatum bajo condiciones naturales, logrando muestrear un FAN nocivo de ésta especie en la Bahía de La Paz (BAPAZ) en el 2007. Con el objetivo de verificar si los resultados fisiológicos obtenidos en el laboratorio concuerdan con lo encontrado en condiciones naturales. Particularmente me enfoqué a investigar si las diversas concentraciones de nutrientes del ambiente costero de BAPAZ y BAMAZ (espacial y temporal) pueden aproximarse a las densidades celulares y perfiles tóxicos detectados bajo condiciones de laboratorio. Si logramos establecer estas relaciones fisiológicas, estas serán de gran utilidad para el entendimiento de los mecanismos de formación de los FAN y su efecto tóxico de *G. catenatum* en el ecosistema del noroeste de México.

2. Antecedentes

Los FAN en el Golfo de California son comunes a lo largo de todo el año (Byrne & Emery, 1960). El primer registro de un FAN en el Golfo de California fue posiblemente realizado por Streets (1872), informando de una discoloración en la superficie del agua de mar causada por *Myrionecta rubra* frente a la Isla Cerralvo. En 1939, Graham (1943) obtuvo material de un FAN de *G. catenatum* en la región norte del Golfo de California, registrando densidades $> 1.0 * 10^6$ céls L⁻¹. No obstante, el primer registro de esta especie como tóxica fue documentado 40 años después en las costas de Sinaloa, México (Mee *et al.*, 1986). Esta especie se distribuye principalmente en las costas del Pacífico Mexicano (Mee *et al.*, 1986; Cortés-Altamirano, 1987; Cortés-Altamirano & Alonso-Rodríguez, 1997; Cortés-Altamirano *et al.*, 1999; Gárate-Lizárraga *et al.*, 2001, 2002) donde ha provocado FAN, principalmente en el área de Mazatlán, Manzanillo (Cortés-Altamirano *et al.*, 1999; Morales Blake *et al.*, 2000) y Acapulco (Saldate-Casteñeda *et al.*, 1990, 1991). Estos FAN de *G. catenatum* se han relacionado con intoxicaciones de humanos por consumir moluscos contaminados (Mee *et al.*, 1986; Cortés-Altamirano & Alonso-Rodríguez, 1997; Cortés-Altamirano *et al.*, 1999). Dentro del Golfo de California, este dinoflagelado se ha detectado en Bahía Concepción (Lechuga-Devéze & Morquecho-Escamilla, 1998; Gárate-Lizárraga *et al.*, 2001; Góngora-González, 2001), Bahía de Los Ángeles (Gárate-Lizárraga *et al.*, 2007), Bahía Kun Kaak (García-Hernández *et al.*, 2005), Laguna de Macapule (Poot-Delgado, 2006) y en la Bahía de La Paz (Gárate-Lizárraga *et al.*, 2003).

G. catenatum es el único dinoflagelado gymnodinial desnudo conocido hasta el momento que produce toxinas paralizantes (TP). Durante el brote tóxico ocurrido en Bahía de Mazatlán (BAMAZ) en abril de 1979, se registraron densidades celulares que variaron entre 1.2 y $6.6 * 10^6$ céls L⁻¹. Estas altas densidades de *G. catenatum* se asociaron con concentraciones de toxinas de 7600 µg STXeq 100 g⁻¹ en moluscos filtradores (Mee *et al.*, 1986). Sin embargo, durante FAN ocurridos posteriormente en ésta bahía, los valores de toxicidad encontrados en moluscos filtradores han sido menores (< 35 µg STXeq 100 g⁻¹) (Cortés-Altamirano & Alonso-Rodríguez, 1997; Gárate-Lizárraga *et al.*, 2004a).

En la Bahía de La Paz (BAPAZ) las concentraciones de TP en moluscos filtradores han sido bajas ($0.14 - 4.38 \mu\text{g STXeq } 100 \text{ g}^{-1}$) (Gárate-Lizárraga *et al.*, 2003). Gárate-Lizárraga *et al.* (2004 a, b) y Band-Schmidt *et al.* (2005) determinaron el perfil de TP en varias especies de moluscos bivalvos en tres lagunas costeras del Golfo de California, encontrando once análogos de STX. En los perfiles de toxinas observadas se encuentran GTX3, dcSXT, dcGXT2-3, B1 y C2 en distintas proporciones entre las tres bahías.

Se han realizado estudios sobre las tasas de crecimiento y perfiles de toxinas de *G. catenatum* con cepas recolectadas de diversas localidades del Golfo de California. Así tenemos que, Band-Schmidt *et al.* (2004) analizaron los efectos de la temperatura y salinidad sobre las tasas de crecimiento y encontraron que las cepas de BACO tenían mayor tasa de crecimiento (0.18 y $0.21 \text{ div día}^{-1}$) a temperaturas entre $21.0 \text{ }^\circ\text{C}$ y $29.0 \text{ }^\circ\text{C}$. El rango de salinidad que tolera es relativamente amplio (28 a 38 ups) con una tasa de crecimiento de $0.30 \text{ div día}^{-1}$. Lo anterior implica que *G. catenatum* del Golfo de California es euritérmica y eurihalina por lo que puede crecer en un amplio rango de escenarios. Band-Schmidt *et al.* (2005) determinaron el perfil de toxinas en 16 cepas *G. catenatum* de BACO y encontraron que el contenido de toxinas varía entre cepas, sin embargo, todas las cepas presentaron dcSTX, dcGTX2-3 y C1-2. Se demostró que los perfiles de toxinas de cepas del Golfo de California son distintos a los reportados para cepas de otros lugares geográficos. Por lo que se ha concluido que el contenido de toxinas varía con el origen de la cepa y con la fase de crecimiento en cepas de *G. catenatum* de la BAPAZ y de BAMAZ (Band-Schmidt *et al.*, 2006). Aún no es claro si estas diferencias en toxicidad y perfiles de toxinas son causadas por que esta especie presenta varias poblaciones o ecotipos en la zona o bien si las concentraciones de nutrientes en cada localidad modifican su metabolismo celular.

Es relevante señalar que recientemente se han descubierto nuevas toxinas en *G. catenatum* que fueron denominadas STX hidroxibenzoato sulfatado (GC1 y GC2) y STX hidroxibenzoato (GC3). Estas corresponden a la GC3 4-hidroxibenzoato éster derivado de la decarbamoilsaxitoxina mientras que GC1 y GC2 son epímeros

11-hidroxisulfato derivados de la GC3 (Negri *et al.*, 2003). Lo anterior sugiere que es probable descubrir nuevas toxinas en las cepas del Golfo de California.

Los dinoflagelados tienen una tasa de reproducción asexual menor que las diatomeas (Brand & Guillard, 1981), una condición a menudo asociada con altas tasas de respiración (Falkowsky & Owen, 1978). Por lo tanto, pueden ser competidores comparativamente menos exitosos cuando existen condiciones limitantes de nutrientes. La asimilación de nitrógeno y fósforo (orgánico o inorgánico) o elementos traza por dinoflagelados difiere con respecto a otras especies del fitoplancton, aunque la mayoría son auxotróficos y requieren vitaminas (Provasoli & MacLaughlin, 1963). Los dinoflagelados tienen un potencial menor que las diatomeas, para incorporar el nitrógeno inorgánico durante el periodo de luz (Eppley *et al.*, 1969; Paasche *et al.*, 1984). Sin embargo, MacIsaac *et al.* (1979) propusieron que los dinoflagelados tienen una mejor habilidad para asimilar nitratos y amonio en oscuridad. *Pyrocistis noctiluca* tiene la habilidad de incorporar el fósforo inorgánico (PI) en bajas concentraciones (Rivkin, 1982). Los dinoflagelados formadores de FAN generalmente no están adaptados para la asimilación de nutrientes en bajas concentraciones por su bajo coeficiente de afinidad de nutrientes comparados con otros grupos de fitoplancton como diatomeas y rafdofitas (Smayda, 1997; 2000; 2002). Los dinoflagelados requieren asimilar mayores concentraciones de nutrientes. Esto es paradójico, ya que la formación de FAN de dinoflagelados se dan en condiciones de baja concentración de nutrientes, cuando la columna de agua se ha estabilizado (Margalef, 1978).

Diversos estudios han determinado el efecto de los nutrientes en la producción de TP. Las TP son moléculas que incluyen en su estructura química nitrógeno y estas pueden ser sintetizadas como subproducto en la síntesis de aminoácidos en condiciones de exceso de nitrógeno (Johansson & Granéli, 1999). Por ejemplo, la toxicidad de *Alexandrium catenella* se incrementa en condiciones limitantes de fósforo, pero con altas concentraciones de nitrógeno, cuando se compara con cultivos con proporciones N:P de 16:1 y limitantes de nitrógeno (Matsuda *et al.*, 1996; Siu *et al.*, 1997). Este proceso también se ha observado en *A. excavatum* (Levasseur *et al.*, 1995), *A. fundyensi* (Anderson *et al.*, 1990), *A.*

tamarense (Boyer *et al.*, 1987; Anderson *et al.*, 1990), *A. minimum* (Bechemin *et al.*, 1999) e incluso en la cepa española de *G. catenatum* (Reguera & Oshima, 1990; Flynn *et al.* 1996). El incremento en la toxicidad de dinoflagelados se ha interpretado como un mecanismo para el almacenamiento del exceso de nitrógeno del medio (Reguera & Oshima, 1990). En síntesis, el hecho de que las TP sean nitrogenadas sustenta el efecto directo de este nutriente en la producción de toxinas. De lo anterior se puede especular que las diferencias en las proporciones estequiométricas de N:P influyen en el perfil de TP producidas por dinoflagelados.

Las concentraciones de nutrientes en el Golfo de California son altamente variables por lo que *G. catenatum* parece adecuarse dinámicamente a estas variaciones en condiciones naturales. La región de Mazatlán, por ejemplo, presenta una mayor incidencia de FAN principalmente durante los periodos de invierno-primavera (Cortés-Altamirano, 1987; Cortés-Altamirano & Núñez Pasten, 1992). De acuerdo a Mee *et al.* (1984) la proporción N:P media anual durante los años 1980 a 1982 en la BAMAZ fue de 4.7. Aunque posteriormente, Alonso-Rodríguez *et al.* (2000) calcularon un valor medio de la proporción N:P para la BAMAZ de 15.2 en invierno y 25.9 en verano, asumiendo que el creciente aporte de las aguas no tratadas en la BAMAZ parecen asociarse al incremento de las proporciones de N:P.

3. Justificación

Gymnodinium catenatum es un dinoflagelado que se distribuye en México desde Ensenada, B.C. hasta Chiapas. Es un dinoflagelado desnudo que produce TP y que puede formar FAN. Estos eventos han causado problemas económicos y de salud pública en diferentes partes del mundo y de México. A pesar de los impactos socio-económicos, en nuestro país, los estudios del perfil de toxinas, toxicidad y tasas de crecimiento de cepas nativas son escasos, lo cual justifica realizar estudios fisiológicos detallados de ésta especie con el objetivo de comprender el efecto de factores ambientales en su crecimiento y toxicidad. De los exiguos trabajos existentes, algunos mencionan el posible efecto de las condiciones nutricionales de diferentes escenarios bajo los cuales esta especie prolifera. El caso de las costas del Pacífico mexicano que posiblemente soporta una creciente influencia antropogénica, particularmente en lo relativo a la descarga de diferentes compuestos nitrogenados y fosforados, probablemente influyan en la formación y mantenimiento de los eventos de FAN y en la toxicidad específica. En el caso particular de *G. catenatum* su toxicidad varía dependiendo de su origen geográfico. Sin embargo, las cepas mexicanas de diferentes localidades presentan diferentes perfiles tóxicos que probablemente se asocien a la disponibilidad de nutrientes. Este trabajo también se justifica debido a que durante su desarrollo se pretendió probar bajo diferentes regímenes nutricionales controlados, si los diferentes compuestos nitrogenados, fosforados en distintas proporciones N:P influyen en la toxicidad, tasas de crecimiento y tasas de asimilación de *G. catenatum*, lo que permitirá contrastarlo con información obtenida en condiciones naturales. En la presente tesis se intentó esclarecer la respuesta fisiológica de *G. catenatum* en función de la variación de nutrientes nitrogenados y fósforados inorgánicos, particularmente en la tasa de crecimiento y su perfil tóxico. Generando conocimiento nuevo acerca de la fisiología de esta especie, lo que permitirá sustentar recomendaciones para un mejor manejo durante su proliferación.

4. Hipótesis

Bahía de La Paz (BAPAZ) y Bahía de Mazatlán (BAMAZ) presentan diferentes proporciones N:P, así como abundancia de *G. catenatum*, y se ha demostrado que la proporción N:P tiene un efecto significativo en el crecimiento, concentración y perfil de toxinas de otros dinoflagelados entonces podríamos esperar que diversas proporciones N:P tendrán un efecto en el crecimiento, concentración y perfil de toxinas de *G. catenatum* de BAPAZ y BAMAZ esperando una menor tasa de crecimiento y mayor concentración de toxinas en proporciones N:P bajas .

5. Objetivos

5.1 Objetivo general

Estudiar la influencia de diversas proporciones N:P en el crecimiento y toxicidad del dinoflagelado *G. catenatum* en Bahía de La Paz y Bahía de Mazatlán así como en condiciones controladas.

5.2 Objetivos particulares

- 1) Cuantificar la abundancia de *G. catenatum* y las proporciones N:P, así como la concentración de toxinas paralizantes en la columna de agua y en moluscos bivalvos de Bahía de La Paz y Bahía de Mazatlán.
- 2) Determinar *in vitro* la tasa de asimilación de diferentes fuentes de nitrógeno (amonio, nitratos) y fosfatos en cepas de *G. catenatum* aisladas de Bahía de La Paz y Bahía de Mazatlán.
- 3) Comparar el efecto de distintas fuentes inorgánicas de nitrógeno (amonio y nitratos) en la tasa de crecimiento y perfil de toxinas en cepas de *G. catenatum* de Bahía de La Paz y Bahía de Mazatlán.
- 4) Definir el efecto de las variaciones en las proporciones N:P en la tasa de crecimiento y toxicidad de *G. catenatum* de cepas de Bahía de La Paz y Bahía de Mazatlán.

6. Área de estudio

La BAPAZ (Figura 1a) se ubica en el litoral occidental del Golfo de California ($24^{\circ} 06'$ y $24^{\circ} 47'$ N; $110^{\circ} 18'$ y $110^{\circ} 45'$ O). Tiene un área de $2,635 \text{ km}^2$, delimitada al norte por la Isla San José, al sur por la Ensenada de La Paz, al oriente por las Islas Espíritu Santo y La Partida. Su parte más ancha mide aproximadamente 80 km y el más angosto 35 km (Obeso-Nieblas *et al.*, 2004). Su máxima profundidad es de 400 m la cual se encuentra en la depresión de Alfonso (Cruz-Orozco *et al.*, 1989, 1996).

El clima que presenta la BAPAZ es seco y semicálido (Obeso-Nieblas *et al.*, 2004). Las mayores precipitaciones fluviales se presentan en septiembre y octubre, con un promedio de 62 mm. Esta bahía se ve estacionalmente influenciada por tormentas tropicales y huracanes que se forman en el Pacífico sur durante el verano-otoño (Obeso-Nieblas & Jiménez-Illescas, 1989). En el periodo templado la temperatura promedio fue de $23.55 \pm 1.35 \text{ }^{\circ}\text{C}$, mientras que en el cálido es de $30.25 \pm 0.95 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Por otro lado, en el periodo templado es común observar salinidades promedios < 37 ups, mientras que en el cálido > 37 ups (Cervantes-Duarte *et al.*, 2001). La temperatura ambiental promedio anual es de $23.8 \text{ }^{\circ}\text{C}$, las temperaturas mínimas promedio se registran en invierno con $8 \text{ }^{\circ}\text{C}$ y las temperaturas promedio máximas en verano con $37 \text{ }^{\circ}\text{C}$ (Cruz-Ayala, 1996). Monreal-Gómez *et al.* (2001) encontraron en la bahía tres masas de agua: Agua del Golfo de California (AGC), Agua Superficial Ecuatorial (ASE) y Agua Subsuperficial Subtropical (ASS).

En verano los vientos dominantes provienen del sur con velocidades entre 2 y 3 m s^{-1} (Douglas *et al.*, 1993). Durante el invierno los vientos dominantes provienen del noroeste y norte, alcanzando en algunas ocasiones intensidades de 4 m s^{-1} hasta 10 m s^{-1} (Pérez, 1988; Obeso-Nieblas *et al.*, 2007).

La BAMAZ (Figura 1b) se sitúa en la costa oriental del Golfo de California ($106^{\circ} 29' 24''$ y $106^{\circ} 23' 36''$ O y los paralelos $23^{\circ} 08' 48''$ y $23^{\circ} 16' 00''$ N), a 38 km al sur del Trópico de Cáncer. Presenta una longitud de 17 km, anchura máxima hasta la isobata de los 18 m de 5.5 km, un área hasta la isobata de los 18 m de 35 km^2 y una profundidad media de 12 m (Orozco-Romo, 1980).

El clima que predomina es cálido subhúmedo (García, 1973), con precipitaciones pluviales en verano, las mayores lluvias se presentan en septiembre con un promedio anual de 812 mm (INEGI, 1994). En los meses de julio a octubre se presentan depresiones tropicales, tormentas y huracanes que se forman en el Océano Pacífico (Alonso-Rodríguez, 2004). La temperatura media anual del aire es de 24 °C y en verano su temperatura media es de 28 °C. Por otro lado, la temperatura media anual de la superficie del mar es de 25.4 °C y la salinidad de 34.9 ups (Alonso-Rodríguez, 2004). Su circulación esta influenciada principalmente por procesos oceanográficos que se generan en la boca del Golfo de California, debido a frentes, giros y la influencia de al menos tres corrientes marinas: la Corriente de California, la del Pacífico y la del Golfo de California (Roden, 1962; Santamaría-del-Angel, 1994).

Esta bahía es considerada como un cuerpo de agua subtropical, abierta y somera con varias islas e islotes en su parte norte y en su extremo sur (Mee *et al.*, 1984; Alonso-Rodríguez *et al.*, 2000). Sus aguas reciben influencia cálida del sur en primavera-verano y de enfriamiento por los vientos del NO y la incidencia de fenómenos de surgencias costeras durante el periodo otoño-invierno. La velocidad media de los vientos es de 5.2 m s⁻¹ y máximos de 18.4 m s⁻¹ (Roden, 1962). Algunos estudios señalan que la BAMAZ está sujeta al proceso de eutrofización (Mee *et al.*, 1984; Alonso-Rodríguez *et al.*, 2000).

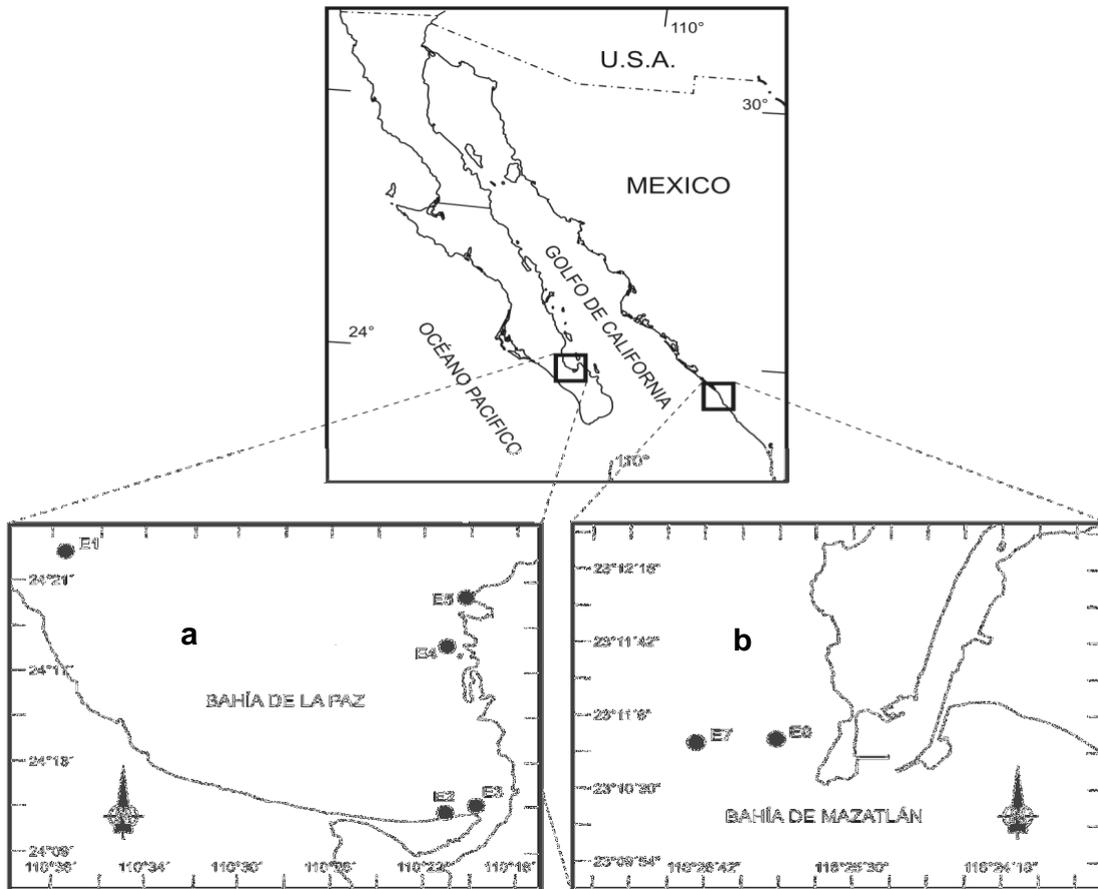


Figura 1. Áreas de estudio y localización de las estaciones de muestreo en la Bahía de La Paz (a) y la Bahía de Mazatlán (b).

7. Material y métodos

7.1 Trabajo de campo

7.1.1 Muestreo y medición de variables físicas, químicas y biológicas

Se realizaron muestreos mensuales en 5 estaciones de la BAPAZ (Figura 1a) y 2 estaciones ubicadas en la BAMAZ (Figura 1b) de junio de 2006 a mayo de 2007. Las estaciones fueron seleccionadas debido al previo registro de *G. catenatum* en estos sitios.

En cada estación oceanográfica de ambas localidades se obtuvieron muestras de agua de mar con una botella van Dorn para medir la temperatura, el oxígeno disuelto y los nutrientes (NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ y PO_4^{3-}), abundancia de dinoflagelados totales en específico *G. catenatum* y TP a diferentes profundidades (Tabla 1). Las estaciones de la BAPAZ E2, E3 y E5 se ubican a profundidades < 5 m, por ello solo se obtuvieron muestras superficiales. Al igual que en la estación de BAMAZ E7 donde solo se muestreó en superficie y a 10 m de profundidad. En la Tabla 1 se muestran las profundidades a las cuales se muestrearon el resto de las estaciones (E1, E4 y E6).

La temperatura superficial se midió *in situ* con un termómetro de cubeta (Kahlsico International Corp., El Cajon, California) y en los diferentes niveles una vez que se extrajo la botella van Dorn. El índice de estratificación térmica (IET) (Cox *et al.*, 1970) fue calculado de la diferencia entre la temperatura superficial y el estrato siguiente (ver Tabla 1 para las profundidades) y la concentración de oxígeno disuelto por el método de Winkler modificado (Strickland & Parsons, 1972).

El agua recolectada con la botella van Dorn de los diversos niveles se filtró en el laboratorio con ayuda de una bomba de vacío eléctrica a través de filtros de fibra de vidrio Whatman GF/F de 0.7 μm , el material retenido en el filtro se utilizó para identificar y cuantificar las TP del fitoplancton. El agua de mar filtrada se usó para el análisis de nutrientes (NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ y PO_4^{3-}) (Strickland & Parsons, 1972) utilizando un auto-analizador de iones de flujo continuo (Lachat Instruments, modelo Quick Chem, serie 8000) (ver sección 7.2.2). Quinientos mL de agua de las muestras de botella se preservaron en lugol ácido (Thronsen, 1979) para el análisis cuantitativo de *G. catenatum* y otros componentes del fitoplancton (Utermöhl, 1958).

Las muestras para TP se congelaron a -20 °C para su posterior análisis. La extracción, identificación y el análisis de las TP se realizaron de acuerdo a lo señalado en la sección 7.2.3.

Tabla 1. Estaciones de muestreo, ubicación geográfica y profundidad de muestreo en la zona de estudio Bahía de La Paz y Bahía de Mazatlán.

Bahía de La Paz		
Estaciones	Ubicación geográfica	Profundidades muestreadas (m)
E1 San Juan de la Costa	24° 21.645´ N; 110° 37.484´ W	0, 25 y 50
E2 Barco varado Mogote	24° 10.738´ N; 110° 20.917´ W	0
E3 Mogote punta	24° 10 41.85´ N; 110° 20.31´ W	0
E4 Granja Rancheros del Mar	24° 17.622´ N; 110° 20.8´ W	0, 15 y 30
E5 Balandra	24° 19.55´ N; 110° 20.60´ W	0
Bahía de Mazatlán		
E6	23°10 54.26´N; 106°26 06.61´ W	0, 5, 10, 15 y 30
E7	23°10 53.39´N; 106°26 46.02´ W	0 y 10

7.1.2 Seguimiento del FAN de *Gymnodinium catenatum* en la Bahía de La Paz

De febrero a marzo de 2007, se presentó un FAN de *G. catenatum* en la BAPAZ. Se muestrearon ocho sitios donde regularmente capturan moluscos como pesca comercial (Figura 2).

Las muestras de bivalvos se extrajeron por buceo libre y SCUBA de enero a marzo de 2007 (Tabla 2) con el objeto de cuantificar el contenido de TP en moluscos. Los moluscos recolectados se mantuvieron con hielo y fueron transportados al laboratorio del CIBNOR, S.C. donde se enjuagaron con agua, se desconcharon y homogeneizaron sus tejidos. Se tomaron 2 g del homogeneizado y se le agregaron 2 mL de ácido acético 0.03 N. Las muestras se sumergieron en hielo y se sónicaron 3

veces a 35 kHz en lapsos de 1 minuto. Posteriormente, se centrifugaron a 10,000 rpm por 15 min a 10 °C, el sobrenadante se filtró a través de un acrodisco (0.45 µm). Del extracto 150 µL fueron utilizados para la hidrólisis con HCl (1M). Se analizaron 10 µL de ambos extractos (con y sin hidrólisis). La identificación y el análisis de las TP se realizaron de acuerdo a la sección 7.2.3.

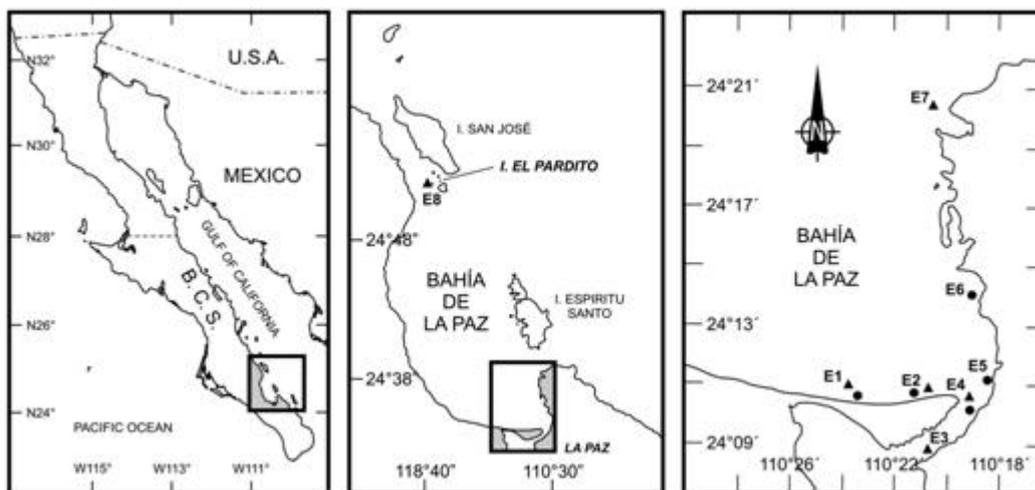


Figura 2. Localización de las estaciones de muestreo en el sur de la Bahía de La Paz, México. ● (Recolecta de fitoplancton) ▲ (Recolecta de bivalvos).

Durante el FAN de *G. catenatum* también se obtuvieron muestras superficiales de agua de mar con una botella van dorn para determinar las mismas variables de la sección 7.1.1. Este muestreo se realizó únicamente el 7 de marzo de 2007.

Los parámetros de temperatura y químicos se determinaron de la misma manera que se mencionó en la sección 7.1.1 y 7.2.2. A fin de observar los cambios temporales de temperatura superficial, se obtuvieron datos para un punto de la Bahía (24.45 N, 110.5 E) de enero a abril del 2007 del programa CoastWatch de la National Oceanic and Atmospheric Administration (<http://coastwatch.pfeg.noaa.gov/coastwatch>).

También se recolectaron muestras de botella preservándose con lugol ácido (Thronsen, 1979) para el análisis cuantitativo de *G. catenatum* de acuerdo al método propuesto por Utermöhl (1958).

Únicamente durante el FAN de *G. catenatum* en la BAPAZ se realizaron arrastres verticales de red de 20 μm de luz de malla a 25 m de profundidad, se concentró el material en filtros GF/F de 47 mm de diámetro y 0.7 μm de tamaño de poro y se mantuvieron en hielo, ya en el laboratorio se congelaron a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ para su posterior análisis. La extracción y el análisis de las TP se realizaron de acuerdo a la sección 7.2.3.

Tabla 2. Fechas de muestreo de fitoplancton, nutrientes, oxígeno disuelto, temperatura y moluscos en la Bahía de La Paz de enero a marzo de 2007 durante un FAN de *Gymnodinium catenatum*.

Estación	Fecha de muestreo fitoplancton, nutrientes, oxígeno disuelto y temperatura (2007)	Especie de molusco	Fecha de muestreo moluscos (2007)
E1	07/03	<i>Dosinia ponderosa</i>	15/03
		<i>Periglypta multicosata</i>	15/03
E2	07/03	<i>Megapitaria squalida</i>	07/03
			15/03
		<i>Dosinia ponderosa</i>	15/03
E3		<i>Pinna rugosa</i>	09/03
E4	07/03	<i>Modiolus capax</i>	07/03
		<i>Megapitaria squalida</i>	07/03
		<i>Modiolus capax</i>	07/03
E5	07/03		
E6	07/03		
E7		<i>Dosinia ponderosa</i>	15/01
			12/02
			08/03
			15/03
		<i>Megapitaria squalida</i>	15/03
E8		<i>Megapitaria aurantiaca</i>	16/03
			20/03
		<i>Pinna rugosa</i>	27/03

7.2 Procesamiento de muestras

7.2.1 Conteo e identificación de *G. catenatum* y otros dinoflagelados

El análisis taxonómico de las muestras de fitoplancton de botella se realizó en una cámara de Sedgwick-Rafter de 1 mL, con ayuda de un microscopio óptico (modelo DMLS, LEICA). La identificación taxonómica se realizó basándose en literatura especializada (Fukuyo *et al.*, 1990; Balech, 1998; Steindinger & Tangen, 1996).

Para el análisis de las muestras de la red de fitoplancton (20 µm) durante el FAN de *G. catenatum* se utilizó el método propuesto por Utermöhl (1958) con ayuda de un microscopio invertido (modelo Axiovert 100, Carl Zeiss) y cubetas de sedimentación de 50 mL. La identificación se realizó 24 h después de sedimentar la muestra.

7.2.2 Análisis de nutrientes

Se utilizó un autoanalizador de iones de flujo continuo (Lachat Instruments, 8000). El análisis para cada nutriente inorgánico se realizó en corridas independientes, con el fin de cambiar las condiciones de corrida (reactivos utilizados) entre cada determinación. El nitrógeno inorgánico disuelto (NID) se consideró como la suma de nitrito (NO_2^-) + nitrato (NO_3^-) + amonio (NH_4^+) y el fósforo como ortofosfatos (PO_4^{3-}). La determinación de oxígeno disuelto, nitritos, nitratos, amonio y fosfatos se realizaron según Strickland & Parsons (1972), entre 4-20 h después de su colecta.

Los nitritos reaccionan con la sulfanilamida en condiciones ácidas para formar un complejo diazo que al reaccionar con la N-(1-naftil)-etilendiamina se produce un compuesto azo coloreado cuya intensidad es medida por espectrofotometría a 543 nm (Bendschneider & Robinson, 1952).

Los nitratos fueron reducidos a nitritos a través de su paso por una columna empacada de cadmio-cobre (Morris & Riley, 1963). Una vez reducidos los nitratos a nitritos, estos últimos fueron determinados por el método anterior.

El amonio se determinó utilizando el procedimiento de Solórzano (1969), en el cual el amonio en un medio alcalino con hipoclorito de sodio-fenol y en presencia de

nitroprusiato de sodio como catalizador forma el azul de indofenol cuya intensidad es medida por espectrofotometría a 640 nm.

Para la determinación los fosfatos se utilizó el método de Murphy & Riley (1962), en el cual el ortofosfato reacciona con una mezcla compuesta de ácido molíbdico, ácido ascórbico y antimonio trivalente para formar azul de molibdeno cuya intensidad es medida por espectrofotometría a 882 nm.

7.2.3 Análisis de toxinas paralizantes

Las muestras de agua y de moluscos para estimar la concentración de TP se analizaron mediante cromatografía líquida de alta resolución y detección de fluorescencia (HPLC-FD) (Hummer *et al.*, 1997, modificado por Yu *et al.*, 1998).

