



SECRETARIA

DE

EDUCACION PUBLICA



INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL

CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS

ABUNDANCIA DE CIANOBACTERIAS EN LA CORRIENTE DE
CALIFORNIA Y CUENCA DELFÍN
Y
ABSORCION DE LUZ ESTIMADA POR **SYNECHOCOCCUS** DC-Z
WH7803 COMO MODELO

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO
DE M^AESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

Cecilia Díaz Hernández

ENERO 1997
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE
CIENCIAS MARINAS
BIBLIOTECA
I.P.N.
DONATIVO

La Paz, B.C.S.

Agosto de 1997

CONTENIDO.

	Pagina
1.0 INTRODUCCION	1
1.1 Abundancia y distribución de las cianobacterias	3
1.2 Pigmentos fotosintéticos	5
1.3 Propiedades de absorción de luz por las células	7
2.0 JUSTIFICACION y OBJETIVOS	11
3.0 MATERIALES Y METODOS	
3.1 Muestreos de campo	13
3.2 Cultivos de cianobacterias	15
3.3 Mediciones de pigmentos	16
3.4 Mediciones de absorción <i>in vivo</i> en <i>Synechococcus</i> DC-2 WH7803	17
4.0 RESULTADOS	
4.1 Muestreos de campo	19
4.2 Experimentos con cultivos de <i>Synechococcus</i> DC-2 WH7803	
4.2.1 Cultivo	26
4.2.2 Conteo de células por turbidez	26
4.2.3 Velocidad específica de crecimiento	28
4.3 Métodos extracción de clorofila <i>Synechococcus</i> DC-2 WH7803	29
4.4 Mediciones de absorción <i>in vivo</i> en <i>Synechococcus</i> DC-2 WH7803	32
4.4.1 Coeficiente específico de absorción <i>in vivo</i>	32
5.0 DISCUSION	
5.1 Distribución estacional y regional de cianobacterias	36
5.1.1 Corriente de California	36

CONTENIDO (continuación)

	Página
5.1.2 Cuenca Delfín	38
5.2 Importancia relativa de las cianobacterias	39
5.3 Cultivo de Synechococcus DC-2 WH7803	40
5.3.1 Adaptación y crecimiento	40
5.3.2 Medición de pigmentos	41
5.4 Mediciones de absorción <i>in vivo</i> en <i>Synechococcus</i> DC-2 WH7803	
5.4.1 Coeficiente específico de absorción <i>in vivo</i>	42
5.5 Contribución de cianobacterias a la absorción <i>in vivo</i> de fitoplancton	44
6.0 CONCLUSIONES	47
7.0 BIBLIOGRAFIA	48
8.0 APENDICE	54

Símbolos

λ	Longitud de onda , nm
DO	Densidad óptica [-log (I/I ₀)]
a	Coefficiente de absorción [-ln(I/I ₀)l ⁻¹], m ⁻¹
a^*_{cl}	Coefficiente específico de absorción de luz por fitoplancton, m ² (cel) ⁻¹
a^*_{ph}	Coefficiente específico de absorción de fitoplancton, m ² (mg Chl a + feopigmentos) ⁻¹
β	Factor de amplificación de la trayectoria de la luz, factor de corrección aplicado para la medición de la absorción de luz en muestras sobre filtros
V	Volúmen filtrado, m ⁻³
A	Area efectiva del filtro, m ²
E _s	Irradiancia superficial, $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$
PAR	Radiación fotosintética disponible (400-700 nm), $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$
K _d	Coefficiente de atenuación vertical, m ⁻¹
Z _{max}	Profundidad del máximo subsuperficial de Chl a 6 cianobacterias, m
Z _{so}	Profundidad del disco de Secchi, m
Chl	Concentración de clorofila + feopigmentos, mg m ⁻³
Chl a	Clorofila a, mg m ⁻³

TABLAS	Pagina
Tabla I. Velocidad específica de crecimiento de <i>Synechococcus</i> WH7803	28
Tabla II. Coeficiente específico de absorción en <i>Synechococcus</i>	35
APENICE.	54-81
Tabla A. Velocidad específica de crecimiento de cianobacterias tomadas de la literatura.	
Tabla B. Características espectrales de las ficobiliproteínas .	
Tabla C. Coeficiente específico de absorción en cianobacterias.	
Tabla D. Datos hidrográficos y biológicos de la Corriente de California.	
Tabla E. Datos hidrográficos y biológicos de la Cuenca Delfín.	
Tabla G. Abundancia de células de cianobacterias y densidad óptica.	
Tabla H. Coeficiente de absorción [m^{-1}] y coeficiente específico de absorción [$m^{-2}(cel)^{-1}$]	

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
 EN CIENCIAS Y LETRAS
 UNAM

Figuras

	Página
Figura 1. Estructura química de los cromóforos de ficobiliproteínas aislados	6
Figura 2. Propiedades espectrales en <i>Synechococcus</i> marina DC-2 y WH7803	7
Figura 3. Mapa de los sitios de muestreo	14
Figura 4. Perfiles verticales luz y temperatura en la Corriente de California y Cuenca Delfín.	20
Figura 5. Perfiles verticales de nitratos y clorofila en la Corriente de California y Cuenca Delfín.	21
Figura 6. Perfiles verticales de cianobacterias en la Corriente de California y Cuenca Delfín	22
Figura 7. Comportamiento de las cianobacterias con respecto a los parámetros hidrográficos y biológicos	24
Figura 8. Razón de células de cianobacterias y clorofila con respecto a E_s , temperatura, nutrientes y clorofila	25
Figura 9. Correlación de células en desarrollo y DO en cultivos.	27
Figura 10. Velocidad específica de crecimiento de <i>Synechococcus</i> DC-2 WH780	29
Figura 11. Espectros de extracción de clorofila en <i>Synechococcus</i> con diferentes solventes y a diferentes tiempos de extracción.	31
Figura 12. Coeficiente de absorción de cultivo en desarrollo de <i>Synechococcus</i> DC-2 WH7803.	32
Figura 13. Coeficiente específico de absorción de <i>Synechococcus</i> [m^2 (célula) $^{-1}$] y [m^2 mg Chl a]	34
Figura 14. Contribución de las cianobacterias a la absorción in vivo de fitoplancton total en la Corriente de California y Cuenca Delfín.	46

RESUMEN

Las cianobacterias marinas cocales se contaron en dos estaciones, en la Corriente de California y la Cuenca Delfín en el norte del Golfo de Baja California. El conteo de las células se realizó por **microscopía** epifluorescente, utilizando la autofluorescencia de las ficobiliproteínas, que producen una fluorescencia característica naranja. La concentración de células en ambas estaciones fue similar, entre 10^6 - 10^8 células l^{-1} . La abundancia de cianobacterias no mostró un patrón definido de comportamiento con respecto a las variables ambientales como luz, temperatura y nutrientes. **Característicamente**, la máxima abundancia se encontró alrededor del máximo **subsuperficial** de clorofila. Usando un cultivo de *Synechococcus* DC-2 como modelo de cianobacterias cocales oceánicas, es posible calcular la contribución de las cianobacterias a la concentración de clorofila *in situ* a partir de la abundancia **célular** y la clorofila por célula de *Synechococcus*, y de la concentración de clorofila *in situ*. La contribución de las cianobacterias a la **concentración** de la clorofila *in situ* fue $< 20\%$ en el 50% de las muestras. Las cianobacterias oceánicas muestran un característico pico de absorción a 550 nm, a la misma longitud de onda se observa un pequeño pico en los datos de absorción de partículas oceánicas. Este pico de absorción se puede explicar con base en la contribución de las cianobacterias a la biomasa ftoplanctónica y partiendo de las propiedades ópticas de *Synechococcus* DC-2.

ABSTRACT

Marine coccoidal cyanobacteria were counted at two stations, the California Current and the Cuenca Delfín *in* the northern Gulf of California. **Cells** were counted by epifluorescence microscopy, using autofluorescence of phycobiliproteins, showing a typical **orange fluorescence**. The **cell** concentrations at both stations were similar between 10^6 - 10^8 cell l⁻¹. The cyanobacteria abundance did not show a **clear** pattern with other environmental variables **such as light, temperature or nutrients**. Characteristically the maximum **cell** concentrations were found around the chlorophyll subsurface maximum. Cultures of *Synechococcus* DC-2 were **used** as a model of oceanic **coccal** cyanobacteria. From the chlorophyll concentration per **cell** of *Synechococcus*, and from the *in situ* cyanobacteria concentration and chlorophyll concentration at the two stations the contribution of cyanobacteria to the *in situ* chlorophyll concentration can be calculated to be, **in 50% of the samples less than 20%**. Cyanobacteria show a characteristic absorption peak at 550 nm, at the **same** wavelength only a **small** absorption shoulder **is found in** oceanic **particle** absorption data. This absorption peak can be explained by the natural cyanobacteria concentration using the optical properties of *Synechococcus* DC-2 as a basis for the estimate.

Abundancia de cianobacterias en la Corriente de California y Cuenca Delfín

Y

absorción de luz estimada por *Synechococcus* DC-2 WH7803 como modelo

1. INTRODUCCION

Los organismos pequeños de las comunidades microbiológicas; como el picoplancton (células de $<2\mu\text{O}$), tienen un importante papel en la cadena trófica de los océanos (Azam et *al.*, **1983**). Dentro del picoplancton autótrofo se encuentran las cianobacterias, proclorofitas y eucarióticas fotosintéticas, cuya contribución es significativa, tanto a la biomasa microbiana, como a la biomasa del carbono fitoplanctónico, en regiones oceánicas y neríticas de los márgenes templados y tropicales, encontrándose distribuidas en aguas con una gran diversidad de regímenes de luz, temperatura y nutrientes (Waterbury et *al.*, **1979**; Glover, 1985; Li et al., 1993; Burkill et *al.*, **1993**; Joint et *al.*, 1993). Por sus características espectrales de absorción de luz, las cianobacterias son de interés para metodología de los **sensores** remotos; pues el pico de absorción de las ficobiliproteínas, pigmentos típicos en éste grupo corresponde a la longitud de onda (550 nm) de la banda espectral utilizada como referencia por los **sensores** remotos; CZCS, OCTS y Sea WIFS.

Las cianobacterias pertenecen a uno de los grandes subgrupos de las bacterias Gram-negativas. Poseen una organización celular típica procariótica; y cuentan con un aparato de fotosíntesis como las eucarióticas; que posee clorofila **a** y un segundo fotosistema (**PSII**), con producción de oxígeno; sin embargo, la distribución de sus pigmentos en los **ficobilisomas** es muy especial. Entre los

espacios intratilacoidales se encuentran los ficobilisomas. Los ficobilisomas aparecen ordenados sobre la superficie de la membrana fotosintética, aspecto que las diferencia tanto de otras bacterias fotosintéticas como de las eucarióticas, los ficobilisomas contienen a las ficobiliproteínas; que constituyen los pigmentos dominantes de las cianobacterias cocales oceánicas (**Carr** y Wyman, 1986). Parece ser que la eficiencia de transferencia de los fotones absorbidos por la ficobiliproteína ficoeritrina (PE) hacia los centros de reacción fotosintética es alta, aproximadamente entre 90 a 99% (**Yeh** et al., 1986).

Por su estructura morfológica, las cianobacterias se han separado en dos grupos que son: bastones o cocos, unicelulares y filamentosas y filamentosas con heterocitos (estructura especializada para la fijación de nitrógeno). Las cianobacterias poseen una gruesa pared celular compuesta por cuatro capas diferentes, constituida principalmente por péptido **glicanos**; glucopéptidos, mucopéptidos y celulosa con pectina, y capas mucilaginosas que constituyen más del 50% del peso seco (Raymont, 1979). Estos grupos se clasifican a su vez en subgrupos dependiendo del tipo de división nuclear que se presenta: fisión binaria, fisión múltiple o ambas, en uno o más planos. Dentro de los cocos unicelulares, se ubica a la familia de las Chorococoidae que incluye a los géneros *Synechococcus* y ***Synechocystis***, ambos presentan división por fisión binaria transversa en un plano, lo que las diferencia de otros géneros del subgrupo (Glover, 1985). Las células de *Synechococcus* spp tienen un tamaño de diámetro que va de <1.0-2.0 μm (**Yeh** et al., 1986; Wyman et al., 1985).

El crecimiento de las cianobacterias parece estar influenciado por las condiciones de luz, temperatura y nutrientes, pues su velocidad de crecimiento muestra considerable variación entre las especies de cultivos naturales y comúnmente entre individuos de la misma especie (Wyman, 1985; Smith, 1986; Vernet et al., 1990).

Parece existir una significativa correlación entre la velocidad de crecimiento y la relación superficie de la célula a volumen (S/V) en organismos pequeños, altos valores de S/V , muestran menor tiempo de generación. Las familias con alta razón S/V tienen alto potencial de velocidad en la toma de nutrientes (Gibson y Smith, 1982 en Carr y Wyman, 1986). En la Tabla A del apéndice se presentan algunos valores de la velocidad específica de crecimiento reportadas para *Synechococcus*, dichos valores son más bajos de lo que podría esperarse, dado su pequeño tamaño. Pero poco se conoce de su dinámica en los océanos ya que los estudios se han enfocado a determinaciones de abundancia y composición de sus pigmentos.

1.1. Abundancia y distribución de las cianobacterias.

El registro de fósiles ha indicado la presencia de cianobacterias desde el precámbrico. Sin embargo, la información existente respecto a la abundancia de cianobacterias cocales en el mar es relativamente reciente debido a la carencia de métodos para su conteo, pero el descubrimiento de la microscopía epifluorescente fue posible su identificación y reciente conteo (Booth, 1987). Por sus características fisiológicas, se encuentran distribuidas en una amplia variedad de ecosistemas limnológicos y marinos. La halotolerancia y adaptación a ambientes de bajas concentraciones de nutrientes que tienen muchas familias favorece su abundancia en los océanos, (Stainer y Cohen-Bazire, 1977 y Rippka *et al.*, 1979 en Glover, 1985). Las cianobacterias han mostrado alta eficiencia fotosintética en la región azul-verde del espectro visible, razón por la cual se ha considerado tienen cierta ventaja competitiva en las partes bajas de la zona eufótica, donde sólo se dispone de baja irradiancia con un máximo espectral en la región verde alrededor de los 550 nm, Ikeya *et al* (1994).

En el Mar de Arabia y Costas de Perú, se ha reportado que ***Synechococcus*** muestra una distribución homogénea en masas de agua no estratificadas verticalmente, en tanto, que en la columna de agua estratificada, la máxima abundancia se presentó generalmente en los primeros 20 m y ocasionalmente se encuentran algunas células a los 400 m. El orden de abundancia en la zona eufótica fue del orden de entre 10^7 a 10^8 células l^{-1} (Waterbury *et al.*, 1979).

Por otra parte, en la Bahía de Iwanai -Hokkaido- Miyazono *et al.* (1992), reportan una abundancia de células de cianobacterias de entre 1.4×10^6 a 1.9×10^9 células l^{-1} , misma que tiende a el incremento después de el afloramiento de diatomeas, mostrando fluctuaciones fuertemente marcadas durante junio y agosto. La capa de máxima densidad cambia de 0-20 m de profundidad para el período abril-junio y de 20-50 m en agosto-octubre. Las cianobacterias fueron la especie más abundante del picoplancton, encontrándose hasta en un 73-99% del total de la densidad de células durante todo el año. Así, en aguas oligotróficas de la región Noroeste del Océano Indico Burkill *et al.* (1993), reportan abundancias de cianobacterias de 10^7 a 10^8 células l^{-1} con un contenido de carbono superior a los $50 \mu g C l^{-1}$ que corresponde a más del 40% del carbono orgánico particulado (COP). Esto indica que ***Synechococcus*** puede constituir un importante recurso trófico en áreas oligotróficas.

Para las aguas del Pacífico Mexicano y Golfo de California no existen datos reportados de la abundancia de cianobacterias cocales, los estudios al respecto más cercanos a la región se han realizado en la Costa Sur de California (Vernet *et al.*, 1990), la densidad de células de ***Synechococcus*** que reportan es de entre 1.4 y 1.16×10^9 células l^{-1} , con máximas abundancias cerca de la superficie entre los 3-13 m y una estratificación vertical de la abundancia a principios de primavera y finales de otoño, para el invierno, la concentración de células es baja, al igual que la estratificación vertical 2 a 10 veces menor.

1.2. Pigmentos fotosintéticos.

Los pigmentos presentes en las cianobacterias son: clorofila, carotenoides y ficobiliproteínas. Dentro de las clorofilas únicamente se encuentra presente la unidad de clorofila *a*, y de los carotenoides contienen a el beta caroteno y xantófilas, principalmente la zeaxantina, hasta en un 77% del total de los carotenos (Guillar *et al.*, 1985 en Glover, 1985). La clorofila *a*, es el único pigmento que realiza el proceso de fotosíntesis, no obstante, las ficobiliproteínas constituyen su principal antena captadora de luz para la fotosíntesis; éstas revelan un amplio intervalo de absorción de luz en el espectro, de aquí la coloración en dichos organismos, lo que constituye una de las características más sobresalientes de las cianobacterias (Gantt,1979; Yeh *et al.*, 1986; Wyman,1985; Vernet *et al.*, 1990; Ikeya *et al.*,1991).

La concentración y composición celular de las ficobiliproteínas en las cianobacterias depende de los factores de desarrollo como la luz (Wyman *et al.*, 1985) y nutrientes (Smith, 1986; Vernet *et al.*, 1990). Las ficobiliproteínas pertenecen a un grupo específico de cromoproteínas, cuyos cromóforos representan un alto sistema conjugado de uno o más pigmentos tetrapirrólicos no cíclicos, no poseen un metal como la clorofila y se encuentran unidos covalentemente a la cadena peptídica (Fig.1). Su espectro de absorción depende en gran medida de las cadenas peptídicas nativas y de los sitios de unión covalente de los cromóforos con la apoproteína (Chapman, 1973; Gantt, 1979; Swanson y Glazer, 1990). Al parecer las ficobiliproteínas absorben luz en la región donde la clorofila y las xantofilas presentan muy baja absorción, (Chapman, 1973; Gantt, 1979).

