



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS

“Estudio de limitación por hierro y nitrato en el Golfo de California durante condiciones de verano”

TESIS

Para obtener el título de:

OCEANÓLOGA

Presenta:

Minerva Andrea Padilla Villa

Ensenada, Baja California.

Mayo del 2025.

RESUMEN

Durante el verano, la estratificación térmica en el Golfo de California (GC) reduce el flujo vertical de aguas subsuperficiales ricas en nutrientes y metales hacia la zona eufótica, generando grandes desiertos marinos delimitados por niveles superficiales de clorofila-a (clor-a) extremadamente bajos ($<0.5 \text{ mg m}^{-3}$). Evidencias biogeoquímicas sugieren que el nitrato (NO_3^-) y/o el hierro (Fe) podrían limitar el crecimiento del fitoplancton en estos desiertos marinos. Para investigar esta hipótesis, en el verano de 2019 se realizó un experimento de adición de nutrientes con agua de mar recolectada a $\sim 5 \text{ m}$ de profundidad en el desierto marino ubicado al norte de la Isla Ángel de la Guarda ($29^\circ 33.840' \text{ N}$, $113^\circ 43.770' \text{ O}$). Durante cinco días de incubación, se evaluó la respuesta de la comunidad fitoplanctónica a la adición experimental de Fe, NO_3^- y su combinación. Cada 24 horas se realizaron submuestras para evaluar cambios en la concentración de Fe disuelto y macronutrientes (NO_3^- , H_2SiO_4 y PO_4^{3-}), así como en los niveles de clor-a y en la abundancia y estructura de la comunidad fitoplanctónica. De acuerdo con nuestros resultados, el Fe no limita el crecimiento de fitoplancton durante verano, ya que la concentración de clor-a en el tratamiento +Fe no tuvo diferencias significativas ($p > 0.05$) con respecto al control. En cambio, esta comunidad respondió positivamente a los tratamientos enmendados con NO_3^- (+ NO_3 y +Fe+ NO_3), en términos de cambios significativos ($p < 0.05$) en los niveles de clor-a, crecimiento de células grandes y consumo de macronutrientes. Durante el experimento, las diatomeas fueron el grupo más beneficiado por la adición de NO_3^- , incrementando su abundancia en dos órdenes de magnitud con respecto al control. De igual manera, el picofitoplancton respondió positivamente a la adición de NO_3^- , y alcanzó su máximo crecimiento al cuarto día de experimento (entre tres y cinco veces más células por litro que el control). Estos resultados sugieren que la baja disponibilidad de NO_3^- durante verano produce desiertos marinos en la porción norte del GC. Bajo un escenario de calentamiento de la superficie del mar, se espera un recrudecimiento de las condiciones de limitación de NO_3^- en el GC. Ante un futuro predominio de condiciones cálidas y oligotróficas, resulta importante realizar más investigaciones que evalúen el impacto actual de la disponibilidad de nutrientes sobre los productores primarios que habitan en el GC.

Palabras clave: Golfo de California, hierro disuelto, nitrato, limitación por nutrientes, fitoplancton



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS
CAMPUS ENSENADA



“ESTUDIO DE LIMITACIÓN POR HIERRO Y NITRATO EN EL GOLFO DE CALIFORNIA
DURANTE CONDICIONES DE VERANO”

TESIS

PARA CUBRIR LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA OBTENER EL TÍTULO DE
OCEANÓLOGA

PRESENTA:

Minerva Andrea Padilla Villa

353433

A quien el Comité de Tesis autoriza el trabajo terminal, después de haber efectuado una revisión minuciosa del mismo y de acuerdo con el Art. 19 del R.G.E.P.E.P, las y los señores profesores emiten los siguientes votos aprobatorios mediante rúbrica:

Dr. Armando Félix Bermúdez
DIRECTOR

Dra. Karina del Carmen Lugo Ibarra
SINODAL

Dr. Francisco Delgadillo Hinojosa
SINODAL

Dra. Mary Carmen Ruiz de la Torre
SINODAL

“Por la Realización Plena del Ser”

C.c.p.- Archivo
C.c.p.- Minutario

DEDICATORIA

Agradezco, y dedico este trabajo, a mis padres, Minerva y José Andrés;

a mi pareja, Miranda; a mi hermano, José Andrés;

a mi tía, María Luisa; y a mis abuelas, Alicia (QEPD) y Marina.

Su amor y apoyo es invaluable.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi director de tesis, Dr. Armando Félix Bermúdez, por confiar en mí y motivarme a ser mejor, por la amistad cultivada a través del tiempo que dedicamos a este trabajo, y por ser un gran ejemplo de científico y persona.

Agradezco a mis sinodales, Dr. Francisco Delgadillo Hinojosa, Dra. Mary Carmen Ruiz De La Torre, y Dra. Karina Del Carmen Lugo Ibarra, por sus atinadas observaciones y constructivas críticas. Aprecio su tiempo y experiencia.

Agradezco a el equipo de estudiantes y personal técnico que participaron en la toma y análisis de muestras. Sin su excelente labor no habría sido posible la realización de este trabajo.

Agradezco al CONACyT (actual Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación, SECIHTI) por proveer los fondos para llevar a cabo esta tesis a través del proyecto “Flujo atmosférico de metales bioactivos y su solubilidad en el Golfo de California: un escenario hacia el cambio climático”, aprobado en la convocatoria de Ciencia Básica CB-2011-01-166897.

Agradezco a la Facultad de Ciencias Marinas por ser mi casa durante años inolvidables.

Agradezco a quienes, a través de su instrucción y mentoría, formaron parte crucial de mi desarrollo profesional: Dr. Víctor Antonio Zavala Hamz, Dr. José Alberto Zepeda Domínguez, Dra. Irasema Oroz Parra, Dra. Natalie Millán Núñez, Dra. Beatriz Martín Atienza, MC. Patricia Alvarado Graef, Dr. Víctor Froylán Camacho Ibar, y Dr. Miguel Ángel Huerta Díaz. Llevo siempre conmigo sus enseñanzas.

Agradezco a las amistades y colegas que me acompañaron durante mis estudios de licenciatura: Pao, Sayu, Majo, Mafer, Isma, Andrea, Inés, Camila, Emilio, Alex, Juani, Mariela, Chucho, Bivi, Edson, Saúl, Sofía, Pepe, Carlos y, por su puesto, Chris. Alegraron mis días.

Muchísimas gracias.

TABLA DE CONTENIDO

| | |
|--|------------|
| RESUMEN | II |
| VOTOS APROBATORIOS | III |
| DEDICATORIA | IV |
| AGRADECIMIENTOS | V |
| TABLA DE CONTENIDO | VI |
| LISTA DE FIGURAS | VII |
| LISTA DE TABLAS | XI |
| 1. INTRODUCCIÓN | 1 |
| 2. ÁREA DE ESTUDIO | 3 |
| 3. MÉTODOS | 6 |
| 3.1 Limpieza del material | 6 |
| 3.2 Experimento de fertilización | 6 |
| 3.2.1 Selección de estación y fecha de muestreo | 6 |
| 3.2.2 Colecta de agua de mar | 7 |
| 3.2.3 Instalación del cuarto limpio y el incubador de botellas | 9 |
| 3.2.4 Llenado y acondicionamiento de las botellas | 12 |
| 3.2.5 Adición de nutrientes | 12 |
| 3.2.6 Muestreo destructivo durante el experimento | 12 |
| 3.3 Análisis de variables químicas y biológicas | 13 |
| 3.3.1 Metales traza y nutrientes inorgánicos | 13 |
| 3.3.2 Determinación de clorofila-a, y abundancia e identificación del fitoplancton | 15 |
| 3.4 Procesamiento de datos | 16 |
| 3.4.1 Variables satelitales | 16 |
| 3.4.2 Hidrografía y parámetro de estratificación | 16 |
| 3.4.3 Análisis estadístico | 17 |
| 4. RESULTADOS | 17 |
| 4.1 Condiciones ambientales | 17 |
| 4.1.1 Imágenes satelitales | 17 |
| 4.1.2 Perfil de PAR y determinación de la zona eufótica | 20 |
| 4.1.3 Hidrografía de la columna de agua | 21 |

| | |
|---|-----------|
| 4.1.4 Variables biológicas y nutrientes | 23 |
| 4.2 Experimento de adición de nutrientes | 25 |
| 4.2.1 Condiciones iniciales: después de la aclimatación en incubador | 25 |
| 4.2.2 Efecto de la adición de nutrientes sobre las variables químicas | 26 |
| 4.2.3 Efecto de la adición de nutrientes sobre la clorofila-a | 29 |
| 4.2.4 Efecto de la adición de nutrientes sobre la comunidad fitoplanctónica | 32 |
| 5. DISCUSIÓN | 35 |
| 5.1 Evidencias de limitación basadas en la concentración de nutrientes <i>in situ</i> | 35 |
| 5.2 Evidencias experimentales de limitación por nutrientes | 37 |
| 5.2.1 Cambios en la concentración de nutrientes | 38 |
| 5.2.2 Cambios en los niveles de clorofila-a | 39 |
| 5.2.3 Cambios en la comunidad fitoplanctónica | 41 |
| 5.3 Implicaciones biogeoquímicas ante un escenario de variabilidad climática | 42 |
| 5.4 Limitaciones y recomendaciones para futuras investigaciones | 44 |
| 6. CONCLUSIONES | 45 |
| 7. LISTA DE REFERENCIAS | 46 |

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Climatología satelital de la clorofila-a (2002-2023) en el Golfo de California durante (a) invierno y (b) verano. Imágenes Aqua-MODIS con resolución espacial de 4 km. 2
- Figura 2.** Área de estudio y la ubicación de la estación IronMex (triángulo invertido rosa) en Norte del Golfo de California (NGC). La estación IronMex se encuentra delimitada al norte por el Alto Golfo de California (AG) y al sur por la Región de las Grandes Islas (RGI). La escala de colores representa la batimetría. 4
- Figura 3.** Climatologías mensuales (2003-2020) de temperatura superficial del mar (TSM_{sat} ; línea y triángulos rojos) y clorofila-a satelital ($Clor-a_{sat}$; línea y círculos verdes) para la estación IronMex. El mes de septiembre (recuadro gris) es adecuado para recolectar agua de mar en condiciones cálidas y oligotróficas ya que se presenta la máxima TSM_{sat} y el segundo valor más bajo de $Clor-a_{sat}$ del año. 7
- Figura 4.** Calendario de mareas para BDLA durante el mes de septiembre de 2019 (PREDMAR-CICESE, 2019). El día 5 de septiembre (círculo rojo) se realizó la colecta de agua de mar bajo condiciones de marea muerta. 7
- Figura 5.** (a) Fotografía de embarcaciones navegando hacia el punto de muestreo IronMex ubicado al noroeste de la Isla Ángel de la Guarda. (b) Fotografía submarina y perfiles verticales de temperatura (línea roja) y porcentaje de radiación fotosintéticamente activa con respecto de la superficie (PAR; línea y círculos azules). La línea discontinua negra y