Cada filtro se colocó en un vial eppendorf con 1 mL de ácido acético 0.03 N y se sonicó en 3 tiempos de 5 minutos cada uno. El extracto crudo se centrifugó por 15 min (14000 rpm) y el sobrenadante se pasó a través de filtros de 0.45 µm utilizando acrodiscos de fibra de vidrio (25 mm de diámetro) para jeringas. Para la derivatización, 150 µL de cada extracto se mezcló con 37 µL de ácido hidrociorhídrico 1.0 N y se calentó por 15 min a 90 °C para convertir las toxinas N-sulfocarbamatadas a sus toxinas carbamatadas correspondientes. Luego de enfriarse a temperatura ambiente, la muestra se neutralizó con 75 µl de acetato de sodio 1 N. Los hidrolizados y las muestras se almacenaron a -20 °C hasta su análisis (antes de 24 h).

Los extractos hidrolizados y no hidrolizados se inyectaron en el cromatógrafo de líquidos en corridas independientes para la identificación y cuantificación de las TP. Las toxinas N-sulfocarbamatadas (incluyendo GTX5/B1 y GTX6/B2) se cuantificaron calculando el incremento del pico máximo para relacionarlas con las toxinas carbamatadas formadas durante el tratamiento con ácido clorhídrico (B1 a STX, B2 a neoSTX, C1 a GTX2, C2 a GTX3, C3 a GTX1 y C4 a GTX4).

El sistema de cromatografía utilizado fue un HP 1100 que consiste en un auto-muestreador, degasificador, bomba cuaternaria, dos bombas binarias usadas para las reacciones post-columna, un detector de fluorescencia, una columna C-18 y un reactor postcolumna. Las TP se detectaron usando una longitud de onda de excitación de 333 nm y una de emisión de 390 nm.

La identificación de las TP se realizó comparando los tiempos de retención de las muestras y por coelución con estándares comerciales de: saxitoxina (STX), neosaxitoxina (neoSTX), goniautoxinas-1,4 (GTX 1,4), decarbamoilsaxitoxina (dcSTX), decarbamoilgoniautoxinas-2,3 (dc GTX 2,3) y N-sulfocarbamoil-11-hidrosulfato (C1,2) (National Research Council Canada, Halifax, NS, Canadá).

La cuantificación de la toxicidad total se realizó utilizando los factores respuestas relativos de los estándares comerciales como se define en la tabla 3. Los factores respuestas relativos fueron definidos previamente al estandarizar el método (HPLC-FLD). Como la metodología de oxidación post-columna solapa algunas toxinas con toxicidades específicas diferentes, para los cálculos de toxicidad total la concentración de toxinas obtenida para cada grupo de toxina se multiplicó por la toxicidad respectiva de ese grupo (Tabla 3).

Tabla 3. Estándares de calibración, factores respuestas y factores de toxicidad relativa aplicado para calcular la toxicidad total de las diferentes toxinas encontradas en *Gymnodinium catenatum* de Bahía de La Paz y Bahía de Mazatlán.

Toxina	Factor respuesta	Factor de toxicidad relativo
STX	$4.50 * 10^{-6}$	1
NEO	$1.54 * 10^{-5}$	0.92
GTX 2	$1.71 * 10^{-6}$	0.36
GTX3	$1.61 * 10^{-6}$	0.64
dcSTX	$2.09 * 10^{-6}$	0.51
dcGTX2	$1.89 * 10^{-6}$	0.65
dcGTX3	$1.82 * 10^{-6}$	0.75
B1	$4.50 * 10^{-6}$	0.06
B2	$1.54 * 10^{-5}$	0.00
C1	$4.50 * 10^{-6}$	0.01
C2	$4.50 * 10^{-6}$	0.1

7.3 Trabajo experimental

7.3.1 Cepas utilizadas

Para obtener las cepas de cada región se realizaron arrastres verticales y superficiales con una red para plancton de 20 μm de luz de malla, en la BAPAZ y la BAMAZ. El fitoplancton concentrado se tamizó con una red de 60 μm para eliminar organismos de mayor tamaño y se inoculó en recipientes de 250 mL de capacidad con medio de cultivo f/2 modificado, con la adición de selenio (10^{-8} M de H_2SeO_3) y la disminución en la concentración de cobre (10^{-8} M de CuSO_4) (Anderson *et al.*, 1984).

Se logró aislar una cepa de la BAPAZ (BAPAZ-7) y una de la BAMAZ (BAMAZ-2). Las otras cepas de cada región fueron adquiridas de la colección de dinoflagelados marinos (CODIMAR) del CIBNOR (GCMQ-4 y BAPAZ-5).

7.3.2 Mantenimiento y cultivo de *Gymnodinium catenatum*

Las células vegetativas se aislaron con micropipeta observándolas en un microscopio invertido Carl Zeiss, Axiovert 100 (Matsuoka & Fukuyo, 2000). Las células se transfirieron individualmente a cada pocillo de una placa de 24 celdas llenada con medio modificado f/2 (Anderson *et al.*, 1984) y se mantuvieron a 21.0 ± 1.0 °C en un régimen luz-oscuridad de 12:12, a una intensidad de $150 \mu\text{mol E m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Los medios de cultivo se prepararon con agua de mar filtrada a una salinidad de 35 ups. El medio de cultivo se esterilizó por calor húmedo (121 °C, 15 lbs de presión por 15 min), posteriormente se le adicionaron las vitaminas filtradas en filtros de membrana de 0.22 μm de tamaño de poro.

Los cultivos de cada celda de la placa fueron transferidos a tubos de ensayo de 15 mL y posteriormente a matraces Erlenmeyer de 125 mL de capacidad con 75 mL de medio de cultivo y colocados en las condiciones de cultivo indicadas anteriormente. Los cultivos se mantuvieron renovando cada 20 a 30 días el medio de cultivo en un 50 % del volumen.

7.3.3 Curvas de crecimiento

Para determinar la biomasa máxima y las tasas de crecimiento de las cepas de *G. catenatum* se inoculó el 10% del volumen del cultivo madre con una densidad

aproximada entre 300 a 800 céls mL⁻¹ en un volumen de 200 mL de medio de cultivo. Las tasas de crecimiento se estimaron tomando 2 mL del cultivo y fijándolas con lugol ácido cada tercer día mediante recuento de las células hasta alcanzar la fase de decaimiento (Thronsdén, 1979). Los conteos se realizaron en una cámara de Sedgwick-Rafter de 1 mL de capacidad en un microscopio óptico LEICA DMLS. Las condiciones de los cultivos fueron las establecidas en la sección 7.3.2.

7.3.4 Tasas de asimilación

La determinación de las tasas de asimilación de nitratos, amonio y fosfatos se realizaron por duplicado en cada una de las cepas de *G. catenatum*. Los cultivos se mantuvieron hasta alcanzar la fase estacionaria, cuando se agotaron los nutrientes del cultivo (NO₃⁻, NH₄⁺ y PO₄³⁻) y/o donde la densidad celular de *G. catenatum* se encontrara entre 700-800 céls mL⁻¹. Para asegurar estas condiciones experimentales se filtraron 30 mL del cultivo a través de filtros de fibra de vidrio GF/F de 0.7 µm de tamaño de poro y se le determinó el nutriente respectivo mediante el análisis descrito anteriormente (ver sección 7.2.2). Una vez confirmado el agotamiento de los nutrientes en el cultivo se procedió a agregar las concentraciones indicadas en la tabla 4 de los siguientes nutrientes: NO₃⁻, NH₄⁺ y PO₄³⁻.

Los experimentos de asimilación de las cepas de *G. catenatum* se realizaron en tubos de cultivo de 50 mL, con un volumen útil de 30 mL (Figura 3). Para ello, en el caso de la tasa de asimilación de NO₃⁻ se le adicionó a los tratamientos experimentales un volumen de 21 mL de medio de cultivo f/2 sin nitratos, posteriormente con la solución estándar de NO₃⁻ se le adicionó a los tratamientos experimentales la concentración indicada en la tabla 4 hasta alcanzar una concentración final de 50 µM. Una vez preparados los tratamientos experimentales se procedió a inocular con aproximadamente 9 mL del cultivo de *G. catenatum* con una densidad celular (700-800 céls mL⁻¹) a cada tratamiento experimental. La duración de la incubación fue determinada de acuerdo a experimentos previos realizados en el Laboratorio de Pigmentos, CIBNOR, S.C. La Paz, B.C.S.

Para el caso de los NO₃⁻ los tratamientos experimentales se incubaron por 40 min. Se registraron dos tiempos, al momento de agregar el inóculo (tiempo cero, t₀) y al finalizar la incubación (40 min, t₁). Se fijó con lugol ácido (Thronsdén, 1979) 2

mL del cultivo al t_0 y al t_1 para realizar conteo de células y por filtración se recuperó 30 mL del cultivo para el análisis de NO_3^- correspondiente (ver sección 7.2.2). Todos los experimentos se realizaron bajo las condiciones descritas en la sección 7.3.2. Se realizó un procedimiento similar para determinar las tasas de asimilación de NH_4^+ y PO_4^{3-} con las concentraciones definidas en la Tabla 4. Las concentraciones de NO_3^- , NH_4^+ y PO_4^{3-} fueron determinadas de acuerdo a lo establecido en la sección 7.2.2.

La tasa de asimilación fue calculada de la diferencia entre la concentración inicial y la concentración final para cada nutriente de acuerdo a Harrison (1980) en función de la densidad de células.

Tabla 4. Concentración (μM) de los nutrientes utilizados para determinar experimentalmente las tasas de asimilación de *Gymnodinium catenatum* en función de la disponibilidad de nutrientes.

NO_3^-	NH_4^+	PO_4^{3-}
5	2	2
10	5	5
20	10	10
30	20	15
40	40	20
50	60	30
	80	
	100	

$$V = (C_0 - C_1) / (N \cdot t)$$

Donde: V= tasa de asimilación ($\text{pmol cel}^{-1} \text{ h}^{-1}$)

C_0 = concentración inicial del nutriente (μM)

C_1 = concentración final del nutriente (μM)

N= densidad celular (cél mL^{-1})

t= tiempo de incubación (h).

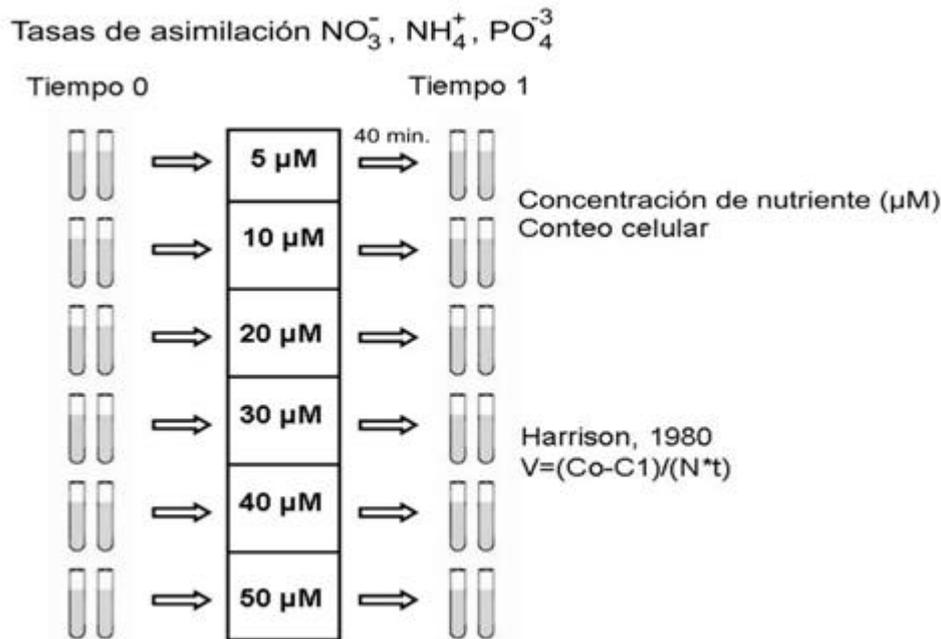


Figura 3. Diseño experimental y procedimiento para la obtención de muestras durante el experimento de tasas de asimilación de *Gymnodinium catenatum* de NO_3^- . Los experimentos para determinar las tasas de asimilación de NH_4^+ y PO_4^{3-} se realizaron con las concentraciones resumidas en la tabla 4.

7.3.5 Crecimiento semicontinuo de *Gymnodinium catenatum* con diferentes proporciones de N:P

Se realizaron dos experimentos de cultivos en las cuatro cepas *G. catenatum* (Tabla 3) en matraces Erlenmeyer de 500 mL de capacidad, para evaluar la tasa de crecimiento y la concentración de toxinas de *G. catenatum*, utilizándose dos fuentes inorgánicas de nitrógeno (NaNO_3 y NH_4Cl) (Figura 4).

Para cada una de las cepas se preparó medio de cultivo (ver sección 7.3.2), utilizando como fuente de nitrógeno el NaNO_3 o el NH_4Cl . Cada fuente de nitrógeno se utilizó con cinco proporciones de N:P, 4:1, 8:1, 16:1, 32:1 y 64:1 con una concentración de (14.5:3.63, 29:3.63, 58:3.63, 116:3.63 y 232:3.63 μM , respectivamente).

Los cultivos se acondicionaron progresivamente a cada proporción N:P a partir de la condición inicial (16:1). En cada proporción de N:P se adaptaron las

células durante al menos tres generaciones antes de iniciar el cultivo semicontinuo. Una vez acondicionados los cultivos en cada una de las proporciones N:P para ambas fuentes de nitrógeno se determinó la tasa de crecimiento, tomando 2 mL del cultivo y fijándolas con lugol ácido (Thronsdén, 1979) para determinar el inicio de la fase estacionaria. En el inicio de la fase estacionaria se cambió el sistema de cultivo, de estático a cultivo semicontinuo, acondicionando nuevamente por dos generaciones en cada una de las proporciones N:P. En el sistema semicontinuo se tomaron nuevamente muestras para conteos celulares (2 mL) y para análisis de TP (30 mL) cada dos días durante 10 días. Las muestras para conteo celular se fijaron con lugol ácido, mientras que para el análisis de TP se filtraron 30 mL del cultivo (ver sección 7.3.4). El recambio del medio de cultivo se realizaba al momento de tomar las muestras reemplazando 20 % del cultivo de *G. catenatum* por medio de cultivo fresco (aproximadamente 40 mL). Las condiciones de los cultivos fueron las mismas que las descritas anteriormente (sección 7.3.2).

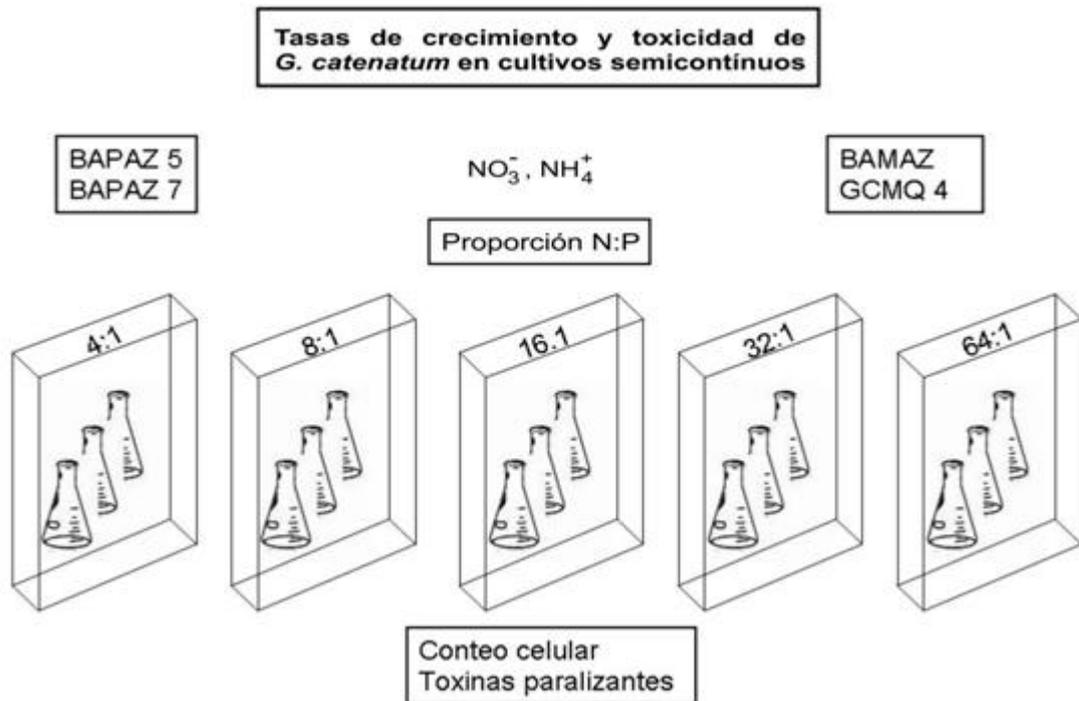


Figura 4. Diseño experimental y procedimiento para obtención de muestras de cepas de *Gymnodinium catenatum* crecidas bajo diferentes proporciones N:P (4:1, 8:1, 16:1, 32:1 y 64:1).

7.4 Análisis estadísticos

Los análisis estadísticos que se aplicaron fueron: Estadística descriptiva en las variables (nutrientes, tasas de asimilación, tasas de crecimiento, toxicidad). La distribución normal de cada variable fue verificada con la prueba de normalidad (Kolmogorov-Smirnov) y para observar las diferencias significativas la prueba de homogeneidad de varianza (Levene's). Se realizó un análisis de varianza de una vía, en el programa Statistica 8.0 (Statsoft, E.U.A.), para observar el efecto de las proporciones N:P en la tasa de crecimiento, toxicidad y perfil de toxinas de *G. catenatum*. Se realizó un análisis de factores para estimar la magnitud de correlación del efecto de las variables físicas y químicas con la abundancia de dinoflagelados y *G. catenatum* de ambas bahías. Los resultados de las pruebas estadísticas fueron considerados significativos con un nivel de confianza igual o mayor de 0.95 ($\alpha =$ de 0.05)

8. Resultados

8.1 Muestreo anual de Bahía de La Paz y Bahía de Mazatlán

8.1.1 Temperatura

La temperatura superficial registrada en las estaciones de la BAPAZ y la BAMAZ, muestran un marcado y similar ciclo estacional. Estos cambios nos permiten diferenciar en ambas bahías dos condiciones climáticas, una cálida y otra fría. En el caso de la BAPAZ la cálida fue de junio a noviembre de 2006 con una temperatura mínima de 22.0 °C y una máxima de 29.0 °C. En diciembre hubo un descenso con temperaturas de 19.0 a 24.0 °C. En el caso de la BAMAZ la temperatura máxima fue registrada en julio de 2006 (32.0 °C), en diciembre también se detectó una disminución térmica con un rango de 21.0 a 27.0 °C (Figuras 5a y b).

No se encontraron diferencias significativas en la temperatura superficial estacional entre las estaciones, ni entre bahías ($p < 0.05$). Los valores verticales de temperatura de las estaciones E1, E4 de la BAPAZ y E6, E7 de la BAMAZ se presentan en el anexo 1 (Tablas 1-4).

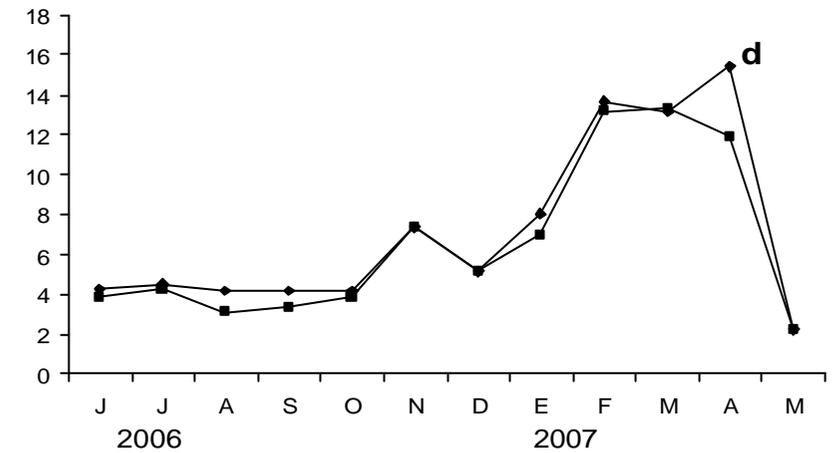
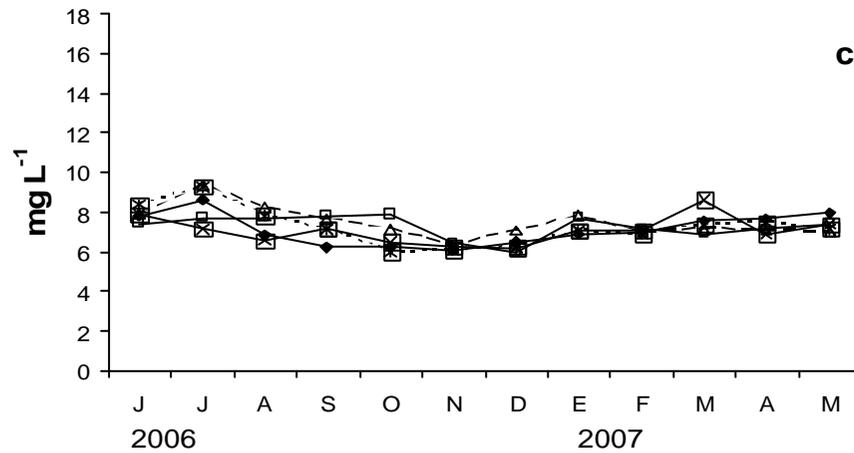
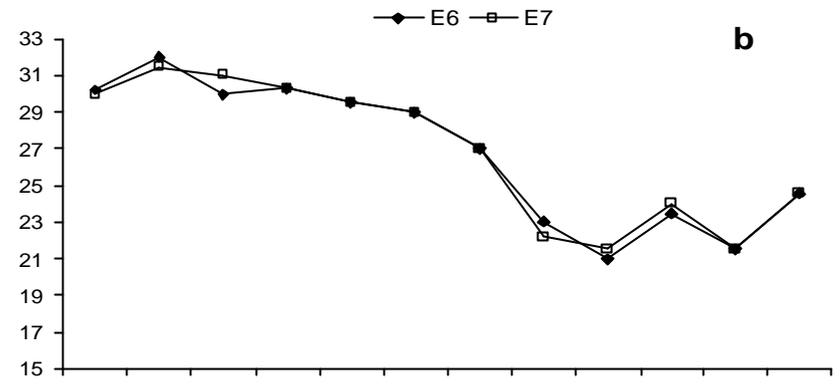
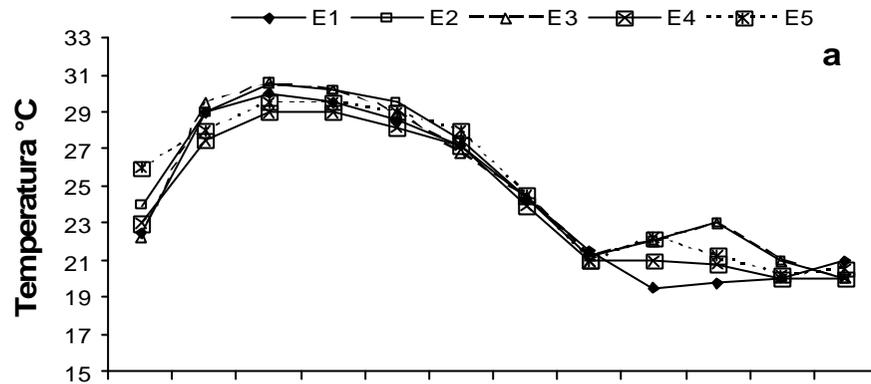


Figura 5. Variación mensual superficial de la temperatura (a, b) y el oxígeno disuelto (c, d) en la Bahía de La Paz (a, c) y la Bahía de Mazatlán (b, d) de julio de 2006 a mayo de 2007 en las estaciones de muestreo.

8.1.2 Oxígeno disuelto

El oxígeno disuelto en el estrato superficial en la BAPAZ fue alto durante todo el periodo de muestreo. Sin grandes fluctuaciones y con un intervalo de 6.0 a 9.3 mg L⁻¹ (Figura 5c), no se encontraron diferencias significativas en la concentración de oxígeno disuelto entre las estaciones ni por temporadas del año ($p > 0.05$). Los valores de oxígeno disuelto de las estaciones E1 y E4 se muestran en el anexo 1 (tablas 1 y 2), a 50 m los valores fueron bajos (1.84 mg/L), principalmente en el periodo de transición térmica. En la BAMAZ el oxígeno disuelto varió de 3.0 a 13.14 mg L⁻¹ (Figura 5d). Los valores más bajos se registraron en agosto de 2006 (3.07 mg L⁻¹) y el más alto en abril de 2007 (15 mg L⁻¹). En el periodo frío hubo un incremento desde noviembre hasta registrarse un máximo en abril (15 mg L⁻¹). En mayo de 2007 hubo una disminución abrupta en la concentración de oxígeno disuelto a 2.5 mg L⁻¹. Para la BAMAZ no se obtuvieron valores de oxígeno disuelto de los estratos profundos.

8.1.3 Índice de estratificación térmica (IET; °CM⁻¹)

Durante el periodo de muestreo, el índice de estratificación térmica (IET; °CM⁻¹) muestra que en las dos bahías no se desarrollaron condiciones de estratificación térmica. En ambas bahías se observaron tres periodos hidrográficos, dos periodos de transición y uno de mezcla. Los periodos de transición se presentaron de junio a septiembre de 2006 y de abril a mayo de 2007; el periodo de mezcla fue de octubre de 2006 a marzo de 2007 (Figura 6).

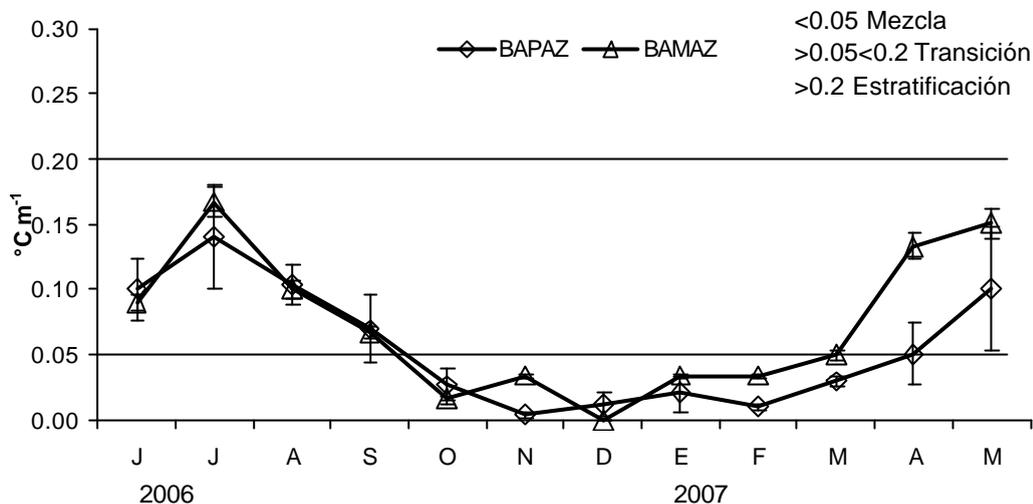


Figura 6. Índice de estratificación térmica (IET) estimado para la Bahía de La Paz (E1) y la Bahía de Mazatlán (E6) de junio de 2006 a mayo de 2007, las líneas horizontales representan el límite del periodo de transición hacia mezcla o estratificación.

Todas las estaciones de muestreo presentaron una temperatura homogénea a lo largo de la columna de agua durante el periodo de mezcla (de octubre de 2006 a marzo de 2007). En este periodo las temperaturas fueron mayores (23.0 ± 3.6 °C), disminuyendo hacia el invierno a 19.0 ± 0.5 °C (Anexo 1, Tablas 1 a 4).

8.2 Nutrientes

8.2.1 Nitritos

De las fuentes de nitrógeno inorgánico cuantificadas, los nitritos fueron los que menor aportación tuvieron al nitrógeno inorgánico disuelto (NID), con concentraciones de $0.1 \mu\text{M}$ de junio a septiembre de 2006 y de marzo a mayo de 2007 en todas las estaciones de la BAPAZ (Figura 7a). En los otros meses los valores fueron altamente variables, el valor máximo fue de $0.5 \mu\text{M}$ en enero de 2007 en la estación E4. Las mayores concentraciones de nitritos en la E1 y la E4 se presentaron en octubre de 2006 y en diciembre a febrero de 2007 con un intervalo de

0.2 a 0.7 μM . El resto de los meses los valores superficiales de nitritos variaron de 0.10 a 0.53 μM (Anexo 1, Tablas 1 y 2).

La BAMAZ presentó una mayor variación en la concentración de nitritos a nivel superficial, con un intervalo de 0.1 a 0.6 μM en ambas estaciones de muestreo (E6 y E7) (Figura 7b). Con respecto a la profundidad las concentraciones fueron altas a 10 y 30 m principalmente en agosto y noviembre de 2006 (E6 y E7) y mayo de 2007 en la E7 (de 0.26 a 12.5 μM) (Anexo 1, Tablas 3 y 4).

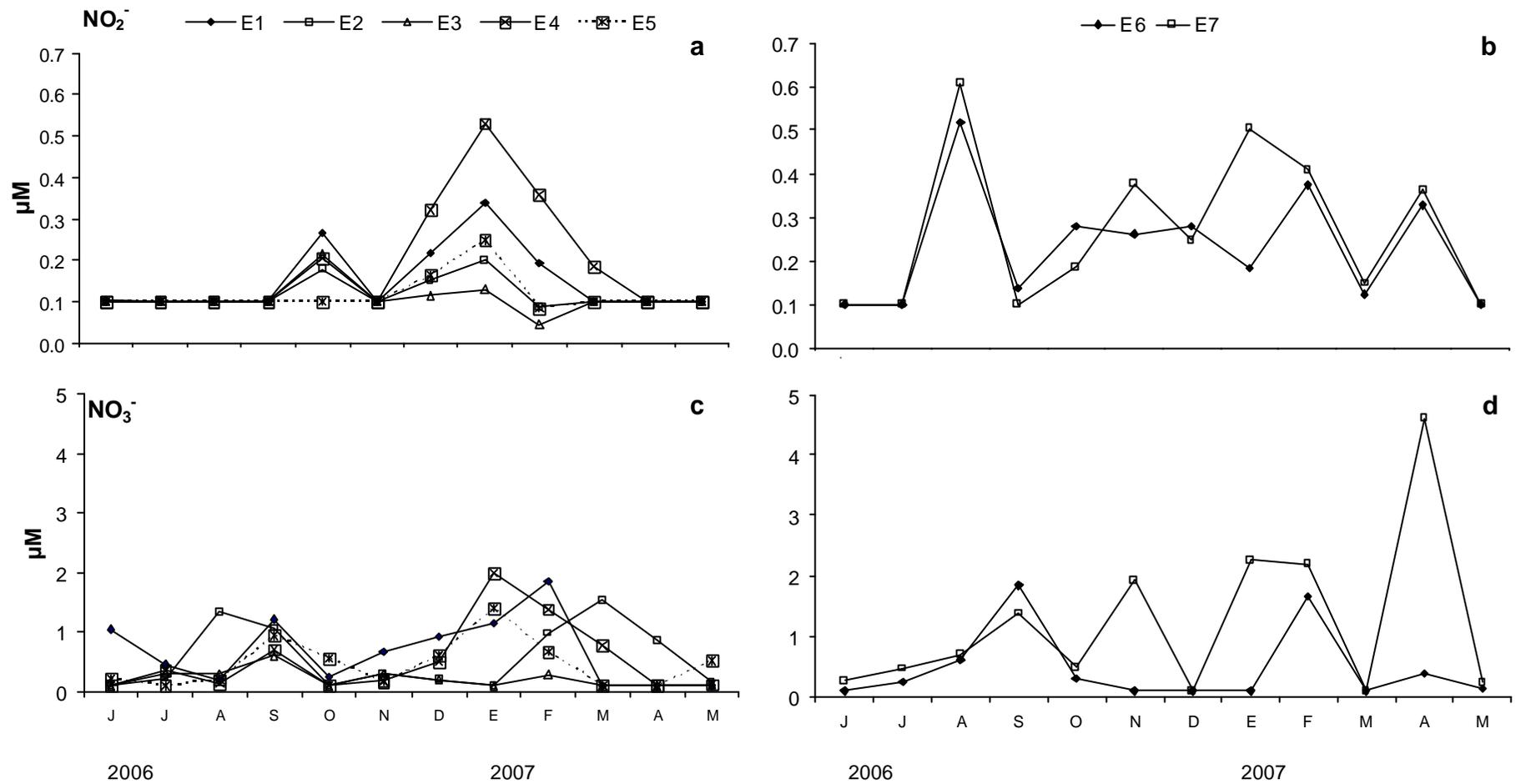


Figura 7. Variación mensual de nitritos (NO₂⁻) y nitratos (NO₃⁻) en superficie en la Bahía de La Paz (a, c) y en la Bahía de Mazatlán (b, d) de julio de 2006 a mayo de 2007 en las estaciones de muestreo.