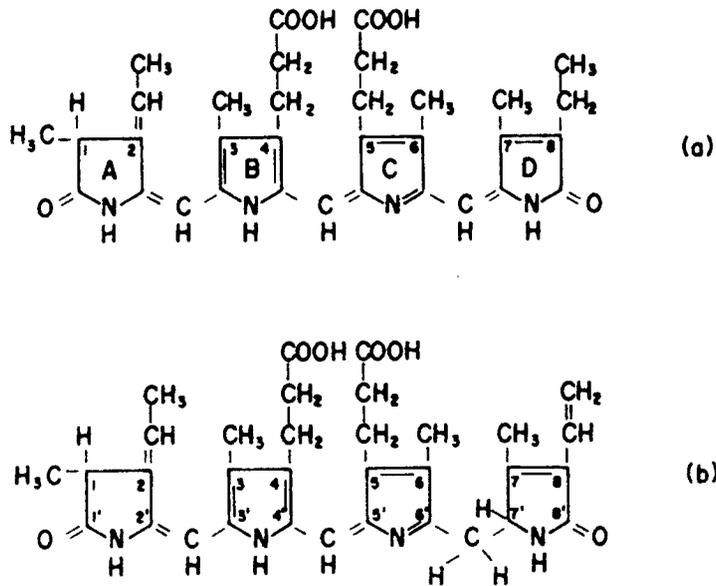


Figura 1. Estructura de los cromóforos aislados (a) ficocianobilina, (b) ficeitrobilina (Glover, 1985).

Las ficobiliproteínas que se han identificado en cianobacterias, son de tres tipos principalmente: C-ficoeritrina (C-PE), C-ficocianina (C-PC) y aloficocianina (alo-PC) (Chapman, 1973; Swanson y Glazer 1990; Kremer, 1988). Glover, 1985 ha clasificado dos tipos espectrales de ficoeritrina principalmente en *Synechococcus* (Tabla B del apéndice). Estas contienen un cromóforo de ficoeritrobilina que presenta un máximo de absorción a 550 nm en la proteína nativa (Fig.2a,b) y alrededor de 558 nm en condiciones de desnaturalización (Fig.2c,d). Este constituye el tipo I de cromóforo, típico en *Synechococcus* marino. El tipo II de ficoeritrina presenta un segundo pico a 500 nm (Kursar *et al.*, 1981 en Glover, 1985)

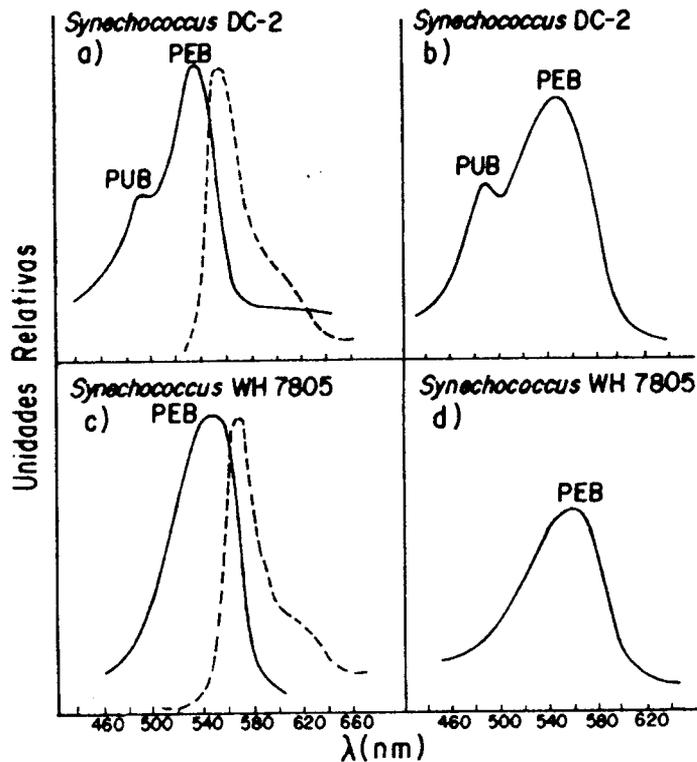


Figura 2. Propiedades espectrales de la ficoeritrina en *Synechococcus* marina en DC-2 los pigmentos de tipo II, cromóforo de ficourobilina (PUB, a y b) y en WH7805 los pigmentos de tipo I, cromóforo ficoeritrobilina (PEB, c y d). (----) espectro de absorción y (----) espectro de fluorescencia, tomado de (Glover , 1985).

1.3 Propiedades de absorción de luz por las células.

La energía luminosa que penetra hacia las profundidades en un cuerpo de agua, se reduce cuantitativamente en forma exponencial, debido a las propiedades de absorción y esparcimiento del agua y del material disuelto y suspendido en la misma, dichas propiedades del medio acuático para la luz a una longitud de onda dada, han sido denominadas como propiedades ópticas *inherentes* y se especifican en términos de coeficiente de absorción y coeficiente de esparcimiento (Kirk, 1983).

En aguas oceánicas donde la absorción se debe principalmente al agua misma, la luz azul penetra más hacia las profundidades, en tanto que la luz roja se absorbe muy rápidamente en los primeros 4-5 m de profundidad, para las aguas productivas y de surgencias la luz azul se atenúa más fuertemente que la luz verde por la alta concentración de pigmentos fotosintéticos, Kirk (1983). Pero, el espectro de irradiancia que penetra hacia la parte más profunda de la zona eufótica es la región verde, donde las ficobiliproteínas tienen su máxima absorción.

El coeficiente de absorción $a(\lambda)$ de una suspensión celular se determina a partir de la absorbancia como función de la densidad óptica (DO) y el espesor de la capa suspendida (l):

$$a = 2.303 \text{ DO} / l. \quad (1.1)$$

Donde 2.303 se obtiene de convertir Log_{10} a Log_e . La medición de la densidad óptica de las partículas de fitoplancton concentradas en un filtro ($\text{DO}_f(\lambda)$), ha sido aplicado aproximadamente desde hace treinta años (Yentsch, 1962 en Mitchell, 1990).

$$\text{DO}_f(\lambda) = -\text{Log}_{10} (T_s(\lambda)/T_r(\lambda)) \quad (1.2)$$

Se ha encontrado que la magnitud de $\text{DO}_f(\lambda)$ es mayor de lo que puede esperarse, pues la trayectoria geométrica dada por la relación entre el volumen filtrado (V_f) y el área del filtro (A_c), es menor que la trayectoria óptica.

$$\beta = l_o / l_g \quad (1.3)$$

Donde l_o y l_g son la trayectoria óptica y geométrica, respectivamente. El valor de l_g para partículas concentradas está dado por la relación del volumen filtrado entre el área efectiva del filtro.

$$l_g = V_f / A_f \quad (1.4)$$

$$A_f = r^2 \pi \quad (1.5)$$

Donde r es el radio del área efectiva de filtración en el filtro que contiene las partículas; partiendo de la ecuación (1.1), puede calcularse:

$$a(\lambda) = 2.3 \text{ DO}_f (l_g \beta)^{-1} \quad (1.6)$$

Generalmente no se observa una relación lineal entre β y DO, lo que ha sugerido una relación empírica de forma cuadrática simple entre la densidad óptica de la muestra en suspensión DO_s y DO_f , para la estimación cuantitativa de $a(\lambda)$ a partir de las mediciones de DO. En donde la magnitud de $\text{DO}_s(\lambda)$ se estima directamente de:

$$\text{DO}_s = a \text{ DO}_f + b[\text{DO}_f]^2 \quad (1.7)$$

El coeficiente de absorción $a(\lambda)$, es una variable ampliamente utilizada en los modelos de producción primaria, que generalmente se expresa en función de la concentración del pigmento y se denomina como coeficiente específico de absorción [$a^*(\lambda)$], y está dado por:

$$a^*_{ph} = a C^{-1} \quad (1.8)$$

$$C = \text{mg Chl } a \text{ m}^{-3}$$

El hecho de que la clorofila *a* se ha empleado para normalizar la absorción, es en base a la importancia de la misma en la fotosíntesis y la facilidad de su medición.

El espectro de absorción *in vivo* es determinado por el tamaño y forma de los cloroplastos, tipo y composición de los pigmentos tamaño y forma de las células o colonias, en el caso de las cianobacterias, estas no poseen cloroplastos. Cuando los pigmentos que absorben la luz se encuentran concentrados dentro de la célula u organelos la absorción por unidad de pigmento se reduce en comparación con la misma cantidad de pigmento disuelto en la solución; efecto conocido como, *efecto de paquete* ó efecto de autosombreado, lo que origina una reducción en la eficiencia de la absorción de la luz específicamente en regiones del espectro donde se presentan máximos de absorción (Kirk, 1983). En algas unicelulares, la magnitud del *efecto de paquete* depende del tamaño de la célula y el contenido de pigmentos celulares ésto es, en células más pequeñas y células con bajas concentraciones de pigmentos el *efecto de paquete* es menor. Los cambios en la magnitud del *efecto de paquete* producen variaciones en el coeficiente específico de absorción para la clorofila (a^*). Un valor bajo de a^* , indica un *efecto de paquete* grande y un alto valor indica un *efecto de paquete* pequeño (Geider y Osborne, 1992). Comúnmente se considera que en las cianobacterias por su pequeño tamaño el coeficiente de absorción es grande y el *efecto de paquete* es pequeño, la tabla C del apéndice muestra algunos valores reportados para el coeficiente específico de absorción en cianobacterias.

2. JUSTIFICACION y OBJETIVOS.

JUSTIFICACION

Los estudios de productividad de los océanos, generalmente se realizan mediante determinaciones de clorofila como un parámetro de estimación de la biomasa del fitoplancton e indirecta estimación de productividad fotosintética; sin embargo, la contribución y composición de los pigmentos característicos de algunos grupos especiales del fitoplancton, no precisamente la clorofila; sino otros, como las ficobiliproteínas en cianobacterias; pueden proporcionar gran información de la trofodinámica del ecosistema. Las cianobacterias han sido reconocidas como un importante grupo del picoplancton marino, pues las ficobiliproteínas, su principal antena captadora de luz para los procesos fotosintéticos les confieren características muy especiales (Waterbury *et al.*, 1979; Glover, 1985; Kana y Gilbert, 1986; Iturriaga y Marra, 1988; Moore *et al.*, 1995). No obstante; su estudio requiere de métodos diferentes a los convencionales; la estimación de biomasa de cianobacterias se efectúa mediante la microscopía epifluorescente. Por otra parte; para la extracción y cuantificación de sus pigmentos, su pequeño tamaño dificulta el rompimiento de la pared celular; presentado algunas implicaciones aún no resueltas satisfactoriamente.

Asimismo, las ficobiliproteínas de las cianobacterias cocales oceánicas presentan un máximo de absorción a 550 nm; mismo que corresponde a la longitud de onda que se utiliza como banda espectral de referencia para el cálculo de la

concentración de clorofila en el mar, a partir de los sensores remotos de luz visible, puesto que otros grupos del fitoplancton no tienen significativa absorción a ésta longitud de onda. La absorción de luz por las cianobacterias a ésta longitud de onda posiblemente representa un fuente de error potencialmente en las estimaciones de clorofila por dichos sensores.

OBJETIVOS

- Estimar la contribución de las cianobacterias a la biomasa de fitoplancton y absorción *in vivo* del mismo.
- Evaluar la biomasa de cianobacterias y su distribución dentro de la zona eufótica, en dos localidades con diferentes condiciones oceanográficas.

HIPOTESIS

La absorción *in vivo* por cianobacterias tiene efecto en las determinaciones de clorofila total de fitoplancton estimada por los sensores remotos.

3.0 MATERIALES y METODOS

Area de estudio.

Los sitios contemplados para el presente trabajo se localizan en la Corriente de California aproximadamente entre los 31°,50'.05 N y 116°,53' 0 (frente a Ensenada, México); durante el período de mayo de 1993 a enero de 1994 y en la Cuenca Delfín entre los 30°,13'05 N y 114°,14' W (Norte del Golfo de California, México) de julio de 1993 a diciembre de 1994, Fig.3.

3.1 Muestreos de Campo.

Drante los muestreos se hicieron mediciones de temperatura y salinidad en la columna de agua empleando un CTD (SEABIRD), y la fluorescencia de clorofila *in situ*, natural e inducida, se registró con un sensor de fluorescencia natural (PNF300, Biospherical, San Diego) y un fluorímetro *in situ* (SEATECH) respectivamente; la irradiancia (PAR) se efectuó con el radiómetro el cual se encuentra integrado al PNF300.

Las muestras en la columna de agua se colectaron con botellas Niskin con una capacidad de 5 l, a las profundidades de 100, 33, 10, 3.3 y 1% de la irradiancia superficial (E_s), estimadas de la lectura del disco de Secchi y la ecuación 3.1 (Idso y Gilbert, 1974), éstas son aproximadas a las obtenidas a partir de los datos proporcionados por el radiómetro del PNF, que fueron las utilizadas para el análisis de los datos.

$$E_z = E_s e^{-kz} \quad (3.1)$$

$$k = 1.7/Z_{s,D} \quad (3.2)$$

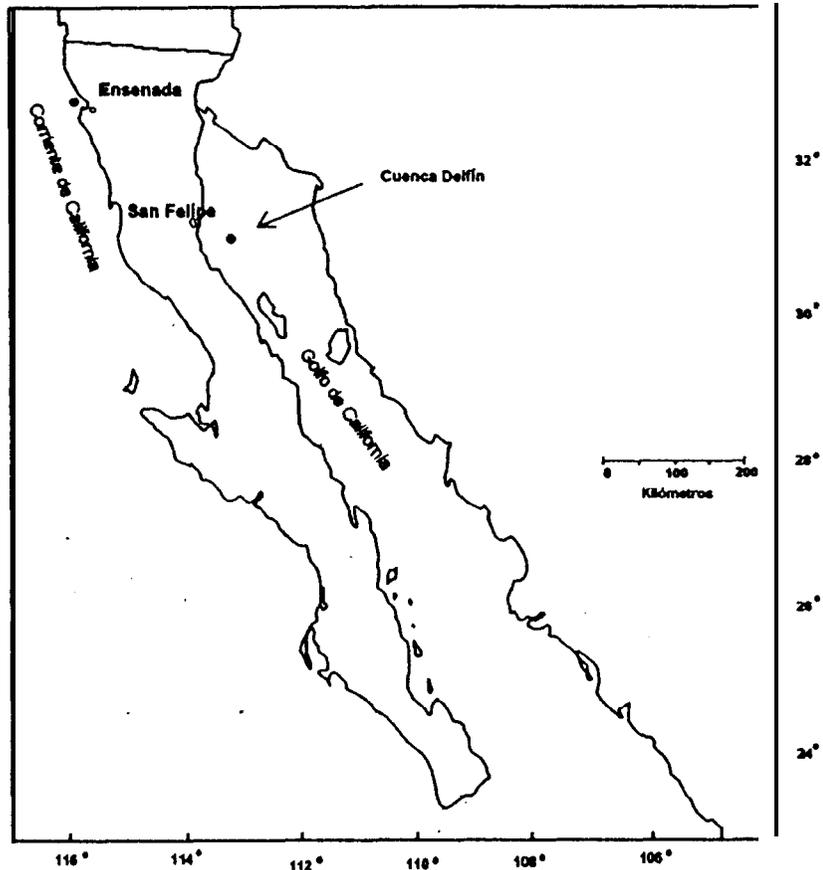


Figura 3. Sitios de muestreo. Corriente de California, profundidad media 500 m.
Cuenca Delfin profundidad media 200m.

El conteo de cianobacterias se realizó por microscopía epifluorescente; el método se basa en la autofluorescencia producida por los pigmentos fotosintéticos, cuya excitación fue de 515<580 y emisión a 528<580 nm, lo que hace posible la distinción de pequeños autótrofos de los heterótrofos, (Waterbury et al., 1979). Las células con clorofila pero sin ficobiliproteínas fluorescen de color rojo, en tanto que las células con clorofila y ficobiliproteínas fluorescen de color naranja, lo que hace posible distinguir a las cianobacterias de otras especies de fitoplancton.

Muestras de 30 a 60 ml fueron filtradas en filtros de membrana inorgánicos Anodics (Whatman) de 25 mm de diámetro y poro de 0.2 μm a presión diferencial de 0.2 atm, con adición de glutaraldehído a una concentración final de 1% (Booth, 1987). Se contaron entre 20 y 30 campos ó 200 a 300 células a fin de disminuir el porcentaje de error (Venrick, 1978). El error promedio del conteo fue \approx 8%, estimado a partir de la desviación estandar.

3.2 Cultivos de cianobacterias.

Las células de ***Synechococcus*-DC2** WH-7803 obtenidas del laboratorio de B. Brahmsha (Scripps Institute of Oceanography. La Jolla, CA), crecieron en medio enriquecido SN, (Waterbury et al., 1979). El medio se preparó con 75% de agua de mar y 25% de agua destilada. Primeramente, la esterilización se efectuó por filtración a presión manual, empleando filtros de membrana de nitrato de celulosa (47mm de diámetro y poro de 0.2 μm), posteriormente se optó por la esterilización en autoclave. Se probó la adición de vitaminas y las condiciones de luz y temperatura para su crecimiento. Iniciado el crecimiento; los cultivos fueron transferidos a matraces balón de 6 l, en los cuales no fue posible el crecimiento, por lo que nuevamente fueron transferidos a un matraz Fernbach de 2 l. y botellas de policarbonato de 1l, manteniéndose en dichos recipientes hasta el final de los experimentos.