- ecuación en (b) corresponden al ajuste de decaimiento exponencial para los datos de PAR ($E\ m^{-2}\ d^{-1}$). La zona sombreada en (b) representa el rango de profundidad para la colecta de agua. 8
- Figura 6.** Recolecta de muestras de agua de mar. El procedimiento consiste en sumergir las botellas Niskin-X abiertas a un intervalo de profundidad entre 5 y 10 m, cerrarlas por medio de mensajeros, subirlas a cubierta y ordeñarlas con ayuda de mangueras de Teflón. El agua de mar recolectada se filtra ($210\ \mu m$) para excluir a los pastoreadores y se almacena en bidones de HDPE y PC sobre una cama de hielo para su transporte a tierra. 9
- Figura 7.** (a) Cuarto limpio construido en Bahía de los Ángeles a base de tubería de PVC y paredes de plástico. (b) Interior del cuarto limpio equipado con mesa de trabajo y campana de flujo laminar con filtro HEPA. Esta campana inyecta aire limpio al cuarto, manteniendo una presión positiva y, en consecuencia, una atmósfera libre de partículas contaminantes. 10
- Figura 8.** (a) Representación del incubador. (b) Fotografía de las botellas en el incubador. (c) Fotografía de la radiación solar bajo la malla protectora. (d) Serie de tiempo de PAR en el incubador (círculos azules) y radiación solar sobre el continente en BDLA (línea continua amarilla). (e) Serie de tiempo de temperatura del agua en el incubador (línea continua y círculos rojos) y de temperatura del aire sobre el continente (línea discontinua negra). En (a), la circulación del agua (flechas azules) se logró con el uso de un ventilador, dos bombas sumergibles, y con la disposición de los tubos de Teflón™ para la entrada de agua fría y salida de agua caliente. La malla oscura de fibra de vidrio en (a) se instaló para simular condiciones subacuáticas de radiación solar sobre el incubador, la cual se midió con un sensor cuántico esférico sumergible. Para (d) y (e), el área gris representa los valores in situ en la estación IronMex de PAR y temperatura, respectivamente. 11
- Figura 9.** Representación del muestreo destructivo. Cada 24 h durante cinco días consecutivos se retiran ocho botellas del incubador (dos botellas de control, y dos botellas por cada uno de los tres tratamientos aditivos). Después de limpiar y agitar una botella, se toman las submuestras para los distintos análisis..... 13
- Figura 10.** (a) Temperatura superficial del mar (TSM_{sat}) y (b) clorofila-a ($Clor-a_{sat}$) en el Golfo de California detectadas por satélite el 5 de septiembre de 2019. Imágenes Aqua-MODIS con resolución espacial de 4 km. En la figura se señalan: estación IronMex (triángulo invertido rosa), Bahía de los Ángeles (BdLA), Alto Golfo de California (AGC), Norte del Golfo de California (NGC), Región de las Grandes Islas (RGI), y los estados mexicanos que bordean el GC (Baja California, Baja California Sur y Sonora)..... 18
- Figura 11.** Tasas promedio de productividad primaria neta (PPN_{sat}) en el Golfo de California para 8 días: (a) periodo que incluye el día del muestreo (5 de septiembre del 2019) y (b) periodo después del muestreo. Las tasas de PPN fueron estimadas por el modelo CbPM basado en producción de carbono. En la figura se señalan: sitio IronMex (triángulo invertido rosa), Alto Golfo de California (AGC), Norte del Golfo de California (NGC), Región de las Grandes Islas (RGI), y los estados mexicanos que bordean el GC: Baja California, Baja California Sur y Sonora. 19
- Figura 12.** (a) Anomalías de temperatura superficial del mar satelital (ΔTSM_{sat}) y (b) clorofila-a satelital ($\Delta Clor-a_{sat}$) en la estación IronMex para el año 2019. Las anomalías se

calcularon como la diferencia entre las climatologías mensuales de TSM_{sat} (y $Clor-a_{sat}$) en el período de 2003 a 2020 y las climatologías mensuales de TSM_{sat} (y $Clor-a_{sat}$) de 2019. Las flechas negras señalan las anomalías de septiembre de 2019, mes en el cual se realizó la colecta de agua. Las anomalías cercanas a los valores típicos ($\Delta TSM_{sat} = 0$; $\Delta Clor-a_{sat} = 0$) indican que el agua recolectada es representativa de las condiciones oligotróficas que suelen presentarse en los desiertos que se forman en el NGC durante el verano. 20

Figura 13. Perfiles verticales de radiación fotosintéticamente activa (PAR) durante la colecta de agua de mar en el punto de muestreo IronMex el 5 de septiembre de 2019. La línea segmentada negra es un ajuste exponencial aplicado al perfil de PAR para el cual se incluye la ecuación. La barra gris señala la profundidad de colecta de agua de mar (5–10 m). La línea punteada gris indica la profundidad hasta la cual fue visible el disco de Secchi. 21

Figura 14. Perfiles verticales de temperatura conservativa (Θ) y salinidad absoluta (S_A) hasta 100 m de profundidad tomados por el CTD el 5 de septiembre de 2019 en la estación IronMex. Se señalan las profundidades de la colecta de agua de mar (5–10 m), de la capa de mezcla (0–24 m) y la de zona eufótica (0–72 m). 22

Figura 15. Diagrama de temperatura conservativa (Θ) y salinidad absoluta (S_A) para datos de CTD registrados el 5 de septiembre de 2019 en la estación IronMex (triángulos invertidos rosas), y datos reportados para el mes de septiembre por el World Ocean Atlas (2018) en el Golfo de California (círculos negros). Los recuadros negros indican los rangos de Θ y S_A para las distintas masas de agua presentes en el Golfo de California de acuerdo con Portela et al. (2016): Agua del Golfo de California (AGC), Agua Tropical Superficial (ATS), Agua de la Corriente de California (ACC), Agua Subtropical Subsuperficial (AStSs) y Agua Intermedia del Pacífico (AIP). Se grafican también isopicnas para la anomalía de densidad potencial (σ_0) referida a la presión a 0 m de profundidad (0 dbar). 23

Figura 16. Perfil vertical de clorofila-a ($Clor-a_f$) hasta 100 m de profundidad tomados por el CTD el 5 de septiembre de 2019 en la estación IronMex. Se señalan las profundidades de la colecta de agua de mar (5–10 m), de la capa de mezcla (0–24 m) y la de zona eufótica (0–72 m). 24

Figura 17. Concentraciones promedio de (a, e, i, m) hierro disuelto (Fe_d), (b, f, j, n) nitrato (NO_3^-), (c, g, k, o) fosfato (PO_4^{3-}), y (d, h, l, p) ácido silícico (H_2SiO_4) durante los cinco días de incubación de las botellas control (línea discontinua y círculos negros) y de los tratamientos: +Fe (línea continua y triángulos rojos), + NO_3^- (línea continua y cuadrados azules), y +Fe+ NO_3^- (línea continua y rombos amarillos). En el eje “x” de tiempo se incluye: 1) el momento en que fue visitada la estación IronMex, representando en “y” la concentración in situ (i.s.); 2) el comienzo del experimento a partir de la aclimatación de las botellas y justo antes de la adición de cada tratamiento (0 h); y 3) cinco tiempos adicionales de muestreo en intervalos de 24 h. Se señala con una línea gris el comienzo de la incubación que corresponde con la adición de los tratamientos. Se presentan las desviaciones estándar a manera de barras de error, aunque en algunos casos los valores son más pequeños que los símbolos. En el control y el tratamiento +Fe, las concentraciones de NO_3^- detectadas por el instrumento de análisis fueron $\leq 0.1 \mu mol kg^{-1}$ durante todo el experimento. 28

Figura 18. Clorofila-a total (Clor- a_{tot}) en las botellas control (línea discontinua y círculos negros) y de los tratamientos: +Fe (línea continua y triángulos rojos), +NO₃ (línea continua y cuadrados azules), y +Fe+NO₃ (línea continua y rombos amarillos). En el eje “x” de tiempo se incluye: 1) el momento en que fue visitada la estación IronMex, representando en “y” las concentraciones in situ (i.s.); 2) el comienzo del experimento a partir de la aclimatación de las botellas y justo antes de la adición de cada tratamiento (0 h); y 3) cinco tiempos adicionales de muestreo en intervalos de 24 h. Se señala con una línea gris el comienzo de la incubación que corresponde con la adición de los tratamientos. Se presentan las desviaciones estándar a manera de barras de error, aunque en algunos casos los valores son más pequeños que los símbolos. Entiéndase Clor- a_{tot} como la Clor-a extraída de material >0.7 μm 30

Figura 19. Clorofila-a aportada por las células grandes (Clor- $a_{grandes}$) y células chicas (Clor- a_{chicas}) durante las 120 h de incubación en las botellas control (línea discontinua y círculos negros) y de los tratamientos: +Fe (línea continua y triángulos rojos), +NO₃ (línea continua y cuadrados azules), y +Fe+NO₃ (línea continua y rombos amarillos). En el eje “x” de tiempo se incluye: 1) el momento en que fue visitada la estación IronMex, representando en “y” las concentraciones in situ (i.s.); 2) el comienzo del experimento a partir de la aclimatación de las botellas y justo antes de la adición de cada tratamiento (0 h); y 3) cinco tiempos adicionales de muestreo en intervalos de 24 h. Se presentan las desviaciones estándar a manera de barras de error, aunque en algunos casos los valores son más pequeños que los símbolos. Entiéndase Clor- $a_{grandes}$ como la Clor-a extraída de material >5 μm , y Clor- a_{chicas} como la Clor-a extraída de material 0.7-5 μm 31

Figura 20. Abundancia celular de nano y microfitoplancton durante los cinco días de incubación de las botellas control (línea discontinua y círculos negros) y de los tratamientos: +Fe (línea continua y triángulos rojos), +NO₃ (línea continua y cuadrados azules), y +Fe+NO₃ (línea continua y rombos amarillos). En el eje “x” de tiempo se incluye: 1) el momento en que fue visitada la estación IronMex, representando en “y” la concentración in situ (i.s.); 2) el comienzo del experimento a partir de la aclimatación de las botellas y justo antes de la adición de cada tratamiento (0 h); y 3) cinco tiempos adicionales de muestreo en intervalos de 24 h. Se señala con una línea gris el comienzo de la incubación que corresponde con la adición de los tratamientos. Se incluyen paneles con el eje vertical magnificado para observar tendencias en el control y el tratamiento +Fe, en los cuales las abundancias celulares determinadas por el método fueron $\leq 1\text{E}+5$ células L⁻¹ durante todo el experimento..... 32

Figura 21. Abundancia celular promedio de picofitoplancton durante los cinco días de incubación de las botellas control (línea discontinua y círculos negros) y de los tratamientos: +Fe (línea continua y triángulos rojos), +NO₃ (línea continua y cuadrados azules), y +Fe+NO₃ (línea continua y rombos amarillos). En el eje “x” de tiempo se incluye: 1) el momento en que fue visitada la estación IronMex, representando en “y” la concentración in situ (i.s.); 2) el comienzo del experimento a partir de la aclimatación de las botellas y justo antes de la adición de cada tratamiento (0 h); y 3) cinco tiempos adicionales de muestreo en intervalos de 24 h. Se señala con una línea gris el comienzo de la incubación que corresponde con la adición de los tratamientos. Se presentan las desviaciones estándar a manera de barras de error, aunque en algunos casos los valores son más pequeños que los símbolos..... 33