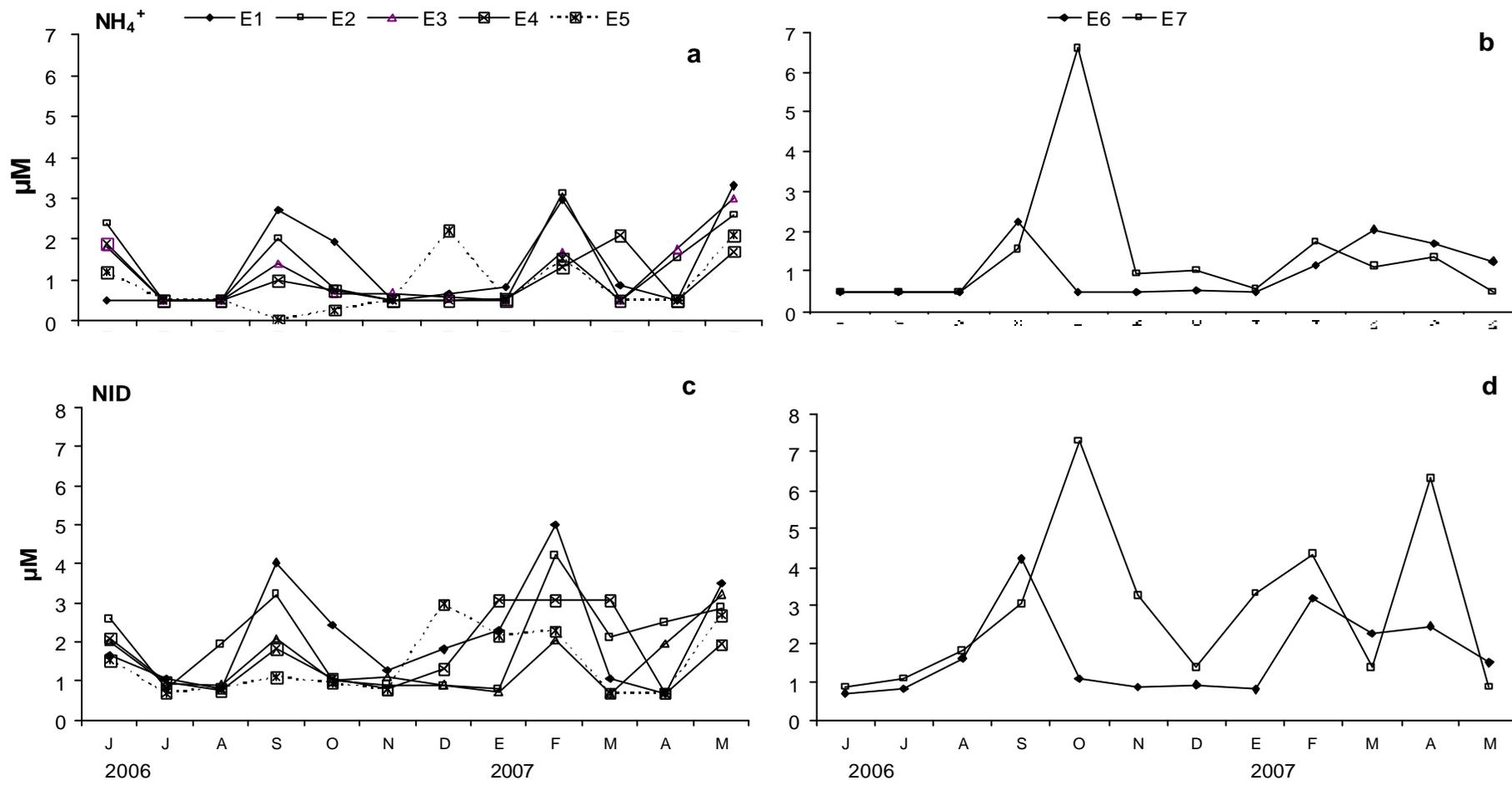


Figura 8. Variación mensual de amonio (NH₄⁺) y nitrógeno inorgánico disuelto (NID) en superficie de la Bahía de La Paz (a, c) y la Bahía de Mazatlán (b, d) de julio de 2006 a mayo de 2007 en las estaciones de muestreo.

8.2.2 Nitratos

Las concentraciones superficiales de nitratos para la BAPAZ fueron altamente variables sin un patrón estacional definido aunque, en general los valores fueron menores a 2.0 μM (Figura 7c). De enero a marzo de 2007 se registraron los valores más altos (2.0, 1.9 y 1.6 μM). En las estaciones con mayor profundidad E1 y E4 se registraron los valores más altos a 30 m y 50 m con concentraciones de 24.6 y 7.8 μM , respectivamente (Anexo 1, Tablas 1 y 2).

En la BAMAZ al igual que en la BAPAZ las concentraciones registradas en superficie no sobrepasaron los 2.0 μM excepto en la E7 en enero, febrero y abril de 2007 con valores de 2.3, 2.2 y 4.6 μM , respectivamente (Figura 7d). Las máximas concentraciones también fueron registradas a 20 y 30 m de profundidad con un intervalo de 13.4 a 20.43 μM en abril y mayo de 2007 (Anexo 1, Tablas 3 y 4).

8.2.3 Amonio

El ión amonio en la BAPAZ tiene incrementos muy específicos en los meses de junio y septiembre de 2006; febrero y mayo de 2007, su intervalo fue de 0.1 a 2.8 μM para el periodo cálido y de 1.4 a 3.5 μM para el periodo frío (Figura 8a). Con respecto a la profundidad las máximas concentraciones se registraron en la estación E1 a 50 m en los meses de septiembre de 2006, enero y mayo de 2007 con 3.6, 3.4 y 3.7 μM , respectivamente (Anexo 1, Tablas 1 y 2). También en la estación E4 hubo concentraciones mayores a 30 m de profundidad en febrero (2.07 μM) y mayo (3.27 μM) de 2007.

En la BAMAZ los valores de amonio en superficie fueron <2.0 μM , excepto para la E7 en el mes de octubre de 2006 con un valor mayor a 6.0 μM (Figura 8b). Con respecto a la profundidad la concentración de amonio para BAMAZ varía ampliamente de 1.24 a 10.70 μM en superficie y a 10 m como es el caso de la estación E6 (Anexo 1, Tabla 3).

8.2.4 Nitrógeno inorgánico disuelto (NID)

En la figura 8c se muestran los valores superficiales del ND para la BAPAZ, donde se observa una tendencia similar a la concentración de nitrato y amonio, con

altas concentraciones en junio, septiembre de 2006; febrero y mayo de 2007 con un intervalo de 1.0 a 5.0 μM . Los porcentajes relativos (datos no mostrados) de aportación al NID demuestran que el mayor aporte de nitrógeno en el estrato superficial fue de amonio (30 a 90 %). Con respecto a la profundidad se determinó un amplio rango en los aportes, aunque los nitratos fueron los que más aportaron como es el caso de la estación E1 para el mes de junio de 2006 a 50 m, con un valor de 25.7 μM (95 %). En mayo de 2007 se observaron dos picos máximos de NID en la estación E1 a 25 y 50 m con concentraciones mayores a 20.0 μM (Anexo 1, Tabla 1), aportadas también por nitratos (85 y 81 %, respectivamente). En la E4 se encontraron concentraciones máximas de NID principalmente a 30 m en junio de 2006 y mayo de 2007 (8.1 y 7.2 μM , respectivamente). En este caso el mayor aporte fue de nitratos en junio (95 %) y en mayo (51 %) (Anexo 1, Tabla 2).

El NID en la BAMAZ muestra la misma tendencia que los nitratos y el amonio. Las concentraciones mayores se identificaron en la estación E7 en los meses de octubre de 2006 (7.29 μM) y abril de 2007 (6.30 μM) (Figura 8d). Con respecto a la profundidad, las máximas concentraciones de NID registradas para la BAMAZ fueron en abril de 2007 con 18.55, 22.11 y 19.64 μM para la estación E6 a 10 m, 20 m y 30 m de profundidad, respectivamente. Por otro lado, en la E7 se registró un máximo de 20.40 μM a 10 m en mayo de 2007. Al igual que para la BAPAZ los aportes para el NID fueron principalmente por nitratos.

8.2.5 Proporción N:P

Los valores superficiales de la proporción N:P para la BAPAZ fueron < 5:1, excepto para mayo de 2007 con un valor de 20:1 en E2 (Figura 9a). Con respecto a la profundidad los valores de N:P también fueron bajos en todas las profundidades, con excepción de los meses de enero y mayo de 2007 (E1) y mayo de 2007 (E2) a 50 m de profundidad donde los valores fueron de 10.5:1 a 20.2:1 (Anexo 1, Tablas 1 y 2).

En la BAMAZ los valores superficiales de las proporciones N:P fueron menores a 7:1, excepto para el mes de agosto de 2006 donde alcanzó un valor de 15.6:1 (Figura 9b). Con respecto a la profundidad la razón N:P fue menor de 10:1 en el estrato de 30 m, excepto para agosto de 2006, con un valor de 60.5:1 (Anexo 1,

Tablas 3 y 4), este valor tan alto se explica a una baja concentración de fósforo en el medio ($0.008 \mu\text{M}$).

8.2.6 Fosfatos

La concentración superficial de fosfatos en la BAPAZ se mantuvo menor a $1.0 \mu\text{M}$ durante el periodo de muestreo, excepto en julio de 2006 donde se registraron las máximas concentraciones superficiales de 2.5 y $11 \mu\text{M}$ en E1 y E3, respectivamente (Figura 9c). En el caso de la BAMAZ las concentraciones superficiales de fosfatos fueron $< 1.12 \mu\text{M}$. Aunque en abril de 2007 las concentraciones fueron más altas a 10 m y 30 m con un intervalo de 1.0 a $2.5 \mu\text{M}$ (Anexo 1, Tablas 3 y 4). En general, en ambas bahías no se observaron cambios estacionales sustanciales en la concentración de fosfatos (Anexo 1, Tablas 1-4).

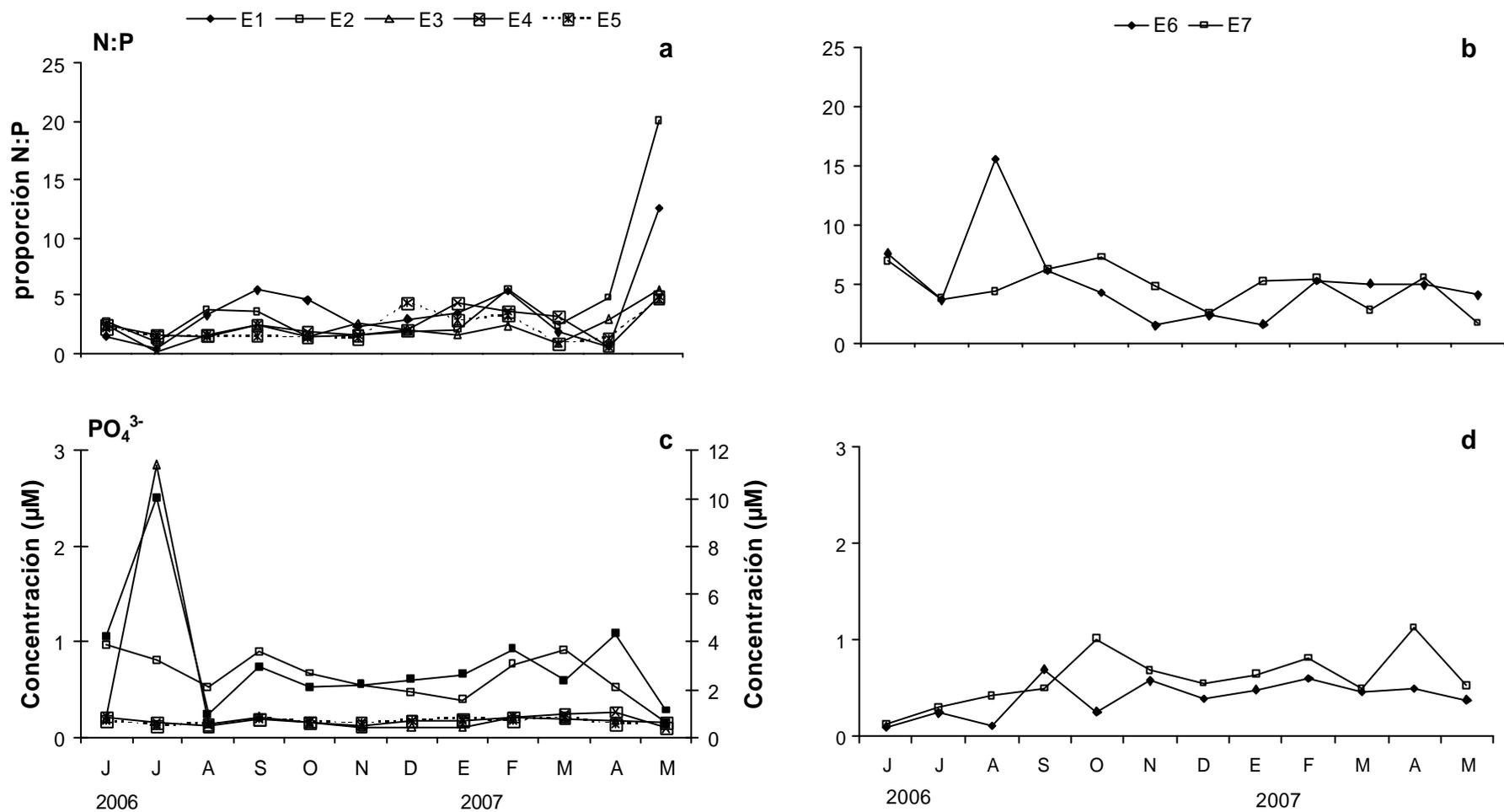


Figura 9. Variación de la proporción N:P y fosfatos (PO_4^{3-}) en la superficie del mar de la Bahía de La Paz (a, c) y la Bahía de Mazatlán (b, d) de julio de 2006 a mayo de 2007 en las diferentes estaciones de muestreo. El eje secundario Y en el gráfico (c) corresponde a la estación E3.

8.3 Abundancia de dinoflagelados totales, con énfasis en *Gymnodinium catenatum*

Del elenco de los diferentes grupos de fitoplancton identificados y cuantificados únicamente se presentan los resultados de la abundancia de los dinoflagelados totales y específicamente del dinoflagelado *G. catenatum*. En la BAPAZ en el estrato superficial la abundancia de dinoflagelados varió entre estaciones, así tenemos que en algunas estaciones en la mayor parte del periodo estudiado la abundancia fue $< 5.0 * 10^3$ céls L⁻¹ (E1-5) registrando las máximas densidades de dinoflagelados en la E2 con $2.8 * 10^4$ céls L⁻¹ en noviembre de 2006 y de $1.9 * 10^4$ céls L⁻¹ en junio y la E3 con $2.1 * 10^4$ céls L⁻¹ en noviembre de 2006 (Figura 10). Con respecto a *G. catenatum* su abundancia fue baja, registrando densidades de $1.0 * 10^3$ céls L⁻¹ en las estaciones E1, E2, E4 y E5 en los meses de abril de 2007, noviembre, junio de 2006 y febrero de 2007, respectivamente, los cuales coinciden en algunos de los casos con mayor abundancia de dinoflagelados. En las estaciones de la BAPAZ durante el periodo de muestreo la abundancia de dinoflagelados generalmente se mantuvo en la mayoría de los meses por debajo de $5 * 10^3$ céls L⁻¹. Sin embargo, otros grupos del fitoplancton fueron dominantes principalmente diatomeas (datos no mostrados).

En la BAMAZ en los dos sitios estudiados la abundancia de dinoflagelados fueron más elevadas que en la BAPAZ. En la estación E6 la mayor parte del periodo estudiado la abundancia de dinoflagelados fue $< 1.0 * 10^4$ céls L⁻¹ incrementando su densidad en abril de 2007 ($3.3 * 10^4$ céls L⁻¹). En la E7 se presentaron abundancias similares, aunque en diciembre de 2006 se incrementó la biomasa a $6.6 * 10^4$ céls L⁻¹ (Figura 11). Con respecto a *G. catenatum* su abundancia también fue baja, pero más frecuente durante el periodo estudiado que en la BAPAZ. Dos picos máximos de *G. catenatum* fueron registrados en la estación E6 en julio de 2006 ($6.0 * 10^3$ céls L⁻¹) y abril de 2007 ($3.0 * 10^3$ céls L⁻¹). Además de otro en la E7 en febrero de 2007 con $3.0 * 10^3$ céls L⁻¹ (Figura 11). En ambas estaciones se observó nuevamente que la abundancia mayor de *G. catenatum* coincide con un incremento en la abundancia de los dinoflagelados.

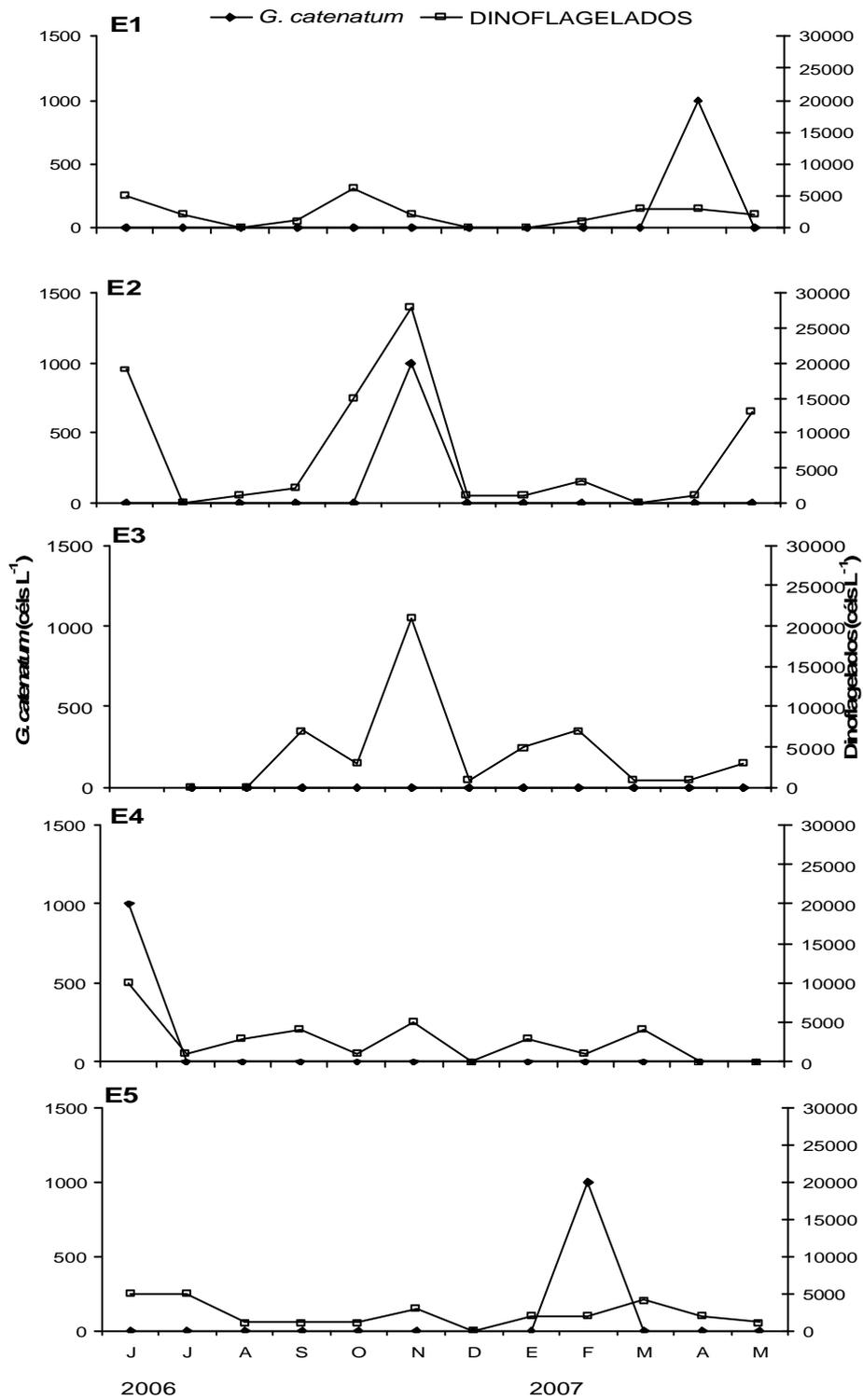


Figura 10. Variación mensual de la abundancia de *Gymnodinium catenatum* y dinoflagelados totales en la Bahía de La Paz, de junio de 2006 a mayo de 2007 (E1, E2, E3, E4 y E5).

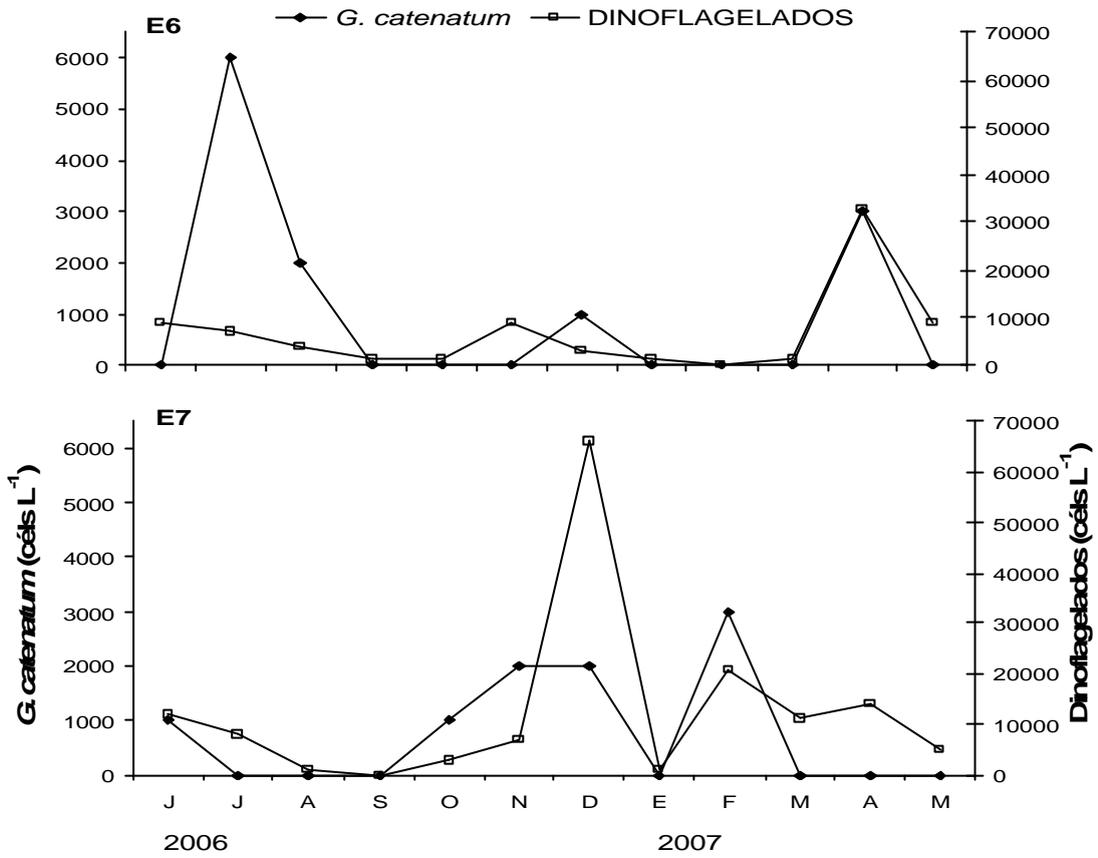


Figura 11. Variación mensual de la abundancia de *Gymnodinium catenatum* y dinoflagelados totales en la Bahía de Mazatlán, de junio de 2006 a mayo de 2007 (E6 y E7).

8.3.1 Concentración de toxinas de *Gymnodinium catenatum* recolectadas en condiciones naturales de la Bahía de La Paz y la Bahía de Mazatlán

A pesar de que se identificó a *G. catenatum* como la única especie responsable de producir TP en ambas bahías. Los resultados de concentración de toxinas de las muestras de fitoplancton obtenidas en el campo de ambas bahías fueron negativos. Esto probablemente se deba a una baja abundancia de *G. catenatum* detectada durante el periodo de muestreo (Figuras 10 y 11) o a que la concentración de TP en las muestras se encontraba por debajo del límite de detección del método.

8.4. FAN de *Gymnodinium catenatum* en la Bahía de La Paz

8.4.1 Variables ambientales

Las condiciones de la zona de muestreo muestran temperaturas relativamente frías que oscilaron entre 20.0 y 21.9 °C con bajas concentraciones de nutrientes y concentraciones altas de oxígeno (Tabla 5). Los datos de temperatura superficial (promedio diario, 24.45 N, 110.5 W) para la Bahía de La Paz durante el periodo enero-abril de 2007 muestran claramente el periodo transitorio invierno-primavera con valores de alrededor de los 20.0 °C, a principios de febrero, posteriormente una tendencia a incrementarse de 22.0 a 24.0 °C a finales de febrero y principios de marzo de 2007 (Figura 12). La razón molar N:P también fue baja con valores entre 1.6:1 y 3.2:1, denotando limitación por nitrógeno.

Tabla 5. Temperatura (°C), oxígeno disuelto (mg L⁻¹) y concentración de nutrientes (μM) en aguas superficiales de la Bahía de La Paz (7 marzo, 2007), en localidades con presencia de *Gymnodinium catenatum*.

Estación	Temp.	Oxígeno disuelto	NO ₂ ⁻	NO ₃ ⁻	NH ₄ ⁺	PO ₄ ³⁻	NID	N:P
E1	21.9	7.1	0.2	0.9	0.5	0.9	1.5	1.8
E2	20	7.0	0.2	1.1	0.5	0.8	1.8	2.2
E4	21.2	7.0	0.3	1.1	0.5	0.9	3.9	4.3
E5	20.5	6.4	0.3	1.5	0.5	0.7	2.3	3.1
E6	20.9	7.0	0.2	0.6	0.5	0.7	1.3	1.7
Media	20.9	6.9	0.24	1.0	0.5	0.8	2.1	2.6
d.e.*	0.7	0.3	0.05	0.3	0.0	0.1	1.0	1.0

*desviación estándar

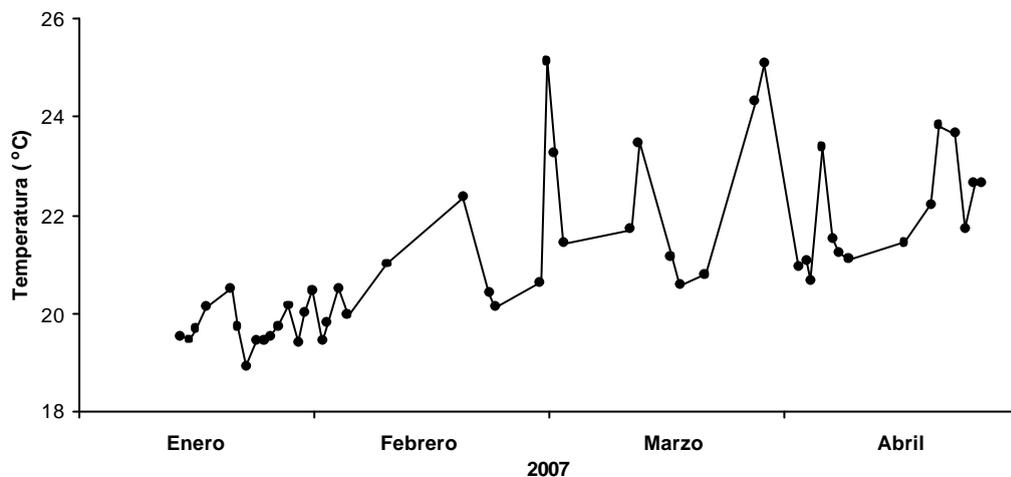


Figura 12. Temperatura superficial (promedio diario, 24.45 N, 110.5 W) de la Bahía de La Paz de enero a abril del 2007 (Programa CoastWatch de la National Oceanic and Atmospheric Administration, <http://coastwatch.pfeg.noaa.gov/coastwatch>).

8.4.2 Toxinas paralizantes en muestras de red y moluscos bivalvos

Los análisis de TP en muestras de red demuestran la presencia de toxinas del grupo sulfocarbamatadas (toxinas B1, C1 y C2), carbamatadas (saxitoxina, neosaxitoxina y goniatoxinas 2 y 3) y decarbamatadas (decarbamoilgoniatoxina-3). Claramente existió una presencia mayor del primer grupo que representaron > 68% molar en todas las estaciones (Tabla 6). Se detectó mayor número de toxinas en las estaciones E1 y E6 con respecto a las otras y la gran variación en los porcentajes de contribución de las diversas toxinas entre todas las estaciones. Destaca que en dos estaciones (E1 y E5) las toxinas de mayor potencia, STX y neoSTX, contribuyeron con 3.40 y 31.09 % molar para STX, respectivamente y 25.33 % molar para neoSTX en la E5.

En ningún caso la concentración de toxinas de los moluscos fue superior a lo señalado por la Norma Oficial Mexicana (NOM-129-SSA1-1995) para el consumo humano ($80 \mu\text{g STXeq } 100 \text{ g}^{-1}$ de tejido) (Tabla 7). A pesar de no haber analizado la misma especie de molusco en cada uno de los lugares de muestreo durante el evento y de que se muestreó en fechas diferentes se puede resaltar: a) en general baja toxicidad, b) pequeña variabilidad en la toxicidad total entre las diversas

especies muestreadas en la misma fecha y estación (ie. Estación 4), c) baja toxicidad y pequeña variabilidad entre las diferentes especies de moluscos a pesar de haberse muestreado en diferentes fechas con excepción de *M. auriantaca* y d) una tendencia de disminución en la toxicidad al final del evento.

Tabla 6. Porcentaje molar de toxinas paralizantes en muestras de fitoplancton recolectadas con red de fitoplancton de diversas localidades de la Bahía de La Paz durante un FAN de *Gymnodinium catenatum* (marzo 7, 2007).

	E1	E2	E4	E5	E6
STX	3.40	-	-	31.09	5.04
NeoSTX	25.33	-	-	-	-
GTX2	0.61	-	-	-	5.37
GTX3	-	-	-	-	3.56
dcGTX3	1.09	-	-	-	-
B1	-	-	-	-	5.43
C1	15.75	35.94	37.02	-	16.96
C2	53.82	64.36	62.98	68.91	63.64

- No detectada

Tabla 7. Toxicidad total ($\mu\text{g STXeq } 100 \text{ g}^{-1}$) en moluscos colectados en la Bahía de La Paz de enero a marzo de 2007 durante un FAN de *Gymnodinium catenatum*.

Estación	Especie de molusco	Fecha de muestreo (2007) día/mes	Toxicidad $\mu\text{g STX}$ $\text{eq } 100 \text{ g}^{-1}$
E1	<i>Dosinia ponderosa</i>	15/03	9.39
	<i>Periglypta multicostata</i>	15/03	10.14
E2	<i>Megapitaria squalida</i>	07/03	12.21
		15/03	4.48
	<i>Dosinia ponderosa</i>	15/03	4.96
E3	<i>Pinna rugosa</i>	09/03	37.74
E4	<i>Modiolus capax</i>	07/03	31.34
	<i>Megapitaria squalida</i>	07/03	10.73
	<i>Modiolus capax</i>	07/03	25.88
E7	<i>Dosinia ponderosa</i>	15/01	0.40
		12/02	9.62
		08/03	5.72
		15/03	3.80
	<i>Megapitaria squalida</i>	15/03	3.00
E8	<i>Megapitaria aurantiaca</i>	16/03	25.89
		20/03	2.98
	<i>Pinna rugosa</i>	27/03	2.24

En la Tabla 8 se muestran los resultados del perfil de toxinas en las diversas especies de moluscos. Claramente se observa que en general existió una dominancia de las toxinas tipo C, seguidas del grupo de las decarbatadas (dcSTX, dcGTX2 y 3). También estuvieron presentes las carbatadas particularmente la GTX2 y 3. De este último grupo, se observa que la STX y la neoSTX aunque presentes, su proporción fue baja e irregular. Un análisis agrupando las toxinas de

acuerdo al grupo funcional presente en la posición R4 de la molécula, muestra que existe una relación negativa entre la presencia de las toxinas decarbamatadas y las carbamatadas con respecto a las sulfocarbamatadas (Figuras 13 a y b). La relación entre los dos primeros grupos no fue significativa (Figura 13 c).