Con la finalidad de facilitar el control del crecimiento en los cultivos; se efectuaron conjuntamente al conteo de las células en el microscopio de epifluorescencia, algunas mediciones espectrofotométricas de la densidad óptica (DO) de los cultivos a 550 y 610 nm, en un espectrofotómetro (Bausch & Lomb Spectronic 1001).

3.3 Medición de pigmentos.

Para la extracción de los pigmentos se probó el método de Rapid Pressure Drop (RPD) para el rompimiento de la pared celular de **Synechococcus** y la liberación de los mismos. El fundamento del método consiste en la aplicación de una alta presión que al bajar bruscamente, produce un cambio presión ambiental en el interior de la célula, lo que provoca su explosión. La presión aplicada a la muestra fue de 14,000 *Kp* (78.9 *atm*) y la máxima presión interna del rompimiento de la célula calculada a partir de la ecuación 3.1, de aproximadamente 12.2 *atm*.

$$P_i = 22.4 P_a K (V_g / V_i) \quad (3.1)$$

donde:

P_i = presión interna de rompimiento de la célula

P_a = presión aplicada

K = constante de solubilidad del N_2 en agua, $[\text{mol}(\text{l atm})^{-1}] = 0.00068$

(V_g / V_i) = volúmen de la vacuola gaseosa por el volúmen del protoplasma, 0.1

En la extracción de pigmentos lipofílicos; se probó una mezcla de solventes compuesta por sulfoxido de dimetilo $(\text{CH}_3)_2\text{S}$ -DMSO- en forma pura (100%) y acetona al (90%). La mezcla se preparó con una composición de 40% y 60% de cada uno de los solventes respectivamente. La eficiencia de extracción del solvente se determinó comparando la extracción con la técnica rutinaria que utiliza acetona al 90% (Strickland y Parsons, 1972), con un período de extracción de 2, 12 y 24 horas.

3.4 Mediciones de absorción *in vivo* en *Synechococcus* DC-2 WH7803.

En las mediciones de absorción espectral *in vivo*, se emplearon muestras de cultivos en fase de crecimiento exponencial, desarrollados a diferentes condiciones de luz y temperatura:

1) Incubación en luz blanca continua (lámpara de tungsteno de 20 watt), 2-10 y 20-47 $\mu\text{mol quanta m}^{-2}\text{s}^{-1}$, medida con radiómetro (LI-COR, Inc), y a temperatura de 20-23°C.

2) En laboratorio bajo un período de luz-obscuridad no controlado, con luz natural reducida de entre 17-44 $\mu\text{mol quanta m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y temperatura al rededor de los 23°C.

Muestras de 20 ml se filtraron en filtros de fibra de vidrio Whatman GF/F de 25 mm de diámetro. El filtro con la muestra se montó en un portafiltros de PVC, y se colocó frente al detector de absorción de luz de un espectrofotómetro (Bausch & Lomb Spectronic 1001, de un solo haz), empleando como blanco un filtro humedo con medio de cultivo. Las muestras se midieron a 23 longitudes de onda de 380 nm - 720 nm. De la densidad óptica de las muestras del blanco se restó la DO a 720 nm, posteriormente se restó la DO del blanco a las muestras. El coeficiente de absorción $a(\lambda)$ por *Synechococcus* se calculó a partir de la ecuación 1.6:

$$a(\lambda) = 2.303 A / v [c_1 DO_f + c_2 DO_f^2] \quad (3.2)$$

En acuerdo a, Cleveland et al. (1993):

$$c_1 = 0.378$$

$$c_2 = 0.523$$

El coeficiente específico de absorción a^* (h) en unidades de $[\text{m}^2 \text{ célula}^{-1}]$, se determinó a partir de la absorción a (λ) y la concentración de células en la muestra. Para calcular a^* (λ) en $[\text{m}^2 (\text{mg Chl } \mathbf{a})^{-1}]$, es necesario conocer la concentración de Chl \mathbf{a} (Geider y Osborne, 1992), cuya extracción se realizó empleando la mezcla de acetona y DMSO.

4.0 RESULTADOS

4.1 Muestreos de campo.

Corriente de California .

En la tabla D del apéndice se encuentran concentrados los parámetros hidrográficos y biológicos puntuales del muestreo; la profundidad y su correspondiente porcentaje de penetración de luz, temperatura, salinidad, nutrientes, clorofila *a* y abundancia de cianobacterias. La profundidad de la zona eufótica (1% Es), fue de entre 20-25 m para mayo-julio, posteriormente se incrementó de 40 a 72 m de agosto a enero (Fig.4a). La temperatura superficial registrada fluctuó generalmente entre 16-19° C, pero en julio se registró la más alta temperatura de 21 ° C, la temperatura decrece gradualmente hacia el 1% Es a 11-13° C. Parece presentarse una débil termoclina hacia los 10 m de mayo a octubre, y posteriormente entre 20-30 m en noviembre y enero (Fig.4b). La salinidad en la zona eufótica, fue alrededor de 33‰ para todos los meses contemplados.

Asimismo, se observa que los nutrientes fueron bajos; no se presentó un patrón definido. En mayo se registró el perfil de mayor concentración de nitratos con un máximo de 21.21 m moles m⁻³ pero en julio, la concentración decrece, pues el máximo fue de 2.57 m moles m⁻³ posteriormente de agosto a enero se incrementan nuevamente con máximos entre 5-9 m moles m⁻³. Los silicatos muestran perfiles de alta concentración de mayo a octubre, entre 36-45 m moles m⁻³ en agosto, noviembre y enero las concentraciones fueron menores, entre 6-9 m moles m⁻³. La máxima concentración de nitratos y silicatos ocurre a la misma profundidad, en tanto que para los fosfatos, la máxima concentración se presentó aún más abajo; comúnmente las altas concentraciones tienden hacia el 1% Es (Fig. 5a, tabla D del apéndice).

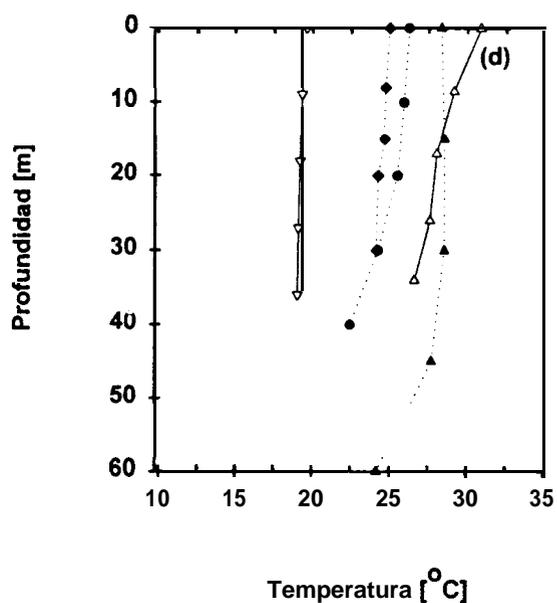
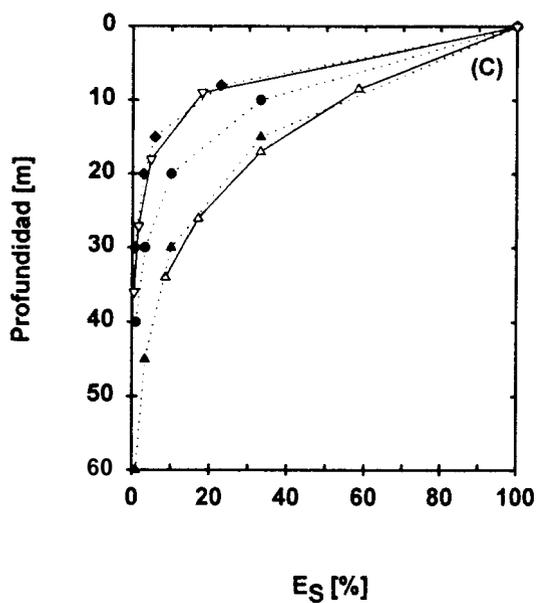
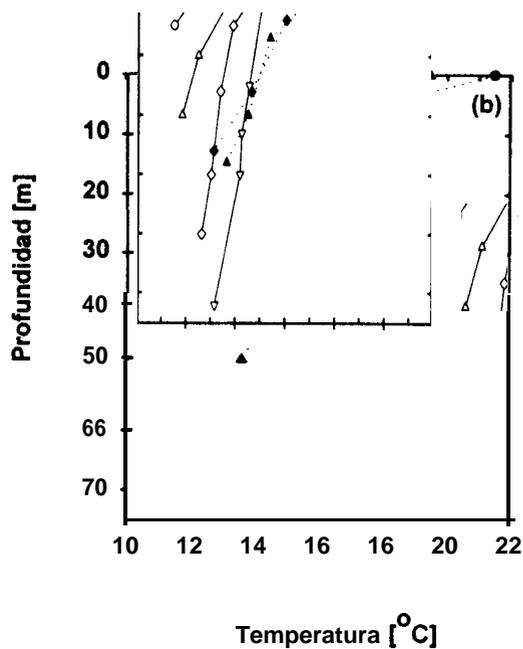
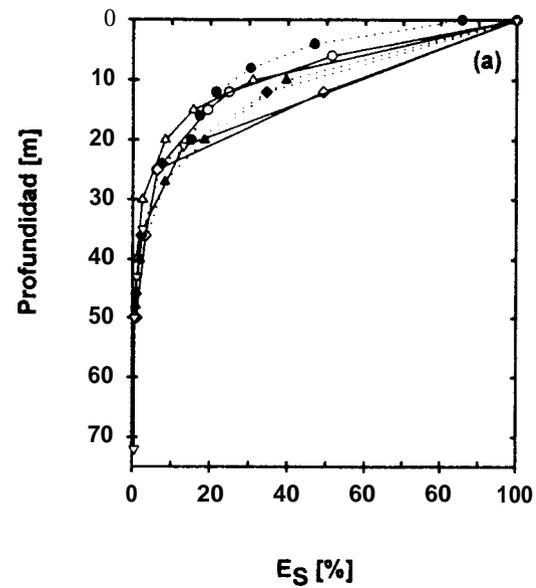


Figura 4. Perfiles verticales de luz y temperatura; (a,b) Corriente de California profundidad media 500 m, (c,d) Cuenca Delfín profundidad media 200m.

○ mayo ≡ julio ◊ agosto ▲ septiembre ◊ octubre ≡ noviembre ◊ diciembre y enero

Las cianobacterias registraron perfiles con mayor abundancia de células durante mayo, julio, agosto y septiembre, el orden de abundancia fue de 10^8 células l^{-1} , el cual decrece posteriormente a 10^6 - 10^7 células l^{-1} para los meses de octubre, noviembre y enero con máximos abajo del 16% de Es. Los picos característicos de máxima abundancia de cianobacterias se presentaron a profundidades ópticas, por abajo del 25 % de Es (Fig 6a).

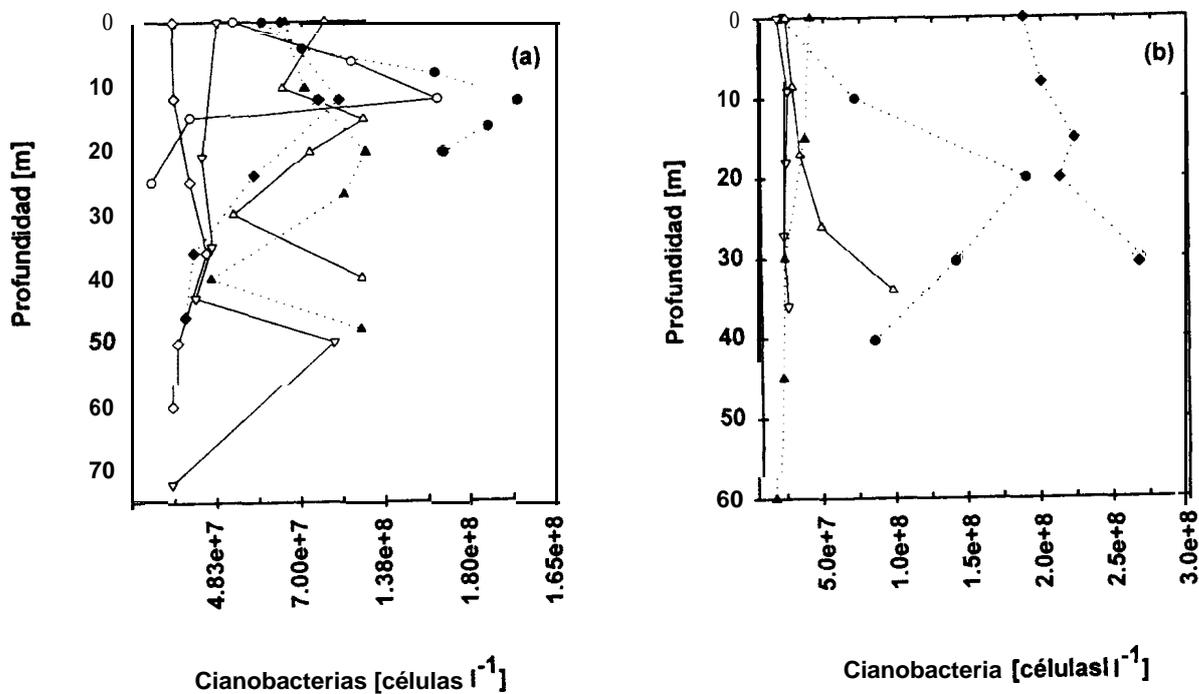


Figura 6. Perfiles verticales de cianobacterias; (a) Corriente de California, (b) Cuenca Delfín.

○ mayo 1993 ● julio 1993 △ agosto 1993 ▲ septiembre 1993 ◇ octubre 1993 ▽ noviembre 1993
 ◊ diciembre y enero 1994

Cuenca Delfín.

Para ésta localidad igualmente los datos puntuales del muestreo se encuentran concentrados en la tabla E del apéndice. La profundidad de la zona eufótica se presentó entre los 30-40m aproximadamente, excepto en septiembre que alcanzó hasta los 60 m, no se observa generalmente una tendencia en su comportamiento durante los meses de muestreo . La temperatura revela poca variación vertical (Fig.4c,d), en el verano fluctuó entre 26-30° C en la superficie a 24° C hacia el 1% de Es, pero en noviembre y diciembre la temperatura desciende de 24° C a 19° C respectivamente. Los valores de salinidad fueron aproximadamente entre 35‰.

Los nutrientes, nitratos y silicatos no revelan una tendencia en su comportamiento, el perfil de mayor concentración se observa en diciembre y el de menor concentración en noviembre, los valores de concentración muestran una distribución vertical homogénea. Las altas concentraciones de nutrientes generalmente tienden hacia el 1% de Es (Fig. 5c). La clorofila aquí se observa que, los perfiles de mayor concentración se presentaron en noviembre y diciembre, con máximos subsuperficiales de entre 1.51 mg m⁻³ Chl **a** y 1.73 mg m⁻³ Chl **a** respectivamente. Durante julio, agosto y septiembre, los valores de concentración de los máximos subsuperficiales estuvieron entre 0.53-1.25 mg m⁻³ Chl **a**. Generalmente los máximos subsuperficiales se presentan a profundidades menores al 10% de Es, excepto en diciembre que ocurre a 19% de Es (Fig.5d).

Las cianobacterias registraron su perfil de mayor abundancia en noviembre con un orden 1x10⁸ células l⁻¹, en tanto que para el verano el orden registrado fue de 1x10⁷ células l⁻¹. Las cianobacterias al igual que la temperatura, nutrientes y clorofila; tienden hacia una distribución vertical homogénea, con máximos subsuperficiales muy pequeños que se encuentran entre 3-10% de Es, excepto para septiembre que se presenta en la superficie (Fig.6b).