Figura 22. Abundancia relativa de distintos grupos de nano y microfitoplancton, y abundancia relativa de nano y microfitoplancton y picofitoplancton en el control y en los tratamientos +Fe, +NO₃, +Fe+NO₃ durante el punto de tiempo correspondiente con los máximos valores de clorofila-a (96 h, 96 h, 120 h y 120h, respectivamente)..... 34

LISTA DE TABLAS

- Tabla I.** Resumen de las condiciones ambientales (estación IronMex) e iniciales (después de la aclimatación en incubador de Bahía de los Ángeles) del experimento de adición de nutrientes..... 26
- Tabla II.** Cambios en los niveles de clorofila-a en experimentos de adición de nutrientes en los cuales se ha se determinó limitación primaria por NO₃⁻ y limitación serial por Fe_d 41

1. INTRODUCCIÓN

El Golfo de California (GC) es considerado como uno de los mares marginales más productivos del mundo (Álvarez-Borrego, 2012; Santamaría-del-Ángel et al., 1994). Esta productividad es sostenida por la suma de varios mecanismos de aporte de nutrientes y metales hacia las aguas superficiales del Golfo: 1) la deposición atmosférica de polvos (Muñoz-Barbosa et al., 2017, 2020; Segovia-Zavala et al., 2010); 2) la mezcla por mareas (Álvarez-Borrego, 2002; Marinone y Lavín, 2003; Simpson et al., 1994; Torres-Delgado et al., 2013; Delgadillo-Hinojosa et al., 2001); 3) las surgencias costeras (Álvarez-Borrego y Lara-Lara, 1991; Roden, 1964; Torres-Delgado et al., 2013); y 4) el intercambio de agua con el Océano Pacífico (Álvarez-Borrego y Giles-Guzmán, 2012). Estos aportes mantienen una productividad primaria anual de $\sim 300 \text{ g C m}^{-2}$, la cual se ubica dentro del rango de sistemas altamente productivos (Álvarez-Borrego, 2012).

Sin embargo, la productividad primaria y la clorofila-a (i.e., indicador de la biomasa fitoplanctónica) en el GC presentan una alta variabilidad temporal y espacial (Álvarez-Borrego, 2010), pudiendo alcanzar niveles propios de sistemas oligotróficos (Figura 1). En términos temporales, los valores máximos de productividad primaria y clorofila-a superficiales ($1.66 \pm 0.26 \text{ g C m}^{-2} \text{ d}^{-1}$; $1.02 \pm 0.24 \text{ mg m}^{-3}$) ocurren en invierno, mientras que los mínimos ($1.08 \pm 0.27 \text{ g C m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, $0.57 \pm 0.19 \text{ mg m}^{-3}$) en verano (Escalante et al., 2013). Con respecto a la variación espacial, tanto la productividad como la clorofila-a presentan gradientes latitudinales con valores que incrementan de sur a norte (Mercado-Santana et al., 2017). Estos gradientes se relacionan con una mayor influencia de aguas superficiales oligotróficas del Pacífico en el sur del GC (Lavín et al., 2013; Lavín y Marinone, 2003), y con un mayor aporte de aguas profundas ricas en nutrientes hacia la capa de mezcla de la porción norte del golfo por la acción de mareas, vientos y dinámica de mesoescala (Álvarez-Borrego y Lara-Lara, 1991; Bustos-Serrano y Castro-Valdez, 2006; Ledesma-Vázquez et al., 2009). Así, la productividad primaria y la biomasa de fitoplancton en el GC presentan una marcada variabilidad que se corresponde con la sucesión de las estaciones del año y los procesos físicos que influyen en sus distintas regiones.

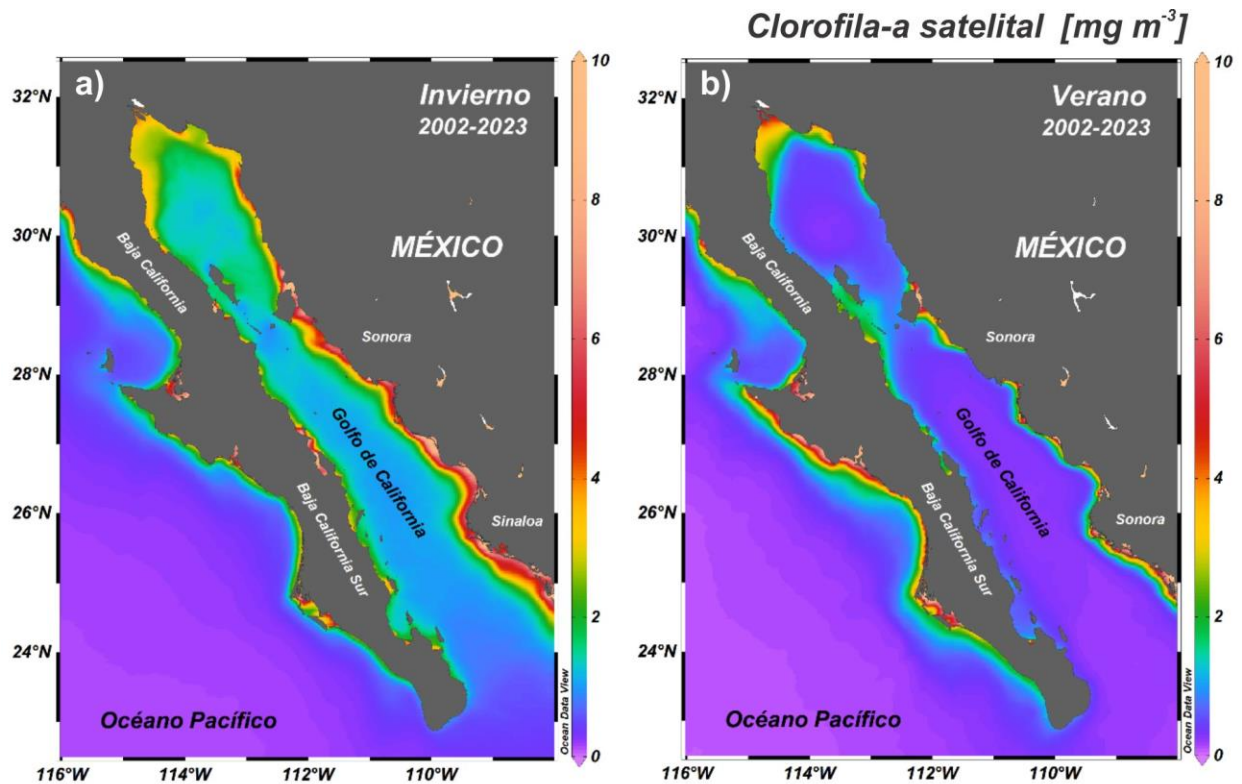


Figura 1. Climatología satelital de la clorofila-a (2002-2023) en el Golfo de California durante (a) invierno y (b) verano. Imágenes Aqua-MODIS con resolución espacial de 4 km.

Durante el verano, los forzamientos del Océano Pacífico y de los vientos del Monzón Mexicano generan un giro ciclónico superficial en las aguas ubicadas justo al norte de la Región de las Grandes Islas (Lavín et al., 1997; Palacios-Hernández et al., 2002). La circulación ciclónica bombea aguas profundas ricas en nutrientes hacia la superficie y, por ende, favorece el crecimiento del fitoplancton (McGillicuddy, 2016). No obstante, a pesar de que se han observado isopícnas abovedadas promovidas por la circulación ciclónica de verano (Lavín y Marinone, 2003), el norte del GC es pobre en nutrientes y clorofila-a, en comparación con lo que se ha reportado durante invierno en la misma región (Álvarez-Borrego y Gaxiola-Castro, 1988), así como en otras regiones biogeográficas del GC (i.e., Alto Golfo, Canal de Ballenas y Región de las Grandes Islas; Hidalgo-González y Álvarez-Borrego, 2004). En consecuencia, durante verano, la porción norteña del GC (NGC) es considerada como una de las regiones menos productivas de este sistema marginal (Mercado-Santana et al., 2017; Santamaría-del-Ángel et al., 1994). Lo que esto sugiere es que el contenido de nutrientes y/o metales del agua profunda que es traída a la superficie es bajo comparado con los requerimientos del fitoplancton o, alternativamente, que el ascenso de aguas profundas ricas en nutrientes y metales es obstaculizado por la alta estratificación de las aguas

superficiales durante verano (Torres-Delgado et al., 2013). Ambas explicaciones apuntan a que, durante el verano, el crecimiento del fitoplancton en el NGC se encuentra limitado por la baja disponibilidad de nutrientes inorgánicos y/o metales.

Existen evidencias que apuntan a que la productividad primaria en el GC está limitada por la disponibilidad de nitrógeno (Segovia-Zavala et al., 2010; Torres-Delgado et al., 2013; White et al., 2007). La escasez de nitrógeno favorece a los grupos de fitoplancton fijadores de nitrógeno molecular (N_2 ; Karl et al., 2002). De hecho, durante verano, se ha estimado que la fijación de N_2 en el GC aporta hasta el 44% de la productividad exportada (White et al., 2013). Sin embargo, ante la alta demanda de hierro que tienen los fijadores de N_2 (Kustka et al., 2002, 2003), la disponibilidad de este metal podría ser, a su vez, un factor limitante para los productores primarios en el GC. Esta posibilidad condujo al desarrollo de investigaciones enfocadas en estudiar la distribución del hierro en el GC (Segovia-Zavala et al., 2010), su aporte atmosférico y su potencial de limitación (Hakspiel-Segura et al., 2023; Muñoz-Barbosa et al., 2017, 2020). La mayoría de estos estudios han propuesto que, bajo ciertas condiciones, los productores primarios del GC pueden experimentar condiciones de limitación por hierro. No obstante, el único experimento de fertilización con hierro realizado en aguas del GC obtuvo una respuesta biológica ambigua (Hakspiel-Segura et al., 2023). Los autores de este estudio concluyeron que el nitrógeno, y no el hierro, es posiblemente el elemento que suele inhibir el crecimiento fitoplanctónico durante la temporada cálida. Aun así, hasta la fecha, ningún estudio ha probado los efectos de la adición de hierro y nitrógeno sobre la comunidad del fitoplancton del giro ciclónico al norte de la Región de las Grandes Islas (RGI) durante verano.

El propósito de este trabajo fue determinar si el nitrógeno, el hierro, o su combinación, limitan a la comunidad de fitoplancton en el NGC durante las condiciones cálidas y oligotróficas de verano. Con este fin, se realizó un experimento de adición de hierro y nitrato en muestras de agua de mar recolectadas en la estación IronMex durante septiembre de 2019.