Tabla 8. Porcentaje molar de cada tipo de toxina en diversas especies de moluscos durante el FAN de *Gymnodinium catenatum* de la Bahía de La Paz

Estación	Especie	Fecha colecta (2007) día/mes	STX	neoSTX	GTX2	GTX3	dcSTX	dcGTX2	dcGTX3	B1	B2	C1	C2
E1	<i>Dosinia ponderosa</i>	15/03	-	-	5.92	3.65	6.03	3.56	9.50	-	-	43.01	28.32
	<i>Periglypta multicosata</i>	15/03	-	-	15.19	-	49.24	29.05	6.52	-	-	-	-
E2	<i>Megapitaria squalida</i>	07/03	1.30	-	2.52	1.69	1.00	0.59	2.29	-	19.43	38.15	33.02
		15/03	2.28	-	13.81	-	16.19	9.55	2.55	-	-	35.98	19.64
	<i>Dosinia ponderosa</i>	15/03	-	-	-	-	14.72	8.68	3.69	-	-	50.42	22.48
E3	<i>Pinna rugosa</i>	09/03	-	-	7.83	-	5.64	3.33	2.53	0.79	-	27.80	52.07
E4	<i>Modiolus capax</i>	07/03	0.66	4.85	1.81	0.81	1.42	0.84	1.69	-	5.96	42.09	39.88
	<i>Megapitaria squalida</i>	07/03	1.12	-	2.13	1.66	1.94	1.14	1.73	0.16	26.77	35.88	27.47
	<i>Modiolus capax</i>	07/03	0.66	3.54	2.25	0.53	-	-	-	0.22	0.11	85.61	7.08
E7	<i>Dosinia ponderosa</i>	15/01	-	-	-	-	-	-	-	21.45	-	35.52	43.02
		12/02	4.21	15.79	5.47	-	6.89	4.06	5.51	1.38	-	30.49	26.21
		08/03	1.63	-	4.24	-	-	-	4.33	0.85	-	30.40	58.55
		15/03	-	-	-	-	16.21	9.51	3.07	-	-	47.57	23.59
	<i>Megapitaria squalida</i>	15/03	-	-	12.70	10.71	-	-	-	-	-	51.40	25.19
E8	<i>Megapitaria aurantiaca</i>	16/03	4.75	12.50	22.06	3.05	18.80	11.09	3.35	1.38	20.91	-	2.11
		20/03	-	-	18.33	4.36	17.29	10.20	5.91	-	-	26.58	17.33

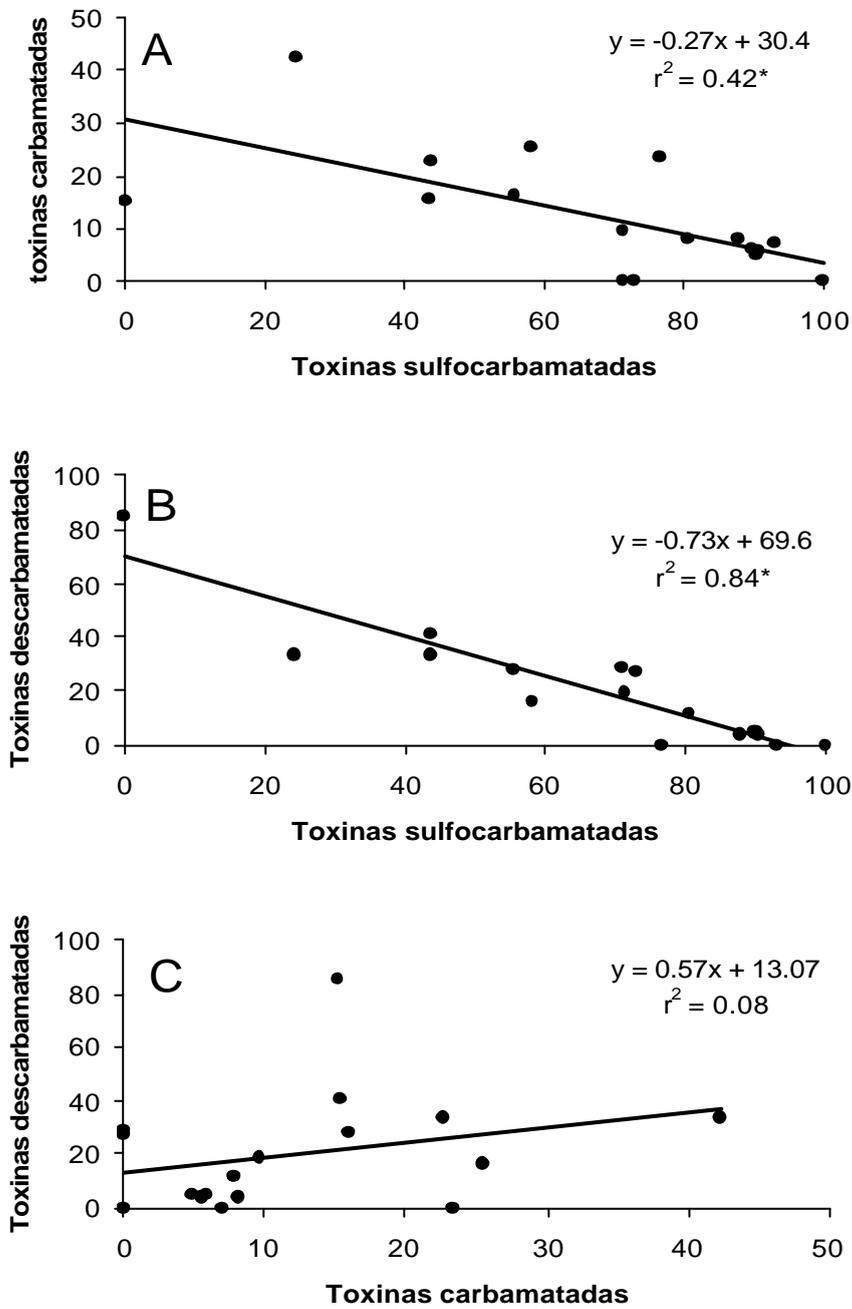


Figura 13. Relación lineal entre los diversos tipos de toxinas paralizantes (% molar) de diversas especies de moluscos A) correlación de toxinas carbamatadas y sulfocarbamatadas; B) correlación de toxinas descarbamatadas y sulfocarbamatadas; C) correlación de toxinas descarbamatadas y carbamatadas; *relación significativa ($\alpha = 0.01$).

8.5. Trabajo experimental. Cultivo de cepas de *Gymnodinium catenatum* de Bahía de La Paz y Bahía de Mazatlán a diferentes proporciones N:P

8.5.1. Cultivos de lote (batch)

Las cepas de *G. catenatum* cultivadas bajo las diversas proporciones de N:P presentaron una curva de crecimiento con una corta fase de adaptación y una fase logarítmica hasta el día 6 y/o 8 de cultivo. No se observó la fase estacionaria en todas las cepas ni tratamientos, decayendo la densidad celular rápidamente después de la fase logarítmica. El rango de la densidad celular varió de 120 a 4000 céls mL⁻¹, con la máxima densidad en la proporción 64:1 con 4000 céls mL⁻¹ en la cepa de BAPAZ-7 (Anexo 1, Figura 1).

Debido al desfaseamiento de los cultivos y las diferentes proporciones N:P utilizados no se logró iniciar las curvas de crecimiento con la misma densidad celular. Por consiguiente, se tuvo que realizar un ajuste y estandarizar la densidad celular para observar de manera comparativa el efecto de las diferentes proporciones N:P en el crecimiento de *G. catenatum* de la BAPAZ y la BAMAZ. Por este motivo, se dividió la densidad celular del día 2 entre la densidad celular inicial entre el número de días de la toma de muestra y se calculó el cambio celular relativo.

El comportamiento del cambio celular relativo en la proporción N:P (4:1) mostró un crecimiento máximo de la cepa de BAPAZ-5 de 2.9 ± 0.42 veces, las demás cepas se mantuvieron entre 0.90 ± 0.26 a 1.53 ± 0.27 (Figura 14). Los análisis estadísticos muestran que la cepa BAMAZ-5 presentó diferencias significativas respecto a su crecimiento con las otras cepas (BAPAZ-7, BAMAZ-2 y GCMQ-4, $p < 0.05$). Además se registraron diferencias significativas entre las cepas de la BAPAZ y la BAMAZ ($p < 0.05$).

Por otro lado, la proporción 8:1 presentó un incremento celular relativo máximo en la cepa BAPAZ-7 (1.92 ± 0.51) para el día 6 (Figura 14). El cambio celular se mantuvo de 0.31 ± 0.07 a 1.31 ± 0.53 . Los análisis estadísticos mostraron diferencias significativas en sus tasas de incremento celular entre las cepas de ambas bahías ($p < 0.05$), por otro lado, la cepa BAPAZ-7 presentó diferencias significativas con el resto de las cepas ($p < 0.05$).

La proporción 16:1 mostró que el máximo incremento celular se dió en la cepa GCMQ-4 (3.43 ± 0.19) (Figura 14). Los análisis estadísticos mostraron que no existe diferencias significativas con respecto a su crecimiento entre las cepas de BAPAZ y BAMAZ ($p > 0.05$), sin embargo, sí presentaron diferencias significativas entre las cepas de BAMAZ ($p < 0.05$).

La proporción 32:1 presentó el mayor incremento celular relativo en la cepa BAPAZ-7 (3.10 ± 1.12) para el día 6 (Figura 14). El promedio celular se mantuvo de 0.55 ± 0.12 a 1.62 ± 0.06 . Los análisis estadísticos muestran diferencias significativas entre las cepas de ambas bahías ($p < 0.05$), por otro lado, la cepa BAPAZ-7 presentó diferencia significativa con BAPAZ-5 ($p < 0.05$) y las dos cepas de la BAMAZ ($p < 0.05$).

El comportamiento del incremento celular relativo en la proporción 64:1 nos mostró un crecimiento máximo de la cepa de BAPAZ-5 con 4.53 ± 1.27 veces, las demás cepas se mantuvieron entre 0.44 ± 0.01 y 2.28 ± 0.56 (Figura 14). Los análisis estadísticos muestran que la cepa BAMAZ-5 presentó diferencias significativas con respecto a su crecimiento con las tres cepas (BAPAZ-7, BAMAZ-2 y GCMQ-4, $p < 0.05$). Con la proporción 64:1 se registró diferencias estadísticas con respecto al crecimiento entre las cepas de la BAPAZ y la BAMAZ ($p < 0.05$).

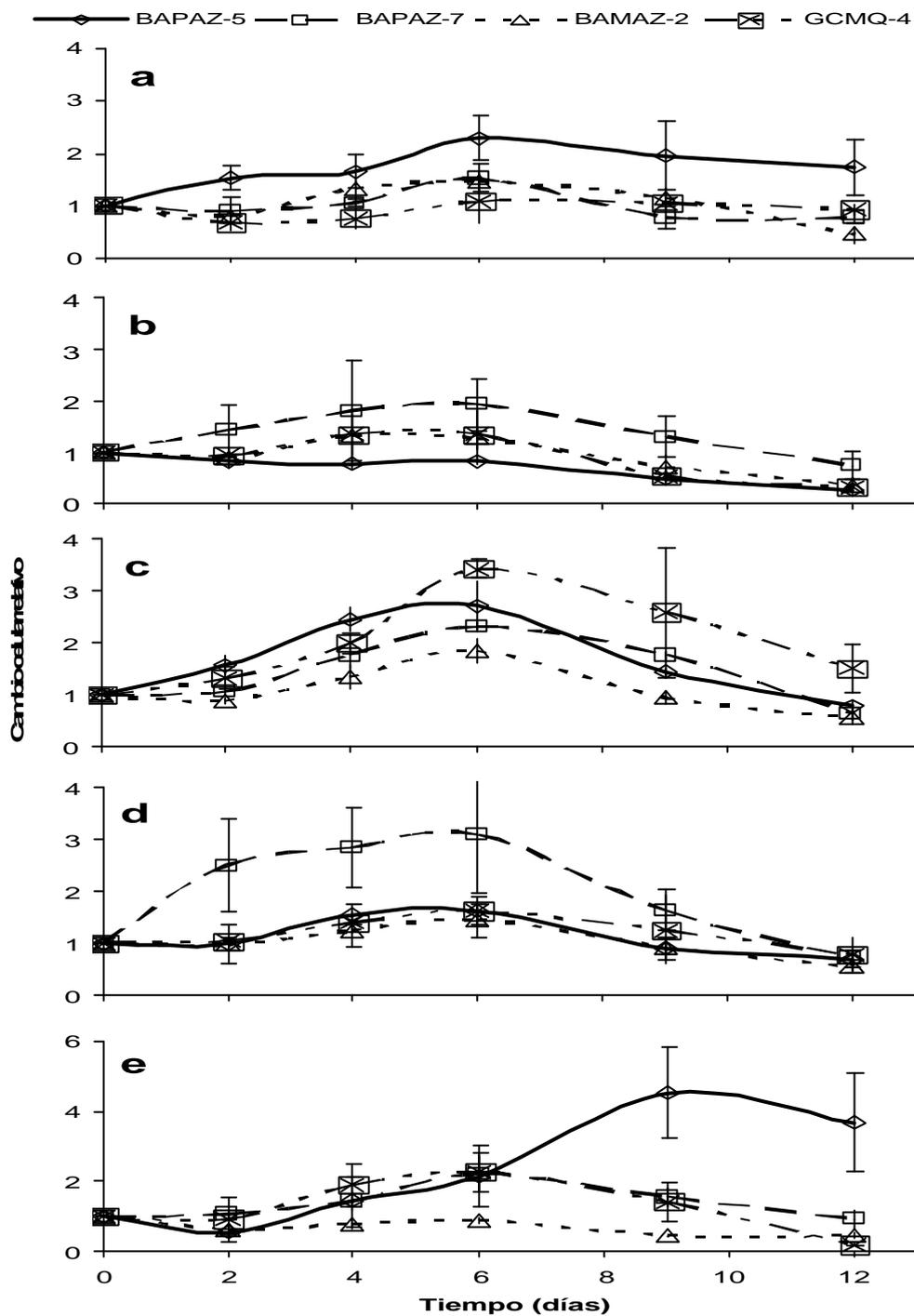


Figura 14. Cambio celular relativo de *Gymnodinium catenatum* cultivada con diferentes proporciones N:P (a) 4:1; b) 8:1; c) 16:1; d) 32:1; e) 64:1) en cultivos de lote.

8.5.1.1 Tasa de crecimiento

Se determinó el efecto en cultivos de lote de la proporción N:P en las tasas de crecimiento de las cepas de la BAPAZ y la BAMAZ. Se observó que en la proporción 4:1 la cepa BAPAZ-5 presentó la mayor tasa de crecimiento ($0.23 \pm 0.018 \text{ div día}^{-1}$). Sin embargo, tuvo un amplio rango de variación entre 0.14 ± 0.014 a $0.23 \pm 0.018 \text{ div día}^{-1}$ en las diferentes cepas (Figura 15). Los análisis estadísticos muestran que la cepa BAPAZ-5 presentó diferencias significativas con las cepas de BAMAZ ($p < 0.05$). En cuanto a las cepas de ambas localidades no hubo diferencias significativas con respecto a la tasa de crecimiento ($p < 0.05$).

En la proporción 8:1 la mayor tasa de crecimiento se observó en la cepa BAMAZ-2 ($0.21 \pm 0.096 \text{ div día}^{-1}$), el rango se mantuvo de 0.083 ± 0.01 a $0.21 \pm 0.096 \text{ div día}^{-1}$ (Figura 15). No hubo diferencia significativa entre las cepas de ambas bahías ($p > 0.05$).

La proporción N:P 16:1 en la cepa BAPAZ-5 ($0.28 \pm 0.027 \text{ div día}^{-1}$) y GCMQ-4 ($0.29 \pm 0.024 \text{ div día}^{-1}$) presentaron las máximas tasas de crecimiento (Figura 15). Los resultados estadísticos muestran diferencia significativa entre cepas independientemente de su origen ($p < 0.05$).

Por otro lado, la proporción 32:1 nos muestra la máxima tasa de crecimiento en la cepa BAPAZ-7 ($0.34 \pm 0.057 \text{ div día}^{-1}$) (Figura 15). Los análisis estadísticos muestran diferencia significativa entre cepas de la BAPAZ y la BAMAZ ($p < 0.05$).

La proporción N:P 64:1 presentó su máxima tasa de crecimiento en la cepa BAPAZ-5 ($0.32 \pm 0.035 \text{ div día}^{-1}$). Sin embargo, el rango se mantuvo de 0.094 ± 0.017 a $0.32 \pm 0.035 \text{ div día}^{-1}$ (Figura 15). Los análisis estadísticos muestran que la cepa BAPAZ-5 presentó diferencias significativas con el resto de las cepas ($p < 0.05$). En cuanto a las cepas de ambas localidades los análisis estadísticos muestran diferencias significativas con respecto a la tasa de crecimiento ($p < 0.05$).

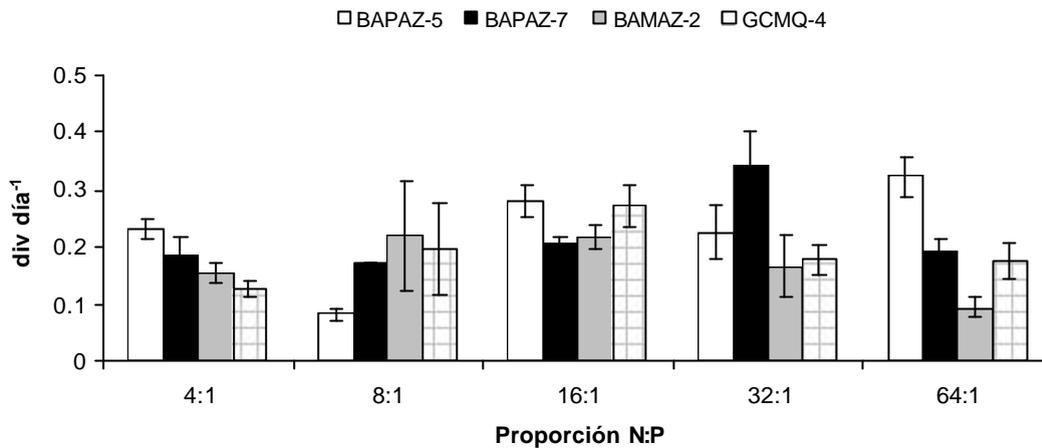


Figura 15. Tasa de crecimiento máxima de las distintas cepas de *Gymnodinium catenatum* de la Bahía de La Paz y la Bahía de Mazatlán con diferentes proporciones N:P.

8.5.1.2 Tasas de asimilación de nitratos, amonio y fosfatos

El consumo de nitratos de las cepas de *G. catenatum* de la BAPAZ y la BAMAZ, presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$). Las cepas de la BAPAZ (BAPAZ-5 y BAPAZ-7) son las que alcanzaron las máximas tasas de consumo de nitratos (4.01 ± 0.92 y 3.60 ± 0.45 pmol cél⁻¹ h⁻¹, respectivamente) (Figura 16a). Ambas cepas presentaron un incremento en el consumo de nitratos con la concentración de 5-10 μ M (de 0.75 ± 0.14 a 1.40 ± 0.71 pmol cél⁻¹ h⁻¹), y un decremento a partir de la concentración de 30-50 μ M (1.20 ± 0.57 y 0.80 ± 0.51 pmol cél⁻¹ h⁻¹). Las cepas de la BAPAZ no presentaron diferencias significativas entre sí ($p > 0.05$). Por otro lado, las cepas de la BAMAZ (BAMAZ-2 y GCMQ-4) alcanzaron el máximo consumo de nitratos a 20 μ M (2.15 ± 0.56 pmol cél⁻¹ h⁻¹) y 10 μ M (3.62 ± 0.17 pmol cél⁻¹ h⁻¹) (Figura 16a). Por otro lado, se observa que GCMQ-4 presenta una asimilación similar en todas las concentraciones.

En lo que respecta al consumo de amonio de las cepas BAPAZ-5 y BAPAZ-7 incrementaron el consumo de amonio al aumentar la concentración de amonio de 2 a 60 μ M (de 0.41 ± 0.30 a 9.18 ± 2.47 pmol cél⁻¹ h⁻¹ y de 1.75 ± 0.15 a 9.2 ± 3.40 pmol cél⁻¹ h⁻¹, respectivamente) (Figura 16b). Por otro lado, el consumo de amonio de las cepas de la BAMAZ osciló de 0.2 ± 0.09 a 4.73 ± 1.69 pmol cél⁻¹ h⁻¹ (Figura 16b). No

se detectó un patrón de incremento en la tasa de asimilación con mayores concentraciones de NH_4^+ . Nuevamente se observó una diferencia significativa en la tasa de asimilación de amonio entre las cepas de ambas bahías ($p > 0.05$).

Las cepas de la BAPAZ mostraron un bajo consumo de fosfatos con valores por debajo de $1 \text{ pmol cé}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (Figura 16c). Por lo general, el consumo de fosfatos de las cepas de la BAPAZ permanecieron constante, con un ligero incremento del consumo en la concentración de 15 y 30 μM en la cepa BAPAZ-5 (0.09 ± 0.035 a $0.75 \pm 0.03 \text{ pmol cé}^{-1} \text{ h}^{-1}$). Por otro lado, el consumo de fosfatos por la cepa de BAMAZ-2 permaneció constante en las concentraciones de 2 a 10 μM con valores de 2.19 ± 0.11 a $2.90 \pm 0.17 \text{ pmol cé}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (Figura 17c) y la cepa GCMQ-4 incrementó su consumo con el incremento de la concentración de fosfatos (de 1.97 ± 0.10 a $8.25 \pm 1.37 \text{ pmol cé}^{-1} \text{ h}^{-1}$) (Figura 16c). Los análisis estadísticos no mostraron diferencias significativas entre las cepas de la BAMAZ ($p > 0.05$). Sin embargo, si presentaron diferencias significativas en la asimilación de fosfatos entre las cepas de ambas localidades ($p < 0.05$).

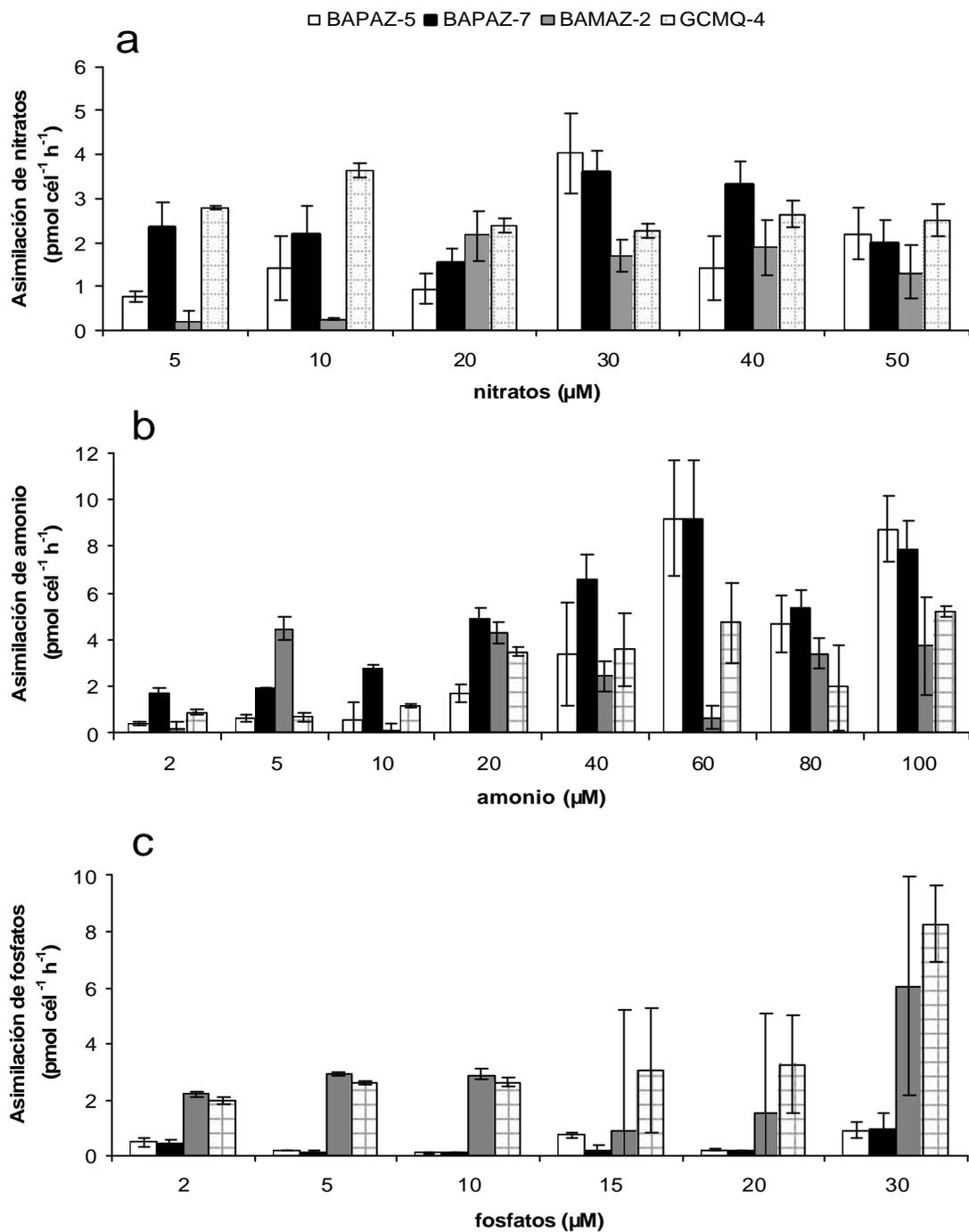


Figura 16. Tasa de asimilación promedio de nitratos (a), amonio (b) y fosfatos (c) de cepas de *Gymnodinium catenatum* de la Bahía de La Paz y la Bahía de Mazatlán como una función de la concentración de nutrientes.

8.5.2 Cultivos semicontinuos

Al cultivar las distintas cepas de *G. catenatum* con las diferentes proporciones N:P, en cultivo semicontinuo la densidad celular se mantuvo entre 500-4500 céls mL⁻¹ (Figura 17). La cepa BAPAZ-5 mantuvo su densidad celular promedio entre 498 ± 275 a 2814 ± 212 céls mL⁻¹ en las proporciones 8:1 y 4:1, respectivamente (Figura 17). Mientras que las máximas densidades promedios observados en la cepa BAPAZ-7 se registraron en las proporciones 64:1 y 4:1 (4380 ± 1127 y 1673 ± 559 céls mL⁻¹, respectivamente) (Figura 17). Por otro lado, la cepa BAMAZ-2 registró sus máximas densidades en las proporciones 64:1 y 32:1 (3988 ± 1105 y 2157 ± 347 céls mL⁻¹, respectivamente) (Figura 17). El rango de densidad promedio observada en la cepa GCMQ-4 fue de 629 ± 320 a 1677 ± 693 céls mL⁻¹ (Figura 17).

Los análisis estadísticos muestran que en la proporción 4:1, solo las cepas de la BAMAZ no presentan diferencias significativas entre ellas ($p > 0.05$), pero ambas presentan diferencias significativas con las cepas de la BAPAZ ($p > 0.05$), inclusive las cepas de la BAPAZ presentan diferencia significativa entre ellas ($p > 0.05$). Por otro lado, en la proporción 8:1 solo la cepa GCMQ-4 no presentó diferencia significativa con las cepas de la BAPAZ (BAPAZ-5 y BAPAZ-7) ($p > 0.05$), sin embargo, la cepa BAMAZ-2 registró diferencias con las dos cepas de la BAPAZ ($p < 0.05$). Incluso las cepas de la BAPAZ presentaron diferencias entre sí ($p < 0.05$). La proporción 16:1 nos muestra que la cepa GCMQ-4 no presenta diferencia significativa con las cepas de la BAPAZ ($p > 0.05$) y las cepas de la BAPAZ no muestran diferencias entre ellas ($p > 0.05$). Para el caso de la proporción 32:1 la cepa BAMAZ-2 no registró diferencias con las cepas de la BAPAZ ($p > 0.05$). Los resultados estadísticos nos muestran que no presentaron diferencias significativas las cepas BAPAZ-7 y BAMAZ-5 en la proporción 64:1 ($p > 0.05$).

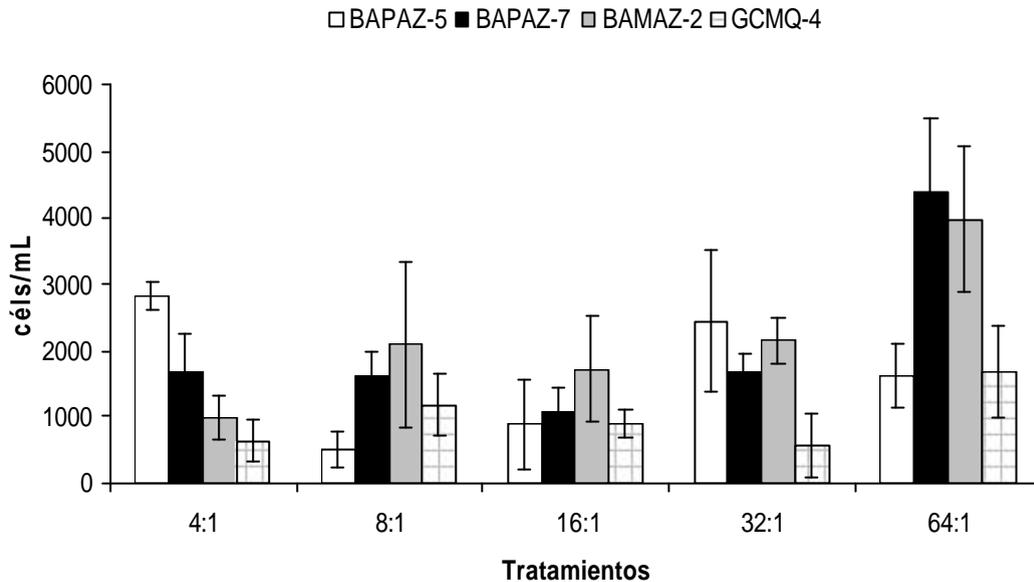


Figura 17. Densidad celular máxima (datos promedios) de *Gymnodinium catenatum* de la Bahía de La Paz (BAPAZ-7 y BAPAZ-5) y la Bahía de Mazatlán (GCMQ-4 y BAMAZ-2) crecida con diferentes proporciones N:P (4:1, 8:1, 16:1, 32:1 y 64:1) en cultivo semicontinuo.

8.5.2.1 Toxicidad (pg cél⁻¹ y pg STXeq cél⁻¹) de cepas de *Gymnodinium catenatum*

Los valores de toxicidad promedio para la cepa de BAPAZ-5 variaron entre 71.01 ± 12.70 y 177.84 ± 28.89 pg cél⁻¹ en los tratamientos 32:1 y 16:1, respectivamente (Figura 18a). Por otro lado, la mayor toxicidad expresada (en STXeq) fue en la proporción 16:1 con 41.04 ± 21.64 pg STXeq cél⁻¹ (Figura 18b). Los análisis estadísticos mostraron diferencias significativas en la toxicidad (expresada como pg cél⁻¹) y los pg STXeq cél⁻¹ en el cultivo con la proporción 16:1 ($p < 0.05$) con respecto a las demás proporciones.

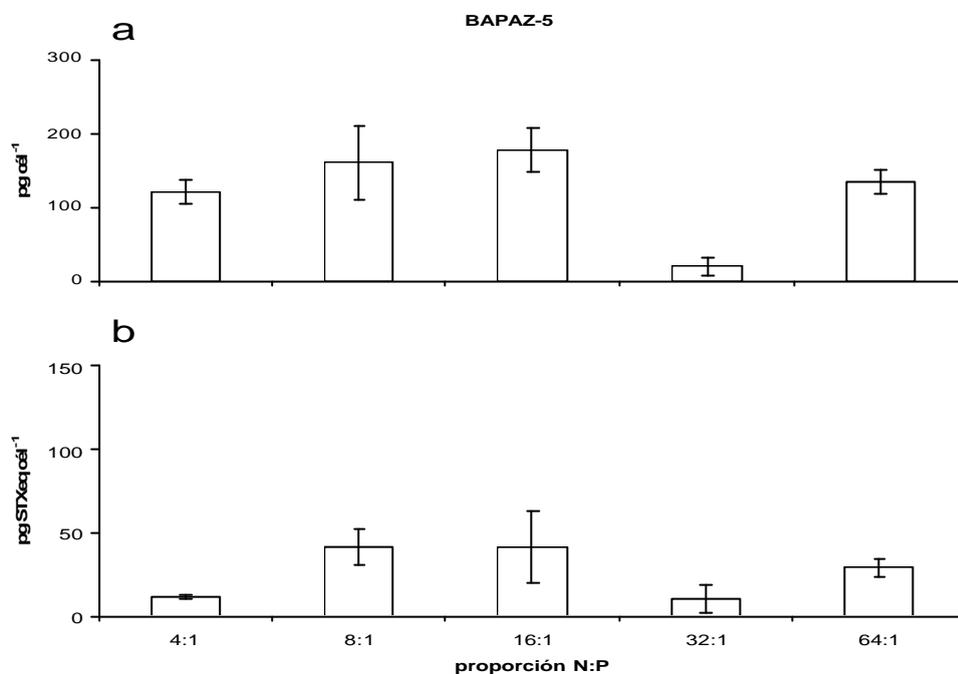


Figura 18. Toxicidad promedio pg cél⁻¹ (a) y pg STXeq cél⁻¹ (b) promedio de *Gymnodinium catenatum* cepa (BAPAZ-5) crecida con diferentes proporciones N:P (4:1, 8:1, 16:1, 32:1 y 64:1) en cultivo semicontinuo.

La cepa de BAPAZ-7 presentó los promedios máximos de toxicidad (expresada como pg cél⁻¹) en la proporción N:P 16:1 con 262.83 ± 105 pg cél⁻¹ (Figura 19a), no se registró diferencia significativa entre las proporciones ($p > 0.05$). Por otro lado, no existieron diferencias significativas en la toxicidad (pg cél⁻¹) al cultivarla en las diferentes proporciones de N:P ($p > 0.05$). El rango de los promedios de toxicidad expresada como pg STXeq/cél fueron de 23.19 ± 9.70 a 44.16 ± 7.54 pg STXeq cél⁻¹ en las proporciones 64:1 y 8:1, respectivamente (Figura 19b). Los resultados del análisis estadístico no mostraron diferencia significativa en la toxicidad entre las proporciones de N:P ($p > 0.05$).