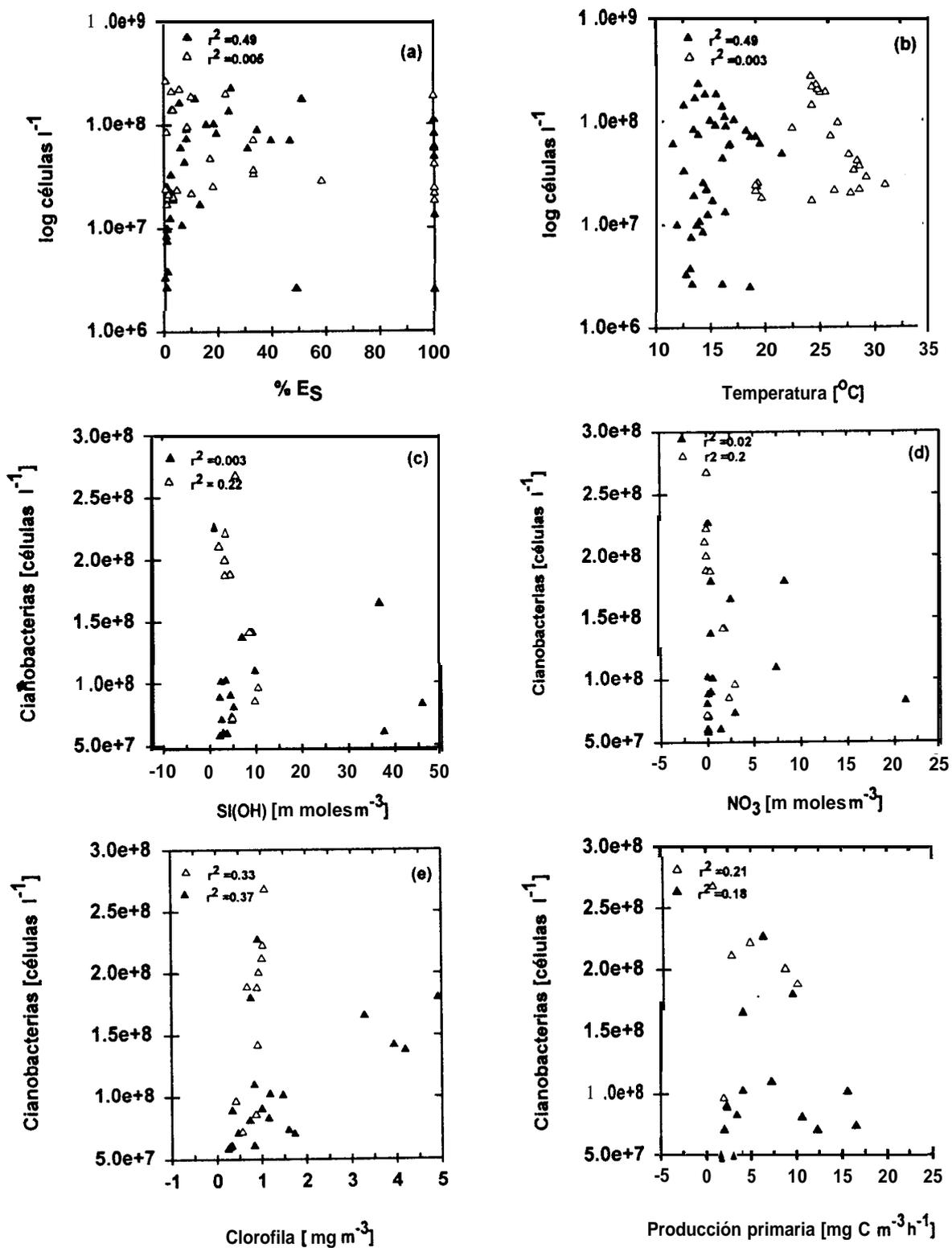


Figura 7. Cianobacterias con respecto a parámetros hidrográficos y biológicos.

▲ Corriente de California △ Cuenca Delfin

La relación entre la abundancia de cianobacterias y los parámetros ambientales (Es, temperatura y nutrientes) no muestran un patrón de comportamiento. Pues no se observa una alta abundancia bajo determinadas condiciones, tampoco se presenta una relación entre la abundancia de cianobacterias con la clorofila y producción primaria esta última proporcionada por Mendoza, E. (1994), Fig. 7c,d,e,f. Asimismo no se observa un posible comportamiento entre relación de cianobacterias clorofila con respecto a la luz, temperatura, nutrientes (Fig. 8a,b,c).

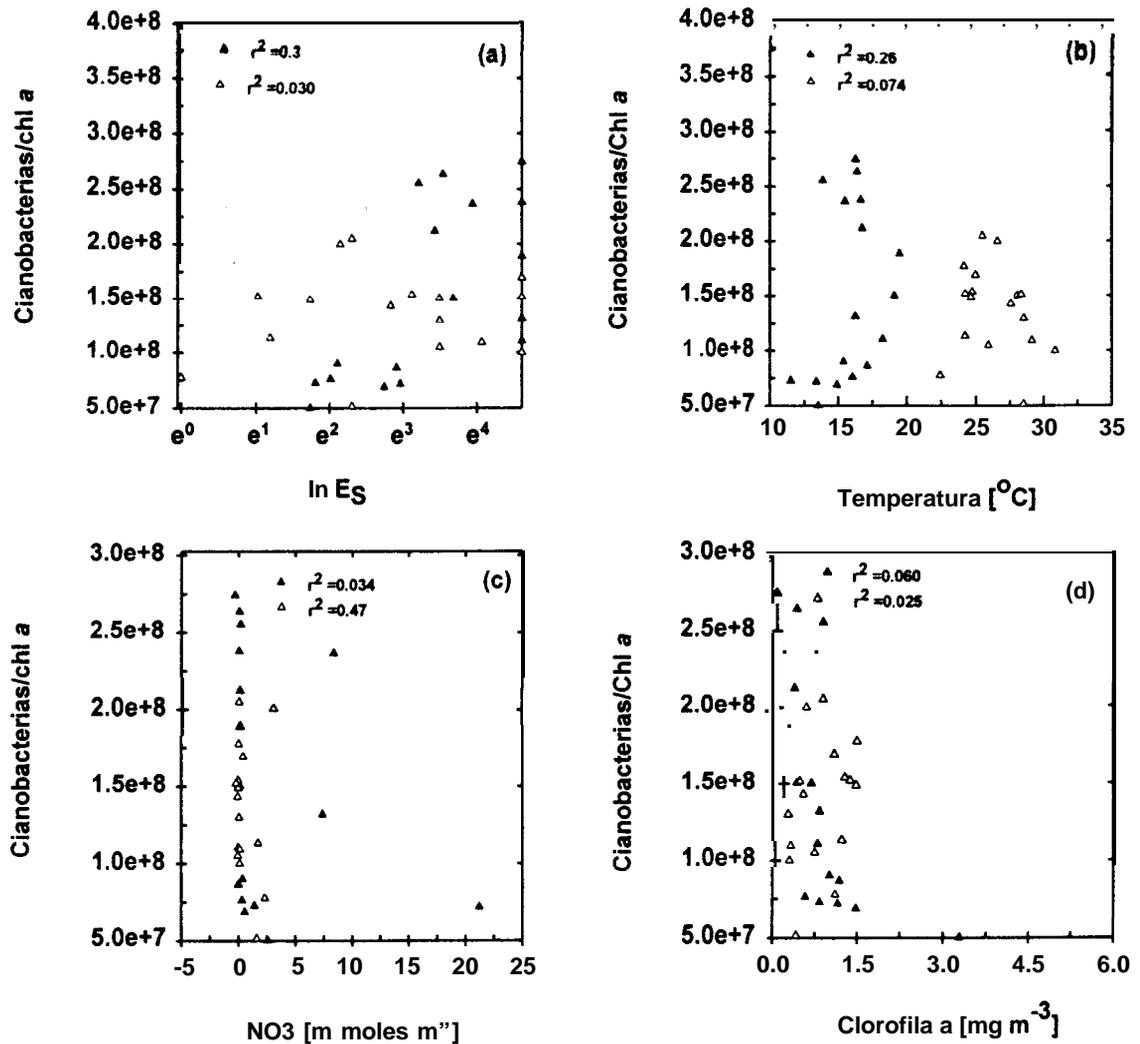


Figura 8. Razón de [cel/(Chl a)] con respecto (a) E_s , (b) Temperatura, (c) NO_3 y (d) Clorofila.

\blacktriangle Corriente de California \triangle Cuenca Delphin

4.2 Experimentos con cultivos.

4.2.1 Cultivo de *Synechococcus*-DC2 WH7803

Los experimentos con cultivos de *Synechococcus*-DC2 (WH7803), presentaron algunos problemas al inicio para lograr la adaptación y crecimiento de las células. Cuando el medio de cultivo se esterilizó por filtración a presión diferencial, no se observó crecimiento de células. Posiblemente se deba a la presencia de microorganismos tales como virus, que de alguna manera atraviesan el filtro. Así mismo, el desarrollo de las células fue inhibido cuando se empleó un matraz balón para cultivos con capacidad de 6 l; probablemente éste se encontraba contaminado, (no se recomienda adquirir material de segundo uso). Cuando el medio de cultivo se esterilizó en autoclave y sembró en matraz Fernbach y botellas de policarbonato, se observó el crecimiento de células.

4.2.2. Conteo de células por turbidez

Comunmente el control del crecimiento de células de ***Synechococcus*** se efectúa mediante el conteo de las mismas por microscopía epifluorescente. No obstante, el método requiere de tiempo y esfuerzo; no así, las mediciones de turbidez del cultivo en el espectrofotómetro, de aquí que se realizaron éstas mediciones en los cultivos, a 500, 610 y 720 nm, con el fin de establecer una posible correlación entre la concentración de células en un cultivo y su DO. Con el incremento del número de células el valor de la DO es mayor, pero al llegar la fase estacionaria el cultivo, el DO continúa aumentando y finalmente cuando llega a la fase de decaimiento comienza a descender el DO. La correlación entre la abundancia de células y DO, fue significativamente alta cuando se considera únicamente la fase de crecimiento exponencial, pero cuando se considera el cultivo hasta su fase final la correlación es menor (Fig.9a,b, tabla F del apéndice). Lo que no permite con exactitud predecir en que momento termina la fase exponencial, probablemente la gran cantidad de detritos que se producen durante la fase estacionaria, originan el

incremento en el valor de DO. Por tal motivo no se empleó este método para el monitoreo del crecimiento de las células en los cultivos, porque la presencia de detritos puede interferir en las mediciones de absorción *in vivo* de las células.

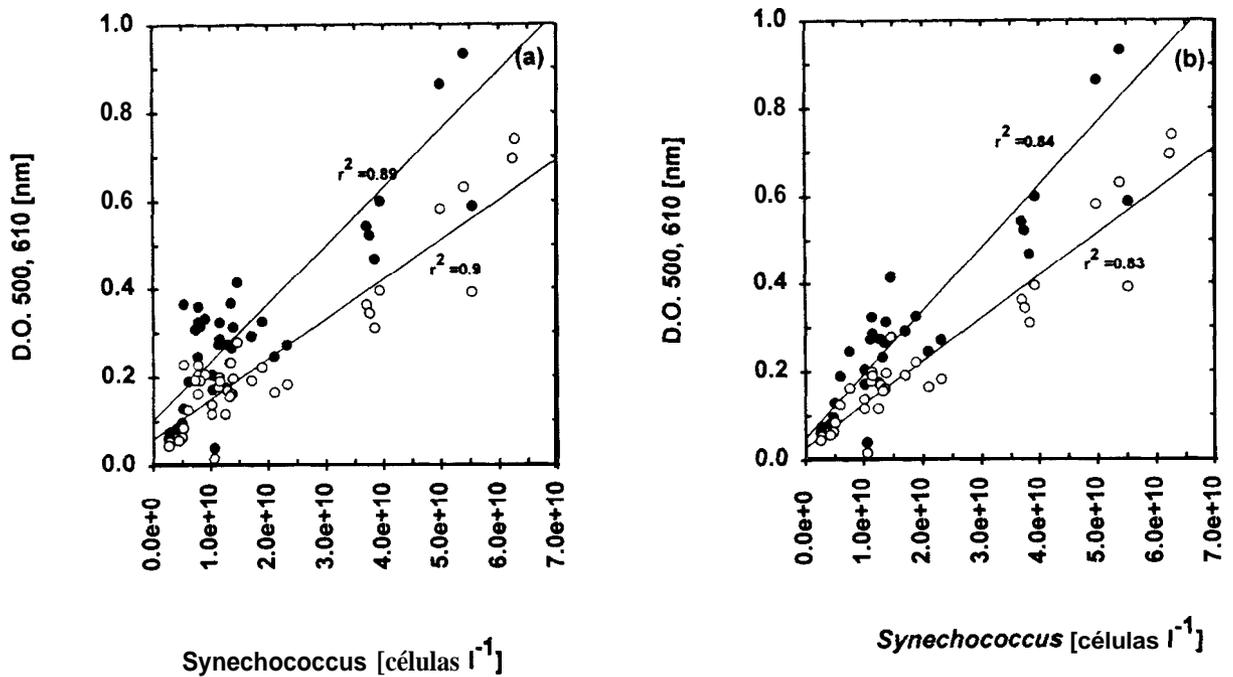


Figura 9. Células de Synechococcus DC-2 en desarrollo y D.O (a) Fase exponencial (b) Fase completa

● 500nm ○ 610 nm

4.2.3 Velocidad específica de crecimiento.

La velocidad específica de crecimiento (μ_{max}) alcanzada durante el desarrollo de los cultivos fue de $0.08d^{-1}$ - $0.18d^{-1}$ (Tabla I, fig.10a,b). Los bajos valores de la velocidad específica de crecimiento a ($19-21\mu\text{mol quanta m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y 20°C), corresponden al período de adaptación de las células. Las células que se mantuvieron bajo un ciclo de luz-obscuridad ($17-44\mu\text{mol quanta m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y 23°C), la velocidad específica de crecimiento fue más alta; pero cuando las células se desarrollaron en condiciones de poca irradiancia ($2-10\mu\text{mol quanta m}^{-2}\text{s}^{-1}$ y 20°C); la velocidad específica de crecimiento fue muy baja, presentándose la inhibición de crecimiento en uno de los cultivos bajo estas condiciones.

Tabla I. Velocidad específica de crecimiento de *Synechococcus* WH7803

Tasa de crecimiento [h ⁻¹]	T. generación [dia ⁻¹]	Temperatura [días]	Temperatura [°C]	E _s [μmolquanta m ⁻² s ⁻¹]
0.0034	0.0808	8.576	20	19-21
0.004	0.0948	7.309	20	19-21
0.0054	0.1297	5.3441	20	19-21
0.007	0.1836	3.775	23	20-47
0.0045	0.108	6.398	20	20-47
0.0056	0.1335	5.194	20	20-47
0.0062	0.1497	4.629	23	17-44
0.0042	0.101	6.8613	23	17-44
0.0027	0.0644	10.771	20	2-10

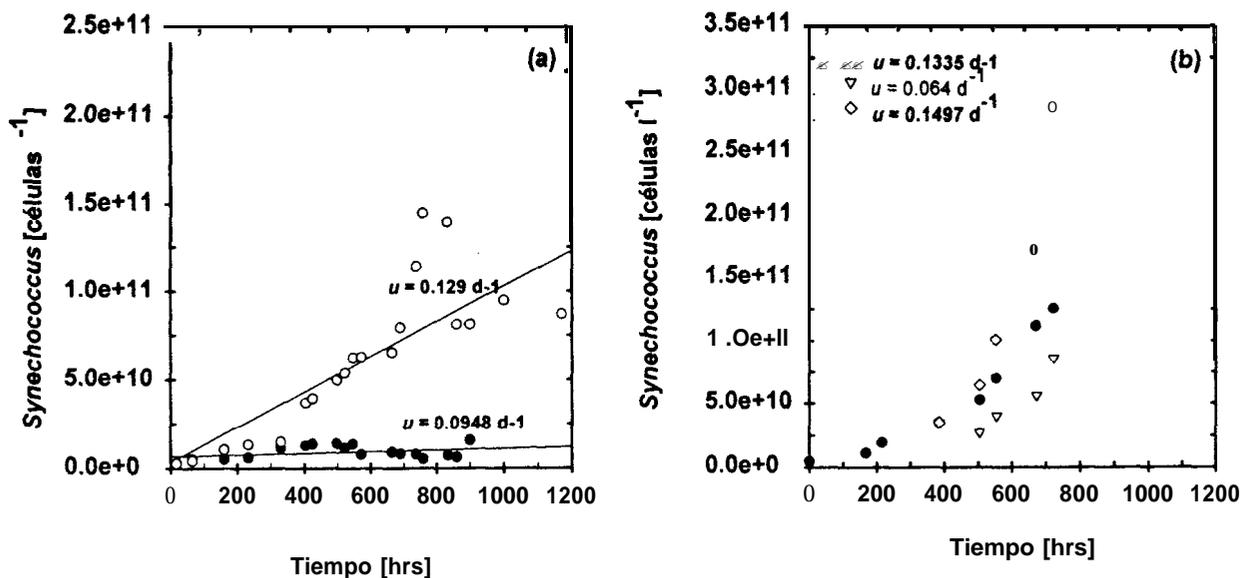


Figura 10. Velocidad específica de crecimiento *Synechococcus* DC-2 WH7803

(a) Condiciones de adaptación T=20°C E_s= 19-21 μmol quanta m⁻²s⁻¹

(b) Experimentos: ▽ T=20°C E_s= 2-10 μmoles quanta m⁻² s⁻¹ ◊ T=20°C E_s=20-47 μmol quanta m⁻²s⁻¹
 ◊ T=23°C E_s= 17- 44 μmol quanta m⁻²s⁻¹

4.3 Comparación de los métodos de extracción de pigmentos (Clorofila).

A fin de facilitar y mejorar la eficiencia de extracción de los pigmentos en cianobacterias, se realizaron pruebas para el rompimiento de la pared celular en *Synechococcus*, mediante la aplicación de RPD por espacio de 15 minutos. Igualmente se probó la extracción de clorofila con una mezcla de solventes (DMSO y acetona) y DMSO al 100%, efectuándose la comparación con el método convencional que emplea acetona a un 90%. Considerando que los experimentos se realizaron con muestras de células cosechadas de cultivos de diferente edad de crecimiento y diferente densidad de células, los valores de concentración de clorofila se estandarizaron a clorofila por célula, para las diferentes pruebas realizadas (Tabla F del apéndice).

La concentración de clorofila fue **notablemente** más alta cuando la **extracción** se hace con la mezcla de solventes 9.9-12.98 [fg Chl **a** (célula)⁻¹] que con acetona al 90% 4.6-6.0 [fg Chl **a** (célula)⁻¹], y mucho más baja cuando se emplea acetona al 100% 2.7-3.9 [fg Chl **a** (célula)⁻¹]. El DMSO puro se congela cuando se somete a baja temperatura y obscuridad durante la extracción; además se obtienen bajos valores de concentración. La acetona al 100% también mostró bajas concentraciones. Respecto al tiempo de extracción la concentración fue menor cuando se realiza por un período de 2 horas con ambos solventes, pero a las 12 y 24 horas no se presentaron notables diferencias. La figura 11, muestra los espectros típicos de la extracción con la mezcla de solventes, y acetona a 90%, para un periodo de extracción 12 y 24 horas respectivamente.