2. ÁREA DE ESTUDIO

Debido a que el GC se originó a partir de procesos de divergencia en múltiples zonas de falla, la batimetría resultante se constituye por una serie de cuencas separadas por umbrales, las cuales se encuentran ordenadas a lo largo de un gradiente de disminución de profundidad de sur a

norte (Lonsdale, 1989; Rusnak et al., 1964). El NGC se encuentra ubicado al sur del Alto Golfo de California (AG), al norte de la Región de las Grandes Islas, y entre las costas de los estados mexicanos de Baja California y Sonora (Figura 2). La región norteña está parcialmente aislada del resto del GC por el Umbral de San Esteban (450 m de profundidad), ubicado al sur de la RGI (Bray, 1988). No obstante, la hidrografía en el NGC es influenciada por los forzamientos del Océano Pacífico, de la circulación atmosférica y de los flujos estacionales de calor (Beier y Ripa, 1999; Lavín y Marinone, 2003; Ripa, 1997). En particular, la circulación atmosférica tipo monzón es responsable de surgencias costeras: durante invierno, los vientos fuertes del noroeste provocan surgencias intensas en la costa este del GC; en contraste, durante verano, los vientos relajados del sureste generan surgencias débiles en la costa oeste del GC (Lluch-Cota, 2000). La circulación general en el NGC se caracteriza por un giro superficial ($\sim 0.35 \text{ m s}^{-1}$), cuya estructura vertical abarca toda la columna de agua, y que invierte su dirección estacionalmente: anticiclónica entre noviembre y abril, y ciclónica de junio a septiembre (Carrillo et al., 2002; Lavín et al., 1997; Lavín y Marinone, 2003; Palacios-Hernández et al., 2002).

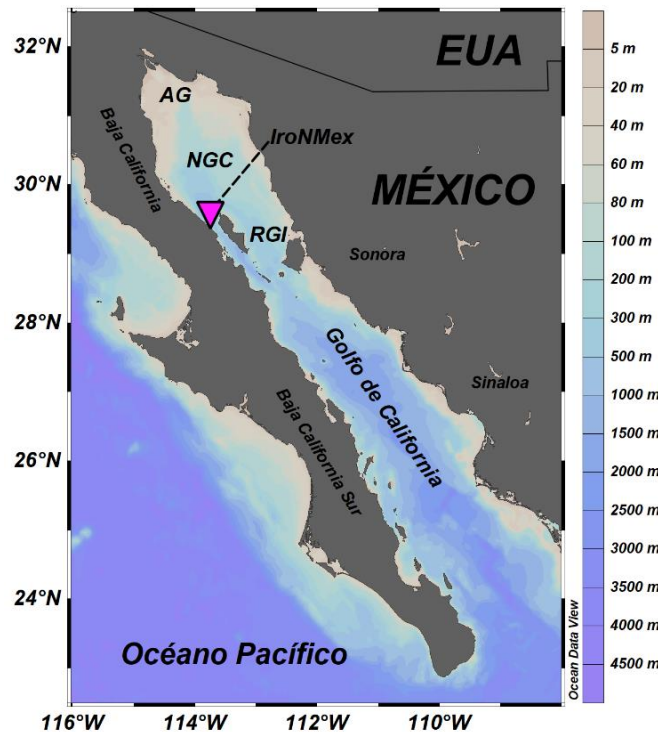


Figura 2. Área de estudio y la ubicación de la estación IroNMex (triángulo invertido rosa) en Norte del Golfo de California (NGC). La estación IroNMex se encuentra delimitada al norte por el Alto Golfo de California (AG) y al sur por la Región de las Grandes Islas (RGI). La escala de colores representa la batimetría.

La sucesión de las estaciones trae cambios marcados en la temperatura superficial del mar del NGC (10 °C durante invierno y 32 °C durante verano) y, como consecuencia, en la hidrografía de la región (Sverdrup, 1939). Las tasas de evaporación en el NGC encuentran su máximo durante verano (Castro et al., 1994; Lavín y Organista, 1988; Roden, 1958; Roden, 1964). De hecho, la evaporación en el NGC da origen al Agua del Golfo de California (AGC), que se caracteriza por sus valores altos de temperatura conservativa ($\Theta > 12^\circ \text{C}$) y salinidad absoluta ($S_A > 35.1 \text{ g kg}^{-1}$), así como por sus bajas concentraciones de nutrientes (Castro et al., 1994; Lavín et al., 1995; Portela et al., 2016; Torres-Orozco, 1993). El AGC fluye hacia afuera del NGC en los primeros ~250 m de la columna de agua, y su volumen es balanceado por el ingreso del Agua Tropical Subsuperficial (AStSs), entre 250 y 500 m (Lavín et al., 1995; Marinone, 2003; Portela et al., 2016).

En las aguas superficiales del NGC (<100 m), durante las condiciones de alta estratificación de verano, se han detectado bajos niveles de fosfato (PO_4^{3-} ; $0.7\text{--}1.0 \mu\text{mol L}^{-1}$), ácido silícico (H_2SiO_4 ; $3.2\text{--}10.2 \mu\text{mol L}^{-1}$) y nitrato más nitrito ($\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$; $0.00\text{--}0.09 \mu\text{mol L}^{-1}$) (Álvarez-Borrego et al., 1978; White et al., 2013). En comparación, durante invierno se han reportado altas concentraciones de PO_4^{3-} , NO_3^- y H_2SiO_4 ($1.5\text{--}2 \mu\text{mol L}^{-1}$, $12\text{--}16 \mu\text{mol L}^{-1}$ y $25\text{--}32 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente) (Lavín et al., 1995). Para el caso del hierro disuelto (Fe_d), en las aguas superficiales al norte de la RGI, se han reportado concentraciones en el rango de $0.2\text{--}7.2 \text{ nM}$ (Segovia-Zavala et al., 2009; Segovia-Zavala et al., 2010). Estas concentraciones suelen ser mayores a 1 nM , clasificándose como un sistema marginal aparentemente aliviado por limitación de hierro. Recientemente, se ha propuesto que las concentraciones superficiales de Fe_d en el NGC pueden mantenerse por arriba de 1 nM a lo largo de todo el año gracias a: 1) en la temporada fría, el fenómeno de surgencia alcanza sus máxima influencia y promueve el aporte de agua profunda rica en Fe hacia a la superficie (Muñoz-Barbosa et al., 2020; Segovia-Zavala et al., 2010); y 2) en la temporada cálida, el aumento del aporte atmosférico de polvos peninsulares ricos en hierro y su deposición en aguas cálidas ($>30^\circ\text{C}$), magnifica los aportes de hierro soluble hacia el GC (Félix-Bermúdez et al., 2020; Muñoz-Barbosa et al., 2017, 2020).

3. MÉTODOS

3.1 Limpieza del material

Los recipientes, mangueras y otros materiales involucrados en la recolección y procesamiento de muestras de agua de mar fueron sometidos a un exhaustivo procedimiento preliminar de limpieza (Bruland et al., 1979; Delgadillo-Hinojosa et al., 2006, 2015; Kremling et al., 1999). Específicamente, se lavaron bidones de polietileno de alta densidad (HDPE) y de policarbonato (PC), mangueras de Teflón™, botellas de PC, puntas de micropipetas, filtros de malla de polipropileno (PP) y conos de filtración de polisulfona. En un inicio, el material se lavó con jabón Micro-90® libre de fosfatos (3%) y se enjuagó sucesivamente con agua destilada (~10 MΩ cm) y agua desionizada (~18.2 MΩ cm). Posteriormente, se mantuvo sumergido durante un mes en una solución de ácido clorhídrico al 3 M (grado reactivo, J.T. Baker). Después de someterse a varios enjuagues con agua desionizada, el material se secó y ensambló dentro de una campana de flujo laminar en un laboratorio bajo condiciones Class-100. Finalmente, el material se guardó dentro de dos bolsas de plástico Ziploc™ limpias, las cuales se almacenaron dentro de cajas de plástico transparente para su posterior transporte a las instalaciones de CICESE en Bahía de los Ángeles (BDLA). Los filtros de PC (0.45 μm de tamaño de poro, 47 mm de diámetro) fueron sumergidos individualmente durante 72 h dentro de una solución de HCl Ultrex® (10%). Finalmente, los filtros fueron enjuagados con abundante agua desionizada, depositados en cajas Petri limpias y secados dentro de una campana de flujo laminar.

3.2 Experimento de fertilización

3.2.1 Selección de estación y fecha de muestreo

La estación de muestreo IroNMex (29° 33.840' N, 113° 43.770' O) se ubicó al noroeste de la Isla Ángel de la Guarda (Figura 2), dentro del diámetro de influencia del giro ciclónico oligotrófico (clorofila-a satelital <0.5 mg m⁻³) que se forma durante verano en el NGC (Figura 1b; NASA OB.DAAC, 2019). Se decidió realizar el muestreo de agua durante el mes de septiembre, ya que corresponde al periodo del año en donde se presentan las condiciones más cálidas y oligotróficas (Figura 3; NASA OB.DAAC, 2019).

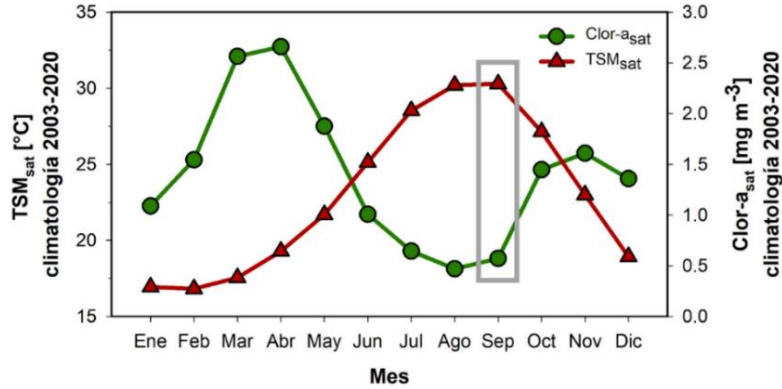


Figura 3. Climatologías mensuales (2003-2020) de temperatura superficial del mar (TSM_{sat} ; línea y triángulos rojos) y clorofila-a satelital ($Clor-a_{sat}$; línea y círculos verdes) para la estación IronMex. El mes de septiembre (recuadro gris) es adecuado para recolectar agua de mar en condiciones cálidas y oligotróficas ya que se presenta la máxima TSM_{sat} y el segundo valor más bajo de $Clor-a_{sat}$ del año.

Adicionalmente, tomando como referencia el calendario de mareas de septiembre de 2019 para BDLA (PREDMAR-CICESE, 2019), se seleccionó una fecha de recolecta de agua durante condiciones de baja dinámica física asociada a la marea (i.e., marea muerta; Figura 4). Cabe mencionar que esta estación de pronóstico de marea es la más cercana al punto IronMex. Así, dentro de un período de marea muerta (nivel medio del mar entre 1–2 m), se escogió el día 5 de septiembre de 2019 como la fecha de recolecta de agua para el experimento.