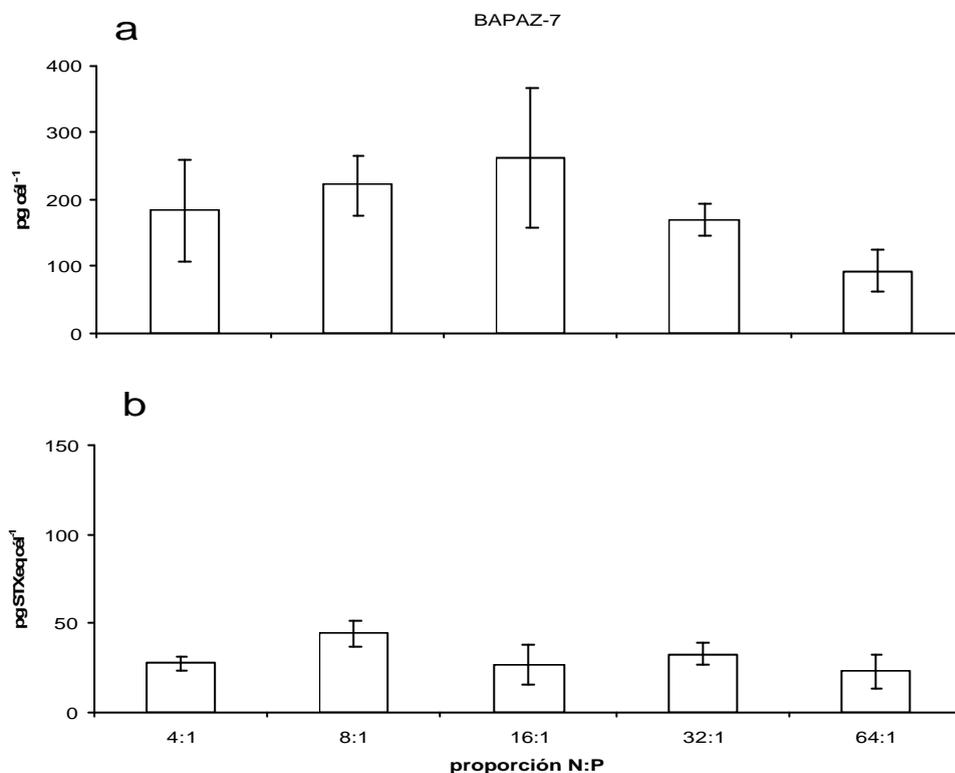


Figura 19. Toxicidad promedio pg cel⁻¹ (a) y pg STXeq cel⁻¹ (b) promedio de *Gymnodinium catenatum* cepa (BAPAZ-7) crecida con diferentes proporciones N:P (4:1, 8:1, 16:1, 32:1 y 64:1) en cultivos semicontinuo.

Los valores promedio de toxicidad (expresada como pg cel⁻¹) para la cepa de BAPAZ-2 fueron de 11.81 ± 6.85 a 89.50 ± 52.20 pg cel⁻¹ en los tratamientos 4:1 y 16:1, respectivamente (Figura 20a). Por otro lado, la mayor toxicidad expresada en pg STXeq cel⁻¹ fue en la proporción 16:1 con 68.35 ± 52.60 pg STXeq cel⁻¹ (Figura 20b). Los análisis estadísticos no muestran diferencia significativa para la toxicidad (pg cel⁻¹) entre las diferentes proporciones N:P ($p > 0.05$). Sin embargo, sí presentó diferencia significativa en la toxicidad expresada como pg STXeq cel⁻¹ entre las proporciones N:P 8:1 y 32:1 con el resto de las proporciones N:P probadas ($p < 0.05$).

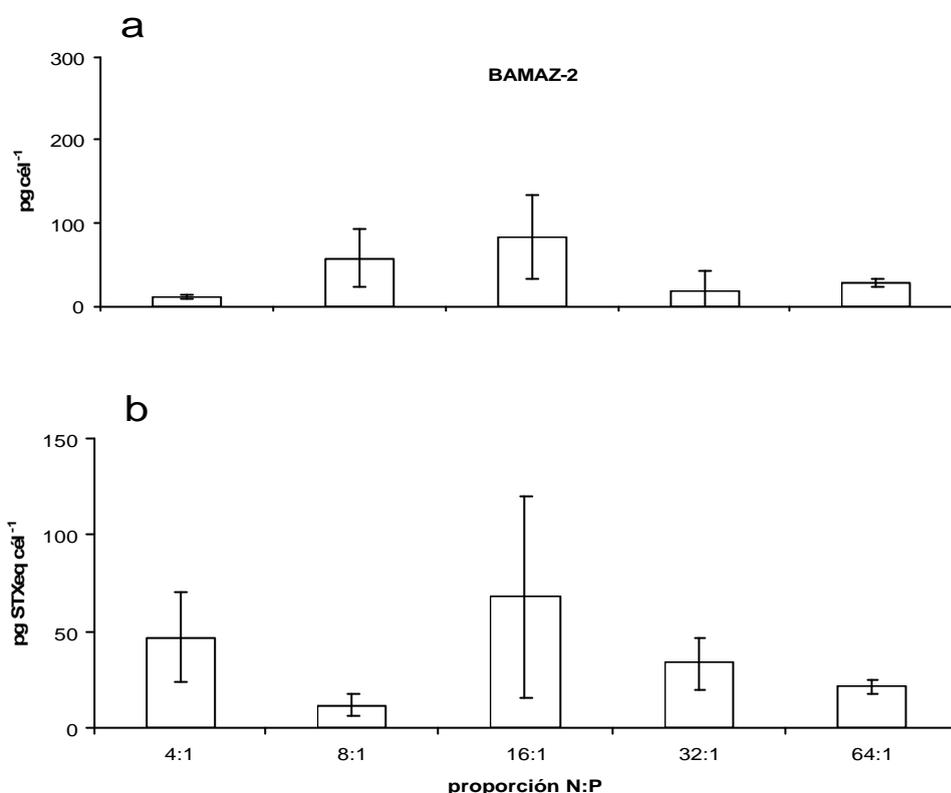


Figura 20. Toxicidad promedio pg cél^{-1} (a) y pg STXeq cél^{-1} (b) promedio de *Gymnodinium catenatum* cepa (BAMAZ-2) crecida con diferentes proporciones N:P (4:1, 8:1, 16:1, 32:1 y 64:1) en cultivos semicontinuos.

Los valores máximos de toxicidad expresada como pg cél^{-1} para la cepa GCMQ-4 fue $230.17 \pm 76.92 \text{ pg cél}^{-1}$ en la proporción 16:1 (Figura 21a). En general, la toxicidad (pg cél^{-1}) para esta cepa no presentó una clara variación durante el periodo de experimentación en los tratamientos 8:1, 16:1 y 32:1, excepto para los casos extremos de las proporciones 4:1 y 64:1 (Figura 21a). Los resultados de toxicidad expresados como pg STXeq cél^{-1} presenta un máximo en la proporción 8:1 ($39.96 \pm 18.05 \text{ pg STXeq cél}^{-1}$) (Figura 21b). Los análisis estadísticos muestran que para la cepa GCMQ-4 no se registró diferencias significativas en la toxicidad total (pg cél^{-1}) entre las proporciones N:P ($p < 0.05$). Sin embargo, la proporción 8:1 presentó diferencia significativa contra el resto de las proporciones ($p < 0.05$).

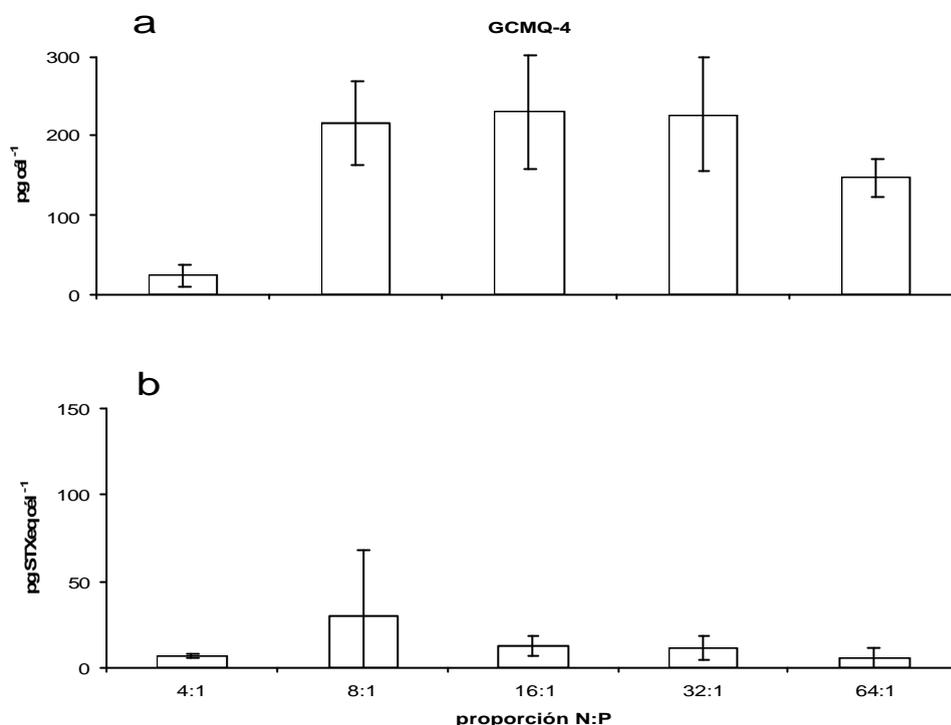


Figura 21. Toxicidad promedio pg cél⁻¹ (a) y pg STXeq cél⁻¹ (b) promedio de *Gymnodinium catenatum* cepa (GCMQ-4) crecida con diferentes proporciones N:P (4:1, 8:1, 16:1, 32:1 y 64:1) en cultivos semicontinuos.

8.5.2.2 Perfil de toxinas de *Gymnodinium catenatum*

Los análisis de las toxinas de *G. catenatum* demostraron la presencia del grupo de las toxinas sulfocarbamatadas (B1, B2, C1 y C2), decarbamatadas (dcSTX, dcGTX2 y dcGTX3) y carbamatadas (STX, neoSTX, GTX2 y GTX3). En la cepa GCMQ-4 se observó un incremento de las toxinas sulfocarbamatadas (de 56% a 84%) con la proporción N:P de 4:1 a 16:1 (Figura 22a), y una disminución de las toxinas carbamatadas y decarbamatadas (de 28 a 10 % y de 15 a 5 %, respectivamente). Los análisis estadísticos muestran diferencia significativa en la composición del porcentaje molar entre las proporciones N:P ($p < 0.05$) en ésta cepa.

Los porcentajes molares registrados para la cepa BAMAZ-2, se muestran en la figura 22b, observándose claramente un elevado porcentaje molar de las toxinas sulfocarbamatadas (de 72 a 87%) en las cinco proporciones N:P experimentadas, seguida de las decarbamatadas (de 2 a 18%) y las carbamatadas (de 2 a 27%). Los análisis estadísticos para las toxinas sulfocarbamatadas muestran que hubo diferencia significativa de los porcentajes molares de toxinas en función con la proporción de N:P de los cultivos ($p < 0.05$), mientras que las toxinas decarbamatadas presentaron diferencias significativas las proporciones 4:1 y la 16:1 con el resto de las proporciones ($p < 0.05$). Las toxinas carbamatadas presentaron diferencias significativas la proporción N:P 4:1 y 16:1 con el resto de las proporciones ($p < 0.05$).

Los porcentajes molares registrados para la cepa BAPAZ-5, mostraron un elevado porcentaje molar de las toxinas sulfocarbamatadas (de 66 a 92%), seguida de las decarbamatadas (de 0.87 a 21%) y las carbamatadas (de 7.02 a 18%) (Figura 22d). Los análisis estadísticos mostraron para las toxinas sulfocarbamatadas diferencias significativa únicamente en las proporciones 16:1 y 32:1 con el resto de las proporciones N:P ($p < 0.05$). Las toxinas decarbamatadas tuvieron diferencia significativa en la proporción N:P 8:1 con el resto de las proporciones ($p > 0.05$) y las toxinas carbamatadas la proporción 4:1 presentó diferencia con el resto de las proporciones N:P ($p < 0.05$).

La cepa BAPAZ-7 tuvo un incremento de las toxinas sulfocarbamatadas con la proporción N:P (de 77% a 95%) de la proporción N:P 4:1 a la 16:1. Las toxinas decarbamatadas presentaron un patrón irregular (de 1.44 a 12 %) y las toxinas carbamatadas una disminución con la proporción N:P de la 4:1 a la 32:1 de 18% a 9% (Figura 22c). Los análisis estadísticos demostraron que existieron diferencias significativas en la proporción de toxinas entre las proporciones N:P ($p < 0.05$).

De manera general el análisis estadístico de la composición del porcentaje molar mostró diferencia significativa de la cepa GCMQ-4 con el resto de las cepas ($p < 0.05$). Por otro lado, sólo en las proporciones 32:1 y 64:1 se registró diferencia significativa con el resto de las proporciones N:P ($p < 0.05$).

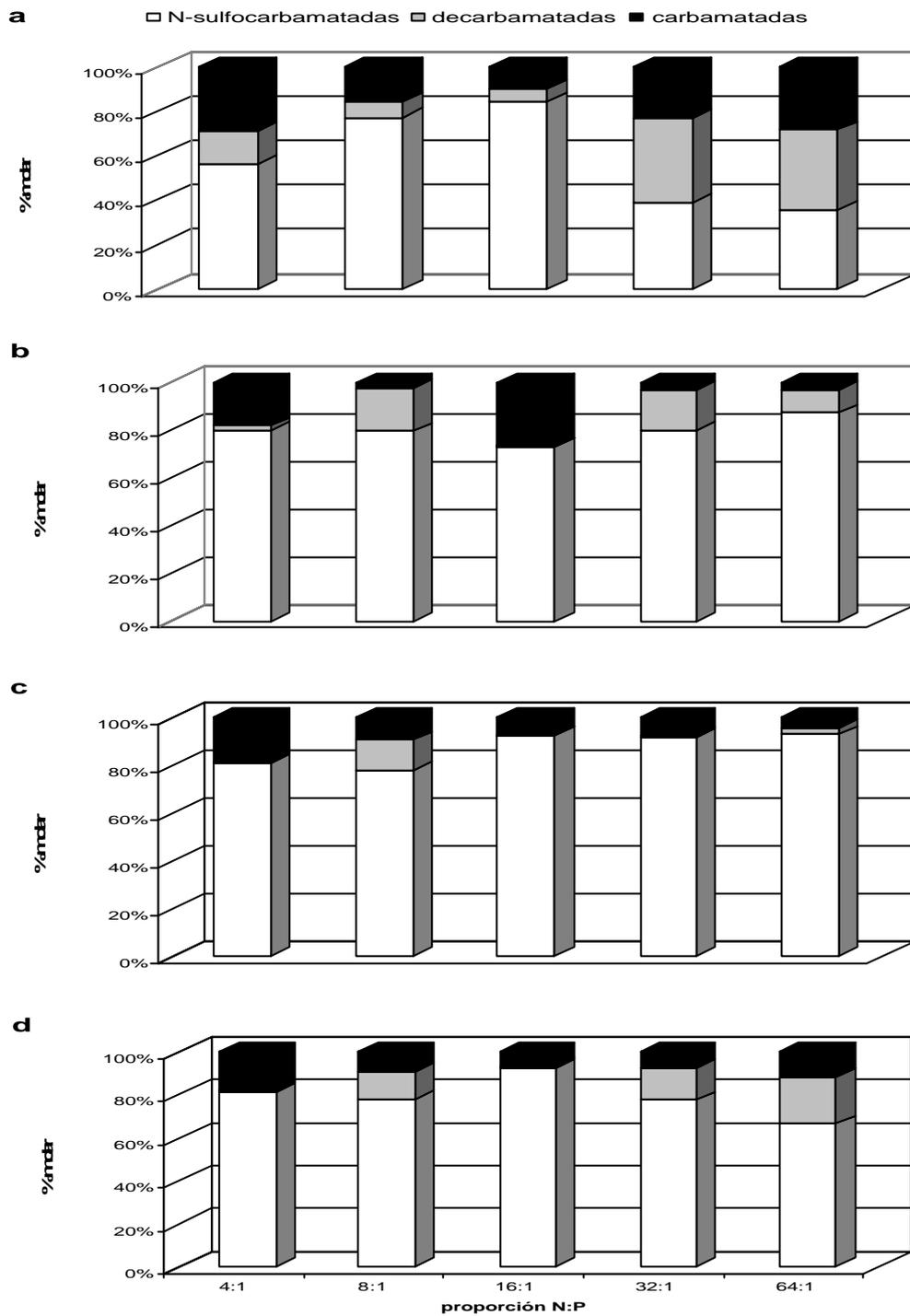


Figura 22. Toxinas paralizantes (% molar) en cepas de *Gymnodinium catenatum* de la Bahía de Mazatlán (GCMQ-4 y BAMAZ-2) (a y b, respectivamente) y de la Bahía de La Paz (BAPAZ-5 y BAPAZ-7) (c y d, respectivamente) crecida con diferentes proporciones N:P (4:1, 8:1, 16:1, 32:1 y 64:1) en cultivo semicontinuo.

9. Discusión

En BAPAZ los valores de temperatura y oxígeno disuelto registrados en este trabajo fueron similares a los determinados por otros autores para aguas superficiales de la misma zona (Cervantes-Duarte & Guerrero-Godinez, 1988; De Silva-Dávila & Palomares-García, 2002; Reyes-Salinas *et al.*, 2003), con variaciones estacionales influenciados por los vientos dominantes del noroeste durante el periodo frío y sureste durante el cálido (Martínez-López *et al.*, 2001; Verdugo-Díaz, 2004). Nuestros resultados del índice de estratificación térmica demostraron esta estacionalidad de las condiciones hidrográficas, definiéndose dos periodos de transición y uno de mezcla. Cambios extremos definidos como anomalías térmicas también han sido detectados durante el verano por la incidencia de aguas de surgencias del Golfo de California (Granados-Guzmán & Álvarez-Borrego, 1984) y eventos de surgencias locales, generados por el efecto de los vientos del sureste, que fertiliza el agua superficial y en algunos meses genera proliferaciones masivas de fitoplancton (Gárate-Lizárraga *et al.*, 2001, 2006; López-Cortés *et al.*, 2006). Sin embargo, en este trabajo los dinoflagelados y en particular la abundancia de *G. catenatum* fue considerablemente baja con valores $< 3.0 \times 10^3$ céls L⁻¹ demostrando que, entre otros aspectos, las condiciones térmicas registradas en este trabajo fueron propicias para su presencia. En diferentes zonas del Pacífico Mexicano se han registrado FAN en intervalos de temperatura de 14.0 a 33.0 °C (Band-Schmidt *et al.*, en prensa). Es posible que la capacidad eurtérmica de esta especie le permita habitar en diferentes ecosistemas costeros. Además se ha documentado que *G. catenatum* tolera cambios bruscos térmicos permitiéndole dominar sobre otras especies de fitoplancton (Aguirre-Gómez *et al.*, 1999) y bajo ciertas condiciones ambientales formar FAN. Sin embargo, nuestros datos no muestran cambios térmicos o de nutrientes abruptos por lo que probablemente las condiciones no fueron las adecuadas para su proliferación masiva.

Los compuestos nitrogenados y de fósforo detectados en el presente estudio, estuvieron dentro del intervalo encontrado por otros autores para la misma zona (Tabla 9), mostrando amplia variación en el contenido de nitrógeno inorgánico disuelto que puede ser explicado principalmente por los cambios en las

concentraciones de nitratos y amonio. En algunas estaciones (E1, E2) los valores más altos de estos iones (1.0 a 3.0 μM) coinciden con la presencia de *G. catenatum* así como con valores de 1.5:1 a 5.0:1 de la proporción N:P. Hodgkiss & Ho (1997) y Ho *et al.* (2002) demostraron que los cambios en las proporciones N:P pueden ocasionar cambios en la comunidad del fitoplancton, provocando dominancia de algunas especies, incluso generando FAN. Es probable que los amplios cambios en la proporción N:P en la Bahía de La Paz modifiquen la dominancia de algunas especies entre las cuales pudiera estar *G. catenatum*, sin embargo, estos cambios no fueron detectados en el periodo de estudio.

Las proporciones N:P frecuentemente se asocian a la limitación o exceso de compuestos nitrogenados o de fósforo. Una baja proporción N:P implica limitación de nitrógeno y viceversa. Se ha establecido que la proporción óptima para el crecimiento del fitoplancton bajo condiciones naturales y experimentales es de 15:1 a 16:1 (Redfield, 1958). En este trabajo se determinaron en la mayor parte del año proporciones N:P < 5:1, con excepción de mayo de 2007 en las estaciones E1 a 50 m (20.2:1) y E2 (20:1) en superficie. Aunque la mayoría de las estaciones no superaron los límites de la proporción promedio de Redfield, pueden ser a futuro potencialmente zonas afectadas por eutrofización inducidas por el incremento de la infraestructura turística y actividades de acuicultura, que pueden alterar las proporciones N:P. De las condiciones observadas en 2006 y 2007 la baja proporción N:P refleja una limitación de nitrógeno en el medio (Pinckney *et al.*, 2001), probablemente esta sea una de las causas por la que no proliferó de forma masiva *G. catenatum*. Los estudios de laboratorio con cepas de *G. catenatum* aisladas de la Bahía de Hiroshima demostraron altas tasas de asimilación de amonio, nitratos y fosfatos (6.48, 3.37 y 1.42 $\text{pmol cé}^{-1} \text{h}^{-1}$, respectivamente) (Yamamoto & Tarutani, 1999; Yamamoto *et al.*, 2004), por lo cual estos resultados nos indican que *G. catenatum* en concentraciones bajas de nutrientes inorgánicos, esta en condiciones desfavorables en comparación con otras especies de fitoplancton.

Tabla 9. Promedios de temperatura, nutrientes (NO_2^- , NO_3^- , NH_4^+ , PO_4^{3-} , N:P) de diferentes sitios del Golfo de California donde se ha registrado *Gymnodinium catenatum*.

Sitio	Fecha	Temperatura (°C)	Nutriente (μM)					Numero de FAN	Referencia
			NO_2^-	NO_3^-	NH_4^+	PO_4^{3-}	N:P		
BAMAZ	1980 Invierno	ND	0.16	0.3	ND	0.83	0.6*	Mee <i>et al.</i> , 1984	
	1980 Verano	ND	0.15	0.4	ND	0.74	0.8*		
	1980 Anual superficial	ND	0.16	0.4	ND	0.79	0.7*		
	1980 Anual 1-10 m	ND	0.20	0.7	3.2	0.87	4.7 (1.0)		
	1983-1984 Invierno	ND	0.09	0.34	ND	0.19	2.3*	García de la Parra, 1992	
	1983-1984 Verano	ND	0.11	0.09	ND	0.32	0.6*		
	1983-1984 Anual superficial	ND	0.1	0.20	ND	0.26	0.2*		
	1983-1984 Anual 1-10 m	ND	ND	ND	ND	ND	ND		
	1995-1996 Invierno	ND	0.18	3.93	4.88	0.84	15.2 (4.9)	Alonso-Rodríguez, 1998	
	1995-1996 Verano	ND	0.08	0.91	5.57	0.68	25.9 (1.5)		
1995-1996 Anual superficial	ND	0.13	2.42	5.22	0.76	20.6 (3.4)			
1995-1996 Anual 1-10 m	ND	0.19	3.16	5.00	0.89	17.3 (3.1)			
BACO	2003 Anual 0-30 m	ND	ND	0.63 (0.05-6.1)	3.0 (0.00-14.8)	1.05 (0.00-8.7)		Datos no publicados	
CABO	2004-2005 Anual superficial	ND	ND	1.94 (0.04-13.1)	0.35 (0.03-1.9)	0.27 (0.05-0.75)			
BAPAZ	2005 Anual superficial	ND	ND	0.5 (0.1-4.8)	0.42 (0.1-4.0)	0.43 (0.1-1.8)			
BAMAZ	junio 2006 a mayo 2007 promedio superficial	26.8 ± 3.79	0.25 ± 0.15	0.85 ± 1.09	1.20 ± 1.20	0.49 ± 0.25	4.95 ± 2.68	Este estudio	
	Invierno 2007 promedio superficial	23.6 ± 2.29	0.28 ± 0.13	0.82 ± 1.02	1.08 ± 0.57	0.54 ± 0.13	3.79 ± 1.57		
BAPAZ	junio 2006 a mayo 2007 promedio superficial	24.8 ± 3.79	0.145 ± 0.08	0.50 ± 0.48	1.12 ± 0.85	0.80 ± 1.41	2.98 ± 2.92		
	Invierno 2007 promedio superficial	22.04 ± 1.56	0.19 ± 0.12	0.75 ± 0.62	1.12 ± 0.86	0.69 ± 0.16	2.85 ± 1.32		
BAPAZ	Marzo de 2007 promedio superficial	20.9 ± 0.7	0.24 ± 0.05	1.0 ± 0.3	0.9 ± 0.01	0.8 ± 0.1	2.6 ± 1.0	1 BAPAZ Hernández-Sandoval <i>et al.</i> 2009	

* Proporción N:P calculada sin considerar el amonio, ND. Datos no disponibles

Nuestros resultados demostraron condiciones no favorables en la BAPAZ para que no pudiera proliferar *G. catenatum* y formar un FAN. La habilidad de competencia del fitoplancton por los nutrientes limitantes es un factor determinante que influye en la composición de las comunidades fitoplanctónicas (Lagus *et al.*, 2004).

Por otro lado, estudios realizados sobre tasas de asimilación de cepas de *G. catenatum* aisladas de BAPAZ (este estudio), mostraron tasas de asimilación promedio de amonio, nitratos y fosfatos (5.03 ± 1.76 , 3.49 ± 0.80 y 0.43 ± 0.13 pmol $\text{cél}^{-1} \text{h}^{-1}$, respectivamente) similares a las encontradas por Yamamoto & Tarutani (1999) y Yamamoto *et al.* (2004). Por consiguiente, estas altas tasas de asimilación de nitrógeno (nitratos y amonio) encontradas en *G. catenatum* bajo condiciones experimentales probablemente sea una de las causas por lo cual no formó FAN, debido a que requiere altas concentraciones de nutrientes en el medio. Por otro lado, también observamos que *G. catenatum* requiere bajas cantidades de fosfatos lo cual lo hace un exitoso competidor sobre otras especies de fitoplancton en condiciones limitantes de fosfatos.

Por otro lado, la BAMAZ presento características físicas y químicas similares a las de BAPAZ durante el mismo periodo de muestreo, algunos estudios han demostrado la estacionalidad en las condiciones hidrográficas de la BAMAZ, con un periodo de mezcla durante invierno-primavera provocados por vientos del noroeste y un periodo de estratificación durante el verano (Mee *et al.*, 1985). Nuestros resultados confirman ese patron estacional. Por ejemplo, al aplicar el índice de estratificación térmica (IET) los resultados sugieren un periodo de transición (estratificación-mezcla) de julio a septiembre de 2006 y un largo periodo de mezcla de la columna de agua (octubre de 2006 a marzo de 2007) interrumpido solo por otro periodo de transición (abril a mayo de 2007) (mezcla-estratificación). Sin embargo, no se observó una estratificación térmica probablemente debido a que el ciclo de estudio no abarcó todo el periodo cálido. Es importante señalar que las condiciones hidrográficas de la BAMAZ antes de nuestro periodo de estudio, utilizando el mismo criterio de IET, a partir de mayo de 2005 a mayo de 2006 fueron de transición interrumpida únicamente en julio de 2005 por una fase corta de mezcla y en mayo de 2006 por una de estratificación (López-Cortés, datos no publicados).

Para la misma zona Cortés-Altamirano & Núñez-Pastén (1992) y Alonso-Rodríguez (2004) asociaron los periodos de mezcla con la formación de FAN, sin embargo, durante este trabajo no se registró ningún FAN probablemente por escasos cambios bruscos térmicos y bajas concentraciones de nutrientes. Una de las características de la hidrografía de la BAMAZ es que durante el periodo invierno-primavera las aguas superficiales son enriquecidas con nutrientes transportadas desde aguas sub-superficiales por las surgencias (Barber & Smith, 1981). Sin embargo, en este trabajo a pesar que dominaron condiciones de mezcla y de transición hidrográfica, las concentraciones de nutrientes no alcanzaron los valores encontrados durante los años de 1995-1996 y 2000, cuando prevalecieron condiciones de La Niña (Alonso-Rodríguez *et al.*, 2000; Alonso-Rodríguez, 2004). Estos autores reportan que durante 1980, 1983-84, las concentraciones de nutrientes y proporciones N:P fueron relativamente bajas, muy similares a las encontradas en este trabajo. Es probable que estas bajas concentraciones mantengan la población de *G. catenatum* presente la mayor parte del estudio aunque sin las condiciones adecuadas para formar FAN.

Los estudios realizados en la estimación de las tasas de asimilación promedio de cepas de *G. catenatum* aisladas de BAMAZ obtenidas en este estudio para amonio, nitratos y fosfatos son de 2.71 ± 0.77 , 2.70 ± 0.48 y 3.63 ± 1.30 pmol $\text{cél}^{-1} \text{h}^{-1}$, respectivamente, más bajas para amonio y nitratos que las encontradas por Yamamoto & Tarutani (1999) y Yamamoto *et al.* (2004). Por consiguiente, estas tasas de asimilación encontradas en *G. catenatum* de la BAMAZ bajo condiciones experimentales probablemente sea una de las causas por lo cual *G. catenatum* no formo FAN, debido a que requiere altas concentraciones de nutrientes en el medio. Por otro lado, las cepas de la BAMAZ requieren concentraciones más elevadas de fosfatos que las cepas de la BAPAZ, pudiendo ser esta una desventaja sobre las cepas de la BAPAZ en condiciones bajas de fosfatos en el medio.

Aunque en el presente estudio solo nos enfocamos en la relación del nitrógeno inorgánico (nitritos, nitratos y amonio) y fósforo en la abundancia de dinoflagelados y en específico *G. catenatum*, es importante señalar que otros nutrientes orgánicos como urea y metales traza como hierro y selenio también pueden influir en el

crecimiento del fitoplancton y afectar la competencia entre especies (Lagus *et al.*, 2004). La concentración de nutrientes inorgánicos se refleja en cambios en las proporciones N:P y tienen un efecto decisivo en la composición de especies del fitoplancton, algunas requieren bajas concentraciones de estos compuestos predominando entonces sobre otras especies, sin embargo, existen otras (dinoflagelados) que demandan altas concentraciones para prevalecer sobre otras (Hodgkiss & Lu, 2004). Los resultados de campo de este trabajo mostraron que en ambas bahías los compuestos nitrogenados fueron bajos con un dominio del grupo de las diatomeas (datos no mostrados), repercutiendo en baja abundancia de *G. catenatum* y bajas posibilidades de formar FAN.

Sin embargo, en marzo de 2007 se observó un FAN de *G. catenatum* en la BAPAZ. Este evento lo identificamos días después de la fecha de muestreo mensual que realizábamos. La temperatura promedio fue de 20.9 ± 0.5 °C y el oxígeno fue de 6.9 ± 0.3 mg L⁻¹, valores característicos de este periodo (De Silva-Dávila & Palomares-García, 2002). En general, la concentración de los nutrientes (nitritos, nitratos y amonio) en el estrato superficial y la proporción molar N:P se ubican dentro del rango reportado por otros autores para la misma zona (Cervantes-Duarte & Guerrero-Godínez, 1988; Reyes-Salinas, 1999; Cervantes-Duarte *et al.*, 2001; López-Cortés *et al.*, 2008), sin embargo, las concentraciones de nutrientes encontradas en el FAN fueron ligeramente mayores a las registradas durante el periodo de invierno-primavera de 2007 (Tabla 9), que es el periodo en el que *G. catenatum* se ha reportado en la BAPAZ. La temperatura media durante este FAN fue característico del periodo invierno-primavera, este valor se enmarca en los intervalos térmicos reportados para diferentes zonas del Pacífico mexicano durante FAN de *G. catenatum* (Mee *et al.*, 1986; Cortés-Altamirano & Núñez-Pasten, 1991; Cortés-Altamirano *et al.*, 1999; Gárate-Lizárraga *et al.*, 2004 a, b), sin embargo, realizando un promedio de temperaturas del periodo de invierno (22.04 ± 1.56 °C) encontramos que durante la FAN la temperatura fue menor. Esto sugiere que estas condiciones son adecuadas para el crecimiento de esta especie, aunque probablemente otros factores como compuestos nitrogenados orgánicos y metales traza pudieran también estar involucrados.

En la BAPAZ la frecuencia de los FAN han aumentado en la última década (Gárate-Lizárraga *et al.*, 2001; 2006; 2008). Aunque en esta bahía *G. catenatum* ha sido registrada en bajas abundancias $1.6 * 10^2$ a $2.6 * 10^3$ céls L⁻¹ en 2002 (Gárate-Lizárraga *et al.*, 2004 a), de $8.0 * 10^2$ a $1.2 * 10^3$ céls L⁻¹ en Junio del 2003 (López-Cortés *et al.*, 2006) y de $8.0 * 10^3$ a $7.9 * 10^4$ céls L⁻¹ en 2008 (Gárate-Lizárraga *et al.*, 2009). En este trabajo, se registra por primera vez un FAN de *G. catenatum* con una densidad celular máxima entre $2.0 * 10^3$ a $6.0 * 10^5$ céls L⁻¹, asociada a la toxicidad en moluscos bivalvos. El análisis microscópico y toxicológico de las muestras de red demostraron la presencia de *G. catenatum* como única especie productora de TP, así como de saxitoxina (4.3 a 79.6 ng STX filtro⁻¹) y análogos. Estas concentraciones quedan dentro del rango de concentración de TP (de 5.94 a 90.54 ng STX filtro⁻¹) para muestras de red de la BAPAZ (Gárate-Lizárraga *et al.*, 2006). Los resultados de este trabajo muestran diferencias en los perfiles de toxinas provenientes de muestras de red, a pesar de que son de la misma región geográfica. En la mayoría de las estaciones prevalecen las toxinas C1 y C2, análogos de menor toxicidad. Aunque en la estación E1 y E6, se presentó la mayor concentración de toxinas por filtro, después de la C1 y C2 predominaron las toxinas carbamatadas y las decarbamatadas. En la E5 únicamente se presentaron la STX (31.09 %) y la N sulfocarbamatada C2 (68.91 %). Estas diferencias pudieran ser explicadas por el desfase del desarrollo del FAN en las diferentes zonas muestreadas, en donde probablemente diferentes estadios de crecimiento celular dominaron en cada área. En Bahía Concepción (BACO), también se observaron diferencias en el perfil de toxinas en muestras de red en presencia de *G. catenatum* a lo largo de un ciclo anual (Gárate-Lizárraga *et al.*, 2006), sin embargo, dominaron en la mayoría de las muestras las toxinas dcGTX 2-3.