El uso del RPD en el primer experimento, presentó un porcentaje de rompimiento de las células relativamente bajo (28%), sin embargo, los resultados no muestran diferencia en su aplicación pues sólo en algunos casos resultó favorable. Posiblemente la fuente de nitrógeno empleada no tenía la suficiente presión que provocase la explosión, por lo que se incrementó la presión del tanque, de 8,000 *kpasca* a 14,000 *Kpasca*, lo cual tampoco mejoró la extracción.

La concentración de clorofila fue 'notablemente más alta cuando la extracción se hace con la mezcla de solventes 9.9-12.98 [fg Chl **a** (célula)-⁻¹] que con acetona al 90% 4.6-6.0 [fg Chl **a** (célula)⁻¹], y mucho más baja cuando se emplea acetona al 100% 2.7-3.9 [fg Chl **a** (célula)-⁻¹]. El DMSO puro se congela cuando se somete a baja temperatura y obscuridad durante la extracción; además se obtienen bajos valores de concentración. La acetona al 100% también mostró bajas concentraciones. Respecto al tiempo de extracción la concentración fue menor cuando se realiza por un período de 2 horas con ambos solventes, pero a las 12 y 24 horas no se presentaron notables diferencias. La figura II, muestra los espectros típicos de la extracción con la mezcla de solventes, y acetona a 90%, para un periodo de extracción 12 y 24 horas respectivamente.

El uso del RPD en el primer experimento, presentó un porcentaje de rompimiento de las células relativamente bajo (28%), sin embargo, los resultados no muestran diferencia en su aplicación pues sólo en algunos casos resultó favorable. Posiblemente la fuente de nitrógeno empleada no tenía la suficiente presión que provocase la explosión, por lo que se incrementó la presión del tanque, de 8,000 kpascał a 14,000 Kpascał, lo cual tampoco mejoró la extracción.

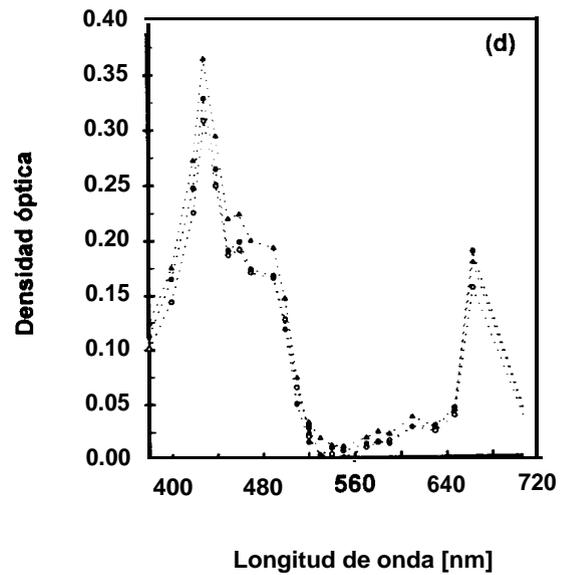
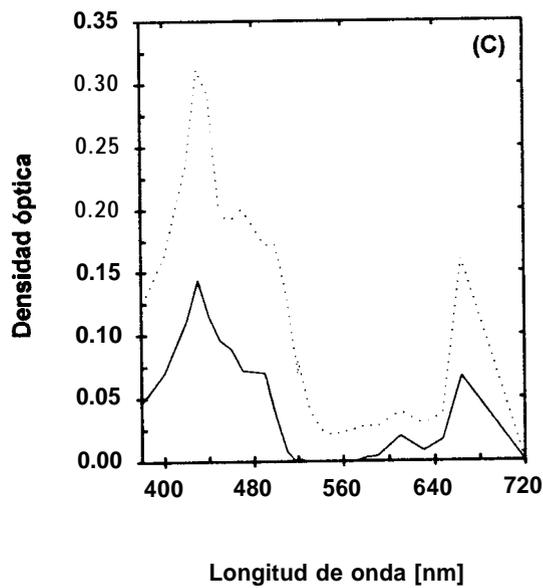
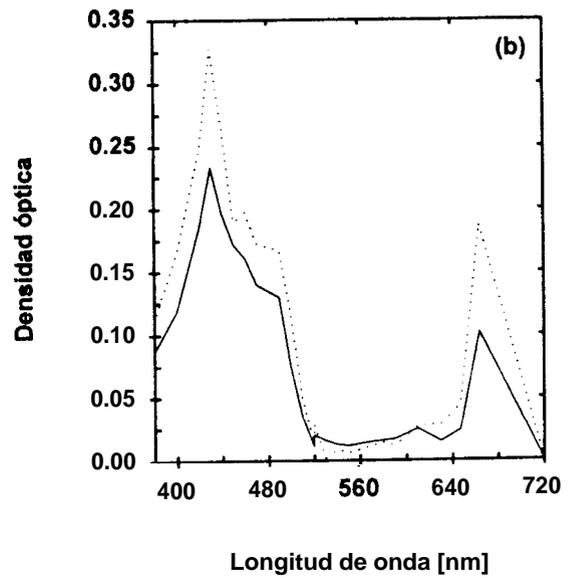
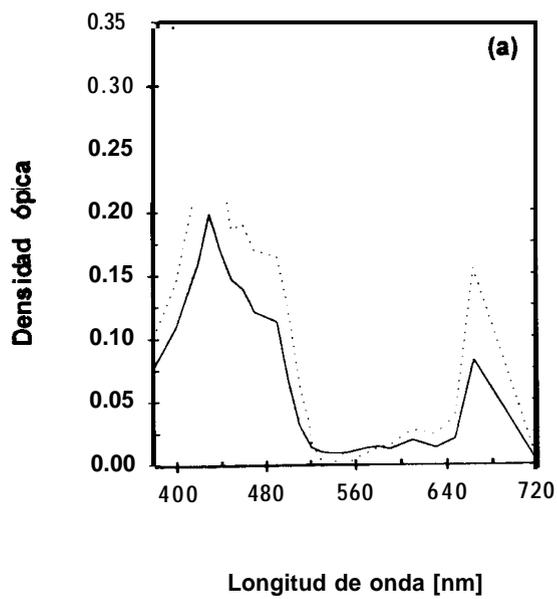


Figura II. Espectros de extracción de clorofila(a) 2 hrs. (b) 12 hrs. (c) 24 hrs.

(d) ◦ 2 hrs. ◌ 12 hrs. + 24 hrs. Acetona 90% + DMSO — Acetona 90%

4.4 Mediciones de Absorción *in vivo*.

4.4.1 Coeficiente específico de absorción *in vivo* [$\text{m}^2 (\text{célula})^{-1}$] y [$\text{m}^2 (\text{mg Chl } a)^{-1}$]

Los espectros de absorción *in vivo* para células en desarrollo de *Synechococcus* DC-2 (Fig. 12a), muestran el esperado incremento de la absorción con el incremento del número de células; para apreciar posibles cambios en la composición de los pigmentos durante el desarrollo de las células, los espectros se normalizan a 675 nm que es donde se presenta la absorción de clorofila **a**. Sólo se observan, algunas diferencias en la región azul, misma donde se presentan dos picos adicionales al de la zeaxantina de 440 nm, éstos son, a 500 y 540-550 nm y corresponden a las ficobiliproteínas. La poca diferencia entre los espectros normalizados (Fig.12b, tabla G del apéndice) indica que la composición de los pigmentos no cambia fuertemente durante el desarrollo del cultivo.

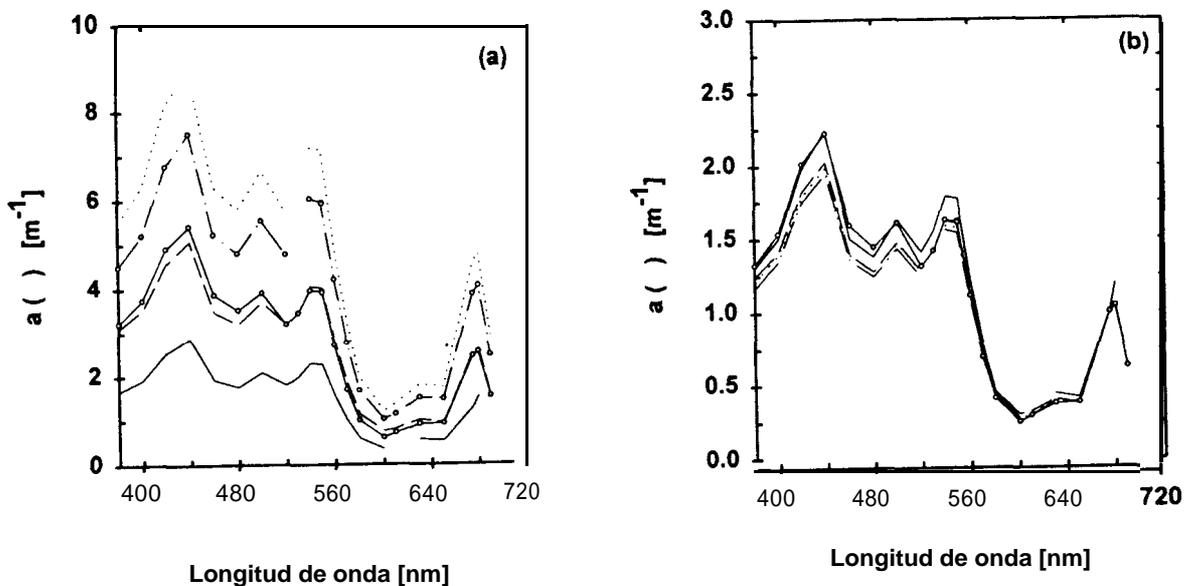


Figura 12. Coeficiente de absorción de *Synechococcus* DC-2WH7803. (a) Cultivo en desarrollo (b) Normalizado a 675 nm. — 1a edad — 2a edad — 3a edad — 4a edad — 5a edad

Los espectros de absorción específica *in vivo* para las células *Synechococcus* WH7803 que se desarrollan en diferentes condiciones de luz y temperatura, calculados a partir de la ecuación 3.2 y la abundancia de células (Fig.13a), muestran que la absorción específica dada en [m^2 (célula) $^{-1}$] es más alta cuando las células crecen en bajas condiciones de luz 2-10 μmol quanta $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, en tanto que cuando crecen en luz natural y bajo un ciclo luz-obscuridad 17-44 μmol quanta $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ fue menor. En tanto que los espectros de absorción específica *in vivo* por pigmento [$\text{m}^2(\text{mgChla})^{-1}$] muestran picos más altos (Fig. 13c) las células desarrolladas en luz natural (17-44 μmol quanta $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$); sin embargo, bajo estas mismas condiciones la concentración de clorofila por célula fue más baja. La Tabla II muestra algunos valores del coeficiente específico de absorción a diferentes condiciones de luz, para los principales picos de absorción observados. Asimismo se observa que además de la alta absorción que se presenta a 440 y 675 nm, existe una fuerte absorción en la región azul que es 500 y 550 nm, lo cual se aprecia mejor cuando se normalizan a 675 nm (Figs.13b y 13d). Por el poco cambio observado y diferentes patrones de los coeficientes específicos de absorción con relación a la irradiancia, puede decirse que los valores promedio de éstos pueden usarse como valores típicos de *Synechococcus* en el mar.

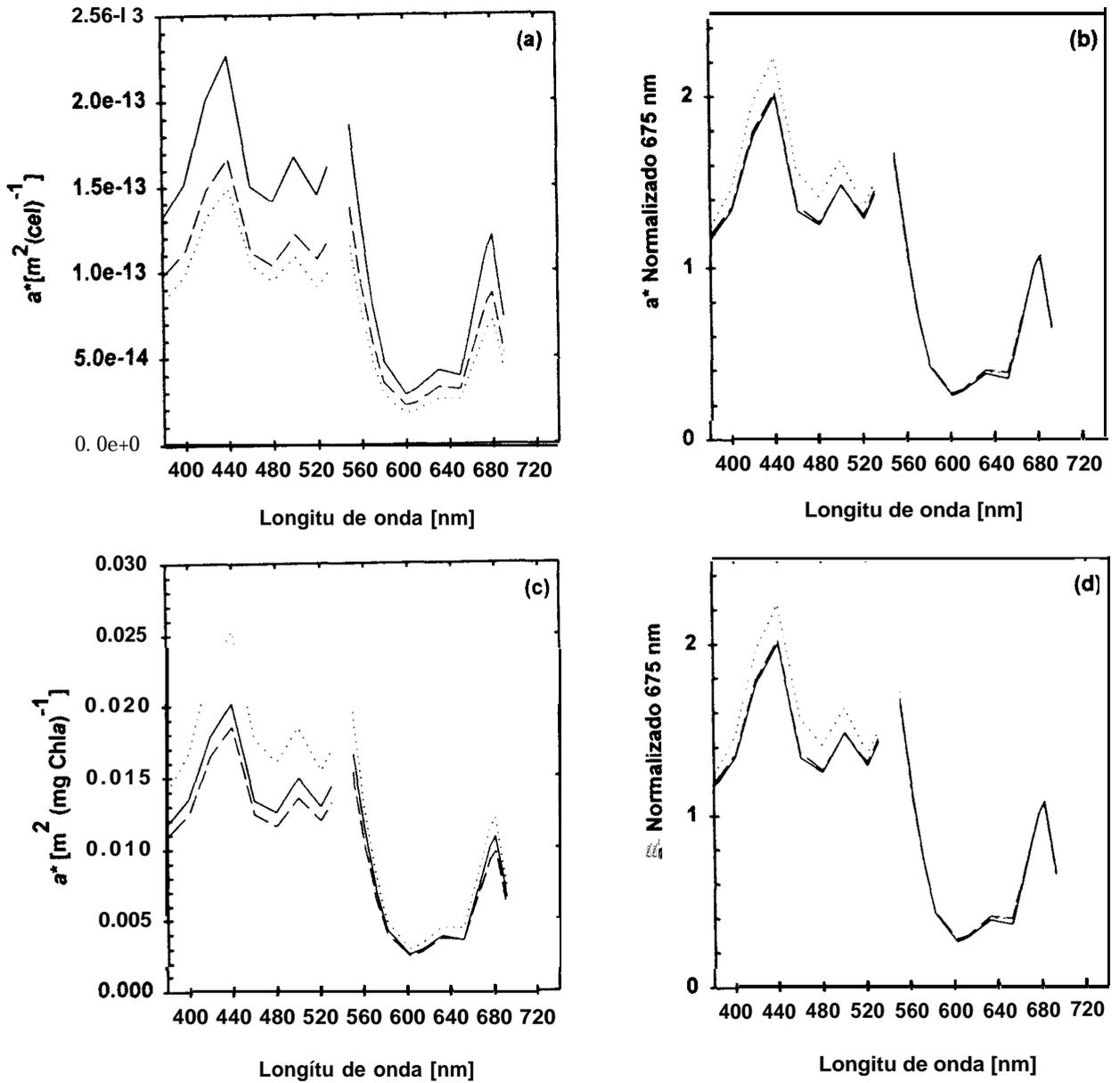


Figura 13. Coeficientes específicos de absorción en *Synechococcus* DC-2WH7803.

a) [$m^2 ce^{-1}$] b), Normalizado 675 nm c), [$m^2(mg Chla)^{-1}$], d) Normalizado 675 nm

--- T=20°C Luz= 20-47 $\mu Em^{-2} s^{-1}$ — T=20°C Luz=2-10 $\mu Em^{-2} s^{-1}$ - - - T=23°C Luz=17-44 $\mu Em^{-2} s^{-1}$

Tabla II. Coeficiente específico de absorción en *Synechococcus* DC-2 WH7803.

E_s [$\mu\text{mol quanta}$ $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$]	Células [cel m^{-3}]	Clorofila	440 a^* [$\text{m}^2 (\text{cel})^{-1}$]	500 a^* [$\text{m}^2 (\text{cel})^{-1}$]	550 a^* [$\text{m}^2 (\text{cel})^{-1}$]	675 a^* [$\text{m}^2 (\text{cel})^{-1}$]	675 a^* [$\text{m}^2 (\text{mgChla})^{-1}$]	4401675	5501675
20-47	6.98' 10''	9.3	1.61*10 ⁻¹³	1.20*10 ⁻¹³	1.28*10 ⁻¹³	8.01*10 ⁻¹⁴	0.009	2.0086	1.596
	9.70*10 ¹³	8.99	1.67*10 ⁻¹³	1.22*10 ⁻¹³	1.34*10 ⁻¹³	8.23*10 ⁻¹⁴	0.009	2.0274	1.629
	1.26*10 ¹⁴	8.5	1.90*10 ⁻¹³	1.44' 10'' "	1.62*10 ⁻¹³	9.02*10 ⁻¹⁴	0.012	2.1013	1.796
2-10	2.92*10 ¹³	12.8	2.28*10 ⁻¹³	1.70*10 ⁻¹³	1.85*10 ⁻¹³	1.15*10 ⁻¹³	0.009	1.9927	1.617
	3.33*10 ¹³	11.2	2.27*10 ⁻¹³	1.68' 1~' "	1.86*10 ⁻¹³	1.13*10 ⁻¹³	0.01	2.0067	1.648
	3.83*10 ¹³	10	2.04*10 ⁻¹³	1.56*10 ⁻¹³	1.77*10 ⁻¹³	1.13*10 ⁻¹³	0.01	1.8053	1.566
17-44	1.01' 10''	6.4	1.20*10 ⁻¹³	8.92*10 ⁻¹⁴	9.37' 10- 14	5.95*10 ⁻¹⁴	0.009	2.0193	1.575
	1.73*10 ¹⁴	5.9	1.21*10 ⁻¹³	8.82*10 ⁻¹⁴	9.10*10 ⁻¹⁴	5.86*10 ⁻¹⁴	0.011	2.0637	1.552
	2.87*10 ¹⁴	4.5	1.05*10 ⁻¹³	8.17*10 ⁻¹⁴	8.66*10 ⁻¹⁴	7.92*10 ⁻¹⁴	0.015	1.3281	1.094
19-21	2.44' 10''		2.44*10 ⁻¹³	1.83*10 ⁻¹³	1.92*10 ⁻¹³	1.34*10 ⁻¹³		1.8269	1.439

5. 0 DISCUSION

5.1. Distribución regional y estacional de cianobacterias

51.1. *Corriente de California*

En ésta localidad se observa una variabilidad en pequeña escala de los factores hidrográficos contemplados, y como consecuencia, pequeñas pero **significativas** variaciones en las características biológicas de la zona. La profundidad del 1% de E_s se incrementó de julio a enero de 20 a 72 m. Las temperaturas más altas en la columna de agua se registraron durante los meses de verano y principios de invierno; asimismo, los altos valores de concentración de nutrientes (nitratos y silicatos) y clorofila se presentaron en mayo, julio y agosto.