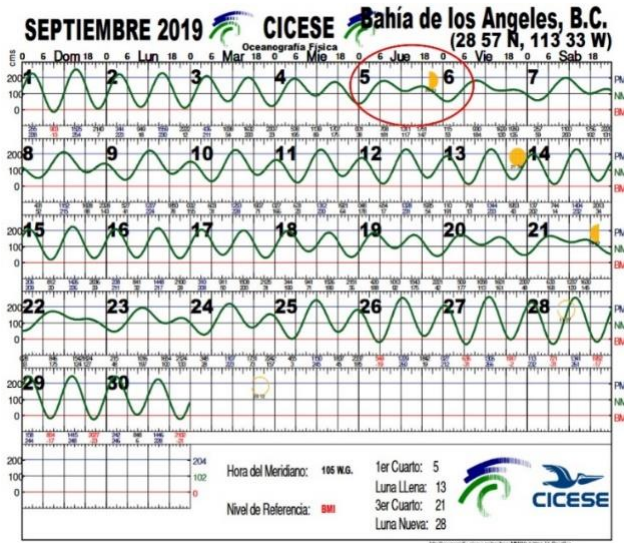


Figura 4. Calendario de mareas para BDLA durante el mes de septiembre de 2019 (PREDMAR-CICESE, 2019). El día 5 de septiembre (círculo rojo) se realizó la colecta de agua de mar bajo condiciones de marea muerta.

3.2.2 Colecta de agua de mar

El 5 de septiembre de 2019, dos embarcaciones pequeñas (~5 m de eslora) zarparon desde BDLA hacia el punto de muestreo IronMex, ubicado al norte de la Isla Ángel de la Guarda (Figura

5a). Una vez en el destino, se realizaron dos lances de CTD (Sea-Bird Scientific modelo SBE 9-11 Plus) para caracterizar las condiciones hidrográficas en los primeros 100 m de la columna de agua. Adicionalmente, con la finalidad de evaluar la distribución vertical de la radiación solar fotosintéticamente activa (PAR), se realizó un lance profundo del sensor cuántico esférico sumergible LI-COR Biosciences modelo LI-193. Un ajuste exponencial del porcentaje de PAR con respecto de la superficie (0 m), reveló que la profundidad de la zona eufótica (1 % PAR) durante el día de muestreo fue aproximadamente de 72 m (Figura 5b). La recolecta de agua de mar se realizó entre 5 y 10 m de profundidad, en una capa de agua cálida y libre de contaminación por efecto de la embarcación. La temperatura en la profundidad objetivo (5–10 m) fue de $29.80 \pm 0.01^\circ \text{C}$, mientras que los valores de PAR se encontraron en un rango de 50 a $80 \text{ E m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ (Figura 5b). Se utilizaron los rangos de temperatura y PAR en las profundidades objetivo como referencia para acondicionar el incubador de botellas en BDLA (ver sección 3.2.3 de Métodos).

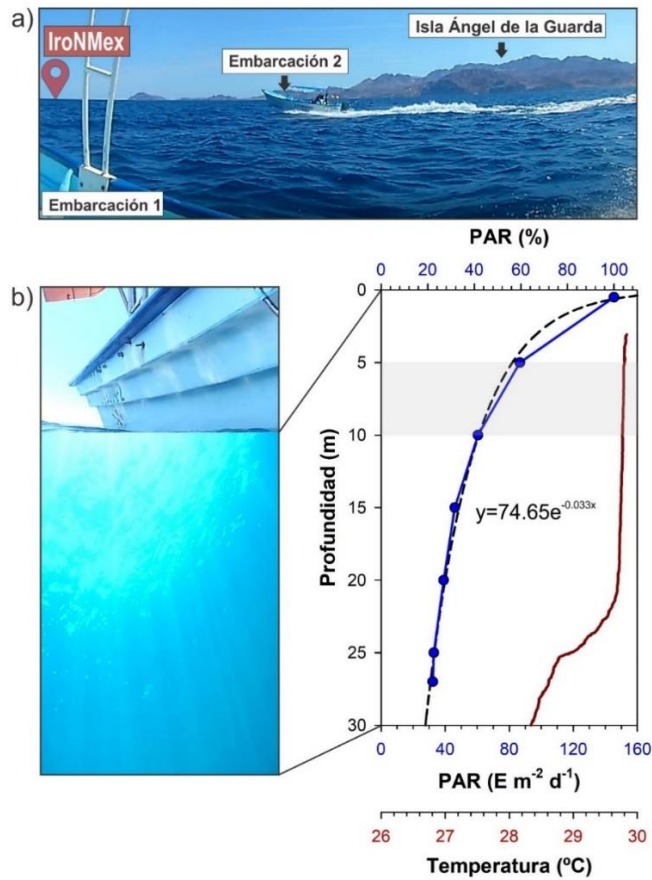


Figura 5. (a) Fotografía de embarcaciones navegando hacia el punto de muestreo IronMex ubicado al noroeste de la Isla Ángel de la Guardia. (b) Fotografía submarina y perfiles verticales de temperatura (línea roja) y porcentaje de radiación fotosintéticamente activa con respecto de la superficie (PAR; línea y círculos azules). La línea discontinua negra y ecuación en (b) corresponden al ajuste de decaimiento exponencial para los datos de PAR ($\text{E m}^{-2} \text{ d}^{-1}$). La zona sombreada en (b) representa el rango de profundidad para la colecta de agua.

Se recolectaron ~200 L de agua de mar de entre 5 y 10 m de profundidad con base en lances sucesivos de botellas Niskin-X General Oceanics de 10 L, equipadas con un resorte externo y con una recubierta de Teflón™. Las botellas Niskin-X se ataron a una cuerda blanca de nylon previamente lavada con ácido, en cuyo extremo se colocó un peso muerto de Teflón™. Para cada lance, las botellas fueron activadas con mensajeros recubiertos con Teflón™. Una vez de vuelta en la embarcación, las botellas Niskin-X se ordeñaron a través de una manguera de Teflón™ en cuyo extremo se colocó un filtro con membrana de PP de 210 µm. Este filtro se utilizó para excluir el macro-zooplankton y, como consecuencia, disminuir el efecto del pastoreo (Schuback et al., 2015). El agua recolectada se distribuyó en tres bidones de HDPE de 50 L, y dos bidones de PC de 20 L. Los bidones con el agua recolectada se llevaron a las instalaciones de CICESE en BDLA dentro de hieleras limpias, sobre una cama de hielo, y envueltos en bolsas negras de plástico para mantener condiciones de baja irradiación y temperatura estable. Todo el material se manipuló con guantes de polietileno (Figura 6).



Figura 6. Recolecta de muestras de agua de mar. El procedimiento consiste en sumergir las botellas Niskin-X abiertas a un intervalo de profundidad entre 5 y 10 m, cerrarlas por medio de mensajeros, subirlas a cubierta y ordeñarlas con ayuda de mangueras de Teflón. El agua de mar recolectada se filtra (210 µm) para excluir a los pastoreadores y se almacena en bidones de HDPE y PC sobre una cama de hielo para su transporte a tierra.

3.2.3 Instalación del cuarto limpio y el incubador de botellas

El experimento de adición de nutrientes e incubación se realizó en la casa de campo de CICESE en BDLA, ubicada a sólo 80 km de distancia de la estación de muestreo IronMex. Dentro de las instalaciones se construyó un cuarto limpio con el fin de mantener una atmósfera libre de

partículas durante la adición de nutrientes y el procesamiento de la toma de muestras. Para aislar el espacio, se utilizó una estructura de cloruro de polivinilo (PVC) de 2×2 m recubierta de plástico (Figura 7a). En una de las paredes de plástico se instaló un filtro HEPA con el fin de inyectar aire libre de partículas y mantener una presión positiva en el cuarto limpio (Figura 7b).



Figura 7. (a) Cuarto limpio construido en Bahía de los Ángeles a base de tubería de PVC y paredes de plástico. (b) Interior del cuarto limpio equipado con mesa de trabajo y campana de flujo laminar con filtro HEPA. Esta campana inyecta aire limpio al cuarto, manteniendo una presión positiva y, en consecuencia, una atmósfera libre de partículas contaminantes.

El incubador de botellas consistió en una alberca de 3,800 L de capacidad (Bestway FastSet™) llenada con agua de mar filtrada (filtración sucesiva por 50 y 10 μm). Este incubador se instaló en la terraza de las instalaciones de CICESE en BDLA, bajo condiciones naturales de luz y temperatura. Para replicar condiciones de irradiación *in situ*, el incubador se cubrió con una malla oscura de fibra de vidrio (Figura 8a–c). La PAR en el incubador se midió durante el transcurso del experimento con el sensor cuántico LI-193 acoplado a una consola de mano LI-1400 (Figura 8a). También se extrajeron datos horarios de radiación solar de longitud de onda corta sobre el continente para BDLA con resolución espacial de $0.5 \times 0.625^\circ$ del modelo MERRA-2 M2T1NXLFO v5.12.4 (GMAO, 2019a). A partir de los datos de PAR y radiación solar, se construyó una serie de tiempo (Figura 8d). En la figura se muestra que, con excepción del día 2 del experimento, todos los valores de PAR detectados por el sensor durante el zenit se encontraron en el rango que se registró en la profundidad objetivo del punto IronMex durante el muestreo ($60\text{--}90 \text{ E m}^{-2} \text{ d}^{-1}$). Otra variable que se controló en el incubador fue la temperatura del agua. Para ello, el incubador contó con un sistema de enfriamiento cerrado compuesto por un enfriador Antartica Titanium modelo DBA-075 y un termocirculador acoplado a un bucle de enfriamiento. El agua del incubador se circuló a través de tubos de Teflón™ con la ayuda de bombas sumergibles

(Figura 8a). La temperatura en el incubador se midió en intervalos de 5 minutos con un termógrafo HOBO Pendant® UA-001-64 sumergido (Figura 8a), así como con un termómetro digital. Los datos de temperatura en el incubador se presentan en una serie de tiempo acompañados por datos de MERRA-2 M2L1NXLFO v5.12.4 de temperatura del aire sobre el continente en BDLA, con la misma resolución temporal y espacial que los datos de radiación solar (GMAO, 2019b; Figura 8e). Salvo por el día 0, la temperatura del agua en el incubador se mantuvo en el rango de 27–33° C, y tuvo una media de 30.0 ± 1.0 °C, similar a las condiciones *in situ* del punto IronMex.