Se ha demostrado que la composición de toxinas varía con la fase de crecimiento en cepas de *G. catenatum* del Golfo de California, existiendo también diferencias en el perfil de toxinas dependiendo del origen de la cepa (Band-Schmidt *et al.*, 2006; Bustillos-Guzmán *et al.*, sometido). Es probable que otros factores metabólicos y/o genéticos puedan ser determinantes en el perfil y composición de las toxinas de *G. catenatum*. Oshima *et al.* (1993) asumieron que los perfiles de toxinas

son una expresión de las enzimas involucradas en la biosíntesis de toxinas y que la presencia o ausencia de toxinas es una evidencia de diferencias genéticas entre poblaciones y dentro de las poblaciones. En general, la presencia de toxinas C1 y C2 es una característica común de diversas cepas de *G. catenatum* (Gárate-Lizárraga *et al.*, 2005; Band-Schmidt *et al.*, 2005, 2006). Sin embargo, existen diferencias en el perfil de toxinas respecto al origen de la cepa, por ejemplo cepas del Pacífico Occidental, las cuales se caracterizan por un alto porcentaje de toxinas C1-C4 (Negri *et al.*, 2001). Cepas de Portugal y España presentan un mayor contenido de toxinas B (Anderson *et al.*, 1989; Negri *et al.*, 2001; Camino-Ordás *et al.*, 2004). Cepas de Corea y Singapur presentan un mayor contenido de toxinas GTX2-3 (Park *et al.*, 2004). Es probable que diferencias genéticas deriven en diferentes respuestas fisiológicas hacia la localidad geográfica y que su composición tóxica esté gobernada por su carga genética. Esta hipótesis está aún por comprobar en investigaciones futuras. Otra explicación pudiera deberse al método utilizado, ya que el perfil de toxinas en cepas de *G. catenatum* de BACO han mostrado diferencias importantes en el perfil de toxinas al utilizar métodos diferentes de análisis de toxinas (Pérez-Linares *et al.*, 2009).

Uno de los mayores impactos nocivos durante los FAN de *G. catenatum* es la transferencia de sus toxinas hacia moluscos bivalvos. Durante el FAN de este dinoflagelado tóxico diversas especies de moluscos bivalvos fueron contaminadas con TP. Las concentraciones de las toxinas fueron diferentes en cada estación de recolección, incluso en organismos de la misma especie. Aunque sus mayores concentraciones ($37.74 \mu\text{g STXeq } 100 \text{ g}^{-1}$) no rebasaron los límites permisibles para el consumo humano de $80 \mu\text{g STXeq } 100 \text{ g}^{-1}$ especificados por la NOM-129-SSA-1995 y la regulación internacional (NOM, 1995; FAO, 1995). Los valores de toxinas son mayores a lo reportado para *M. squaleda* de la BAPAZ en el 2002 (Gárate-Lizárraga *et al.*, 2004 b), donde se presentó una concentración máxima de TP de $5.46 \mu\text{g STXeq } 100 \text{ g}^{-1}$ coincidiendo con bajas abundancias de *G. catenatum*.

Un total de 11 toxinas paralizantes fueron identificadas y cuantificadas en todos los moluscos analizados. Sus perfiles difirieron ampliamente con lo registrado en las muestras de red de fitoplancton, aunque coinciden las muestras de

fitoplancton y de moluscos en presentar altos porcentajes molares de C1 y C2. Gárate-Lizárraga *et al.* (2004 a) identificaron siete toxinas en muestras de red de fitoplancton de BACO. Las principales toxinas fueron dcGTX2, dcGTX3 y B1 pero la C1 y C2 tuvieron porcentajes bajos. Aunque estas dos últimas toxinas las registraron con porcentajes altos (> 79 % molar) en la almeja *M. squalida* atribuyéndole baja capacidad de biotransformación. En el laboratorio se ha demostrado para *M. squalida* una activa biotransformación de las toxinas C1 y C2 a neoSXT (Pérez-Cruz, 2008). Existen varios registros en diversas bahías del Golfo de California, donde la presencia de *G. catenatum* coincide con un alto porcentaje de toxinas C1 y C2 en diversas especies de moluscos (Band-Schmidt *et al.*, 2004; Gárate-Lizárraga *et al.*, 2004 a, b). Es probable que los organismos bivalvos analizados en este estudio adquirieron las toxinas C1 y C2 al alimentarse de *G. catenatum*.

Estudios de laboratorio han confirmado que algunas especies de moluscos retienen las toxinas durante diferentes tiempos variando sus tasas de depuración y cambiando la composición inicial de toxinas. Por ejemplo, la almeja *Patinopecten yessoensis* durante su depuración registra una disminución del grupo de toxinas GTX1-4 y neoSTX, e incrementa la concentración de GTX2-3, STX, y elimina el grupo O-sulfato (Oshima, 1995; Jaime *et al.*, 2007). Choi *et al.* (2003), demuestran también que el molusco *Chlamy nobilis* y el mejillón *Perna viridis* al exponerlas a la toxina N-sulfocarbamoil (C2) ejercen una biotransformación de esta toxina, encontrando evidencias de la presencia de gonautoxinas, GTX2 y GTX3, así como derivados de la decarbamoil dcGTX2, dcGTX3 y GTX5 derivadas todas de la C2. Otra probable fuente de transformación de las toxinas en los moluscos es la actividad enzimática de algunas bacterias (Kodama *et al.*, 1990 a, b; Smith *et al.*, 2001), que probablemente influyó en los resultados de este trabajo.

Nuestros resultados sugieren que estos moluscos bivalvos tienen la capacidad de realizar una hidrólisis enzimática para transformar toxinas N-sulfocarbamatadas y carbamatadas. Una transformación similar fue observada en la almeja *M. squalida* bajo condiciones de laboratorio donde *M. squalida* puede transformar toxinas del grupo N-sulfocarbamato a toxinas carbamato (Pérez-Cruz, 2008). Así mismo, la transformación a toxinas decarbamatadas, también ha sido detectadas en otras

especies de moluscos (*Macra chinensis*, *Peronidia venulosa*, *Protothaca staminea*, *Patinopecten yessoensis*, *Mytilus edulis*, *Chlamys nobilis*, *Perna viridis*) y algunas especies de caracoles (Sullivan *et al.*, 1983; Anderson *et al.*, 1989; Oshima *et al.*, 1993; Oshima, 1995; Nagashima *et al.*, 1995; Bravo *et al.*, 1999; Choi *et al.*, 2003). La relación inversa que muestran las toxinas sulfocarbamatas con respecto a las decarbamatadas y carbamatadas, soportan la hipótesis de esta biotransformación de toxinas en moluscos.

Todos los moluscos bivalvos analizados presentaron TP durante el FAN de *G. catenatum* y por consiguiente pueden actuar como vectores de transferencia dentro de la cadena trófica marina y repercutir en la salud humana si son consumidos estos moluscos. Es probable que en las muestras de red de fitoplancton, la falta de un amplio elenco de toxinas como el registrado en cepas aisladas de la BAPAZ se explique por el bajo número de células de *G. catenatum* y a los límites de detección del equipo de cromatografía. La discrepancia entre el elenco de toxinas de las muestras de red de *G. catenatum* y la detectada en los moluscos bivalvos indican una biotransformación por los moluscos bivalvos. Esto ha sido previamente demostrado para otras especies de moluscos (Oshima 1995; Bricelj & Shumway, 1998; Choi *et al.*, 2003; Jaime *et al.*, 2007). Este es el primer estudio bajo condiciones naturales del perfil de TP para los moluscos *M. aurantiaca*, *P. multicostrata* y *D. ponderosa* en el Golfo de California. Se requiere un conocimiento más detallado sobre la adquisición, transformación y depuración de las TP en moluscos de la BAPAZ para su adecuado manejo pesquero ante la presencia de un FAN de *G. catenatum*.

De manera general, en este estudio comparamos las cepas aisladas de BAPAZ y BAMAZ, bajo condiciones experimentales evaluando la densidad celular, tasas de crecimiento, toxicidad y perfiles de toxinas de las cepas de *G. catenatum* de otras partes del Golfo de California, muestra que estas son muy parecidas (Band-Schmidt *et al.*, 2004; 2006; Bustillos-Guzmán *et al.*, sometido): con una moderada tasa de crecimiento y toxicidad, así como un característico dominio del grupo de toxinas sulfocarbamoil seguido por el grupo decarbamoil. En la tabla 10, se muestra que las tasas de crecimiento (0.08 a 0.82 div día⁻¹) de este trabajo fueron similares a

los reportados por otros autores para cepas de *G. catenatum* aisladas de diferentes zonas del Golfo de California crecidas bajo condiciones similares de cultivo. Las principales diferencias fueron debidas al medio de cultivo utilizado (Band-Schmidt *et al.*, 2006). Los resultados también muestran que existe una relación consistente del efecto de las diversas proporciones N:P en las tasas vitales medidas. Sin embargo, si existen diferencias estadísticas entre algunas cepas. Por ejemplo, la cepa BAPAZ-5 tiene una mayor tasa de crecimiento en proporciones N:P bajas y mínimas en las proporciones N:P más altas (Anexo 1, Figura 1). Sin embargo, la cepa BAMAZ-2 tuvo un patrón opuesto a la cepa BAPAZ-5. Esta variabilidad entre cepas de la misma región o diferentes regiones ha sido asociado a la diversidad genética de las especies fitoplanctónicas en este caso *G. catenatum*. De acuerdo a Wood & Leatham (1992) esta diversidad es la responsable de resultados “contrarios” cuando se utilizan cepas de una misma especie. En este estudio utilizamos solo dos cepas de cada región BAPAZ (BAPAZ-5, BAPAZ-7) y BAMAZ (BAMAZ-2, GCMQ-4), de las cuales las cepas (BAPAZ-5 y GCMQ-4) se obtuvieron de la colección de dinoflagelados marinos del CIBNOR (CODIMAR) que fueron originalmente aisladas desde el año 2000, mientras que las otras fueron aisladas durante el periodo de muestreo de campo (junio de 2006 a mayo de 2007). Estas diferencias en el tiempo de su aislamiento pueden, en parte, ser responsables de las diferencias encontradas en este trabajo. De acuerdo a Cembella (1998), el artefacto del “crecimiento forzado” por las altas concentraciones de nutrientes, relajamiento de la presión de pastoreo, altas tasas de división y la deriva genética que se obtienen en condiciones de cultivo puede manifestarse en una reducción de la actividad biosintética de enzimas y por lo tanto en la toxicidad.

Tabla 10. Promedio y rangos de la tasa de crecimiento y densidad celular máxima de cepas de *Gymnodinium catenatum* aisladas de diferentes localidades del Golfo de California.

Código de la cepa	Fuente	Tasa de crecimiento (día ⁻¹)	Densidad celular máxima (cél mL ⁻¹)	Condiciones de cultivo	Referencia
GCCV-10	Bahía concepción	0.14-0.21	-----	Medio f/2, 15-29 °C, 30 ups	Band-Schmidt <i>et al.</i> , 2004
		0.24	-----	Medio f/2, 20 °C, 26-30 ups	
		0.28-0.31	-----	Medio f/2, 20 °C, 28-38 ups	
		0.15-0.19	-----	Medio f/2 con Se (10 ⁶ M, 10 ⁷ M 10 ⁸ M) y medio GSe, 20 °C, 35 ups	
GCCQ-1	Bahía concepción	0.74 ± 0.07	1619 ± 252	GSe con Se (10 ⁻⁹ , 10 ⁻⁷ M), 28 ups	Band-Schmidt <i>et al.</i> , 2006
GCCV-2	Bahía concepción	0.70 ± 0.07	1090 ± 270		
GCCV-4	Bahía concepción	0.82 ± 0.09	3393 ± 836		
GCPV-1	Bahía de La Paz	0.74 ± 0.06	1631 ± 152		
GCPV-2	Bahía de La Paz	0.77 ± 0.05	1421 ± 290		
GCMV-1	Bahía de Mazatlán	0.81 ± 0.02	2063 ± 226		
GCMV-2	Bahía de Mazatlán	0.82 ± 0.03	1865 ± 516		
GCCV-7	Bahía concepción	0.19-0.24	5852	Medio f/2 con Se (10 ⁻⁸ M), 35 ups con diferentes relaciones N:P (5.4, 9.2, 23.5, 44.7 y 74.3)	Bustillos-Guzmán <i>et al.</i> , sometido
BAPAZ-5	Bahía de La Paz	0.08 ± 0.01 a 0.32 ± 0.035	3666 ± 798	Medio f/2 con Se (10 ⁻⁸ M), 35 ups con diferentes relaciones N:P (4:1)	Este estudio
BAPAZ-7	Bahía de La Paz	0.17 ± 0.12 a 0.34 ± 0.057	3983 ± 375	N:P (64:1)	
BAMAZ-2	Bahía de Mazatlán	0.094 ± 0.017 a 0.21 ± 0.096	4000 ± 276	N:P (64:1)	
GCMQ-4	Bahía de Mazatlán	0.14 ± 0.011 a 0.29 ± 0.024	2273 ± 913	N:P (16:1)	

Una de las premisas experimentales de nuestro trabajo considera un proceso de aclimatación de las cepas a las condiciones que se pretenden medir su efecto en el crecimiento, perfil de toxinas y toxicidad de *G. catenatum*. Esta debe cumplirse ya que se ha mencionado que en algunas cepas, un periodo corto de aclimatación puede resultar en respuestas que no reflejen las condiciones a que se exponen los organismos (Plumley, 1977). En este experimento, las cepas utilizadas fueron aclimatadas por lo menos 4 generaciones a las distintas condiciones experimentales de N:P. Con esta premisa cumplida, los resultados obtenidos demuestran que las

diversas proporciones N:P de los experimentos tienen un reducido efecto en las tasas de crecimiento y toxicidad de *G. catenatum* de BAPAZ y BAMAZ. Experimentos con *G. catenatum* (GCCV-7) aislada de BACO y sometida a las mismas proporciones N:P de este trabajo, muestran también resultados similares (Bustillos-Guzmán *et al.* sometido). Flynn *et al.* (1996) también demostró cambios relativamente pequeños en estas variables de una cepa aislada de aguas españolas bajo condiciones limitantes de nitrógeno y fósforo. Por lo cual, para *G. catenatum* de la BAPAZ y BAMAZ utilizados en este trabajo, podríamos sugerir que la aclimatación a las condiciones experimentales no tiene un efecto significativo en la toxicidad y perfil de toxinas.

El metabolismo del N y del P de especies del fitoplancton marino tiene una notable influencia en los procesos biológicos de los océanos ya que son los principales macronutrientes metabolizados por el fitoplancton (William, 1987). El consumo de NO_3^- por el fitoplancton es regulado por la enzima nitrato reductasa (NR) y los NO_2^- requieren ser reducidos por la nitrito reductasa (NiR) previamente a amonio (NH_4^+). El NH_4^+ es convertido a glucosamato por la enzima glucosamato deshidrogenasa. La célula tiene un menor gasto energético para asimilar NH_4^+ que otras fuentes de N (NO_3^- y NO_2^-). Por consiguiente, el fitoplancton tiene preferencia por asimilar NH_4^+ , aunque también concentraciones de $\text{NH}_4^+ > 1.0 \mu\text{M}$ inhiben la asimilación de NO_3^- , principalmente se bloquea la síntesis de las enzimas (NR y NiR) (Francois *et al.*, 2007). Por tal razón, en ambientes donde la concentración de NH_4^+ está entre 0.5-1.0 μM , la absorción de los NO_2^- y NO_3^- es parcialmente inhibida y se absorbe preferencialmente el NH_4^+ (Francois *et al.*, 2007; Rees, 2007).

Sin embargo, los resultados obtenidos por Yamamoto *et al.* (2004) muestran que *G. catenatum* aislado de la Bahía de Hiroshima tiene mayor afinidad para asimilar NO_3^- , lo cual indica que la preferencia de NH_4^+ por el fitoplancton no se aplica para todas las especies. En el caso particular de las cepas consideradas en este trabajo, claramente se observó con la fuente de NH_4^+ que las cuatro cepas de *G. catenatum* se mantuvieron sin presentar un incremento significativo en la densidad celular. Sin embargo, esto no indica que no estuvieran asimilando NH_4^+ durante los cultivos de lote. Aunque no se aclimataron a las condiciones experimentales utilizadas, probablemente por la toxicidad del NH_4^+ a altas concentraciones utilizadas

en los experimentos, se observó un lento crecimiento de las cuatro cepas de *G. catenatum*. Por otro lado, los resultados obtenidos de los experimentos de las tasas de asimilación demuestran que las cepas de *G. catenatum* presentaron una preferencia de asimilación de NO_3^- . Además, se observó que las cepas de BAPAZ asimilaron más NH_4^+ que las cepas de BAMAZ. Harrison (1973) reportó que la actividad de la NR se incrementó con el desarrollo del FAN del dinoflagelado *Peridinium triquetrum* y concluyó que los NO_3^- son una fuente de N fundamental para el dinoflagelado a pesar de encontrarse altas concentraciones de NH_4^+ ($> 1.0 \mu\text{M}$).

Nuestros resultados dan evidencia que para el caso de las cepas de la BAPAZ y la BAMAZ presentaron mayor tasa de asimilación de NH_4^+ que de NO_3^- , lo cual puede significar un gasto energético menor para la célula (Francois *et al.*, 2007). En cuanto a los fosfatos la cepa de la BAMAZ presentó una mayor tasa de consumo lo cual le pudiera dar ventajas sobre otras especies en condiciones altas de fosfatos. Por otro lado, las cepas de la BAPAZ pudieran tener ventajas sobre las cepas de la BAMAZ en condiciones bajas de fosfatos, ya que en los ensayos realizados bajo condiciones controladas esta presentó una baja tasa de asimilación y mayores tasas de crecimiento lo cual pudiera sugerir que prospera en condiciones bajas de fosfatos. Estudios de laboratorio con especies de *G. catenatum* aislado de la Bahía de Hiroshima demostraron altas tasas de asimilación de amonio, nitratos y fosfatos (6.48, 3.37 y 1.42 $\text{pmol c\acute{e}l}^{-1} \text{h}^{-1}$, respectivamente) (Yamamoto & Tarutani, 1999; Yamamoto *et al.*, 2004), por lo cual estos resultados nos indican que *G. catenatum* pudiera ser un competidor débil contra otras especies de fitoplancton en condiciones bajas de nutrientes inorgánicos.

Se han realizado diversos trabajos sobre la función de los nutrientes en la producción de TP, principalmente en especies del género *Alexandrium* (John & Flynn, 2000; Lippemeier *et al.*, 2003). Por ejemplo, se han observado cambios celulares en la composición bioquímica cuando el suministro de N es limitado. La función del P en la síntesis de las TP aún no es bien comprendida, pero se ha demostrado que en medios deficientes de P se incrementa la producción de las TP y se reduce la división celular (Boyer *et al.*, 1987; Anderson *et al.*, 1990; Lim *et al.*, 2006). Aunque las TP no contienen fósforo en su estructura, si intervienen

indirectamente en la fosforilación de enzimas (ej. carbamoil fosfato) intermediario en la producción de toxinas, probablemente por esta causa la deficiencia de fósforo en el medio pueda afectar la producción de TP en dinoflagelados (Flynn *et al.*, 1994; Cembella, 1998; Kellmann & Neilan, 2007). Bustillos-Guzmán *et al.* (sometido), en experimentos realizados con la cepa de BACO, también demostraron que *G. catenatum* presenta altas tasas de asimilación de nitrógeno aún cuando los fosfatos no eran detectables. Las altas tasas de afinidad encontradas en este trabajo así como las encontradas para una cepa aislada de Japón, apoyan esta hipótesis.

Anderson *et al.* (1990) analizaron diferentes metabolitos producidos por *A. fundyense* bajo limitaciones de P en el cultivo, detectando un aumento en la concentración de la arginina, aminoácido precursor de la saxitoxina. Esto también fue demostrado por John & Flynn (2000). Cuando el P es añadido a medios deficientes se incrementa la división celular y la concentración de toxinas por célula decrece (Gavin *et al.*, 1997; Taroncher *et al.*, 1997). Sin embargo, Yamamoto *et al.* (2004) realizaron experimentos relacionados con tasas de consumo de nutrientes y cinéticas de crecimiento con *G. catenatum*, utilizando medios de cultivo con limitación de N y P. Los resultados sugieren que *G. catenatum* tiene la desventaja en competir con otras especies de dinoflagelados u otros grupos de fitoplancton por nutrientes bajo condiciones oligotróficas, debido a su constante de saturación alta (K_s) de N y P (7.59 y 3.40, respectivamente) (Smayda, 1997), lo cual implica que *G. catenatum* requiere mayor concentración de N y P para su crecimiento.

El contenido de toxinas por célula varía en los diversos tratamientos aunque los valores se encuentran en los rangos reportados (13 a 47 pg STX_{eq} cél⁻¹) para cepas de otras áreas del Golfo de California (Band-Schmidt *et al.*, 2004; 2006). Estos resultados difieren de los reportados por Reguera & Oshima (1990) para cepas de origen español donde encontraron altas toxicidades en concentraciones de NO₃⁻ de entre 110 y 220 µM, asociado a una alta producción de goniautoxinas. Es importante mencionar que en la proporción 16:1 en todas las cepas la toxicidad expresada como (pg cél⁻¹) es mayor que en el resto de las proporciones.

Las altas concentraciones de toxinas en las células encontradas en este estudio así como las reportadas por otros autores (Band-Schmidt *et al.*, 2004; 2006)

son mayores que las reportadas para poblaciones naturales que oscilan entre 1.2 a 2.3 pg STX_{eq} cél⁻¹ (Gárate-Lizárraga *et al.*, 2004 a). A diferencia de estos resultados, se ha encontrado que típicamente las células en condiciones de cultivo, en particular el dinoflagelado productor de TP *Alexandrium* spp. son mucho menos tóxicas que en condiciones naturales (White, 1986; Cembella *et al.*, 1990). Evidentemente, es necesario hacer mayor número de mediciones de la toxicidad de poblaciones naturales de *G. catenatum* para corroborar si los experimentos en laboratorio reflejan la variabilidad encontrada en condiciones naturales.

Los perfiles de las toxinas encontrados bajo los diversos tratamientos, de esta tesis tuvieron relativamente poca variabilidad sugiriendo que la producción-retención de las diversas toxinas no depende de las condiciones nutricionales de la incubación. Aunque se ha demostrado en dinoflagelados que la producción de toxinas esta ligado al ciclo celular (Flynn *et al.*, 1996; Taroncher *et al.*, 1997), donde la producción se realiza en la fase temprana M1 y disparada por la luz. En este estudio, las células que se encontraron en diferentes fases de crecimiento, sin embargo, la comparación que hacemos es válida ya que los cultivos se muestrearon aproximadamente a la misma hora del día.

Bustillos-Guzmán *et al.* (sometido) observó una baja variación de la toxicidad y perfil de toxinas entre las diversas proporciones N:P utilizadas en cultivos de *G. catenatum* aislado de BACO (no aclimatados). La baja variación de las tasas de crecimiento, perfil de toxinas y toxicidad de las diversas proporciones N:P utilizadas en este estudio, nos podría sugerir que las proporciones N:P utilizadas no tienen un efecto significativo como la teoría lo sugería en dichas variables de *G. catenatum* de la BAPAZ y la BAMAZ.

9.1. Discusión general

De acuerdo a los antecedentes, la mayor incidencia de los FAN y la presencia de *G. catenatum* se asocia con periodos relativamente fríos en la región de Mazatlán sugiriendo que esta especie esta asociada a procesos de enriquecimiento de nutrientes por surgencias costeras (Cortés-Altamirano *et al.*, 1999; Alonso-Rodríguez, 2004), lo que concuerda con lo descrito para esta especie en las costas españolas (Smayda, 2000). Los registros en periodos transicionales de temperatura y estructura de la columna de agua apuntan en el mismos sentido (Alonso-Rodríguez *et al.*, 2000; Gárate-Lizárraga *et al.*, 2004 a; 2006). La alta tasa de asimilación que tiene para varias formas nitrogenadas y de fósforo (Yamamoto *et al.*, 2004) sugieren también que requieren condiciones ricas en nutrientes para incrementar su densidad celular. De manera general, las tasas de asimilación que presentaron las 4 cepas utilizadas en este trabajo mostraron resultados similares a los encontrados por Yamamoto *et al.* (2004) lo cual sugiere que también las cepas de *G. catenatum* de la BAPAZ y BAMAZ requieren altas concentraciones de nutrientes para favorecer la formación de los FAN, concentraciones que no se encontraron en el muestreo superficial realizado durante el FAN en la BAPAZ. Las cepas de la BAPAZ asimilan más amonio que las de la BAMAZ en un “corto” periodo de asimilación (experimentos de asimilación realizados en este trabajo). En el FAN que se presentó en marzo-abril de 2007 en la BAPAZ los resultados físicos, como la temperatura coinciden con los rangos de temperatura donde se ha registrado *G. catenatum* en diversas zonas del Golfo de California (20.9 ± 0.7 °C). Aunque en condiciones de laboratorio, cepas aisladas del Golfo de California pueden crecer en un intervalo térmico muy amplio que ($13.0 - 33.0$ °C) (Band-Schmidt *et al.*, 2006). Por otro lado, las concentraciones de nutrientes encontradas en este FAN de febrero-marzo 2007 no coinciden con las previamente reportadas para otras zonas donde se ha registrado FAN de *G. catenatum* (Tabla 9), argumentando que posiblemente muestreamos en la parte final de un evento de surgencia o en fase de decaimiento del FAN. Otro punto es que el muestreo que realizamos de los parámetros físicos y químicos durante el FAN fue únicamente superficial, en el cual sólo encontramos pequeñas diferencias en las concentraciones de nutrientes (nitritos y nitratos) que fueron mayores que las

encontradas durante el muestreo anual (promedio del periodo de invierno, en el cual se han registrado FAN de *G. catenatum* para ambas bahías, Tabla 9). Figueiras & Fraga (1990), mencionaron que las concentraciones de nutrientes superficiales registrados durante un FAN de *G. catenatum* en Ria de Vigo en 1986 fueron bajas, sin embargo, estos autores realizaron perfiles verticales encontrando altas concentraciones de nutrientes a 10 m de profundidad, concluyendo que la ventaja de *G. catenatum* de poder desplazarse en la columna de agua le proporcionó el éxito para que pudiera migrar a capas más profundas donde la concentración de nutrientes era mayor y tener condiciones favorables para su proliferación. Sin embargo, en este trabajo no se realizaron perfiles verticales, lo cual podría estar ocultando una de las razones por la cual *G. catenatum* formo el FAN.

La proporción N:P, así como las concentraciones de nutrientes encontrados durante 2007 en la BAPAZ señalan concentraciones bajas de nutrientes así como proporciones N:P < 5. Claramente estos son menores a los encontrados en la región de Mazatlán y otras áreas. Un mecanismo que posiblemente ayude a conciliar nuestros resultados dentro del contexto de conocimientos de las condiciones en donde normalmente se desarrolla esta especie es que, el fenómeno que se dió en la BAPAZ es el resultado de una proliferación que inició antes de nuestro muestreo y que coincide con el periodo transitorio del periodo de mezcla del invierno. Este periodo transitorio ha sido también relacionado con la proliferación de esta especie (Figueiras & Fraga, 1990). Es también claro que en muchos casos, como en presencia de surgencias, el desarrollo de una comunidad fitoplanctónica, modifica el ambiente nutricional de tal forma, que como podría ser nuestro caso, las condiciones que hemos encontrado son las que han sufrido esta acción del desarrollo de la comunidad. Por otro lado, el proceso de acumulación en el área, podría también ser importante en la interpretación de nuestros resultados ya que si este proceso se da, entonces el registro de altas abundancia no necesariamente puede asociarse a condiciones adecuadas de crecimiento de la especie.

Respecto a la toxicidad de *G. catenatum* de el FAN ocurrido en la BAPAZ podemos decir que en los cinco sitios muestreados presentó una composición de toxinas en porcentaje molar diferente predominando en mayor porcentaje como es

característico de las cepas del Golfo de California las toxinas sulfocarbamatadas tipo C1 y C2 (Band-Schmidt *et al.*, 2005, 2006; Gárate-Lizárraga *et al.*, 2005). Las diferencias encontradas en los porcentajes molares de *G. catenatum* del FAN pudieran estar influenciadas por el desfase del desarrollo del FAN en las diferentes zonas muestreadas o por las condiciones físicas y químicas encontradas (Tabla 9). Aunque en el trabajo experimental realizado con cepas de *G. catenatum* de la BAPAZ y la BAMAZ con diferentes proporciones N:P encontramos una composición en porcentaje molar similar a las encontradas en las muestras de campo, con porcentajes molares altos principalmente de las toxinas sulfocarbamatadas (C1 y C2). Sugiriendo que probablemente otros factores metabólicos y/o genéticos puedan ser determinantes en la toxicidad y perfil de toxinas de *G. catenatum*.

La toxicidad (pg cél⁻¹) de *G. catenatum* del trabajo experimental realizado con las cepas aisladas de ambas bahías, varió en las diversas proporciones N:P incubadas, destacando que en la proporción 16:1 (58 µM de nitratos) en todas las cepas el contenido de toxinas fue mayor. Al respecto Reguera & Oshima (1990) reportan para cepas de *G. catenatum* de origen español altas toxicidades en concentraciones de nitratos de entre 110 y 220 µM, asociado esto a una alta producción de goniautoxinas, situación que no sucedió en nuestro trabajo, las concentraciones mayores de nitratos (116 y 232 µM) presentaron una menor toxicidad por célula. Oshima *et al.* (1993) mencionan que la toxicidad y los perfiles de toxinas son una expresión de las enzimas involucradas en la biosíntesis de las toxinas.

10. Conclusiones

- Las condiciones hidrográficas térmicas de ambas regiones fueron similares, con periodos de mezcla y transición (mezcla-estratificación) aunque no se registro condición estratificada detectable con el índice de estratificación térmica empleado, cabría esperar que durante la condición de mezcla y de transición se promoviera la proliferación de *G. catenatum*, sin embargo únicamente se detectó su presencia, por lo que podemos concluir que la inhibición para su proliferación masiva probablemente fue provocada por la ausencia de cambios drásticos térmicos y bajas concentraciones de nitratos, amonio y probablemente de fosfatos. Adicionalmente las proporciones N:P encontradas durante los muestreos en la BAMAZ y la BAPAZ indicaron limitación de nitrógeno en el medio, lo cual pudo también influir.
- Debido a la baja densidad celular de *G. catenatum*, en ambas bahías no se pudo detectar TP en las muestras de red de fitoplancton.
- El perfil de toxinas en los moluscos bivalvos analizados demostró que las diferentes especies de moluscos tienen la capacidad metabólica distinta de realizar una hidrólisis enzimática y transformar toxinas de menor toxicidad o de mediana toxicidad N-sulfocarbamatadas y decarbamatadas a toxinas más potentes carbamatadas.
- La coincidencia de este FAN de *G. catenatum* y la detección de TP en todos los moluscos bivalvos analizados muestran que este dinoflagelado es una fuente significativa de contaminación en molusco de importancia comercial y que puede poner en riesgo la salud humana si se alcanza los niveles máximos permitidos para su consumo.
- De los resultados experimentales se concluye que *G. catenatum* de la BAMAZ y la BAPAZ consumen preferentemente como fuente de nitrógeno el amonio que los nitratos.
- *G. catenatum* de la BAMAZ presentó una mayor tasa de asimilación de fosfatos en comparación con cepas de la BAPAZ, por lo que *G. catenatum* de

la BAPAZ pudiera tener ventaja para competir con otras especies bajo condiciones bajas de fosfatos.

- Se concluye que las proporciones N:P no tuvieron un efecto consistente en relación a la variación de las tasas de crecimiento, perfil de toxinas y toxicidad entre las cepas de *G. catenatum* de la BAPAZ y la BAMAZ cultivada con diferentes proporciones N:P. Sin embargo, las concentraciones específicas de cada fuente de nutriente inorgánico influyó principalmente en las tasas de crecimiento, lo cual representa una señal de cuales son las probables concentraciones con las cuales se puede dar un FAN de ésta especie.
- De acuerdo a los diferentes perfiles de toxinas de *G. catenatum* para las dos zonas estudiadas se puede asumir que esta especie tiene características fisiológicas particulares que le permiten adaptarse a diferentes condiciones ambientales, generando eco-genotipos.