Las cianobacterias muestran sus perfiles con alta densidad de células a finales de primavera y principios de verano, ésto es de mayo a agosto, cuando la temperatura en la columna de agua se incrementa y la profundidad del 1% de E_s es menor. Durante el otoño e invierno, cuando la temperatura en la columna de agua desciende, la densidad de células decrece; parece ser que la temperatura del agua es uno de los factores más determinantes de la abundancia de las cianobacterias según lo señalan (Glover et al., 1988; Iturriaga y Marra, 1988; Neuer 1992). No obstante, las cianobacterias muestran baja tendencia de correlación con la temperatura al igual que con la luz $r^2=0.49$ (Figs. 8a,b).

Con respecto a los nutrientes las cianobacterias no revelan una posible relación, probablemente se deba a los bajos valores de nutrientes registrados (Figs. 8c,d). Igualmente con la clorofila las cianobacterias no muestran relación (Fig. 8e), **aunque** el perfil de alta concentración de clorofila que se presenta en julio ocurre concomitante con el perfil de mayor densidad de células y los picos de máxima abundancia cercanos al máximo **subsuperficial** de clorofila (Tabla D del apéndice), por lo que la profundidad de los máximos **subsuperficiales** de clorofila y cianobacterias ($Z_{c,}$) muestran una tendencia de correlación ($r^2=0.71$). Dichos

máximos subsuperficiales **covarian** con la profundidad del 1% de Es y se presenta comúnmente a irradiancias menores al 12 % de Es. Se ha mencionado ya que la abundancia de cianobacterias registrada en el Océano Índico durante un período de septiembre octubre fue del orden similar al registrado en la Corriente California 10^8 células l^{-1} (Burkill et *al.*, 1993). Asimismo, Miyazono et *al.* (1992), señalan que en la Bahía de Iwanai -Hokkaido, Japón- la densidad de células de cianobacterias tiende a incrementarse después del afloramiento de diatomeas en primavera, con marcadas fluctuaciones en junio y agosto, cuando los nutrientes son escasos y la temperatura del agua se incrementa, mostrando un comportamiento con respecto a la temperatura ($r^2=0.56$) aproximado también al encontrado para la Corriente de California (Fig. 7b) En forma general se puede apreciar que la distribución vertical de cianobacterias en la zona eufótica fue diferente; mostrando sus picos característicos de máxima abundancia alrededor de la débil termoclina y muy cercanos a los máximos **subsuperficiales** de clorofila. Posiblemente en la Corriente de California, las grandes concentraciones de nutrientes encontradas en este período indican la presencia de diatomeas en la región, pues las altas concentraciones de silicatos se relacionan directamente con estos organismos (Fig.7c), pues se observa una ligera tendencia de correlación entre las profundidades de los máximos de cianobacterias con las profundidades de los más altos valores de nitratos y silicatos (Z_{max}) de $r^2=0.77$ y $r^2= 0.53$ para cada uno de estos respectivamente. La abundancia de cianobacterias durante los meses de muestreo para la localidad fue significativamente diferente, según muestra la prueba de rango Kruskal-Wallis aplicada a los datos de abundancia ($H=25.071$ con $n=40$, $g.l=6$ y $p=.003$).

5.1.2. Cuenca *Delfin*.

Las características hidrográficas de la localidad durante el estudio muestran una variación temporal, y escasa variación vertical y una mezcla de masas de agua superficial en noviembre y diciembre (Fig. 4c,d). El orden de abundancia de cianobacterias fue menor para los meses de verano cuando la temperatura en la columna de agua es alta, pero se incrementa a finales de verano y principios de invierno, cuando la temperatura en la columna de agua desciende (Figs. 4d y 6b). Sin embargo, no se encuentra una correlación de las cianobacterias con la luz y la temperatura (Fig 7c,d). Se observa que el perfil de mayor concentración de nutrientes se presenta junto con el perfil de alta concentración de clorofila, justo cuando la temperatura en la columna de agua es baja (Fig. 5c, d), pero el perfil de máxima abundancia de cianobacterias se presenta en noviembre, el cual coincide con uno de los perfiles de alta concentración de clorofila. No existe relación de las cianobacterias con los nutrientes y la clorofila (Fig.7c, d, e). Aún cuando los picos de máxima abundancia de células se localizan alrededor de los máximos subsuperficiales de clorofila, las profundidades de los máximos subsuperficiales (Z_{max}) tampoco muestran correlación, dichos máximos comúnmente se localizan a bajas irradiancias. Posiblemente el comportamiento de las cianobacterias con los parámetros hidrográficos y biológicos sea por el efecto de mezcla vertical que se observa. No obstante, la prueba de rango de Kruskal Wallis muestra diferencia en la abundancia de cianobacterias durante los meses de muestreo ($H=16.65$ con $n=25$, $g.l.=4$ y $p=0.0023$).

CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE
CIENCIAS MARINAS
BIBLIOTECA
I.P.N.
DONATIVO

5.2. Importancia relativa de las cianobacterias.

En forma general en ambas localidades fue posible observar la variabilidad temporal de los parámetros químicos y biológicos; con un débil gradiente vertical en la Corriente de California con mezcla de masas de agua subsuperficial en la Cuenca Delfín. Sin embargo, en ambas localidades las células de cianobacterias se presentan en el mismo orden de abundancia, pues no existen diferencias significativas en la abundancia en ambas localidades ($H=1$ con $n=2$ y $p=0.015$), lo que lleva a pensar que el orden de abundancia de las cianobacterias es el mismo en estas y las fluctuaciones estacionales son de acuerdo a las características hidrográficas de la región.

Partiendo de los datos de biomasa de cianobacterias y con un valor promedio de clorofila por célula obtenido de los cultivos [$320 \text{ fg Chl } a \text{ (célula)}^{-1}$], se estimó la posible contribución de la clorofila de cianobacterias a la clorofila total de fitoplancton. Los resultados muestran un amplio intervalo de aportación en ambas regiones (Tablas D y E), con porcentajes ligeramente más altos para Corriente de California (2-87%), aquí se observa también una contribución un poco mayor de la clorofila de cianobacterias a la clorofila de fitoplancton cuando la concentración de clorofila de fitoplancton es baja. En la Cuenca Delfín se observa una menor contribución (4.565 %). Quizás por los pocos datos con que se cuentan la tendencia de correlación de las cianobacterias con la clorofila fue baja en ambas localidades; sin embargo, los picos de máxima abundancia de cianobacterias son relativos al máximo subsuperficial de clorofila en acuerdo a lo señalado por Burkill et al. (1993), Vernet et al. (1990) y Veldish et al. (1993) quienes mencionan también que junto con el característico máximo subsuperficial de clorofila, ocurre una alta abundancia de cianobacterias en la parte media superior de dicho máximo, lo que indica su importante contribución a la clorofila, como se observa en Corriente de California y Cuenca Delfín, lo que sugiere que la biomasa del picoplancton fototrófico puede ser útil para caracterizar una masa de agua. La

contribución de la clorofila de cianobacterias a la clorofila de fitoplancton parece ser más alta para la Corriente de California, donde las nutrientes son más escasos y excepcionalmente se ve favorecida la concentración de los mismos justo cuando se presenta una alta densidad de cianobacterias (Vernet et *al.*, 1990), señalan a la (PE) como indicador de la abundancia de *Synechococcus* spp, pues se observa una correlación positiva con la concentración de nitrato. Smith, (1986) sugiere que la relación entre los nutrientes: nitratos, fosfatos y la luz interactúan determinando la biomasa de las algas verde-azules, a lo que propone un comportamiento lineal múltiple entre éstos factores.

5.3. Cultivo de *Synechococcus* DC-2 WH7803

5.3.1 Adaptación y crecimiento

Como se ha mencionado la adaptación y crecimiento de las células *Synechococcus* WH7803 presentó dificultades durante su desarrollo. La velocidad específica de crecimiento alcanzada es ligeramente mayor cuando las células se desarrollan bajo un régimen en luz natural y un período de luz-obscuridad, en tanto que bajo luz blanca continua de mayor intensidad, la tasa de crecimiento fue ligeramente menor y mucho más pequeña cuando crecen con éste mismo tipo de luz pero limitada, pues en ocasiones se presentó la inhibición del crecimiento. En relación a la temperatura la tasa específica de crecimiento fue poco más alta a 23°C que a 20°C (Tabla I, Fig. 1 1a,b).

La temperatura y la irradiancia son parámetros que determinan el crecimiento del fitoplancton, en *Synechococcus* WH8103 la máxima velocidad específica de crecimiento que se reporta a temperaturas de 15-22°C e irradiancia de 93-142 ($\mu\text{mol quanta m}^2\text{s}^{-1}$) es de (0.2-0.80 d^{-1}) y a temperatura óptima de 24°C con luz azul, bajo un ciclo luz-obscuridad (de $> 80 \mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$) es de (1.0 d^{-1}), estas últimas condiciones se han considerado como similares a las naturales en las profundidades bajas de la zona eufótica (Moore et *al.*, 1995). Para la especie

WH8103 Stramsky et al. (1995), reportan tasas de crecimiento de (0.018-0.008 y 0.021-0.01d⁻¹), en células desarrolladas bajo un ciclo de luz-obscuridad (luz natural 1.7-4.77 $\mu\text{mol}\cdot\text{quanta m}^{-2}\text{s}^{-1}$). Para *Synechococcus* WH7803 Kana y Gilbert, (1987) reportan una alta velocidad **específica** de crecimiento (1.4 d⁻¹), cuando las células crecen bajo luz blanca continua de (200 a 2000 $\mu\text{mol}\cdot\text{quanta m}^{-2}\text{s}^{-1}$) y en condiciones de saturación de nutrientes. Por otra parte se ha señalado igualmente que el crecimiento de células de *Synechococcus* DC-2 se ve limitado por las bajas concentraciones de Mg 10⁻¹⁰ M y más aún por el Fe y Cu (Waterbury y Stainer 1984 en Glover, 1985).

En nuestros experimentos *Synechococcus* WH7803, no puede decirse con presión que factor fue el determinante para su crecimiento, puesto que ambos parámetros luz y temperatura varían al mismo tiempo y posiblemente no fueron los óptimos para el desarrollo de la especie, lo que explica la velocidad específica de crecimiento encontrada; sin embargo, éstas se encuentran dentro de los valores reportados, pues la velocidad específica de crecimiento *in situ* e *in vitro* reportada para las cianobacterias en el campo y laboratorio es relativamente baja en comparación con la alcanzada por otras especies de fitoplancton (Tabla A del apéndice).

5.3.2. Medición de pigmento

Por su pequeño tamaño y composición de la pared celular, la extracción de los pigmentos en cianobacterias se presentan algunas dificultades en el rompimiento de la pared celular, para la liberación de los pigmentos. En la extracción de pigmentos hidrofílicos (ficobiliproteínas), la extracción comúnmente se realiza con la aplicación de ultrasonido en baño de hielo, y un posterior tratamiento enzimático con lisosimas (Steward y Farmer, 1984; Vernet *et al.*, 1990). Además de las implicaciones del método, éste no ha sido completamente eficiente. El método mecánico empleado en nuestros experimentos Rapid Pressure Drop, en la

extracción de ficobiliproteínas no tuvo éxito. En la extracción de pigmentos lipofílicos, sólo en algunos casos se han obtenido resultados favorables, por lo que aún hacen falta pruebas contundentes que demuestren su eficiencia.

Para la extracción de pigmentos lipofílicos el uso de la mezcla de acetona y DMSO, mostró resultados favorables en comparación con el uso de acetona al 90% del método convencional. El **metanol** caliente también se ha empleado en la extracción de clorofila e igualmente la mezcla de **metanol** y acetato de amonio (Joint et al., 1993). La eficiencia en la concentración del extracto obtenido a partir mezcla de acetona y DMSO, fue entre 35-45% más arriba que la concentración del extracto con acetona al 90%. Para las estimaciones de clorofila en muestras de fitoplancton puede ser de gran importancia, ya que se ha registrado que de la fracción del picoplancton, las cianobacterias coccoides contribuyen hasta en un 78-93% a la clorofila total de fitoplancton (Jochem y Zeitzschel, 1993). Sí la contribución de las cianobacterias a la biomasa **fitoplanctónica** es significativa, la baja eficiencia de extracción de pigmentos por el método convencional podría tener como consecuencia una subestimación de la clorofila total de fitoplancton.

5.4. Mediciones de absorción *in vivo* en células de *Synechococcus* DC-2

5.4.1 Coeficiente específico de absorción *in vivo*

Como se ha mencionado el espectro específico de absorción del fitoplancton [a^*_{ph} (h)] varía comúnmente entre las especies y dentro de la misma especie, dependiendo de sus condiciones de desarrollo (Stramsky et al., 1995; Babin et al., 1993). En este estudio se encontró que *Synechococcus* 7803 presenta una alta absorción de luz de bajas longitudes de onda -región azul-; los espectros de absorción específica *in vivo*; muestran dos picos altos en la región azul, además del correspondiente a 440 nm para la zeaxantina la cual se encuentra hasta en un 77% del total de los pigmentos en las células de *Synechococcus* 7803 (Guillard en Glover, 1985). Dichos picos se presentan a 500 y 550 nm (Fig. 12), y

corresponden a las ficobiliproteínas **señaladas** por Glover (1985) como del tipo I para el cromóforo PUB que se presenta a 500 nm y tipo II para el cromóforo PEE3 a 558 nm, en ***Synechococcus*** 8103 Moor (1995) los identifica a 494 nm y 544 nm respectivamente.

La absorción específica en [$\text{m}^2\text{célula}^{-1}$] fue mayor para las células que se desarrollaron en bajas condiciones de luz ($2\text{-}10 \mu\text{mol quanta m}^{-2}\text{s}^{-1}$), lo que muestra que a bajas irradiancias la concentración de pigmentos por célula es mayor y por consecuencia el coeficiente específico de absorción dado en [$\text{m}^2\text{célula}^{-1}$] sea más alto (Fig. 13a). La razón de la absorción específica [440/675 y 550/675], fue ligeramente mayor en condiciones de poca luz, lo cual se observa cuando se normaliza a 675 nm (Figs. 13b), y quizás esto se deba a que el efecto de paquete afecta más al pico de absorción en la región azul que en la región roja. Los cambios en los espectros se presentan en la región de absorción de los carotenos y ficobiliproteínas. Posiblemente ocurra un incremento en la síntesis de los pigmentos auxiliares; como lo han indicado (Gantt, 1979; Wyman, 1987; Ikeya, 1990; Moor et **al.**, 1995) quienes señalan que las ficobiliproteínas absorben eficientemente la luz a bajas irradiancias. Wyman (1987) encuentra que en esta especie la concentración de ficoeritrina se incrementa a bajas irradiancias. No obstante, no fue posible realizar la extracción de ficobiliproteínas en estos experimentos, pero la concentración de clorofila por célula encontrada fue relativamente mayor para las células que crecen en condiciones de baja irradiancia. Los estudios con cianobacterias enfatizan su importancia en función de las propiedades espectrales que les confieren las ficobiliproteínas (PE) a bajas irradiancias, por lo cual se piensa que se distribuyen abundantemente hacia las partes bajas de la zona **eufótica** y que el crecimiento en la naturaleza puede ser inhibido por las altas irradiancias (Iturriaga y Mitchell, 1986), lo cual no se observó en estos experimentos.

La absorción específica por pigmento [$\text{m}^2 (\text{mg Chl } a)^{-1}$], fue ligeramente mayor (0.01 l-0.015 [$\text{m}^2(\text{mg Chl } a)^{-1}$] en células que crecen en luz natural, bajo un ciclo de luz-obscuridad ($17\text{-}44 \mu\text{mol quanta m}^{-2}\text{s}^{-1}$), aquí sucede lo contrario que en la absorción específica por célula (Fig.13c), probablemente se presente el efecto de paquete, pues a baja irradiancia ($2\text{-}10 \mu\text{mol quanta m}^{-2}\text{s}^{-1}$), la concentración de clorofila por célula fue mayor, pues cuando la concentración de pigmento dentro de la célula es alta es posible que se presente el autosombreado en la absorción de la luz. Poco se conoce de las características de absorción de las células de cianobacterias, pero el valor promedio del coeficiente específico aquí encontrado está dentro de los valores promedio reportados (Tabla C del apéndice). $0.019 \text{ m}^2(\text{mg Chl } a)^{-1}$ (Stramski et al., 1995) y $0.023 \text{ m}^2(\text{mg Chl } a)^{-1}$, (Moore et al., 1995). Los espectros de absorción revelan que los cambios en la composición de pigmentos ocurren únicamente en las bajas longitudes de onda, para las diferentes condiciones de desarrollo (Figs. 13a y 13c).