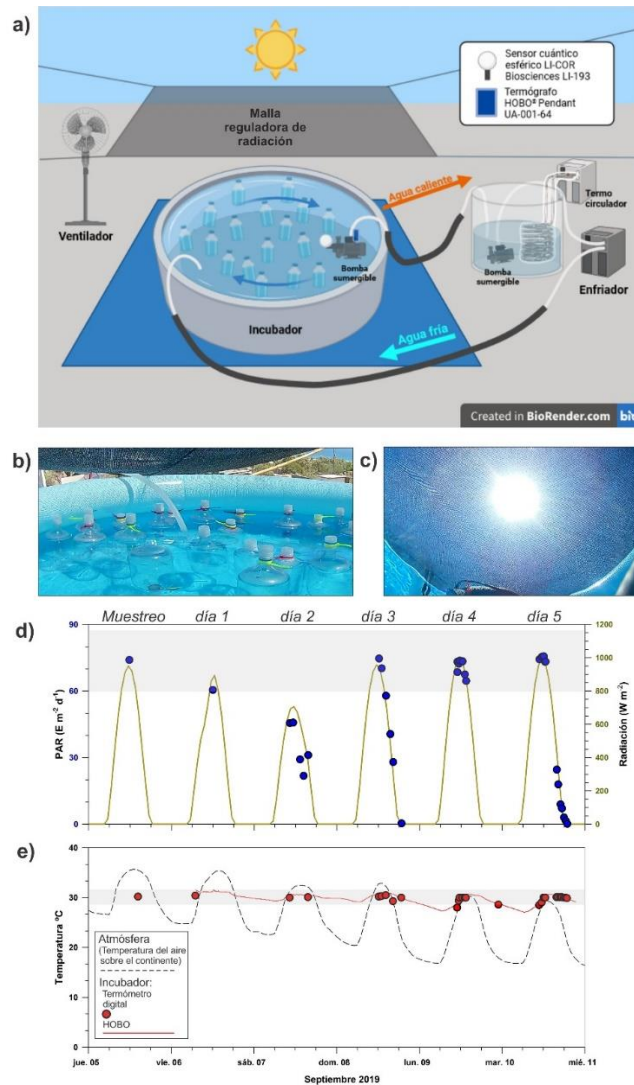


Figura 8. (a) Representación del incubador. (b) Fotografía de las botellas en el incubador. (c) Fotografía de la radiación solar bajo la malla protectora. (d) Serie de tiempo de PAR en el incubador (círculos azules) y radiación solar sobre el continente en BDLA (línea continua amarilla). (e) Serie de tiempo de temperatura del agua en el incubador (línea continua y círculos rojos) y de temperatura del aire sobre el continente (línea discontinua negra). En (a), la circulación del agua (flechas azules) se logró con el uso de un ventilador, dos bombas sumergibles, y con la disposición de los tubos de Teflón™ para la entrada de agua fría y salida de agua caliente. La malla oscura de fibra de vidrio en (a) se instaló para simular condiciones subacuáticas de radiación solar sobre el incubador, la cual se midió con un sensor cuántico esférico sumergible. Para (d) y (e), el área gris representa los valores *in situ* en la estación IronMex de PAR y temperatura, respectivamente.

3.2.4 Llenado y acondicionamiento de las botellas

El agua de mar recolectada en el punto IronMex se transportó al cuarto ultra-limpio en BDLA, donde se dividió en 42 botellas de PC (capacidad de 2.5 y 4 L) con ayuda de una bomba de vacío y mangueras de Teflón™. Cada botella se tapó con su tapa tipo rosca y se selló aplicando una capa de la película termoplástica Parafilm®. El sellado con Parafilm® incluyó el área comprendida entre la tapa y el cuello de la botella. Las botellas selladas fueron transportadas al incubador, donde permanecieron sumergidas por un periodo de aclimatación de dos horas.

3.2.5 Adición de nutrientes

Al finalizar el periodo de aclimatación, se tomaron 30 botellas del incubador y se transportaron al cuarto ultra-limpio, en donde se limpiaron con agua desionizada previo a la adición de nutrientes. Se tuvieron tres tratamientos aditivos: hierro (+Fe), nitrato (+NO₃), y mixto (+Fe+NO₃). Cada tratamiento fue asignado a 10 botellas. A las botellas +Fe se les adicionó el volumen necesario de una solución de 25.05 $\mu\text{mol kg}^{-1}$ de cloruro de hierro ($\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$; Acros Organics, grado reactivo) preparada en una matriz ácida 0.01 N HCl (grado Ultrex®), para incrementar la concentración de Fe_d en 10 nmol kg^{-1} . A cada botella +NO₃ se le adicionó el volumen necesario de una solución de 25.05 mmol kg^{-1} de nitrato de potasio (KNO₃; Sigma-Aldrich, pureza 99%), para incrementar la concentración de NO₃⁻ en 10 $\mu\text{mol kg}^{-1}$. Las botellas se taparon y sellaron con Parafilm®, se agitaron vigorosamente para homogeneizar su contenido, y se etiquetaron con cintillos de colores para distinguir el o los nutrientes adicionados. La permanencia de las botellas fuera del incubador no excedió los 10 minutos. Para los controles, se reservaron 12 botellas en el incubador.

3.2.6 Muestreo destructivo durante el experimento

Durante cinco días consecutivos se realizó un muestreo destructivo que consistió en tomar ocho botellas del incubador cada 24 h (Figura 9): dos del control y dos por cada tratamiento aditivo (+Fe, +Fe+NO₃, +NO₃). A través de este tipo de protocolo de experimentación se obtienen muestras diarias y se reduce la introducción de contaminación (e.g., Hutchins et al., 1998). El procesamiento de las muestras se realizó en el interior del cuarto ultra-limpio. Antes de ser abiertas, la superficie de las botellas se limpió exhaustivamente con agua desionizada y se agitaron para evitar el asentamiento de células del fitoplancton. Como se aprecia en la figura 9, de cada botella

se tomaron 900 mL para el análisis de metales traza disueltos, 630 mL para clorofila-a en células > 0.7 μm , 630 mL para clorofila-a en células > 5 μm , 250 mL para la abundancia relativa de los grupos fitoplanctónicos del macro y nanofitoplancton, 40 mL para la identificación de picoplancton, y 50 mL para nutrientes inorgánicos. Las submuestras correspondientes a las condiciones ambientales se obtuvieron directamente de los bidones, y las botellas del tiempo inicial (t=0) inmediatamente después de la aclimatación.

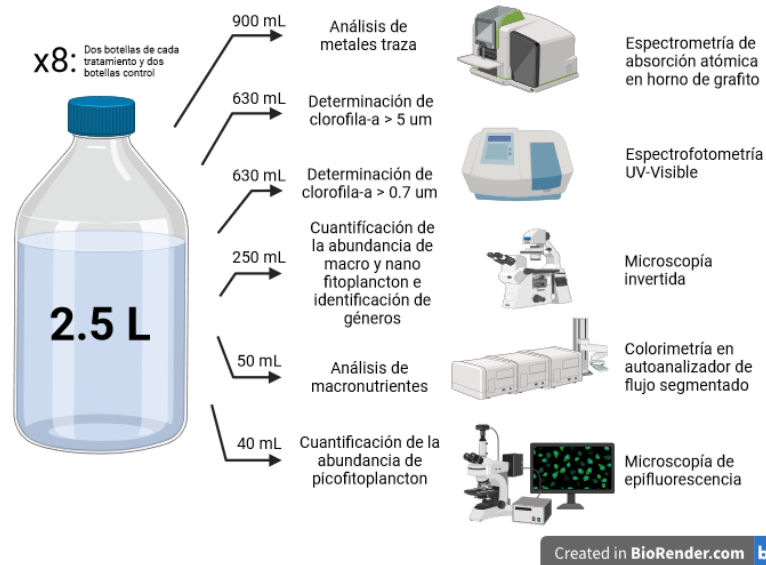


Figura 9. Representación del muestreo destructivo. Cada 24 h durante cinco días consecutivos se retiran ocho botellas del incubador (dos botellas de control, y dos botellas por cada uno de los tres tratamientos aditivos). Después de limpiar y agitar una botella, se toman las submuestras para los distintos análisis.

3.3 Análisis de variables químicas y biológicas

3.3.1 Metales traza y nutrientes inorgánicos

La submuestra de agua de mar para el análisis de metales traza fue la primera que se tomó durante el muestreo destructivo, reduciendo así el riesgo de contaminación. La manipulación de la submuestra se llevó a cabo con guantes de polietileno dentro del cuarto ultra-limpio. Para obtener la fase disuelta de las submuestras, con ayuda de una bomba de vacío se filtraron 900 mL de agua a través de filtros de PC Nucleopore™ (0.2 μm de tamaño de poro y 47 mm de diámetro) montados en un cono de filtración de polisulfona limpio. El filtrado se recolectó en una botella de LDPE de 1 L, y se acidificó a un pH \sim 2 por medio de una adición de 1 mL de HNO₃ concentrado Ultrex® (Kremling et al., 1999).

El Fe_d en las submuestras se determinó con base en un método de extracción orgánica (Bruland et al., 1979), con una retroextracción adicional (Komjarova y Blust, 2006; Félix-Bermúdez et al., 2020, 2023). Primero, se pesaron 250 g de la submuestra, los cuales se vertieron en un embudo de separación de Teflón™ de 500 mL. Se agregó acetato de amonio 1 M para amortiguar el pH de la muestra a 4.5. Después, se pre-concentró el Fe_d con la adición de 1 mL de una mezcla (razón de 1.1%) de 1-pirrolidina ditiocarbamato de amonio (APDC, pureza del 99%) y dietilditiocarbamato de dietilamonio (DDDC, pureza del 97%), seguido de una agitación vigorosa de un minuto. Luego, las muestras se sometieron a una doble extracción orgánica que consiste en la adición secuencial de 8 y 6 mL de cloroformo (grado HPLC), seguida de agitaciones de 2 minutos. Después de cada extracción, se recuperó el cloroformo en un embudo de separación de Teflón™ de 100 mL. Finalmente, se realizó una retroextracción con 3 mL de agua desionizada y 100 μ L de HNO_3 (Ultrex®) sobre el cloroformo recuperado. Las fases se separaron durante 5 minutos, y se descartó el cloroformo.

La concentración de Fe_d en el sobrenadante se determinó con espectrometría de absorción atómica con horno de grafito utilizando un equipo Agilent 280Z AA con corrección de fondo Zeeman. Como control de calidad de este método analítico, se determinó la concentración promedio de Fe_d ($6.25 \pm 0.185 \text{ nmol kg}^{-1}$, $n=4$) en materiales de referencia certificados de agua de mar costera del National Research Council Canada (NASS-7), que fue similar al valor certificado $6.16 \pm 1.97 \text{ nmol kg}^{-1}$ y representó un porcentaje de recuperación de $101.5 \pm 3.004\%$. La determinación de Fe_d en los blancos de reactivo produjo un promedio de $0.109 \pm 0.026 \text{ nmol kg}^{-1}$ ($n=8$), y el límite de detección del método fue $0.04 \text{ nmol kg}^{-1}$.