11. Recomendaciones

Debido a la incertidumbre en la predicción de la formación de un FAN y las repercusiones en la salud ambiental y humana se recomienda realizar monitoreos continuos y sistemáticos que permitan de manera puntual determinar las condiciones físicas como luz, temperatura, densidad del agua y químicas como el oxígeno disuelto, el pH, diferentes compuestos nitrogenados y de fósforo, así como elementos traza y ácidos húmicos que pudieran estar influyendo en la formación de los FAN como es el caso de *G. catenatum*. También se recomienda el uso de especies que se alimentan de fitoplancton como los moluscos bivalvos que sirva como especies “centinelas” lo cual daría certidumbre del tipo de toxina, su posible fuente y las medidas de prevención ante estos eventos. Se requiere generar más conocimiento acerca de la cinética enzimática y los mecanismos celulares que interviene en la adquisición, transformación y depuración de las TP en moluscos. La diversidad genética de esta especie aún no está completamente estudiada ni comprendida por lo cual se requiere mayor investigación. Los quistes como estrategia de adaptación y sobrevivencia de esta especie son de suma importancia, por lo que también recomendamos enfocarse a identificar las variables como la luz, temperatura, metales traza, ácidos húmicos que pudieran estar asociados con su germinación. Estudios palinológicos también son recomendables para entender mejor la biogeografía de esta especie.

12. Literatura citada

Aguirre-Gómez, R., R. Álvarez & O. Salmerón-García. 1999. Red tide evolution in the Mazatlán Bay area from remotely sensed sea surface temperatures. *Geofísica Internacional*. 38: 63-71.

Alonso-Rodríguez, R. 1998. Ocurrencias de mareas rojas y calidad del agua en la zona sur de la Bahía de Mazatlán, Sinaloa, México. Tesis de maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 159 p.

Alonso-Rodríguez, R., F. Páez-Osuna & R. Cortés-Altamirano. 2000. Trophic conditions and stoichiometric nutrient balance in subtropical waters influenced by Municipal sewage effluents in Mazatlan Bay (SE Gulf of California). *Marine Pollution Bulletin*. 40: 31-39.

Alonso-Rodríguez, R. 2004. Hidrología y condiciones ambientales que determinan la proliferación de dinoflagelados causantes de marea roja en la Bahía de Mazatlán, Sinaloa, México, Tesis de Doctorado. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, La Paz, B.C.S., Mexico. 117 p.

Alonso-Rodríguez, R. & J.L. Ochoa. 2004. Hydrology of winter-spring "red tides" in Bahía de Mazatlán, Sinaloa, Mexico. *Harmful Algae*. 3: 163-171.

Amorin, A. & B. Dale. 2006. Historical cyst record as evidence for the recent introduction of the dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* in the north-eastern Atlantic. *African Journal of Marine Sciences*. 28: 193-197.

Anderson, D.M., D.M. Kulis & B.J. Brinder. 1984. Sexuality and cyst formation in the dinoflagellate *Gonyaulax tamarensis*: cyst yield in batch cultures. *Journal Phycology*. 20: 418-425.

Anderson, D.M., J.J. Sullivan & B. Reguera. 1989. Paralytic shellfish poisoning in Northwest Spain: the toxicity of *Gymnodinium catenatum*. *Toxicon*. 27: 665-674.

Anderson, D.M., D.M. Kulis, J.J. Sullivan, S. Hall & C. Lee. 1990. Dynamics and physiology of saxitoxin production by the dinoflagellates *Alexandrium* spp. *Marine Biology*. 104: 511-524.

Anderson, D. 1994. Red tides. *Scientific American*. 271: 52-58.

Balech, E. 1988. Los dinoflagelados del Atlántico Sudoccidental. Publicación Especial. Instituto Español de Oceanografía. No. 1., Madrid. 310 p.

Band-Schmidt, C.J., L. Morquecho, C. Lechuga-Devéze & D.M. Anderson. 2004. Effects of growth medium, temperature, salinity and seawater source on the growth of *Gymnodinium catenatum* (Dinophyceae) from Bahía Concepción, Gulf of California. *Journal of Plankton Research*. 26: 1459-1470.

Band-Schmidt, C., J.J. Bustillos-Guzmán, I. Gárate-Lizárraga, C.H. Lechuga-Devéze, K. Reinhardt & B. Luckas. 2005. Paralytic shellfish toxin profile in Straits of the dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* Graham and scallop *Argopecten ventricosus* G.B. Sowerby II from Bahía Concepción, Gulf of California, Mexico. *Harmful Algae*. 4: 21-31.

Band-Schmidt, C., J. Bustillos-Guzmán., L. Morquecho-Escamilla., I. Gárate-Lizárraga., R. Alonso-Rodríguez., A. Reyes-Salinas., K. Eler & B. Luckas. 2006. Variations of PSP toxin profiles during different growth phases in *Gymnodinium catenatum* (Dinophyceae) strains isolated from three locations in the Gulf of California, Mexico. *Journal of Phycology*. 42: 757-768.

Band-Schmidt, C.J., D. Rojas-Posadas, L. Morquecho & N.Y. Hernández-Saavedra. 2008. Heterogeneity of LSU rDNA sequences and morphology of *Gymnodinium catenatum* strains in Bahía Concepción, Gulf of California, Mexico. *Journal of Plankton Research*. 30: 755-763.

Band-Schmidt, C., J.J. Bustillos-Guzmán, D. López-Cortés, I. Gárate-Lizárraga, E.J. Núñez-Vázquez & F. Hernández-Sandoval. 2009. Ecological and physiological studies of *Gymnodinium catenatum* in the Mexican Pacific: A review. *Sometido*.

Barber, R.T. & R.L. Smith. 1981. Coastal upwelling ecosystems. En: *Analysis of Marine Ecosystem*. Longhurst, A.R. (Ed.). Academic Press, New York. 31-68 p.

Bechemin, C., D. Grzebyk., F. Hachame., C. Hammert & Y. Maestrini. 1999. Effect of different nitrogen/phosphorus nutrient ratios on the toxin content in *Alexandrium minimum*. *Aquatic Microbiology Ecology*. 20: 157-65.

Bendschneider & Robinson. 1952. Determination of nitrite in sea water. *Journal of Marine Research*. 11:87.

Berges, J.A. 1997. Miniview: Algal nitrate reductases. *European Journal of Phycology*. 32: 3-8.

Blackburn, S.I., G.M. Hallegraeff & C.J. Bolch. 1989. Vegetative reproduction and sexual life cycle of the toxic dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* from Tasmania, Australia. *Journal of Phycology*. 25: 577-590.

Boyer, G.L., J.J. Sullivan, R.J. Andersen, P.J. Harrison, F. & J.R.Taylor. 1987. Effects of nutrient limitation on toxin production and composition in the marine dinoflagellate *Gonyaulax tamarensis*. *Marine Biology*. 96: 123-128.

Brand, L.E., & R.R. Guillard. 1981. The effects of the continuous light and light intensity on the reproduction rates of twenty two species of marine phytoplankton *Journal Experimental Marine Biology and Ecology*. 50: 119–32.

- Bravo, I., M.I. Reyero, E., Cacho & J.M. Franco. 1999. Paralytic shellfish poisoning in *Haliotis tuberculata* from the Galician coast: geographical distribution, toxicity by lengths and parts of the mollusks. *Aquatic Toxicology*. 46: 79-85.
- Bricelj, V.M. & S.E. Shumway. 1998. Paralytic shellfish toxins in bivalve mollusks: occurrence, transfer kinetics, and biotransformations. *Reviews in Fisheries Science*. 6: 315-383.
- Bustillos-Guzmán, J.J., I. Gárate-Lizárraga, F.E. Hernández-Sandoval, L. Morquecho-Escamilla & C.J. Band-Schmidt. 2009. Variations in growth and toxicity of *Gymnodinium catenatum* from the Gulf of California under several ratios of nitrogen and phosphorous. *Sometido*.
- Byrne, J.V. & L.P. Emery. 1960. Sediments on the Gulf of California. *Geology Society American Bulletin*. 71:983-1010.
- Cabrera-Mancilla, E., C. Ramírez-Camarena, L. Muñoz-Cabrera, L. & A. Monreal-Prado. 2000. Primer registro de *Gymnodinium catenatum* Graham (Gymnodiniaceae) como causante de marea roja en la Bahía de Acapulco, Gro. México. En: Ríos-Jara, E., E. Juárez-Carillo, Pérez-Peña, M., López-Uriarte, E., Robles-Jarero, E.G., Hernández-Becerril, D.U. & Silva-Briano, M. (Eds.). *Estudios sobre plancton en México y el Caribe*. Sociedad Mexicana de Planctología y Universidad de Guadalajara. 85-86 p.
- Camacho, L.M., R. Brownar., M.J. Bonete., J.M. Danson & W.D. Hough. 1995. Isocitrate dehydrogenases from *Haloferox volcanii* and *Sulfolobus solfataricus*: enzyme purification, characterization, and N-terminal sequence. *FEMS Microbiology Letter*. 134: 85-90.
- Camino-Ordás, M., S. Fraga, J.M. Franco, A. Ordás & A. Figueras. 2004. Toxin and molecular analysis of *Gymnodinium catenatum* (Dinophyceae) strain from Galicia (NW Spain) and Andalucía (S Spain). *Journal of Plankton Research* 26: 341-329.
- Carlsson, P. & E. Granéli. 1998. Utilization of Dissolved Organic Matter (DOM) by Phytoplankton Including Harmful Species. En: Anderson, D.M., Cembella, A.D. & Hallegraeff, G.M. (Eds.). *Physiological Ecology of Harmful Algal Blooms*. Springer-Verlag. Heidelberg. 509 – 524 p.
- Castrejón, O.L., D.D. Porras & C. Band-Schmidt. 1994. Cultivo de alimento vivo para la acuicultura. Universidad del Mar, Instituto Indigenista. Puerto Angel, Oaxaca, México. 5 p.
- Cembella, A.D., C. Destombe, & J. Turgeon. 1990. Toxin composition of alternative life history of *Alexandrium escavatum*, as determined by high-performance liquid chromatography. En: Granéli, E., Sundstøm, B. B. Edler & L. Anderson, D.M. (Eds.), *Toxic Marine Phytoplankton*, Elsevier, New York. 333-338 p.

Cembella, A.D. 1998. Ecophysiology and metabolism of paralytic shellfish toxins in marine microalgae. En: Anderson, D.M., Cembella, A.D. & Hallegraeff, G.M. (Eds.) Physiology and Ecology of Harmful Algae Blooms. NATO ASI Series G41. 381-403 p.

Cervantes-Duarte, R. & R. Guerrero-Godínez. 1988. Variación espacio-temporal de nutrientes de la Ensenada de La Paz, B.C.S. México. Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología UNAM. 15: 129-142.

Cervantes-Duarte, R., F. Aguirre-Bahera, A. Reyes-Salinas & J.E. Valdéz-Holguín. 2001. Caracterización hidrológica de una laguna costera de Baja California Sur, México. Océánides. 16: 93-105.

Choi, M.C., D.P. Hsieh, P.K. Lam & W.X. Wang. 2003. Field depuration and biotransformation of paralytic shellfish toxins in scallop *Chlamys nobilis* and green-lipped mussel *Perna viridis*. Marine Biology. 143: 927-934.

Cortés-Altamirano, R. 1987. Observaciones de mareas rojas en la Bahía de Mazatlán, Sin., México. Ciencias Marinas. 13: 1-19.

Cortés-Altamirano, R. & A. Núñez-Pasten. 1991. Registros de mareas rojas en la Bahía de Mazatlán, Sinaloa, México. Revista de Investigación Científica, UABCS. 2: 44-55.

Cortés-Altamirano, R. & A. Núñez-Pasten. 1992. Doce años (1979-1990) de registros de mareas rojas en la Bahía de Mazatlán, Sin., México. Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM. 19: 113-121.

Cortés-Altamirano, R. & R. Alonso-Rodríguez. 1997. Mareas rojas durante 1997 en la Bahía de Mazatlán, Sinaloa, México. Ciencias del Mar. 15: 31-37.

Cortés-Altamirano, R., A. Núñez-Pastén & N. Pastén-Miranda. 1999. Abundancia anual de *Gymnodinium catenatum* Graham dinoflagelado tóxico de la costa este del Golfo de California. Ciencias del Mar. 35: 51-56.

Cox, R.A., M.J. McCartney & F. Culkin. 1970. The specific gravity/salinity/temperature relationship in natural sea water. Deep-Sea Research. 17: 679-689.

Cruz-Ayala, M. 1996. Variación espacio temporal de la ficoflora en la Bahía de La Paz. B.C.S. Tesis de Maestría. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. 89 p.

Cruz-Orozco, R.A. 1989. Profundidades y formas de la Bahía de La Paz. Geonotas. No. 1, U.A.B.C.S. 2 p.

Cruz-Orozco, R., C. Martínez-Noriega & A. Mendoza-Maravilla. 1996. Batimetría y sedimentos de la Bahía de La Paz, B.C.S., México. Océánides. 11: 21-27.

De Silva-Dávila, R. & R. Palomares-García. 2002. Distributional patterns of the euphausiids community in Bahía de La Paz, B.C.S., México. Pp. 109-125, En: Hendrickx, M.E. (Eds.). Contributions to the Study of East Pacific Crustaceans [Contribuciones al Estudio de los Crustáceos del Pacífico Este]. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM. 383 p.

Douglas, M.N., R.A. Maddox, K. Howard & S. Reyes. 1993. The Mexican monsoon. *Journal of Climate*. 6: 1665-1677.

Elser, J., E. Cleland., D. Gruner., W. Harpole., H. Hillebrand., J. Ngai., E. Seabloom., J. Shurin & Smith, J. 2007. Global analysis of nitrogen and phosphorus limitation of primary producers in freshwater, marine and terrestrial ecosystem. *Ecology Letters*. 10: 1135-1142.

Eppley, R.W., J.N. Rogers & J.J. McCarthy, 1969. Half-saturation constants for growth and nitrate uptake of marine phytoplankton. *Limnology and Oceanography*. 14: 912-920.

Falkowsky, P.G. & T.G. Owen. 1978. Effects of the light intensity on photosynthesis and dark respiration in six species of marine phytoplankton. *Marine Biology*. 45: 289-295.

F.A.O. 2005. Egmond, H. P. V., Apeldoorn, M. E. V. & G. J. A. Speijer. Biotoxinas marinas. Estudio de la FAO. Alimentación y nutrición. Institución de Salud Pública y el Medio Ambiente de los Países Bajos. 14-20 p.

Fidalgo, J.P. 1996. Variabilidad bioquímica de microalgas marinas en cultivo en función de la fuente de nitrógeno. Tesis de doctorado. Universidad de La Coruña. 22-26 p.

Figueiras, F.G. & F. Fraga. 1990. Vertical nutrient transport during proliferation of *Gymnodinium catenatum* Graham In Ria de Vigo, Northwest Spain. En: Graneli, E. *et al.* (Eds.) Toxic Marine Phytoplankton. IOC-UNESCO. 144-148 p.

Flynn, J.K., Franco, J.M. & Fernández, P. 1994. Changes in the toxin content, biomass and pigments of the dinoflagellate *Alexandrium minutum* during nitrogen refeeding and growth into nitrogen or phosphorous stress. *Marine Ecology Progress Series*. 111: 99-109.

Flynn, J.K., K. Flynn, E.H. John, B. Reguera, M.I. Reyero & J.M. Franco. 1996. Changes in toxins, intracellular and dissolved free amino acids of the toxic dinoflagellates *Gymnodinium catenatum* in response to changes in inorganic nutrients and salinity. *Journal of Plankton Research*. 18: 2093-2111.

John E.H. & K.J. Flynn. 2000. Growth dynamics and toxicity of *Alexandrium fundyense* (Dinophyceae) : the effect of changing N:P supply ratios on internal toxin and nutrient levels. *European Journal of Phycology*. 35: 11-23.

Francois, M.J., L'Helguen, S. & Madec, C. 2007. Nitrogen uptake and assimilation kinetic in *Alexandrium minutum* (Dinophyceae): effect of N limited growth rate on nitrate and ammonium interactions. *Journal of Phycology*. 43: 295-303.

Fukuyo, Y., H. Takano, M. Cthihara & K. Matsuoka. 1990. Red tide organisms in Japan. An Illustrated Taxonomic Guide. Uchida Rokakuho Co. Ltd., Tokyo. 407 p.

Gárate-Lizárraga, I., M.L. Hernández-Orozco., C.J. Band-Schmidt & G. Serrano-Casillas. 2001. Red tides along the coasts of the Baja California Peninsula, México (1984 to 1999). *Oceánides*. 16: 127-134.

Gárate-Lizárraga, I., C. Band-Schmidt, R. Cervantes-Duarte & D.G. Escobedo-Urías. 2002. Mareas rojas de *Mesodinium rubrum* (Lohmann) Hamburger y Budenbrock ocurridas en El Golfo de California durante el invierno de 1998. *Hidrobiológica*. 12: 15-20

Gárate-Lizárraga I., J. Bustillos-Gúzman., A. Tripp-Quezada., M.S. Muñetón-Gómez., K. Reinhardt & L. Bernd. 2003. Toxinas paráliticas (PSP) en la almeja chocolata (*Megapitaria squalida*) en la Bahía de La Paz, Golfo de California. IX Congreso de la Asociación de Investigadores del Mar de Cortés A.C. y III Simposium Internacional sobre el Mar del Cortés. La Paz, B.C.S., México.

Gárate-Lizárraga, I., J.J. Bustillos-Gúzman, R. Alonso-Rodríguez & B. Luckas. 2004a. Comparative paralytic shellfish toxin profiles in two marine bivalves during outbreaks of *Gymnodinium catenatum* (Dinophyceae) in the Gulf of California. *Marine Pollution Bulletin*. 48: 397-402.

Gárate-Lizárraga, I., J.J. Bustillos-Guzmán, K. Erler, S. Muñetón-Gómez, B. Luckas & A. Tripp-Quezada. 2004b. Paralytic shellfish toxins in the chocolata clam, *Megapitaria squalida* (Bivalvia:Veneridae), in Bahía de La Paz, Gulf of California. *Biología Tropical*. 52: 133-140.

Gárate-Lizárraga, I., J. Bustillos-Gúzman, M. Morquecho, C. Band-Schmidt, R. R. Alonso, K. Erler, B. Luckas, S. A. Reyes & G. D. Góngora. 2005. Comparative paralytic shellfish toxin profiles in the strains of *Gymnodinium catenatum* Graham from the Gulf of California, Mexico. *Marine Pollution Bulletin*. 50: 213-219.

Gárate-Lizárraga, I., J. Bustillos-Gúzman, D. López-Cortez, F. Hernández-Sandoval, K. Erler & B. Luckas. 2006. Paralytic shellfish toxin profiles in net phytoplankton samples from Bahía Concepción, Gulf of California, Mexico. *Marine Pollution Bulletin*. 52: 800-815.

Gárate-Lizárraga, I., M.S. Muñetón-Gómez & V. Maldonado-López. 2006a. Florecimiento del dinoflagelado *Gonyaulax polygramma* frente a la Isla Espíritu Santo, Golfo de California, México. *Revista de Investigaciones Marinas*. 27: 31-39.

Gárate-Lizárraga, I., C. Band-Schmidt, J. Bustillos-Gúzman & D. López-Cortés. 2007. Bloom of *Pseudo-nitzschia fraudulenta* in Bahía de La Paz, Gulf of California (June-July 2006). Harmful Algae News, IOC Newsletter on toxic algae and algal blooms. Paris. 32: 6-7.

Gárate-Lizárraga, I., B. Pérez-Cruz, J. Diaz-Ortíz & C.J. Band-Schmidt. 2008. Microalgas y biotoxinas marinas en las costas mexicanas. *Conversus*. 9: 22-26

Gárate-Lizárraga, I., C.J. Band-Schmidt, F. Aguirre-Bahena & T. Grayeb-Del Alamo. 2009. A multi-species microalgae bloom in Bahía de La Paz, Gulf of California, Mexico (June 2008). *CICIMAR Oceánides*. 24: 15-29.

Garay, E., R. Aznar, J. Lalucat & F. Ribas. 2006. Informe Técnico Sobre Cepas de Trabajo en el Laboratorio de Análisis Microbiológicos. Sociedad Española de Microbiología, España. 4 p.

García, A.E. 1973. Modificaciones al sistema de Clasificación Climático de Köppen. Offset Larios, México. 71 p.

García de la Parra, G.L.M. 1992. Estimación de tasas de fijación de nitrógeno atmosférico en la Bahía de Mazatlán, Sinaloa. México. Tesis profesional CCH-UACPyP, Instituto de Ciencias del Mar y Limnología -Universidad Nacional Autónoma de México. 89 p.

García-Hernández, J., L. García-Rico, M.E. Jara-Marini, R. Barraza-Guardado & A. Hudson Weaver. 2005. Concentrations of heavy metals in sediment and organisms during a harmful algal bloom (HAB) at Kun Kaak Bay, Sonora, México. *Marine Pollution Bulletin*. 50: 733-739.

Gavin, K.I., M.L. Young & D.K.O. Chan. 1997. Environmental and nutritional factors which regulate populations dynamics and toxin production in the dinoflagellate *Alexandrium catenella*. *Hydrobiología*. 352: 117-140.

Glibert, P.M., S. Seitsinger, C. Heil, J. Burkholder, M. Parrow, L. Codispoti & B. Kelly. 2005. The role of eutrophication in the global proliferation of harmful algal blooms. *Oceanography*. 18: 198-209.

Góngora-González, D.T., 2001. Estructura microfitoplanctónica y condiciones hidrológicas relacionadas con la presencia de dinoflagelados tóxicos en Bahía Concepción, B.C.S. México. Tesis licenciatura. Universidad Autónoma de Baja California Sur. La Paz, B.C.S., México. 34 p.

Graham, H.W., 1943. *Gymnodinium catenatum*, a new dinoflagellate from the Gulf of California. *Transactions of the American Microscopical Society*. 62: 259-261.

Granados-Guzmán, A. & S. Álvarez-Borrego. 1984. Variabilidad de la temperatura en la Ensenada de La Paz, B.C.S. *Ciencias Marinas*. 9: 133-141.

- Guo, X.T., A. Uelrara, A. Ravindram, S.H. Bryant, S. Hall & E. Moceydowski. 1987. Kinetic basis for insensitivity to tetrodotoxin and saxitoxin in sodium channels of canine heart and denervated rat skeletal muscle. *Biochemistry*. 26: 7546-7556.
- Hallegraeff, G.M. 1993. A review of harmful algal blooms and their apparent global increase. *Phycologia*. 32: 79-99.
- Hallegraeff, G.M. & S. Fraga. 1996. Blooms dynamics of the toxic *Gymnodinium catenatum*, with emphasis on Tasmanian and Spanish coastal waters. En: Anderson, D.M. & G.H. Hallegraeff (Eds.). *Physiological Ecology of Harmful Algal Blooms*. NATO ASI. Series. 41: 59-80.
- Harrison, W. G. 1973. Nitrate reductase activity during a dinoflagellate bloom. *Limnology and Oceanography*. 18: 457-465.
- Harrison, P.J. 1980. Determining phosphate uptake rates of phytoplankton. Dept. of Oceanography, University of British Columbia, Vancouver, BC. V6T 2B1. Canada. 186-194 p.
- Hernández-Becerril, D.U., R. Alonso-Rodríguez, C. Álvarez-Góngora, S.A. Barón-Campis, G. Ceballos-Corona, J. Herrera-Silveira, M.E. Meave Del Castillo, N. Juárez Ruíz, F. Merino-Virgilio, A. Morales-Blake, J.L. Ochoa, E. Orellana-Cepeda, C. Ramírez-Camarena & R. Rodríguez-Salvador. 2007. Toxic and harmful marine phytoplankton and microalgae (HABs) in Mexican Coasts. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*. 42: 1349-1363.
- Hernández-Sandoval, F.E., D.J. López-Cortés, C.J. Band-Schmidt, I. Gárate-Lizárraga, E.J. Núñez-Vázquez & J.J. Bustillos-Guzmán. 2009. Paralytic toxins in bivalve mollusks during a proliferation of *Gymnodinium catenatum* Graham in Bahía de La Paz, México. *Hidrobiológica*. 19: 245-256.
- Ho, K.C., J. Hodgkiss & I. Lam. 2002. Implication of N:P:Si Ratios to Harmful Algal Blooms in Hong Kong Waters. 2002. *Recent Advances in Marine Science and Technology*. 1: 1-5
- Hodgkiss, I.J. & K.C. Ho. 1997. Are changes in N:P ratios in coastal waters the key to increased red tide blooms?. *Hydrobiologia*. 352: 141-147.
- Hodgkiss, I.J. & S. Lu. 2004. The effects of nutrients and their ratios on phytoplankton abundance in Junk Bay, Hong Kong. *Hydrobiologia*. 512: 215-229.
- Hu, H., W. Chen, Y. Shi & W. Cong. 2006. Nitrate and phosphate supplementation to increase toxin production by the marine dinoflagellate *Alexandrium tamarense*. *Marine Pollution Bulletin*. 52: 756-760.

Hummert, C., M. Ritscher., K. Reinhardt & B. Luckas. 1997. Analysis of the characteristic PSP profiles of *Pyrodinium bahamense* and several strains of *Alexandrium* sp. by HPLC based on ion-pair chromatographic separation, post-column oxidation, and fluorescence detection. *Chromatographia* 45: 312-316.

Ianora, A., M. Bodersma, R. Cassotti, A. Fontana, J. Harder, F. Hoffmann, H. Pavia, P. Potin, S. A. Poulet, & G. Toth. 2006. *New Trends in Marine Chemical Ecology. Estuaries and Coasts.* 29: 531–551.

Jaime, E., G. Gerds & B. Luckas. 2007. *In vitro* transformation of PSP toxins different shellfish tissues. *Harmful Algae.* 6: 308-316.

Jeong, H.J., Y.D. Yoo, J.Y. Park, J.Y. Song, S.T. Kim, S.H. Lee, K.Y. Kim & W.H. Yih. 2005. Feeding by phototrophic red-tide dinoflagellates: five species newly revealed and six species previously known to be mixotrophic. *Aquatic Microbial Ecology.* 40: 133-150.

Johansson, N., E. Granéli, T. Yasumoto, P. Carlsson, & C. Legrand. 1996. Toxin production by *Dinophysis acuminata* and *D. acuta* cells grown under nutrient sufficient and deficient conditions. En: Yasumoto, T., Oshima, Y. & Fukuyo, Y. (Eds.). *Harmful and Toxic Algal Blooms, Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Paris, 1996.* 277-280 p.

Johansson N. & E. Granéli. 1999. Influence of different conditions on cell density, chemical composition and toxicity of *Prymnesium parvum* (Haptophyta) in semi-continuous cultures. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology.* 239: 243-258.

John, E. H. & K.J. Flynn. 2000. Growth dynamics and toxicity of *Alexandrium fundyense* (Dinophyceae): effect of changing N:P supply ratios on internal toxin and nutrients levels. *European Journal of Phycology.* 35: 11-23.

Kahru, M., S.G. Marinone, S.E. Lluch-Cota, A. Pares-Sierra & B. Greg-Mitchell. 2004. Ocean-color variability in the Gulf of California: scales from days to ENSO. *Deep-Sea Research. Part II.* 51: 139-146.

Kellmann, R.F. & B.A. Neilan. 2007. Biochemical characterization of paralytic shellfish toxin biosynthesis in vitro. *Journal of Phycology.* 43: 497-508.

Kodama, M., T. Ogata & T. Sato. 1988. Bacterial production of saxitoxin. *Agricultural and Biological Chemistry.* 52: 1075-1077.

Kodama. M., T. Ogata, S. Sakamoto, S. Sato, T. Honda & T. Miwatani. 1990a. Production of paralytic shellfish poisoning by a bacterium *Moraxella* spp. isolated from *Protogonyaulax tamarensis*. *Toxicon.* 28: 707-714.

Kodama, M., T. Ogata, S. Sato & S. Sakamoto. 1990b. Possible association of marine bacteria with paralytic shellfish toxicity of bivalves. *Marine Ecology Progress Series*. 61: 203-206.

Lagus, A., J. Suomela, G. Weithoff, K. Heikkila, H. Helminen & J. Sipura. 2004. Species-specific differences in phytoplankton responses to N and P enrichments and the N:P ratio in the Archipelago Sea, northern Baltic Sea. *Journal of Plankton Research*. 26: 779-798.

Lechuga-Devéze, C. H. & M.L. Morquecho-Escamilla. 1998. Early spring potentially harmful phytoplankton in Conception Bay, Gulf of California. *Bulletin Marine Science*. 63: 503-12.

Lehane, L. 2000. Paralytic shellfish poisoning a review. National Office of Animal and Plant Health. Agriculture, Fisheries and Forestry. Australia. Canberra. pp. 5-8.

Lehninger, A.L. 1981. Bioquímica. Ediciones Omega, S.A. Barcelona, Cap. 14. 371-394 p.

Levasseur, M., T. Gamache, I. St-Pierre & S. Michaud. 1995. Does the coast of NO₃ reduction affect the production of harmful compounds by *Alexandrium excavatum*? En: Lassus P. G. Arzul, E. Erard-Le Denn, P. Gentien & C. Marcaillou-Le Baut (Eds.) *Harmful Marine Algal Blooms*. París. 463-468 p.

Licea, S., S. Gómez-Aguirre, R. Cortés-Altamirano & S. Gómez. 1999. Notas sobre algunos florecimientos algales y la presencia de especies tóxicas en cinco localidades del Pacífico Mexicano (1996-1999). En: Tresierra-Aguilar, A.E. & Z.G. Culquichicón-Malpica (Eds.). VIII Congreso Latinoamericano sobre Ciencias del Mar. 335-337 p.

Lim, P.T., C.P. Leaw, G. Usup, A. Kobiyama, K. Koike & T. Ogata. 2006. Effects of light and temperature on growth, nitrate uptake and toxin production of two tropical dinoflagellates: *Alexandrium tamiyavanichii* and *Alexandrium minutum* (Dinophyceae). *Journal of Phycology*. 42: 786-799.

Lippemeier, S., D.M. Frampton, S.I. Blackburn, S. Geier & A.P. Negri. 2003. Influence of phosphorus limitation on toxicity and photosynthesis of *Alexandrium minutum* (Dinophyceae) monitored by in-line detection of variable chlorophyll fluorescence. *Journal of Phycology*. 38: 320-331.

Llewellyn, L.E. 2006. Saxitoxin, a toxic marine natural product that targest a multitude of receptors. *Natural Products Report*. 23: 200-222.

López-Cortés, D.J., J.J. Bustillos-Guzmán & I. Gárate-Lizárraga. 2006. Unusual mortality of krill (Crustacea: Euphausiacea) in Bahía de La Paz, Gulf of California. *Pacific Science*. 60: 235-242.

López-Cortés, D.J., I. Gárate-Lizárraga, J.J. Bustillos-Guzmán & F. Hernández-Sandoval. 2008. Proceso trófico en la porción Suroccidental de la península de Baja California http://www.ine.gob.mx/dgioece/ord_ecol/bienal_poem_golfo_california.html

Maclsaac, J.J., G. Grunseich, H.E. Glover & C.M. Yentsch. 1979. En: D.L. Taylor, H. Seliger (eds) Toxic dinoflagellates blooms: Developments in Marine Biology Elsevier, New York. 107-110 p.

Margalef, R. 1978. Life-forms of phytoplankton as survival alternatives in an unstable environment. *Oceanobgy Acta*. 1: 493-509.

Martínez-López, A., R. Cervantes-Duarte, A. Reyes-Salinas & J. E. Valdéz-Holguín. 2001. Cambio estacional de clorofila *a* en la Bahía de La Paz, B.C.S., México. *Hidrobiológica* 11: 45-52.

Matsuda, A., T. Nishijima & K. Fukami. 1996. Effects of nitrogen deficiency on the psp production by *Alexandrium catenella* axenic cultures. En: Yasumoto T. Y. Oshima, Y. Fukuyo (Eds.) Harmful and toxic algal blooms. IOC-UNESCO, Paris. 305-308 p.

Matsuoka, K. & Y. Fukuyo. 2000. Guía técnica para el estudio de quistes de dinoflagelados actuales. WESTPAC-HAB. 30 p.

Mee, L.D., R. Cortés-Altamirano & L.M. García de la Parra. 1984. Di-nitrogen fixation in eutrophic tropical bay. *Estuarine Coast Shellfish Science*. 19: 477-83.

Mee, L.D., A. Ramírez-Flores, F. Flores-Verdugo & F. González-Frías. 1985. Coastal upwelling and fertility of the Southern Gulf of California: Impact of the 1982-83 ENSO event. *Tropical Ocean-Atmosphere Newsletter*. 31: 9-10.

Mee, L.D., M. Espinosa & G. Díaz. 1986. Paralytic shellfish poisoning with a *Gymnodinium catenatum* red tide on the pacific coast of Mexico. *Marine Environment Research*. 19: 17-92.

Monreal-Gómez, M. A., A. Molina-Cruz, A. & D.A. Salas-de León. 2001. Water masses and cyclonic circulation in Bay of La Paz, Gulf of California, during June 1988. *Journal of Marine Systems*. 30: 305-331.

Morales-Blake, A., D.U. Hernández-Becerril & C. Cavazos-Guerra. 2000. Registros de Mareas Rojas en las Bahías de Manzanillo, Colima, México. En: Ríos-Jara, R., E. Juárez-Carrillo, M. Pérez-Peña, E. López-Iriarte, E.G. Robles-Jarero, D.U. Hernández-Becerril & M. Silva-Briano. (Eds.) Estudios sobre plancton en México y el Caribe. Sociedad Mexicana de Planctología y Universidad de Guadalajara. 81-82 p.