5.5. Contribución a la absorción *in vivo* por cianobacterias.

Haciendo la consideración de que la mayor parte de los fotones absorbidos por los pigmentos de fitoplancton se utilizan para la fotosíntesis, es interesante comparar la contribución de las cianobacterias a la absorción *in vivo* de partículas, utilizando un valor promedio de la absorción específica *in vivo* de *Synechococcus* DC-2 de los experimentos con cultivos a 550 nm [$1.10 \times 10^{-13} \text{ m}^2 \text{ célula}^{-1}$] y a 675 nm [$7.03 \times 10^{-14} \text{ m}^2 (\text{célula})^{-1}$], y con los datos de abundancia de cianobacterias de la Corriente de California y Cuenca Delfín y aplicando la ecuación 1.8 ($a^*_{\text{ph}} = a C^{-1}$), se determinó la posible absorción de luz por dichas células en luz blanca, bajo las condiciones del régimen de luz oceánica (luz verde azul), la contribución de las cianobacterias va aumentar por la relativamente alta absorción de las mismas en esta parte espectral (Tabla D y E del apéndice). En ambas localidades de muestreo se observa que la absorción de luz es ligeramente mayor a 550 nm que

de las cianobacterias va aumentar por la relativamente alta absorción de las mismas en esta parte espectral (Tabla D y E del apéndice). En ambas localidades de muestreo se observa que la absorción de luz es ligeramente mayor a 550 nm que a 675. Así mismo, dentro de la columna de agua la máxima absorción de luz; se presenta con la máxima abundancia de células; sin embargo, se observa una mayor absorción hacia la parte superior de dicho máximo que ocasionalmente se encuentra en la superficie. En forma general la absorción fue mayor en la Corriente de California.

Empleando el mismo dato del coeficiente específico de absorción y la absorción *in vivo* por fitoplancton a 550 nm de una localidad de la Cuenca Delfín, se determinó la posible abundancia de células de cianobacterias, correspondiente a dicha absorción (Tabla E); ésta se encontró dentro del orden de abundancia registrado en la localidad durante los muestreos. Por otra parte, con un espectro de absorción específica *in vivo* de los cultivos y un espectro de absorción *in vivo* por fitoplancton (Cervantes et al 1996), de una muestra de la Cuenca Delfín, se determinó la contribución del fitoplancton a la absorción *in vivo* (Fig. 15), encontrándose así que el porcentaje de contribución a la absorción *in vivo* de fitoplancton es relativamente baja entre 500 - 550 nm (40%).

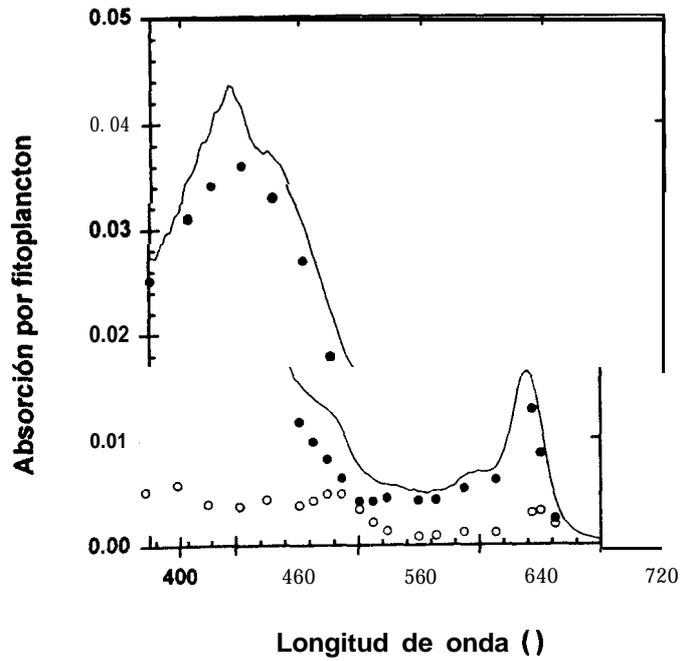


Figura 14. Contribución de las cianobacterias a la absorción *in vivo* de fitoplancton total.

— Fitoplancton total ● Fitoplancton menos cianobacterias ○ Cianobacterias

6.0 CONCLUSIONES

El régimen de abundancia y **distribución** de las cianobacterias en ambas regiones fue similar en orden e igualmente las concentraciones corresponden a las reportadas en otros otros estudios. La **contribución** de las cianobacterias a la concentración de clorofila **in situ** fue $< 20\%$ en el 50% de las muestras. No se observa un patrón definido de su comportamiento con respecto a los parámetros de luz, temperatura y nutrientes. Los experimentos de laboratorio con *Synechococcus* DC-2 WH7803, muestran la poca eficiencia de extracción de los pigmentos lipofílicos con el método estándar que emplea acetona al 90%. La extracción con la mezcla de DMSO y acetona aumenta la clorofila **extraída** en un alto porcentaje.

La comparación de los espectros de absorción de partículas con las muestras de campo y de los cultivos, muestra que la contribución de las cianobacterias en general es baja, por lo que no puede considerarse como significativo el error generado por el pico de absorción a 500 nm en la interpretación de la reflectancia superficial.

7.0 BIBLIOGRAFIA

- AZAM, F., T. FENCHEL, J. G. FIELD, J. S. GRAY, L. A. MEYER-REIL, F. THINGSTAD (1983) The ecological role of water-column microbes in the sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 10, 257-263.
- BABIN, M., T. JEAN-CLAUDE, C. ALFONSO (1993) Variations in the specific absorption for natural phytoplankton assemblages: Impact on estimates of primary production. *Limnol. Oceanogr.* 38(1), 154-177.
- BOOTH, B.C. (1987) The use of fluorescence for analyzing oceanic phytoplankton communities. *Bot. Mar.* 30, 101-108.
- BURKILL, P.H., R.J.G. LEAKEY, N.J.P. OWENS, R.F.D. MANTOURA (1993) Synechococcus and its importance to the microbial foodweb of the northwestern Indian Ocean. *Deep-Sea Res.* 40(2), 773-782
- CARR, N.G. y M. WYMAN (1986) Their biology in relation to the oceanic picoplankton. *In: Photosynthetic picoplankton.* Platt, T., W.K.W. Li (eds). 159-195.
- CERVANTES, D.R., MASKE, R.H., MENDOZA, GE. (1996) Datos planctónico ópticos e hidrográficos del Golfo de California y Corriente de California (1992-1995). Comunicaciones académicas, serie ecología, CICESE.
- CHAPMAN, D.J. (1973) Biliproteins and bile pigments. *In: The biology of the blue-green algae*. [Eds.]. N.G. Carr, y B.A. Wittont. *Botanical Monographs*. University of California Press, 162-185.
- CHAPMAN, D.J. (1988) Chromatic adaptation in cyanobacteria. *In: Experimental Phycology.* Cambridge. University Press, 135-139.
- GANF, G.G.; S.I. HEANEY, J. CORRY (1991) Light absorption and pigment content in natural populations and cultures of non-gas vacuolate cyanobacterium *Oscillatoria bourellyi* (= *Tychomema bourellyi*). *J. Plank. Res.* 13(5), 1101-1121.

- GANTT, E. (1980) *Phytoflagelates: Form and function*. [Eds.] Elionor Cox. Elsevier North Holland, Inc. 381-405.
- GANTT, E. (1979) Phycobiliproteins of cryptophyceae. *In* Hutner, H.S. and M. Levandowsky. [Eds.] *Biochemistry and Physiology of Protozoa*. Academic Press, N.Y. 121-137.
- GANTT, E.; M.R. EDWARDS, L. PROVASOLI (1971) Chloroplast structure of the cryptophyceae: *J. Cell Biol.* 48, 280-290.
- GEIDER, R. J. y B.A. OSBORNE (1992) *Algal photo-synthesis*. Eds. Chapman y Hall N.Y.
- GLOVER, H. E. (1985) The physiology and ecology of the marine cyanobacterial genus *Synechococcus*. *In*: Jannasch, H.W., Williams, P.J. LeB. (Eds.) *Advances in aquatic Microbiology*. Academic Press. London. 3, 49-107.
- GLOVER, H.E., B.B. PROZELIN, L. CAMPBELL, M. WYMAN (1988) Pico-and ultraplankton Sargasso Sea communities: variability and comparative distributions of *Synechococcus* spp. and algae. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 49, 127-139.
- HARA, S. y E. TANQUE (1989) Simultaneous staining with three fluorescent dyes of minute plankters on an agarose gel filter. *Deep-Sea Res.* 36(11), 1777-1784.
- HARBONE, J.B. (1969) *Phytochemical Phylogeny*. University of Readings, England.
- HARVEY, R.(1987) A fluorochrome-staining technique for counting bacteria in saline, organically enriched, alkaline lakes. *Limnol. Oceanogr.* 32(4), 993-995.
- HOEPFFNER, N. y S. SHUBHA (1992) Bio-optical characteristics of coastal waters: Absorption of phytoplankton and pigment distribution in the western North Atlantic. *Limnol. Oceanogr.* 37(8), 1660-1 679.
- IDSO, S.B. y R.G.GILBERT (1974) On the universality of the poole and atkins Secchi disk-light extinction equation. *J. Appl.Ecol.* II, 399-401.

- LI, W. K. W., P. M. DICKIE, B. D. IRWIN, A. M. WOOD (1992) Biomass of bacteria, cyanobacteria, prochlorophytes and photosynthetic eukaryotes in the Sargasso Sea. *Deep-Sea Res.* 39, 501-519.
- LI, W.K.W. y A.M. WOOD (1988) Vertical distribution of North Atlantic ultraphytoplankton: Analysis by flow cytometry and epifluorescence microscopy. *Deep-Sea Res.* 35, 1615-1638.
- MILLIE, D., D. INGRAM, C. DIONIGI (1990) Pigment and Photosynthetic Responses of *Oscillatoria Agardhii* (Cyanophyta) to Photon Flux Density and Spectral Quality. *J. Phycol.* 26, 660-666.
- MITCHELL, B G. (1990) Algorithms for determining the absorption coefficient of aquatic particulates using the quantitative filter technique (QFT). In: Spinrad, R.W. (ed). *Ocean Optics X: Proc. Soc. Photo-opt. Instrum. Eng.* 1302: 137-142.
- MIYAZONO, A., T. ODATE, Y. MAITA (1992) Seasonal fluctuations of cell density cyanobacteria and other picophytoplankton in Iwanai Bay, Hokkaido, Japan. *J. Oceanogr.* 47, 257-266.
- MOORE, L.R., R. GOERICKE, S.W. CHISHOLM (1995) Comparative physiology of *Synechococcus* and *Prochlorococcus*: influence of light and temperature on growth, pigments, fluorescence and absorptive properties. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 116, 259-275.
- NEUER, S. (1992) Growth dynamics of marine *Synechococcus* spp. in the Gulf of Alaska. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 83, 251-262.
- PREZELIN, B.B., H.E. GLOVER, B.V. HOVEN, D. STEINBERG, H.A. MATLICK, O. SCHFIELD, N. NELSON, M. WYMAN, L. CAMPBELL (1989) Blue-green light effects on light-limited rates of photosynthesis: relationship to pigmentation and productivity estimates for *Synechococcus* populations from the Sargasso Sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 54, 121-136.

- PREZELIN, B.B. (1981) Light Reactions in Photosynthesis. *In*: Ed. T. Platt. Physiological. Canadian Bulletin of Fisheries and *Aquatic Sciences*. Ottawa, 210.
- RAYMONT, J. (1979) The **Algae** of the Phytoplankton. *In* Plankton and Productivity. [Eds.]. *Pergamon Press*. 133-188.
- SMITH V.H. (1986) Light and nutrient effects on the relative biomass of blue-green **algae** in lake phytoplankton. *Can. J. Fish Aquat. Sci.*, 43, 148-153.
- STEWART, D. y F. FARMER (1984) Extraction, identification and quantitation of phycobiliprotein pigments from phototrophic plankton. *Limnol. Oceanogr.* 29(2), 392-397.
- STRAMSKI, D., A. SHALAPYNOK, R.A. REYNOLDS (1995) Optical characterization of the oceanic unicellular cyanobacterium *Synechococcus* grown under a **day-night cycle** in natural irradiance. *J. Geophys. Res.* 100(C7), 13, 295-13,307.
- STRICKLAND, J.D.H. y T.R. PARSONS (1972) A practical hand-book of seawater analysis, 2a. Ed. *Bull Fish. Res. Bd Can.* 167.
- SWANSON, R. y GLAZER, A. (1990) Separation of phycobiliprotein subunits by reverse phase high-pressure liquid chromatography. *Analytical biochemistry*. 188, 295-299.
- TAYLOR, F. (1980) Basic biological **features** of phytoplankton cells. [Eds.]. *Morris I. University of California press*.
- VENRICK, E.L. (1978) How **many cells** to count ? *In*: *Phytoplankton manual*, A. Sournia, editor, UNESCO, Paris, 167-180.
- VERNET, M., MITCHELL, B. y HOLM-HANSEN, O. (1990) Adaptation of ***Synechococcus in situ*** determined by variability in intracellular phycoerythrin-543 at a coastal station off the Southern California Coast. *Marine Ecology Prog. Ser.* 63, 9-16.
- WYMAN, M. (1985 in Press) Wyman's phycoerythrin method. (*Limnol. Oceanogr.*).

- WYMAN, M.; R.P.F. GREGORY, N.G. CARR (1985) Novel Role for Phycoerytrin in a Marine Cyanobacterium, *Synechococcus* Strain DC2. *Science*. 230, 818-820.
- YEH, S.W., L. J. ONG, A. N. GLAZER (1986) Role of phycoerythin in marine picoplankton *Synechococcus* spp. *Science*. 234, 1422-1424.
- WATERBURY, J.B., S.W. WATSON, F.W. VALOIS, D.G. FRANKS (1986) Biological and ecological characterization of the marine unicellular cyanobacterium *Synechococcus*. *Can. Bull. Fish. Aquat. Sci.* 214: 71-120.
- WATERBURY, J.B., S.W. WATSON, R.R.L. GUILLARD, L.E. BRAND (1979) Widespread occurrence of a unicellular, marine, planktonic cyanobacterium. *Nature, London*. 277, 293-294.

APENDICE

Tabla A. Velocidad específica de crecimiento de *Synechococcus*.

Temperatura [°C]	E_s	Velocidad de crecimiento	Condiciones	Referencia
22.5	Natural: [mol quanta $m^{-2}s^{-1}$] 1.7-4.77	[(<i>h</i> a.) ⁻¹] 0.018-0.021 0.008-0.012 0.03-0.04	WH8103 <i>in vivo</i>	Stramski et al., 1995
15-22	[mol quanta $m^{-2}s^{-1}$] 90	[(<i>d</i> ía) ⁻¹] 1	WH8103 <i>in vivo</i>	Moore et al., 1995
		[(<i>d</i> ía) ⁻¹] 0.5-1	<i>in vivo</i>	Burkill et al., 1993
	[mol quanta $m^{-2}s^{-1}$] 13 13 8	[(<i>d</i> ía) ⁻¹] 0.46 0.55 0.32	<i>in vivo</i>	Neuer, S. 1992
		0.1-0.75	<i>in situ</i>	Vernet et al., 1990
Prof.[m]		[(<i>d</i> ía) ⁻¹]	<i>in situ</i>	Iturriaga et al., 1988
0		0.778		
8		1.176		
26		0.836		
75		0.789		
10		0.688		
51		0.951		
75		0.981		
3		0.545		
20		0.663		
35		1.213		
50		0.908		
75		0.571		

Tabla B. Características de absorción y fluorescencia de *Synechococcus* marino con ficoeritrina. *(in vitro)*

Colonia original	Familia	Absorción	Fluorescencia	Hábitat	Aislamiento
	WH 7805 a	557	569	Atlántico Norte	Brand L.E. (1978)
	WH 8009 a	557	570	Atlántico Norte	Waterbury J.B. (1980)
	WH 8010 a	558	570	Atlántico Norte	Waterbury J.B. (1980)
	WH 8109 a	560	570	Atlántico Norte	Valois F.W. (1980)
SYN-48	WH 6501 b	556	567	Atlántico Tropical	Waterbury J.B. (1965)
	WH 7802 b	545 > 500	560 - 564	Atlántico Norte	Guillard R.R. (1965)
DC-2	WH 7803 b	545 > 500	560 - 564	Atlántico Norte	Brand L.E. (1978)
	WH 7806 b	545 > 500	560 - 564	Atlántico Norte	Brand L.E. (1978)
	WH 8001b	545 > 500	560 - 564	Golfo de México	Brand L.E. (1980)
	WH 8002b	545 > 500	560 - 564	Golfo de México	Brand L.E. (1980)
	WH 8003b	545 > 500	560 - 564	Golfo de México	Brand L.E. (1980)
	WH 8004b	545 > 500	560 - 564	Golfo de México	Brand L.E. (1980)
	WH 8005b	545 > 500	560 - 564	Golfo de México	Brand L.E. (1980)
	WH 8012b	545 > 500	560 - 564	Atlántico Norte	Brand L.E. (1980)
	WH 8014b	545 > 500	560 - 564	Atlántico Norte	Brand L.E. (1980)
	WH 8005b	545 > 500	560 - 564	Atlántico Norte	Waterbury J.B. (1981)

a.-Ficoeritrina con el cromóforo ficoeritrobilin Tipo I

b.- Ficoeritrina con el cromóforo ficourobilina Tipo II
Glover (1985)

Tabla C. Coeficiente específico de absorción ($a^* \text{ m}^2\text{g}^{-1}$) pigmento en solución amortiguadora de fosfato *in vitro*