Para el análisis de la concentración de macronutrientes inorgánicos (NO_3^- , PO_4^{3-} , y H_2SiO_4) se filtraron 50 mL de agua con filtros Whatman GF/F (0.7 μ m) previamente combustionados. El filtrado se congeló a $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ en botellas de LDPE hasta su análisis colorimétrico en húmedo con un autoanalizador de flujo continuo segmentado Seal Analytical AA3-HR (Armstrong et al., 1967; Gordon et al., 1993; Lee-Sánchez et al., 2022). El límite de detección fue $0.063 \pm 0.038 \text{ } \mu\text{M}$ para el NO_3^- , $0.045 \pm 0.026 \text{ } \mu\text{M}$ para el PO_4^{3-} , y $0.079 \pm 0.025 \text{ } \mu\text{M}$ para el H_2SiO_4 . La precisión del método analítico se estimó con medidas repetidas de materiales de referencia para nutrientes inorgánicos en agua de mar producidos por Kanson Technos (RMNS), de los lotes CI ($14.53 \pm 0.051 \text{ } \mu\text{mol NO}_3^- \text{ L}^{-1}$; $0.97 \pm 0.008 \text{ } \mu\text{mol PO}_4^{3-} \text{ L}^{-1}$; $8.45 \pm 0.101 \text{ } \mu\text{mol H}_2\text{SiO}_4 \text{ L}^{-1}$) y CC ($31.75 \pm 0.246 \text{ } \mu\text{mol NO}_3^- \text{ L}^{-1}$; $2.13 \pm 0.019 \text{ } \mu\text{mol PO}_4^{3-} \text{ L}^{-1}$; $88.25 \pm 0.492 \text{ } \mu\text{mol H}_2\text{SiO}_4 \text{ L}^{-1}$). Las concentraciones

promedio obtenidas para el lote CI (CC) fueron 14.53 ± 0.0082 (31.74 ± 0.0107) $\mu\text{mol NO}_3^- \text{ L}^{-1}$ ($n=4$), 0.977 ± 0.001 (2.14 ± 0.006) $\mu\text{mol PO}_4^{3-} \text{ L}^{-1}$ ($n=4$) y 8.45 ± 0.019 (88.20 ± 0.1115) $\mu\text{mol H}_2\text{SiO}_4 \text{ L}^{-1}$ ($n=4$). Estos valores representan, respectivamente porcentajes de recuperación de 100.05% y 99.98% para el NO_3^- , 100.70% y 100.50% para el PO_4^{3-} , y 100.02% y 99.95% para el H_2SiO_4 .

3.3.2 Determinación de clorofila-a, y abundancia e identificación del fitoplancton

Además de analizar la concentración de clorofila-a total (Clor-a_{Total}: Clor-a > 0.7 μm), se determinaron los niveles de clorofila-a en diferentes fracciones de tamaño de células fitoplanctónicas: células grandes (Clor-a_{grandes}) y células chicas (Clor-a_{chicas}) de acuerdo con [Wilkerson et al. \(2000\)](#). De cada botella, se filtraron 630 mL a través de filtros Whatman GF/F (~0.7 μm de tamaño de poro y 25 mm de diámetro) para determinar la Clor-a_{Total}. Para determinar la Clor-a_{grandes} correspondiente a la fracción de células grandes (Clor-a > 5 μm), se filtraron 630 mL adicionales con filtros Nucleopore™ de PC (~5 μm de tamaño de poro y 25 mm de diámetro). La diferencia entre la Clor-a_{Total} y la Clor-a_{grandes} corresponde a la Clor-a_{chicas} (0.7–5 μm). Los filtros con muestra se almacenaron dentro de botellas de vidrio y la extracción de pigmentos se realizó mediante la adición de 10 mL de acetona al 90% a cada botella y su incubación durante 24 h dentro de un refrigerador bajo condiciones de oscuridad ([Venrick y Hayward, 1984](#)). La concentración de clorofila-a se determinó por espectrofotometría UV-Visible en un espectrofotómetro Varian Cary® 50 ([Jeffrey y Humphrey, 1975](#)).

Las submuestras para la identificación y cuantificación de células de micro y nano fitoplancton se almacenaron en botellas oscuras de 250 mL y se fijaron con una solución acidificada de Lugol (4%). Posteriormente, la identificación y cuantificación de células se llevó a cabo por microscopía invertida ([Hasle, 1978](#); [Utermöhl, 1958](#)). Por otra parte, las muestras para la cuantificación de picofitoplancton se fijaron con una solución amortiguada de formalina (1%) y se refrigeraron en la oscuridad. Previo a su conteo por microscopía de epifluorescencia ([MacIsaac y Stockner, 1993](#)), se obtuvo la fracción de tamaño del picofitoplanton utilizando filtros de PC con tamaño de poro de 0.2 μm .

3.4 Procesamiento de datos

3.4.1 Variables satelitales

En el desarrollo de este trabajo se utilizaron diversas bases de datos satelitales. Se descargaron datos satelitales de TSM_{sat} y de Clor-_asat mapeados de la misión de la NASA Aqua-MODIS con resolución de 4 km (<https://oceancolor.gsfc.nasa.gov/products/>) extraídos para el GC (NASA OB.DAAC, 2019; 2023). Los datos extraídos de Aqua-MODIS incluyeron climatologías estacionales y mensuales entre 2002 y 2023, así como imágenes diarias para el día del muestreo (5 de septiembre de 2019). Adicionalmente, se obtuvieron climatologías semanales de productividad primaria neta satelital (<http://sites.science.oregonstate.edu/ocean.productivity/>) con resolución de 4 km calculadas con el modelo CbPM-2 (Westberry et al. 2008).

Se utilizaron los programas de cómputo OceanDataView 5.6.5 (Schlitzer, 2023; <https://odv.awi.de>) y SeaDAS 7.5.3 (NASA OB.PG, 2019; <https://seadas.gsfc.nasa.gov/>) para procesar los archivos satelitales y elaborar imágenes superficiales. Finalmente, con el fin de evaluar si las condiciones en el incubador fueron similares a las que se observaron *in situ* en la estación IronMex (Figuras 8d–e), se tomaron datos horarios de temperatura del aire sobre el continente y radiación solar del modelo MERRA-2 para el periodo comprendido entre septiembre 5 y 11 de 2019 (GMAO, 2019a, 2019b; <https://disc.gsfc.nasa.gov>).

3.4.2 Hidrografía y parámetro de estratificación

Los datos de temperatura y salinidad del CTD fueron convertidos a temperatura conservativa (Θ) y salinidad absoluta (S_A) mediante el software Ocean Data View (Schlitzer, 2023; <https://odv.awi.de>), con la herramienta de conversión basada en “Thermodynamic Equation Of Seawater – 2010” (TEOS-10). Con el objetivo de identificar las masas de agua presentes durante la colecta de agua se elaboró un diagrama T-S, tomando como referencia los rangos de Θ y S_A reportados por Portela et al. (2016) para las distintas masas de agua del golfo. Adicionalmente, como referencia, se incluyeron perfiles de Θ y S_A reportados por el World Ocean Atlas (WOA; 2018) para el GC durante el mes de septiembre.

Para analizar la intensidad de mezcla de la columna de agua, se calculó el parámetro de estratificación (ϕ) con base en la ecuación de Simpson y Bowers (1981):

$$\phi = \frac{1}{h} \int_0^h (\rho - \bar{\rho}) g z \, dz ,$$

donde ϕ es la energía [J m^{-3}] necesaria para mezclar la columna de agua (e.g., $\phi = 0 \text{ J m}^{-3}$ para una columna de agua totalmente mezclada y $\phi > 0$ para incrementos en el grado de estratificación), h es la profundidad máxima de integración [m], g representa la aceleración gravitatoria [m s^{-2}], ρ es la densidad del agua de mar determinada en cada punto de profundidad [kg m^{-3}], $\bar{\rho}$ es la densidad promedio en la columna de agua [kg m^{-3}], z es la coordenada vertical [m], y dz es el incremento de la profundidad entre cada punto. En este trabajo se seleccionó $h = 100$, ya que el desarrollo del fitoplancton está vinculado con la disponibilidad de luz y nutrientes en esta capa.

3.4.3 Análisis estadístico

Los resultados del experimento de adición de nutrientes se validaron estadísticamente utilizando una suma de rangos de Mann-Whitney debido a las características no-paramétricas de los datos.

4. RESULTADOS

4.1 Condiciones ambientales

4.1.1 Imágenes satelitales

La estación IroNMex se ubica en el extremo sur del NGC, una región en donde cada verano las aguas superficiales se caracterizan por ser cálidas ($\text{TSM}_{\text{sat}} \geq 30^\circ \text{C}$) y oligotróficas ($\text{Clor-}a_{\text{sat}} \leq 0.5 \text{ mg m}^{-3}$; [Figura 3](#)). El día del muestreo (5 de septiembre de 2019), las altas temperaturas no fueron exclusivas del NGC, detectándose en la mayoría de las regiones del golfo excepto en el Canal de Ballenas y la costa peninsular del sur del GC ([Figura 10^a](#)). Por su parte, la $\text{Clor-}a_{\text{sat}}$ tuvo una distribución más compleja ([Figura 10^b](#)): si bien se registraron concentraciones inferiores a 0.5 mg m^{-3} en el NGC (estación IroNMex incluida) y en la extensa región sureña del golfo, se observaron focos de alta concentración de $\text{Clor-}a_{\text{sat}} (\geq 3 \text{ mg m}^{-3})$ en el AG y la RGI.

Al igual que fue reportado para las concentraciones de clorofila-a, las tasas de productividad primaria neta (PPN_{sat}) estimadas por el modelo CbPM durante verano confirmaron la presencia simultánea tanto de aguas altamente productivas como oligotróficas en distintas regiones del GC. Durante la semana en que se realizó el muestreo ([Figura 11^a](#)), así como en la semana posterior ([Figura 11^b](#)), los valores de PPN_{sat} en la estación IroNMex y en el centro del giro

superficial del NGC se mantuvieron por debajo de $1000 \text{ mg C m}^{-2} \text{ d}^{-1}$. Este desierto en términos de su baja productividad primaria estuvo rodeado por aguas productivas al sur y norte, con PPN_{sat} superiores a $2000 \text{ mg C m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ en la RGI, y a $3000 \text{ mg C m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ en el AGC (Figura 11). Finalmente, al sur de la RGI se observaron los valores de $\text{PPN}_{\text{sat}} (\leq 500 \text{ mg C m}^{-2} \text{ d}^{-1})$ más bajos de todo el GC. Cabe mencionar que la PPN_{sat} no tiene una relación directa con la producción nueva, la cual se encuentra fundamentada en aportes externos de nutrientes (Cullen, 1991). En consecuencia, la magnitud de los valores de PPN_{sat} indican que el agua de mar superficial en la estación IronMex es parte de un sistema caracterizado por bajas tasas de productividad, independientemente de si son soportadas por reciclaje interno o nuevos aportes de nutrientes.