Morris & J.P. Riley. 1963. Determination of reactive nitrate. *Analyses Chemical Acta*. 29:272.

Morquecho, E.L. 2004. Estudio de la dinámica poblacional de dinoflagelados en Bahía Concepción, Golfo de California: Relación entre las fases quística y vegetativa. Tesis de doctorado. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. La Paz, B.C.S., México. 3 p.

Murphy J. & J.P. Riley. 1962. A modified single solution method for determination of phosphate in natural waters. *Analyses Chemical Acta*. 27: 31-36.

Nagashima, Y., O. Arakawa, K. Shiomi & T. Noguchi. 1995. Paralytic shellfish poisons of former, *Haliotis tuberculata* from Spain. *Journal Food Hygiene Society Japanese*. 36: 627-631.

Negri, A.P., C. Bolch, S. Blackburn, M. Dickman, L.E. Llewellyn & S. Méndez. 2001. Paralytic shellfish toxins in *Gymnodinium catenatum* strain from six countries. En: Hallegraeff, G.M., S.I. Blackburn, C.J. Bolch & R.J. Lewis (Eds.). *Harmful Algal Blooms 2000*. Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Paris. 210-213 p.

Negri, A., D. Stirling, M. Quilliam, S. Blackburn, C. Bolch, I. Burton, G. Eaglesham, K. Thomas, J. Walter & R. Willis. 2003. Three novel hydroxybenzoate saxitoxin analogues isolated from the dinoflagellates *Gymnodinium catenatum*. *Chemistry Research Toxicology*. 16: 1029-1033.

NOM. 1995. Norma Oficial Mexicana NOM-129-SSA-1995. Bienes y Servicios. Productos de la pesca: secos-salados, ahumados, moluscos cefalópodos y gasterópodos frescos, refrigerados y congelados. Especificaciones Sanitarias. Diario Oficial de la Federación. 6 de Marzo de 1995. México.

Obeso-Nieblas, M. & A.R., Jiménez-Illescas. 1989. Propagación de la constituyente M2 de la marea en la Bahía de La Paz, Baja California Sur, México, mediante un modelo bidimensional hidrodinámico numérico. *Investigaciones Marinas CICIMAR*. 4: 241-256.

Obeso-Nieblas, B. Shirasago, L. Sánchez-Velasco & J.H. Gaviño-Rodríguez. 2004. Hydrographic variability in Bahía de La Paz, B.C.S, Mexico, during the 1997-1998 El Niño. *Deep-Sea Research II*. 51: 689-710.

Obeso-Nieblas M., B. Shirasago-Germán, J.H. Gaviño-Rodríguez, H. Obeso-Huerta, E.L. Pérez-Lezama & A.R. Jiménez-Illescas. 2007. Hidrografía en la Boca Norte de la Bahía de La Paz, Baja California Sur, México. *Ciencias Marinas*. 33: 281-291.

Ochoa, J.A., M.I. Tapia, M.J. Llama & J.L. Serra 1995. Utilización de nitrato en *Phormidium laminosum*. Efecto de la deficiencia de nitrógeno. En: *Avances en el metabolismo del nitrógeno inorgánico*. Universidad de Sevilla. España. 29-36 p.

Oh, S.J., T. Yamamoto, Y. Kataoka, O. Matsuda, O. Matsuyama, & Y. Kotani. 2002. Utilization of dissolved organic phosphorus by the two toxic dinoflagellates, *Alexandrium tamarensis* and *Gymnodinium catenatum* (Dinophyceae). *Fisheries Science*. 68: 416-424.

Orozco-Romo, M.L. 1980. Estudio del macrobentos de la Bahía de Mazatlán, Sinaloa (con relación especial a peces, equinodermos, crustáceos y moluscos. En relación con temperatura, salinidad, profundidad y tipo de sustrato). Tesis Profesional. Universidad Autónoma de Guadalajara. 54 p.

Oshima, Y., H. Itakura, L. Kian-Chuan, T. Yasumoto, S. Blackburn & G.M. Hallegraeff. 1993. Toxin Production by the dinoflagellate *Gymnodinium catenatum*. En: Smayda, Y.J. & Y. Shimizu. (Eds.). *Toxic Marine Phytoplankton in the Sea*. Elsevier, New York. 907-912 p.

Oshima, Y. 1995. Chemical and enzymatic transformation of paralytic shellfish toxins in marine organisms. En: Lassus, P., G. Arzul, E. Erard, P. Gentien, & C. Marcaillou (Eds.). *Harmful Marine Algal Blooms*. Lavoisier Science Publishers, Paris. 475-480 p.

Paasche, E., I. Bryciison & K. Tangen. 1984. Interspecific variation in dark nitrogen uptake by dinoflagellates. *Journal of Phycology*. 20: 394-404.

Páez-Osuna, F. 2005. Retos y perspectivas de la camaronicultura en la zona costera. *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales*. 1: 21-31.

Park, T.G., C.H. Kim & Y. Oshima. 2004. Paralytic shellfish toxin profiles of different geographic populations of *Gymnodinium catenatum* Dinophyceae in Korean coastal waters. *Phycological Research* 52: 300-305.

Pérez, G. 1988. El viento superficial en el noroeste de México. Instituto de Geografía. Bol. No. 18. UNAM. México, D.F. 31-49 p.

Pérez-Cruz, B. 2008. Tasa de depuración de toxinas paralizantes producidas por *Gymnodinium catenatum* (Graham, 1943) en la almeja chocolata *Megapitaria squalida* (Sowerby, 1985). Tesis de Maestría en Ciencias. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. 52 p.

Pérez-Linarez, J., J.L. Ochoa & A.G. Martínez. 2009. Retention and tissue damage of PSP and NSP toxins in shrimp: Is cultured shrimp a potential vector of toxins to human population?. *Toxicon*. 53: 185-195.

Pinckney, J.L., H.W. Paerle, P. Tester & T.L. Richardson. 2001. The role of nutrient loading and eutrophication in estuarine ecology. *Environment Health Perspective*. 109: 699-706.

Plumley, F.G. 1997. Marine algal toxins: biochemistry, genetics, and molecular biology. *Limnology and Oceanography*. 42: 1252-1264.

- Poot-Delgado, C.A. 2006. Estructura de la comunidad fitoplanctónica con énfasis en las especies tóxicas y/o nocivas de la laguna de Macapule, Sinaloa. Tesis de Maestría. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. La Paz, B.C.S. 145 p.
- Provasoli, L. & J.J. MacLaughlin. 1963. Limited heterotrophy of some photosynthetic dinoflagellates. En: Symposium on Marine Microbiology. C.H. Oppenheimer (ed) Thomas, Springfield, Illinois, E.U. A. 105-113 p.
- Redfield, A.C. 1958. The biological control of chemical factors in the environment. American Science. 46: 205-221.
- Rees, J.J. & Hallegraeff, G.M. 1991. Ultrastructure of the toxic, chain-forming dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* (Dinophyceae). Phycologia. 30: 90-105.
- Rees, T.A. 2007. Metabolic and ecological constraints imposed by similar rates of ammonium and nitrate uptake per unit surface area at low substrate concentrations in marine phytoplankton and macroalgae. Journal of Phycology. 43: 197-207.
- Reguera, B. & Y. Oshima. 1990. Response of *Gymnodinium catenatum* to increasing levels of nitrate: growth patterns and toxicity. En: Granellí, E., B. Sundstrøm, L. Edler & D. Anderson (Eds.) Toxic marine phytoplankton. Elsevier Publ. New York. 316-319 p.
- Reyes-Salinas, A. 1999. Factores que controlan la productividad primaria en la Bahía de La Paz, B.C.S. Tesis de Maestría, Centro Interdisciplinario en Ciencias Marinas-IPN, México. 111 p.
- Reyes-Salinas, A., R. Cervantes-Duarte, R. A. Morales-Pérez & J. E. Valdéz-Holguín. 2003. Variabilidad estacional de la productividad primaria y su relación con la estratificación vertical en la Bahía de La Paz, B.C.S. Hidrobiológica. 13: 103-110.
- Rivkin, R.B. & E. Swift. 1982. Phosphate uptake by the oceanic dinoflagellate *Pyrocystis noctiluca*. Journal of Phycology. 18: 113-120.
- Roden, G.I. 1962. Oceanographic aspects of the Gulf of California. Memories of American Association Petrology Geologists. 3: 30-58.
- Ronsón-Paulín, J.A. 1999. Análisis retrospectivo y posibles causas de mareas rojas tóxicas en el litoral del sureste mexicano (Guerrero, Oaxaca, Chiapas). Nota. Ciencia y Mar. 9: 49-55.
- Saldade-Castañeda, O., J.L. Vázquez-Castellanos, A. Sánchez-Anguiano, A. Nazar, J. Galván, J. Zárate & E. Salazar. 1990. Intoxicación por toxina paralizante de moluscos en México. En: Seminario-Taller sobre intoxicación parálitica por mariscos (Marea Roja) para Centro América, México, Cuba y República Dominicana. Comisión

Interministerial de Guatemala para la vigilancia de la marea roja, Guatemala. Organización Panamericana de la Salud. Organización Mundial de la Salud. Programa de Salud Pública-Veterinaria. 61-64 p.

Saldade-Castañeda, O., J. VázquezCastellanos, J. Galván, A. Sánchez-Anguiano & A. Nazar. 1991. Intoxicaciones por toxina paralizante de molusco en Oaxaca. *Salud Pública Mexicana*. 33: 240-247.

Sako, Y., T. Yoshida, A. Uchida, O. Arakawa, T. Noguchi & Y. Ishida. 2001. Purification and characterization of a sulfotransferase specific to N-21 of saxitoxin and gonyautoxin 2+3 from the toxic dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* (Dinophyceae). *Journal of Phycology*. 37: 1044-1051.

Santamaría-del-Ángel, E. 1994. The 1982-1984 El Niño in the Gulf of California as seen in coastal zone color scanner imagery. *Journal Geophysical Research*. 99: 7423-7431.

Silva, E.S., 1979. Intracellular bacteria, the origin of the dinoflagellates toxicity, International IUPAC Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins, Pahotox. Lausanne. 124-128 p.

Siu G.K.Y., M.L.C. Young & D.K.O. Chan. 1997. Environmental and nutritional factors which regulate population dynamics and toxin production in the dinoflagellate *Alexandrium catenella*. *Hidrobiologia*. 352: 117-140.

Smayda, T.J. 1997. Harmful algal blooms: their ecophysiology and general relevance to phytoplankton blooms in the sea. *Limnology and Oceanography*. 42: 1137-1153.

Smayda, T.J. 2000. Ecological features of harmful algal blooms in coastal upwelling ecosystems. *South African Journal Marine Science*. 22: 219-253.

Smayda, T.J. 2002. Adaptive ecology, Growth strategies and the global bloom expansion of dinoflagellates. *Journal of Oceanography*. 58: 281-294.

Smith, J.J., F. Grant, C.M.J. Ferguson & S. Gallacher. 2001. Biotransformation of paralytic shellfish toxin by bacteria isolated from bivalve mollusks. *Applicate of Environmental Microbiology*. 67: 2345-2353.

Solórzano L. 1969. Determination of ammonium in sea water. *Limnology and Oceanography*. 14:799.

Steidinger, K.A. & K. Haddad. 1981. Biologic and hydrographic aspects of red tides. *BioScience*. 31: 814-819.

Steidinger, K.A. & K. Tangen. 1996. Dinoflagellates. En: Thomas, C. (Ed.) *Identifying marine diatoms and dinoflagellates*. Academic Press, San Diego. 387-584 p.

Streets, T.H. 1872. The discolored waters of the Gulf of California. *American Naturalist* 12: 85-92.

Strickland, J.D. & R. Parsons. 1972. A practical handbook of seawater analysis. *Fisheries Research Board of Canada Bulletin*. 167: 207-211.

Sullivan, J.J., W.T. Iwaoka & J. Liston. 1983. Enzymatic transformation of PSP toxins in the littleneck clam (*Protothaca staminea*). *Biochemical Biophysical Research Communications*. 114: 465-472.

Taroncher, O.G., D.M. Kulis & D.M. Anderson. 1997. Toxin variability during the cell cycle of the dinoflagellate *Alexandrium fundyense*. *Limnology and Oceanography*. 42: 1179-1188.

Thronsdon, J. 1979. Special methods-micromanipulators. En: Stein, R.J. (Ed.). *Handbook of phycological methods: culture methods and growth measurements*. Cambridge. London. 139-144 p.

Utermöhl, H. 1958. Zur Vervollkommnung der quantitative Phytoplankton-Methodik. *Mitteilung Internationale Vereinigung fuer Theoretische und Angewandte Limnologie*. 5: 567-596.

Vale, P. & H. Taleb. 2005. Assessment of the quantitative determination of paralytic shellfish poisoning toxins by pre-column derivatization and elimination of interfering compounds by solid-phase extraction. *Food Additives and Contaminants*. 22: 838-846.

Verdugo-Díaz, G. 2004. Respuesta ecofisiológica del fitoplancton ante la variabilidad en una bahía subtropical de Baja California Sur. Tesis de doctorado, Centro Interdisciplinario en Ciencias Marinas, CICIMAR-IPN, México. 138 p.

Wallstrom, K. 1988. The occurrence of *Aphanizomenon flos-aquae* (Cyanophyceae) in a nutrient gradient in the Baltic. *Kieler Meeresforsch Sonderh* 6: 210-220.

White, A.W. 1986. High toxin content in the dinoflagellate *Gonyaulax excavate* in nature. *Toxicon*. 24: 605-610.

William, M.B. 1987. Studies of nitrate transport by marine phytoplankton using Cl- CIO3- as a transport analogue. I. Physiological findings. *Journal of Phycology*. 23: 107-118.

Williams, P.H. & S.C. Clarke. 1998. Why do microbes have toxins?. *Journal of Applied Microbiology Symposium Supplement*. 84: 1-6.

Wood, A.M. & T. Leatham. 1992. The species concept in phytoplankton ecology. *Journal of Phycology*. 28: 723-729.

Yamamoto, T. & K. Tarutani. 1999. Growth and phosphate uptake kinetics of the toxic dinoflagellate *Alexandrium tamarense* from Hiroshima Bay in the Seto Inland Sea, Japan. *Phycological Research*. 47: 27-32

Yamamoto, T., S.K. Oh & Y. Kataoka. 2004. Growth and uptake kinetics for nitrate, ammonium, and phosphate by the toxic dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* isolated from Hiroshima Bay, Japan. *Fisheries Science*. 70: 108-115.

Yoshida, T., Y. Sako & A. Uchida. 2001. Geographic differences in paralytic shellfish poisoning toxin profiles among Japanese populations of *Alexandrium tamarense* and *A. catenella* (Dinophyceae). *Phycological Research*. 49: 13-21.

Yu, R.C., C. Hummert, B. Luckas, P.Y. Qian & M.J. Zhou. 1998. Modified HPLC method for analysis of PSP toxins in algae and shellfish from China. *Chromatographia*. 48: 671-676.

Yuan, J.P., F. Chen, X. Liu & X.Z. Li. 2002. Carotenoid composition in the green microalga *Chlorococcum*. *Food Chemistry*. 76: 319-325.

Zingone, A. & E.H. Oksfeldt. 2000. The diversity of harmful algal blooms: A challenge for science and management. *Ocean Coastal Management*. 43: 725-748.

13. Anexo 1

Tabla 1. Valores mensuales de temperatura (°C), oxígeno disuelto (mg L⁻¹), nutrientes: NO₂⁻ (μM), NO₃⁻ (μM), NH₄⁺ (μM), PO₄³⁻ (μM), nitrógeno inorgánico disuelto (como la suma de NO₂⁻, NO₃⁻, NH₄⁺), cociente N:P, para la E1 de la Bahía de La Paz.

E1	PROF	TEMP	OD.	NO ₂ ⁻	NO ₃ ⁻	NH ₄ ⁺	PO ₄ ³⁻	NID	N:P
15-Jun-06	0	22.5	7.77	0.10	1.04	0.50	1.06	1.6	1.6
	25	20	5.49	0.27	5.59	0.50	1.79	6.4	3.6
	50	17.5	2.78	0.49	24.61	0.61	2.89	25.7	8.9
11-Jul-06	0	29	8.63	0.10	0.47	0.50	2.51	1.1	0.4
	25	22	9.8	0.10	1.35	0.50	0.61	2.0	3.2
	50	22	6.74	0.10	6.34	0.50	2.94	6.9	2.4
18-Ago-06	0	30	6.8	0.10	0.20	0.50	0.24	0.8	3.3
	25	28	7	0.10	0.16	0.50	0.31	0.8	2.4
	50	24.8	5.43	1.63	2.27	0.50	1.04	4.4	4.2
15-Sep-06	0	29.5	6.28	0.10	1.22	2.70	0.73	4.0	5.5
	25	28	6.71	0.10	1.08	2.22	0.86	3.4	4.0
	50	26	4.89	0.32	2.35	3.58	1.25	6.2	5.0
21-Oct-06	0	28.5	6.24	0.27	0.25	1.93	0.53	2.4	4.6
	25	28	6.14	0.19	0.10	0.97	0.80	1.3	1.6
	50	27.2	5.43	0.57	9.73	0.91	1.21	11.2	9.3
15-Nov-06	0	27.2	6.08	0.10	0.68	0.50	0.55	1.3	2.3
	25	27	6.12	0.19	0.10	0.50	0.64	0.8	1.2
	50	27	5.94	0.23	0.86	0.50	0.76	1.6	2.1
11-Dic-06	0	24.3	6.49	0.22	0.92	0.66	0.60	1.8	3.0
	25	24	6.55	0.23	0.75	0.58	0.64	1.6	2.5
	50	23.7	6.13	0.48	4.76	1.96	0.85	7.2	8.5
10-Ene-07	0	21.5	6.89	0.34	1.15	0.83	0.66	2.3	3.5
	25	21.1	6.98	0.27	1.41	0.67	0.64	2.3	3.7
	50	20.5	6.32	0.72	8.66	3.41	0.95	12.8	13.5
01-Feb-07	0	19.5	6.99	0.20	1.85	2.95	0.92	5.0	5.4
	25	19.5	7.02	0.29	1.53	2.85	0.77	4.7	6.0
	50	19	6.24	0.34	3.73	2.09	0.76	6.2	8.1
15-Mar-07	0	19.7	7.56	0.10	0.10	0.87	0.58	1.1	1.8
	25	19.2	7.49	0.10	0.10	0.50	0.62	0.7	1.1
	50	18.2	6.22	0.10	4.70	0.50	1.00	5.3	5.3
12-Abr-07	0	20	7.67	0.10	0.10	0.50	1.09	0.7	0.6
	25	19	5.93	0.10	1.33	0.84	1.34	2.3	1.7
	50	17.5	2.98	0.10	9.31	0.50	2.18	9.9	4.5
17-May-07	0	21	7.96	0.10	0.10	3.30	0.28	3.5	12.5
	25	16	2.89	0.48	18.82	2.78	1.51	22.1	14.6
	50	16	1.84	0.29	17.61	3.74	1.07	21.6	20.2

Tabla 2. Valores mensuales de temperatura (°C), oxígeno disuelto (mg L⁻¹), nutrientes: NO₂⁻ (μM), NO₃⁻(μM), NH₄⁺(μM), PO₄³⁻(μM), nitrógeno inorgánico disuelto (como la suma de NO₂⁻, NO₃⁻, NH₄⁺), cociente N:P para la E4 de la Bahía de La Paz.

E4	PROF	TEMP	OD.	NO ₂ ⁻	NO ₃ ⁻	NH ₄ ⁺	PO ₄ ³⁻	NID	N:P
15-Jun-06	0	23	7.85	0.10	0.10	1.88	0.84	2.1	2.5
	15	23	7.83	0.10	0.10	0.18	0.84	0.4	0.5
	30	19	3.01	0.19	7.75	0.18	2.77	8.1	2.9
11-Jul/06	0	27.5	7.37	0.10	0.36	0.50	0.57	1.0	1.7
	15	27	7.62	0.10	0.10	0.50	2.63	0.7	0.3
	30	25	9.22	0.10	0.38	0.50	2.95	1.0	0.3
18-Ago-06	0	29	6.6	0.10	0.14	0.50	0.50	0.7	1.5
	15	29	6.5	0.10	0.15	0.50	0.42	0.7	1.8
	30	29	6.6	0.10	0.14	0.50	0.41	0.7	1.8
15-Sep-06	0	29	7.15	0.10	0.72	1.00	0.74	1.8	2.5
	15	29	6.75	0.10	1.10	0.84	0.82	2.0	2.5
	30	28	6.98	0.10	0.65	1.89	0.83	2.6	3.2
21-Oct-06	0	28.2	6.49	0.21	0.10	0.76	0.57	1.1	1.9
	15	28	6.99	0.17	0.10	1.03	0.59	1.3	2.2
	30	28	8.49	0.16	0.10	0.68	0.62	0.9	1.5
15-Nov-06	0	27.2	6.28	0.10	0.19	0.50	0.49	0.8	1.6
	15	27	6.08	0.10	0.13	0.50	4.70	0.7	0.2
	30	27	6.05	0.10	0.30	0.56	0.49	1.0	2.0
11-Dic-06	0	24	6.20	0.32	0.50	0.50	0.67	1.3	2.0
	15	24	7.28	0.27	0.97	0.67	0.77	1.9	2.5
	30	24	6.26	0.16	0.97	0.50	0.68	1.6	2.4
10-Ene-07	0	21	7.06	0.53	1.99	0.54	0.70	3.1	4.4
	15	21	6.98	0.27	0.44	0.88	0.45	1.6	3.6
	30	21	6.48	0.23	0.55	1.77	0.28	2.5	9.2
01-Feb-07	0	20.9	7.04	0.19	0.78	2.10	0.98	3.1	3.1
	15	20.7	6.96	0.19	0.79	2.40	0.91	3.4	3.7
	30	20.5	7.08	0.12	0.55	2.07	0.96	2.7	2.8
15-Mar-07	0	20.8	8.63	0.10	0.58	0.50	0.61	1.2	1.9
	15	20.5	8.65	0.10	0.60	0.50	0.77	1.2	1.6
	30	20.1	7.77	0.10	0.31	0.50	0.73	0.9	1.2
12-Abr-07	0	20	6.88	0.10	0.10	0.50	1.08	0.7	0.6
	15	19.5	6.71	0.10	0.10	0.50	0.65	0.7	1.1
	30	19.5	6.57	0.10	0.11	0.50	0.83	0.7	0.9
17-May-07	0	20	7.41	0.10	0.13	1.71	0.39	1.9	5.0
	15	20	7.01	0.10	0.44	2.23	0.32	2.8	8.6
	30	19	6	0.19	3.70	3.27	0.68	7.2	10.5

Tabla 3. Valores mensuales de temperatura (°C), oxígeno disuelto (mg L⁻¹), nutrientes: NO₂⁻(μM), NO₃⁻(μM), NH₄⁺(μM), PO₄³⁻(μM), nitrógeno inorgánico disuelto (como la suma de NO₂⁻, NO₃⁻, NH₄⁺), cociente N:P, para la E6 de la Bahía de Mazatlán

E6	PROF	TEMP	OD.	NO ₂ ⁻	NO ₃ ⁻	NH ₄ ⁺	PO ₄ ³⁻	NID	N:P
15-Jun-06	0	30.2	4.23	0.10	0.11	0.50	0.09	0.71	7.60
	10	29.7		0.10	0.10	0.50	0.09	0.70	7.43
	20	28		0.10	0.10	0.50	0.15	0.70	4.61
	30	27.5		0.10	0.25	0.50	0.16	0.85	5.22
10-Jul-06	0	32	4.51	0.10	0.24	0.50	0.23	0.84	3.62
	10	31.5		0.10	0.18	0.50	0.23	0.78	3.36
	20	30		0.10	0.21	0.50	0.30	0.81	2.73
	30	27		0.30	0.98	0.50	0.37	1.78	4.84
10-Ago-06	0	30	4.14	0.52	0.62	0.50	0.11	1.64	15.58
	10	31		0.14	0.75	0.50	0.20	1.39	7.07
	20	30		0.10	0.49	0.50	0.21	1.09	5.31
	30	29		0.18	0.68	0.50	0.26	1.35	5.16
14-Sep-06	0	30.3	4.17	0.14	1.85	2.22	0.69	4.21	6.14
	10	29.8		0.10	0.62	1.42	0.48	2.14	4.50
	20	29.4		0.37	0.60	1.77	0.47	2.74	5.79
	30	28.3		0.59	3.49	1.48	0.62	5.56	9.03
19-Oct-06	0	29.5	4.14	0.28	0.31	0.50	0.26	1.09	4.26
	10	29.5		0.11	0.10	0.50	0.27	0.71	2.61
	20	29		0.00	0.10	0.50	0.26	0.60	2.27
	30	29		0.10	0.17	0.50	0.27	0.77	2.88
16-Nov-06	0	29	7.4	0.26	0.10	0.50	0.57	0.86	1.52
	10	28.5		0.37	0.68	1.11	0.49	2.16	4.43
	20	28.2		0.63	1.03	0.78	0.53	2.44	4.60
	30	28		0.62	0.06	0.56	0.56	1.24	2.21
16-Dic-06	0	27	5.19	0.28	0.10	0.53	0.39	0.91	2.37
	10	27		0.19	0.10	0.50	0.37	0.79	2.12
	20	27		0.21	0.10	0.58	0.38	0.90	2.34
	30	27		0.22	0.10	0.50	0.40	0.83	2.07
18-Ene-07	0	23	7.98	0.18	0.10	0.50	0.47	0.78	1.65
	10	22.5		0.19	2.64	0.50	0.75	3.33	4.45
	20	22.1		0.36	0.71	0.50	0.31	1.57	5.08
	30	22		0.51	4.77	0.50	0.79	5.78	7.31
15-Feb-07	0	21	13.7	0.38	1.65	1.15	0.60	3.18	5.29
	10	21.5		0.36	7.00	0.99	1.00	8.35	8.36
	20	21		0.42	5.08	1.05	0.87	6.55	7.57
	30	21		0.48	5.95	0.79	0.93	7.23	7.79
15-Mar-07	0	23.5	13.14	0.13	0.10	2.05	0.46	2.28	4.99
	10	23		0.17	0.10	0.50	0.46	0.77	1.68
	20	22		0.53	0.95	1.86	0.86	3.34	3.91
	30	22		0.97	3.34	0.50	1.16	4.81	4.15
19-Abr-07	0	21.5	15.5	0.33	0.39	1.73	0.49	2.44	4.99
	10	18.5		0.56	16.64	1.35	2.00	18.55	9.28
	20	17.5		0.42	20.43	1.26	2.50	22.11	8.84
	30	17.5		0.37	17.68	1.59	2.14	19.64	9.18
17-May-07	0	24.5	2.17	0.10	0.15	1.24	0.37	1.49	4.06
	10	23.5		0.10	0.28	10.70	0.49	11.08	22.47
	20	23		0.18	1.94	2.04	0.68	4.16	6.14
	30	20		0.75	13.40	1.96	1.71	16.11	9.42

Tabla 4. Valores puntuales de temperatura (°C), oxígeno disuelto (mg L⁻¹), nutrientes: NO₂⁻(μM), NO₃⁻(μM), NH₄⁺(μM), PO₄³⁻(μM), nitrógeno inorgánico disuelto (como la suma de NO₂⁻, NO₃⁻, NH₄⁺), cociente N:P para la E7 de la Bahía Mazatlán.

E7	PROF	TEMP	OD.	NO ₂ ⁻	NO ₃ ⁻	NH ₄ ⁺	PO ₄ ³⁻	NID	N:P
15-Jun-06	0	30	3.86	0.10	0.27	0.50	0.12	0.87	7.02
	10			0.10	0.16	0.50	0.14	0.76	5.60
10-Jul-06	0	31.5	4.23	0.10	0.47	0.50	0.29	1.07	3.72
	10			0.10	0.37	0.50	0.23	0.97	4.23
10-Ago-06	0	31	3.67	0.61	0.70	0.50	0.42	1.81	4.36
	10			1.97	2.71	0.50	0.09	5.18	60.50
14-Sep-06	0	30.3	3.33	0.92	1.20	2.42	0.86	4.54	5.26
	10			0.10	1.38	1.55	0.49	3.03	6.17
19-Oct-06	0	29.5	3.81	0.19	0.50	6.60	1.00	7.29	7.29
	10			0.22	1.26	1.05	0.49	2.53	5.12
16-Nov-06	0	29	7.4	0.38	1.93	0.96	0.67	3.27	4.85
	10			0.34	4.00	0.03	0.44	4.37	9.88
16-Dic-06	0	27	5.19	0.25	0.10	1.03	0.54	1.38	2.56
	10			0.30	0.62	3.70	0.92	4.62	5.05
18-Ene-07	0	22.2	6.96	0.50	2.27	0.55	0.64	3.32	5.21
	10			0.31	4.35	0.89	0.78	5.54	7.06
15-Feb-07	0	21.5	13.2	0.41	2.19	1.75	0.80	4.35	5.42
	10			0.59	6.49	0.89	1.05	7.97	7.59
15-Mar-07	0	24	13.3	0.15	0.10	1.13	0.49	1.38	2.84
	10			0.26	0.25	0.50	0.80	1.01	1.26
19-Abr-07	0	21.5	11.98	0.36	4.61	1.33	1.12	6.30	5.63
	10			0.56	12.54	1.31	1.70	14.41	8.48
17-May-07	0	24.5	2.22	0.10	0.25	0.50	0.51	0.85	1.66
	10			0.23	2.99	2.28	0.68	5.51	8.04

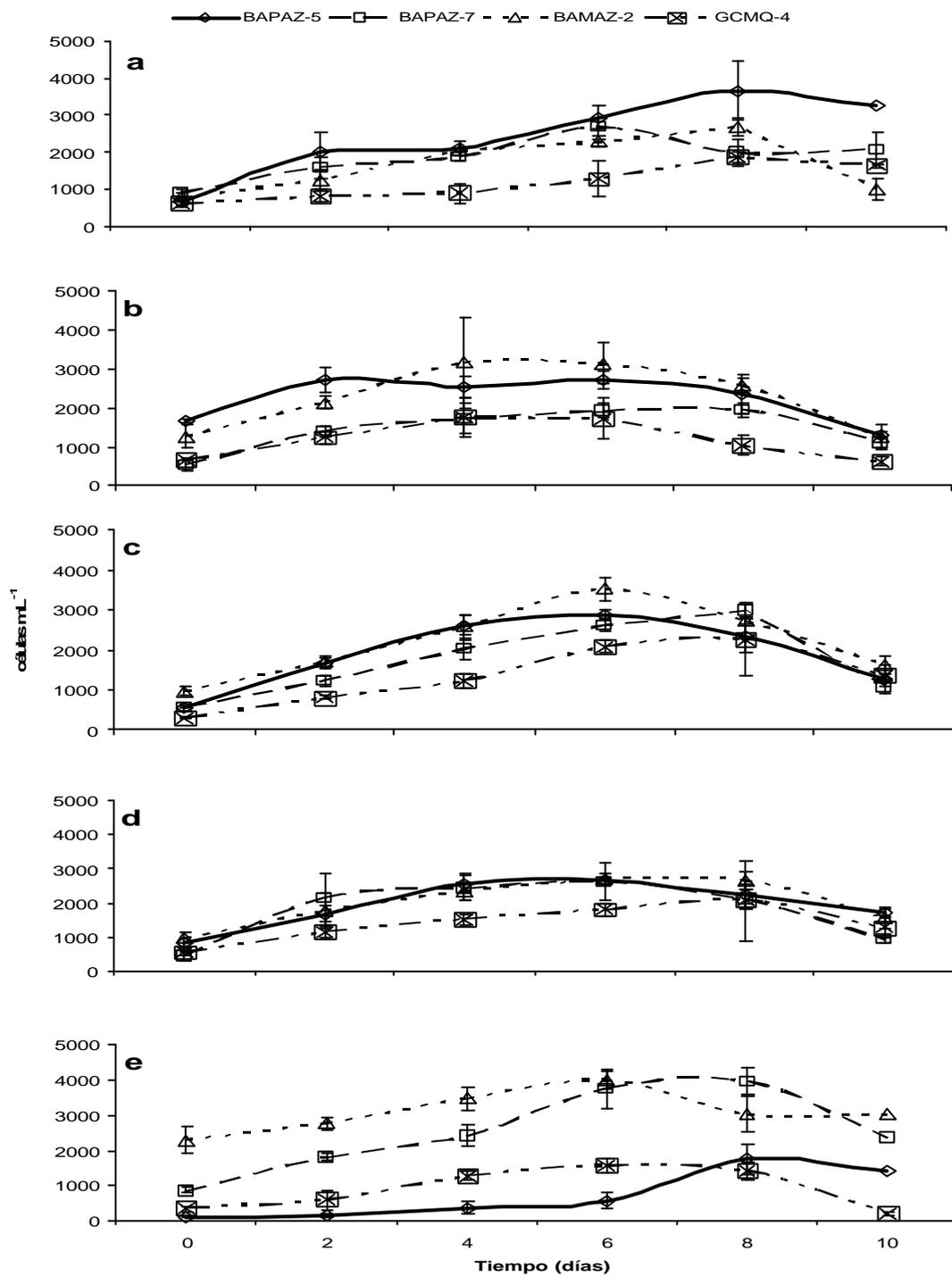


Figura 1. Curva de crecimiento de *Gymnodinium catenatum* cultivadas con diferentes proporciones N:P (a) 4:1; b) 8:1; c) 16:1; d) 32:1; e) 64:1 en cultivos de lote.