Biliproteína	Absorción máxima	Peso molecular	a	Referencia
C-ficocianina	618		0.724	Kursar y Alberte (1983)
C-ficocianina	615	224,000	0.770	Siegelman y Kycia (1978)
C-fkocianina	610		0.650	Steward y Farmer (1984)
R-ficocianina	615	273,000	0.660	Siegelman y Kycia (1978)
aloficocianina	650		0.603	Kursar y Alberte (1983)
aloficocianina	650	900	0.650	Siegelman y Kycia (1978)
B-ficoeritrina	565	290,000	0.820	Siegelman y Kycia (1978)
B-fficoeritrina	545		0.878	Steward y Farmer (1984)
C-ficoeritrina	565	226,000	1.250	Siegelman y Kicia (1978)
C-ficoeritrina	550		1.250	Steward y Farmer (1984)
R-ficoeritrina	565	298,000	0.810	Siegelman y Kycia (1978)
R-fkoeritrina	565		0.802	Myers et al. (1984)
Ficoeritrina	545		1.260	Steward y Farmer (1984)
Ficoeritrina	548	--	.05	Ong y Glazer (1988)
Ficoeritrina	551		0.800	Alberte et al. (1984)
Ficoeritrina	492	264,000	1.05	Ong y Glazer (1988)

B, C y R- se refieren al grupo taxonómico del que se identificadas originalmente.
 B- Bangiales, C- Cianobacterias, R- Rodofitas
 Geider y Osborne (1992)

Tabla D. Parámetros hidrográficos y biológicos de la Corriente de California

Lt [°N]	Lgn [°W]	Prof. [m]	Es [%]	T [°C]	S ‰	PO ₄ [m moles m ⁻³]	Si(OH) [m moles m ⁻³]	NO ₂ [m moles m ⁻³]	NO ₃ [m moles m ⁻³]	Chl af [mg m ⁻³]	FLN	Ci anobac. [(células l ⁻¹)]	a* a* [m ⁻¹]	a* a* [m ⁻¹]	Chl a c [mg m ⁻³]	Contrib. %
31°50	116°53	0	100.0	16.3	33.3	0.000	9.76	0.03	7.37	0.03	0.003	1.09' 10 ⁹	0.012	0.008	0.350	42.18
		6	51.3	15.5	33.1	0.000	5.41	0.19	8.34	0.76	0.001	1.80*10⁹	0.020	0.013	0.576	75.74
		12	24.8	13.9	33.4	-0.444	1.60	-0.04	0.15	0.92	0.001	2.27' 10 ⁹	0.025	0.016	0.726	78.95
		15	19.3	13.4	33.4	0.046	45.83	-0.06	21.21	1.15	0.001	8.26' 10 ⁹	0.009	0.006	0.264	22.98
		25	6.1	11.5	33.4	0.216	37.60	-0.01	1.39	0.83	0.001	6.04' 10 ⁹	0.007	0.004	0.193	23.29
31°50	116°53	0	100.0	21.5	33.5	0.767	5.13	0.00	-0.01	2.49	0.002	4.8310 ⁹	0.005	0.003	0.155	6.21
		4	46.6	18.6	33.4	0.498	4.64	-0.01	0.01	1.73	0.001	7.0' 10 ⁹	0.006	0.005	0.224	12.95
		8	23.9	16.0	33.4	0.809	7.46	0.02	0.39	4.19	0.001	1.38' 10 ⁹	0.015	0.010	0.441	10.51
		12	11.5	14.5	33.5	0.581	7.05	0.00	0.44	4.92	0.001	1.8' 10 ⁹	0.020	0.013	0.575	11.70
		16	5.7	13.6	33.5	0.684	37.15	0.02	2.58	3.29	0.001	1.65' 10 ⁹	0.018	0.012	0.529	16.09
31°50'05"N	116°53'07"	20	2.8	12.5	33.6	0.788	9.52	0.06	1.90	3.94	0.001	1.42' 10 ⁹	0.016	0.010	0.453	11.51
		0	100.0	18.2	33.3	0.277	5.07	-0.02	-0.05	0.73	0.001	8.08*10⁹	0.009	0.006	0.259	35.42
		10	30.9	16.7	33.2	0.015	3.63	-0.03	0.02	0.28	0.0005	5.94*10⁹	0.007	0.004	0.190	67.90
		15	15.6	14.9	34.0	0.202	2.34	0.00	0.54	1.47	0.001	1.01*10⁹	0.011	0.007	0.324	22.01
		20	8.3	13.8	33.3	0.629	4.67	0.08	2.95	1.6	0.001	7.34' 10 ⁹	0.008	0.005	0.235	14.67
31°50'01"	116°30'83"	30	2.5	12.5	33.4	0.757	6.85	0.12	6.45	1.13	0.001	3.28' 10 ⁹	0.004	0.002	0.105	9.27
		40	1.0	11.8	33.4	0.794	6.21	0.00	6.48	0.39	0.0003	9.90*10⁹	0.001	0.001	0.032	8.12
		0	100.0	19.5	33.3	0.750	2.77	-0.01	0.01	0.32	0.001	6.05' 10 ⁹	0.007	0.004	0.194	60.48
		10	39.5	19.1	33.3	0.125	2.47	-0.02	0.12	0.47	0.0003	7.07' 10 ⁹	0.008	0.005	0.226	48.11
		20	18.4	17.1	33.3	0.625	3.40	-0.01	0.00	1.18	0.0004	1.02*10⁹	0.011	0.007	0.327	27.69
31°50'07"	116°53'37"	27	8.2	15.4	33.4	0.812	4.37	0.00	0.35	1	0.001	9.01' 10 ⁹	0.010	0.006	0.288	28.83
		40	1.8	14.5	33.2	-0.375	43.10	0.07	ALTO	0.69	0.001	2.16' 10 ⁹	0.002	0.002	0.069	10.03
		48	0.9	13.6	33.3	1.437	4.66	0.10	1.05	0.61	0.0004	9.81' 10 ⁹	0.001	0.001	0.031	5.15
		0	100.0	18.5	33.2	0.657	2.26	-0.02	-0.04	0.51		2.48*10⁹	0.0003	0.0002	0.008	1.56
		12	49.1	15.9	33.3	0.700	2.62	-0.02	-0.01	0.37		2.638*10⁹	0.000	0.000	0.008	2.30
31,50'07"	116°53'37"	25	6.4	13.9	33.2	0.680	3.35	0.01	0.16	1.07		1.07810 ⁹	0.001	0.001	0.034	3.21
		36	3.3	13.4	33.3	-0.015	36.16	0.04	5.22	1.03		1.89' 10 ⁹	0.002	0.001	0.060	5.84
		50	1.0	13.0	33.2	0.993	5.90	0.12	4.53	0.40		3.73*10⁹	0.000	0.000	0.012	3.00
		60	<1	12.7	33.3	1.787	8.78	0.04	8.92			3.26' 10 ⁹	0.0004	0.0002	0.010	
		0	100.0	16.6	33.3	0.363	2.10	0.00	0.02	0.24	0.001	5.79' 10 ⁹	0.006	0.004	0.185	76.17
31°49'35"N	116°53'07"W	12	34.4	16.4	33.3	0.271	2.09	0.00	0.06	0.34	0.001	8.86' 10 ⁹	0.010	0.006	0.284	84.37
		24	7.5	16.1	33.2	0.323	2.76	0.04	0.30	0.57	0.0005	4.35' 10 ⁹	0.005	0.003	0.139	24.37
		36	2.2	14.7	33.3	0.412	4.29	0.25	2.00	0.40	0.001	1.24' 10 ⁹	0.001	0.001	0.040	10.00
		46	0.9	13.1	33.3	0.644	6.37	0.08	5.77	0.27	0.0004	7.52' 10 ⁹	0.001	0.001	0.024	8.93
		0	100.0	16.3	33.2	0.270	1.98	0.03	-0.32	0.09	0.0002	1.31*10⁹	0.001	0.001	0.042	45.92
31°49'35"N	116°53'07"W	21	13.1	15.1	33.4	0.290	1.94	-0.03	-0.04	0.48	0.001	1.69' 10 ⁹	0.002	0.001	0.054	11.33
		35	2.6	14.6	33.4	0.394	3.42	0.13	0.76	0.59	0.001	2.18' 10 ⁹	0.002	0.002	0.070	11.74
		43	1.0	14.3	33.4	0.581	5.40	0.16	3.33	0.61	0.0004	2.51*10⁹	0.003	0.002	0.080	13.15
		50	0.6	14.2	33.4	0.601	5.72	0.10	9.94	0.37	0.0003	8.43*10⁹	0.001	0.001	0.027	7.33
		72	0.6	13.2	33.5	0.954	9.36	0.00	9.22	0.17	0.0001	2.64' 10 ⁹	0.0003	0.0002	0.008	4.97

a*
[m²(células)⁻¹]
550
1.10*10⁹

a*
[m²(células)⁻¹]
675
7.03*10⁻¹⁴

a*
[m²(mg chl a)⁻¹]
675
0011

Chl a
3*10⁹

Tabla E. Parámetros hidrográficos y biológicos de la Cuenca Delfin.

Lt	Lgn	Prof.	Es	T	S	PO ₄	Si(OH) ₄	NO ₂	NO ₃	Chl a fit.	FLN	Células	a* a*	Chl a c.	Cont. a	a	Células	
[°N]	[°W]	[m]	[‰]	[°C]	‰	[m moles m ⁻³]			[(células l ⁻¹)]	[m ⁻¹]	[m ⁻¹]	[mg l ⁻¹]	% fit.	[m ⁻¹]	[(células l ⁻¹)]			
30°12'36"	114°16'9"	0	100.0	26.2	35.4	1.98	5.79	0.00	-0.09	0.53		2.14' 10'	0.002	0.002	0.07	12.90	0.006	5.45' 10'
		10	33.0	25.9	35.4	1.34	4.86	0.00	-0.08	0.68		7.15' 10'	0.008	0.005	0.23	33.66	0.008	7.27' 10'
		20	10.0	25.5	35.4	1.38	4.75	0.00	-0.04	0.92		1.89' 10"	0.021	0.013	0.60	65.63	0.015	1.41' 10"
		30	3.3	24.2	35.2	2.24	8.96	0.22	1.71	1.25		1.42' 10"	0.016	0.010	0.45	36.29	0.01	9.09' 10'
		40	1.0	22.4	35.3	2.41	9.72	0.32	2.31	1.1		8.55' 10'	0.009	0.006	0.27	24.87	0.005	4.55' 10'
30°12'96"	114°14'54"	0	100.0	30.9	35.5	0.71	4.60	0.01	0.09	0.24	0.00202	2.40' 10'	0.003	0.002	0.08	32.04	0.006	5.45' 10'
		8.5	58.2	29.1	35.3	0.78	4.72	-0.02	0.10	0.26	0.0002	2.84*10'	0.003	0.002	0.09	35.00	0.008	7.27' 10'
		17	32.9	28.0	35.3	0.70	5.09	-0.02	-0.02	0.22	0.00018	3.31*10'	0.004	0.002	0.11	48.18	0.001	1.00' 10'
30°13'05"	114°16'64"	26	16.9	27.6	35.3	0.72	5.54	-0.02	-0.08	0.33	0.00027	4.73*10'	0.005	0.003	0.15	45.88		
		34	8.5	26.6	35.2	1.12	10.45	0.48	2.96	0.48	0.00069	9.61' 10'	0.011	0.007	0.31	64.04		
		0	100.0	28.3	34.6	0.43	3.79	-0.02	-0.02	0.27		4.09' 10'	0.005	0.003	0.13	48.50		
		15	33.0	28.5	35.3	0.52	4.92	-0.02	0.04	0.28		3.64*10'	0.004	0.003	0.12	41.62		
30°12'21"	114°30'7"	30	10.0	28.5	35.3	1.16	24.97	0.33	1.60	0.42		2.17*10'	0.002	0.002	0.07	16.50		
		45	3.3	27.7	35.3					0.53		2.00' 10'	0.002	0.001	0.06	12.09		
		60	1.0	24.2	35.3	1.46	11.78	0.11	4.27	0.36		1.71*10'	0.002	0.001	0.05	15.17		
		0	100	25.0	35.5	4.86	3.61	0.03	0.39	1.11	0.0003	1.88' 10'	0.020	0.013	0.601	54.20		
		8	22.7	24.7	35.6	4.10	3.61	0.02	-0.04	1.3	0.00117	2.00*10 ^u	0.022	0.014	0.64	49.30		
30°13'18"	114°014' 53"	15	5.7	24.6	35.5	2.47	3.72	0.02	-0.03	1.49	0.00085	2.22*10 ^u	0.024	0.016	0.71	47.71		
		20	2.8	24.2	35.5	1.34	2.29	-0.01	-0.21	1.39	0.00075	2.12*10 ^u	0.023	0.015	0.68	48.71		
		30	0.7	24.1	35.6	1.65	6.02	0.16	0.00	1.51	0.0006	2.68' 10"	0.029	0.019	0.86	56.76		
		0	100.0	19.6	35.4	3.30	11.54	1.12	5.65	1.04	0.00349	1.81' 10'	0.002	0.001	0.06	5.57		
		9	17.9	19.3	36.0	3.07	10.62	0.92	4.49	1.73	0.00121	2.54*10'	0.003	0.002	0.08	4.70		
30°13'18"	114°014' 53"	18	4.7	19.2	35.4	3.15	13.89	1.17	5.69	1.67	0.00073	2.33' 10'	0.003	0.002	0.07	4.47		
		27	1.5	19.1	35.4	3.21	13.66	1.17	6.64	1.25	0.0006	2.12*10'	0.002	0.001	0.07	5.43		
		36		19.1	35.4	3.14	14.67	1.18	6.57	1.2	0.00048	2.39*10'	0.003	0.002	0.08	6.38		

a* a* a* Chl a cian
 [m²(cél)] [m²(cél)] [m²(mg)⁻¹]
 1.1*10⁻¹³ 7.0*10⁻¹⁴ 0.011 3.20*10⁻⁹

Tabla F. Abundancia de células y D0.

Edad	Células	D.O	D.O	Coef.Corr.	Coef. Corr.
[hrs.]	[Cell-1]	500 [nm]	610 [nm]	r ²	r ²
17	3E+09	0.075	0.053	0.30	0.29
65	5E+09	0.096	0.063	0.88	0.86
161	5E+09	0.128	0.084		
233	6E+09	0.189	0.124		
330	1E+10	0.273	0.177		
404	1E+10	0.273	0.169		
424	1E+10	0.265	0.16		
498	1E+10	0.312	0.196		
522	1E+10	0.323	0.199		
546	1E+10	0.367	0.231		
571	8E+09	0.325	0.205		
617	9E+09	0.332	0.206		
665	8E+09	0.315	0.192		
690	8E+09	0.36	0.227		
737	5E+09	0.365	0.227		
759	7E+09	0.307	0.193		
834	6E+09				
861	2E+10				
0	1E+10	0.171	0.116	0.74	0.77
24	1E+10	0.175	0.115	0.87	0.88
73	1E+10	0.204	0.137		
119	8E+09	0.246	0.162		
168	1E+10	0.286	0.19		
192	2E+10	0.325	0.221		
239	2E+10	0.291	0.191		
261	2E+10	0.271	0.182		
336	2E+10	0.245	0.164		
363	4E+10	0.468	0.31		
403	4E+10	0.522	0.343		
502	6E+10	0.587	0.39		
671	2E+10	0.411	0.26		
720	2E+10	0.462	0.293		

Tabla G. Comparación de **métodos** de extracción de clorofila en *Synechococcus* DC-2 WH7803

Tratamiento	Tiempo [hrs]	Volúmen filtrado ml	Volúmen de extracción ml	Longitud de celda cm	Clorofila [mg m-3]	Chl a [fg(células)-1]
Ac. 100%	12	30	10	5	222.21	3.22044
Ac. 100%	24	30	10	5	192.364	2.78788
Ac. 90%	12	20	10	5	109.01	6.05622
Ac. 90%	24	20	10	5	100.37	5.57589
Ac. 90%	24	30	10	5	193.75	4.80797
Ac. 90%	24	10	10	5	307.0824	4.63871
Ac. 90%	24	10	10	5	361.18	5.45589
RPD/Ac. 100%	0	30	10	5	216.10	3.13183
RPD/Ac. 100%	12	30	10	5	275.39	3.99121
RPD/Ac. 100%	24	30	10	5	190.97867	2.76781
RPD/Ac. 90%	2	10	10	5	376.3184	5.68457
RPD/Ac. 90%	2	10	10	5	448.11	6.76903
RPD/Ac. 90%	12	10	10	5	468.648	7.07927
RPD/Ac. 90%	12	20	10	5	174.52	9.69556
RPD/Ac. 90%	24	20	9	5	113.93	6.3297
RPD/Ac. 90%	24	30	10	5	195.11	4.82768
N/Ac+DMSO	2	30	10	5	217.68	12.0932
N/Ac+DMSO	2	30	10	5	194.92	10.8287
N/Ac+DMSO	12	30	10	5	257.17	14.2872
N/Ac+DMSO	12	30	10	5	206.92	11.4956
N/Ac+DMSO	24	30	10	5	185.39	10.2992
N/Ac+DMSO	24	30	9	5	178.34	9.9076
RPD/Ac+DMSO	2	10	10	5	707.0944	10.6812
RPD/Ac+DMSO	2	10	10	5	734.20	11.0906
RPD/Ac+DMSO	2	30	10	5	195.34	10.8521
RPD/Ac+DMSO	2	30	10	5	206.15	11.4527
RPD/Ac+DMSO	12	10	10	5	859.1864	12.9786
RPD/Ac+DMSO	12	30	10	5	194.16	10.7666
RPD/Ac+DMSO	12	30	10	5	185.11	10.2837
RPD/DMSO	12	10	10	5	735.5152	11.1105
RPD/Ac+DMSO	24	10	10	5	813.0216	12.2813
RPD/Ac+DMSO	24	30	10	5	201.62	11.2013
RPD/Ac+DMSO	24	30	10	5	237.32	13.1846
RPD/Ac+DMSO	24	30	10	5	187.92	10.4399
RPD/Ac+DMSO	24	30	10	5	198.19	11.0107