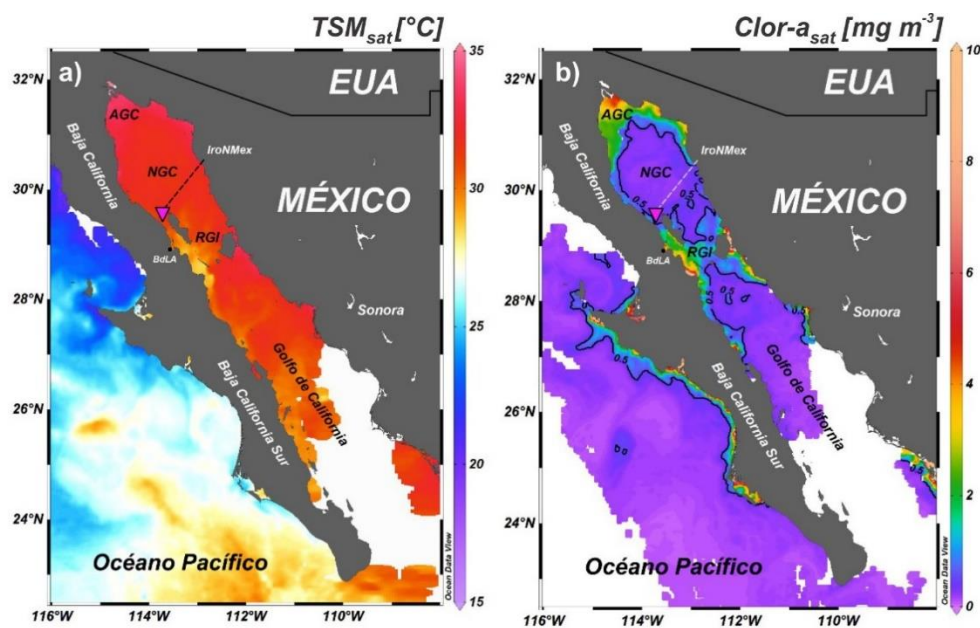


Figura 10. (a) Temperatura superficial del mar (TSM_{sat}) y (b) clorofila-a ($Clor-a_{\text{sat}}$) en el Golfo de California detectadas por satélite el 5 de septiembre de 2019. Imágenes Aqua-MODIS con resolución espacial de 4 km. En la figura se señalan: estación IronMex (triángulo invertido rosa), Bahía de los Ángeles (BdLA), Alto Golfo de California (AGC), Norte del Golfo de California (NGC), Región de las Grandes Islas (RGI), y los estados mexicanos que bordean el GC (Baja California, Baja California Sur y Sonora).

La simultaneidad de condiciones de alta y baja productividad en las aguas del GC durante verano es el reflejo de importantes contrastes espaciales de la disponibilidad de nutrientes entre las distintas regiones del golfo, así como de la presencia o ausencia de mecanismos físicos para su reabastecimiento. En el caso del desierto oligotrófico localizado al norte del GC, es evidente que las tasas de consumo biológico de nutrientes superan a las de sus aportes hacia la zona eufótica. Así, la estación IronMex presentó las condiciones cálidas (29.56° C) y oligotróficas ($0.31 \text{ mg Clor-}a_{\text{sat}} \text{ m}^{-3}$ y $945.84 \pm 378.36 \text{ mg C m}^{-2} \text{ d}^{-1}$) ideales para comprobar experimentalmente si el Fe,

el N o su combinación, limitan a la comunidad de fitoplancton que habita uno de los grandes desiertos oceánicos que se forman en el GC durante el verano.

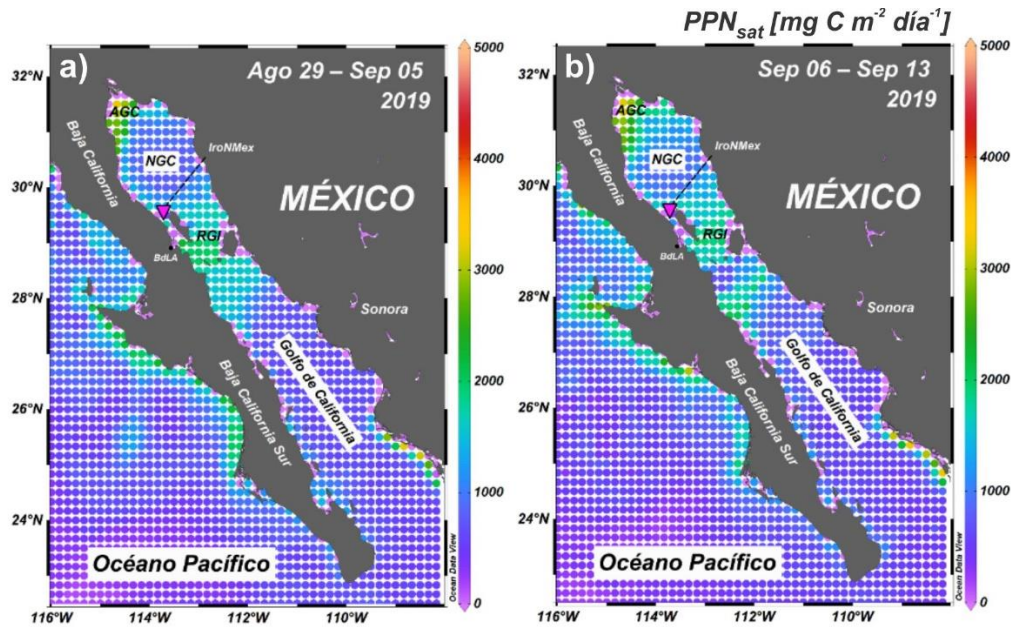


Figura 11. Tasas promedio de productividad primaria neta (PPN_{sat}) en el Golfo de California para 8 días: (a) periodo que incluye el día del muestreo (5 de septiembre del 2019) y (b) periodo después del muestreo. Las tasas de PPN fueron estimadas por el modelo CbPM basado en producción de carbono. En la figura se señalan: sitio IronMex (triángulo invertido rosa), Alto Golfo de California (AGC), Norte del Golfo de California (NGC), Región de las Grandes Islas (RGI), y los estados mexicanos que bordean el GC: Baja California, Baja California Sur y Sonora.

Una pregunta que surge es qué tan representativos son los valores de TSM_{sat} , $Clor-a_{sat}$ y PPN_{sat} detectados en la estación IronMex durante septiembre de 2019 de los valores “típicos” para este mes en el NGC. Para responder a esta pregunta, se calcularon las anomalías de temperatura, $Clor-a_{sat}$ y PPN (ΔTSM_{sat} , $\Delta Clor-a_{sat}$ y ΔPPN_{sat} , respectivamente) del año 2019 con respecto a promedios mensuales (i.e., climatologías) del periodo 2003–2020. Con relación a la climatología mensual del periodo analizado, las aguas en la estación IronMex presentaron temperaturas superficiales más frías, concentraciones menores de $Clor-a_{sat}$ y tasas más bajas de PPN_{sat} (no mostrada) durante la mayoría de los meses de 2019 (Figura 12). Sin embargo, las anomalías ($\Delta TSM_{sat} = -0.075^\circ C$; $\Delta Clor-a_{sat} = -0.175 \text{ mg m}^{-3}$) calculadas para el mes de septiembre de 2019 estuvieron muy próximas a condiciones neutras (i.e., anomalía = 0). Estos resultados sugieren que la fecha de colecta de agua para el experimento fue representativa de las condiciones de temperatura y clorofila-a típicamente encontradas durante el mes de septiembre en el NGC, ampliando la relevancia de los resultados presentados en esta tesis.

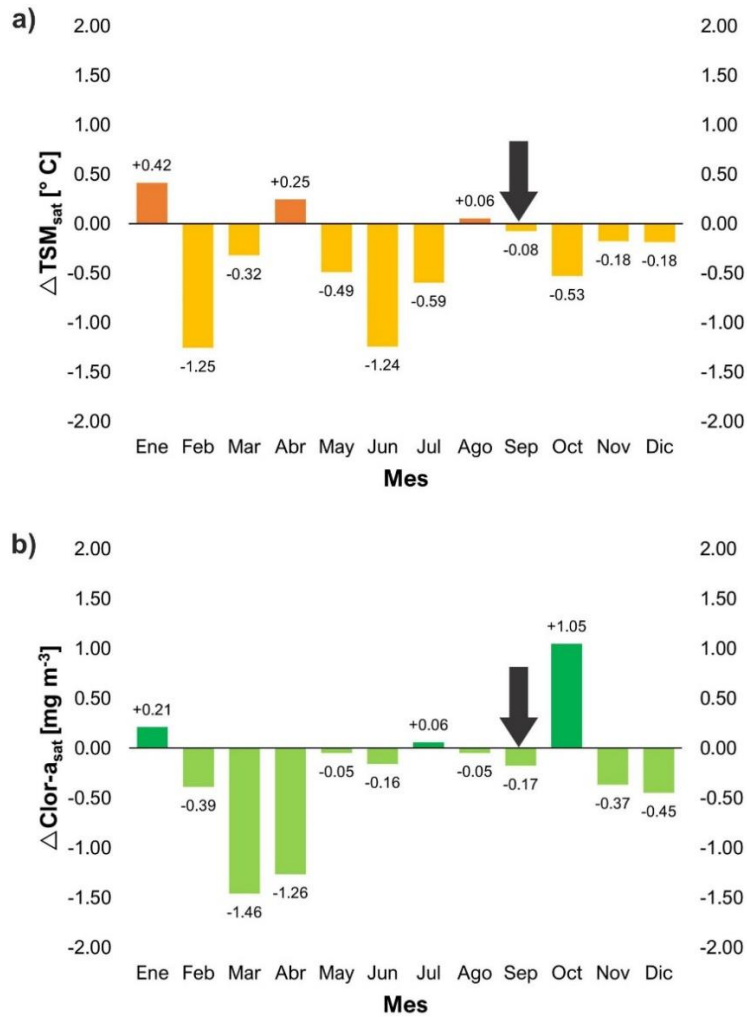


Figura 12. (a) Anomalías de temperatura superficial del mar satelital (ΔTSM_{sat}) y (b) clorofila-a satelital ($\Delta Clor-a_{sat}$) en la estación IronMex para el año 2019. Las anomalías se calcularon como la diferencia entre las climatologías mensuales de TSM_{sat} (y $Clor-a_{sat}$) en el período de 2003 a 2020 y las climatologías mensuales de TSM_{sat} (y $Clor-a_{sat}$) de 2019. Las flechas negras señalan las anomalías de septiembre de 2019, mes en el cual se realizó la colecta de agua. Las anomalías cercanas a los valores típicos ($\Delta TSM_{sat} = 0$; $\Delta Clor-a_{sat} = 0$) indican que el agua recolectada es representativa de las condiciones oligotróficas que suelen presentarse en los desiertos que se forman en el NGC durante el verano.

4.1.2 Perfil de PAR y determinación de la zona eufótica

El día de la colecta de agua de mar (5 de septiembre de 2019), los lanzamientos del sensor cuántico (Figura 13) y del disco de Secchi revelaron una zona eufótica profunda en la estación IronMex. Justo bajo la superficie en el punto de muestreo, el sensor cuántico detectó una radiación fotosintéticamente activa (PAR) de $\sim 146 \text{ E m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ favorecida por un cielo totalmente despejado y un mar en calma. En la profundidad de colecta de agua (entre 5 y 10 m) se observó un rango de PAR de $60\text{--}90 \text{ E m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, correspondiente al 40–60% de la PAR en superficie (Figura 13). A partir de un ajuste exponencial para el perfil de PAR, se calculó una profundidad de $\sim 75 \text{ m}$ para la zona

eufótica. Con el disco de Secchi (visible hasta los 21.5 m), se calculó una profundidad de la zona eufótica similar (~60 m). Toda esta evidencia apunta a una penetración profunda de la luz a través de una columna de agua oligotrófica que fue muestreada para el experimento de adición de nutrientes.

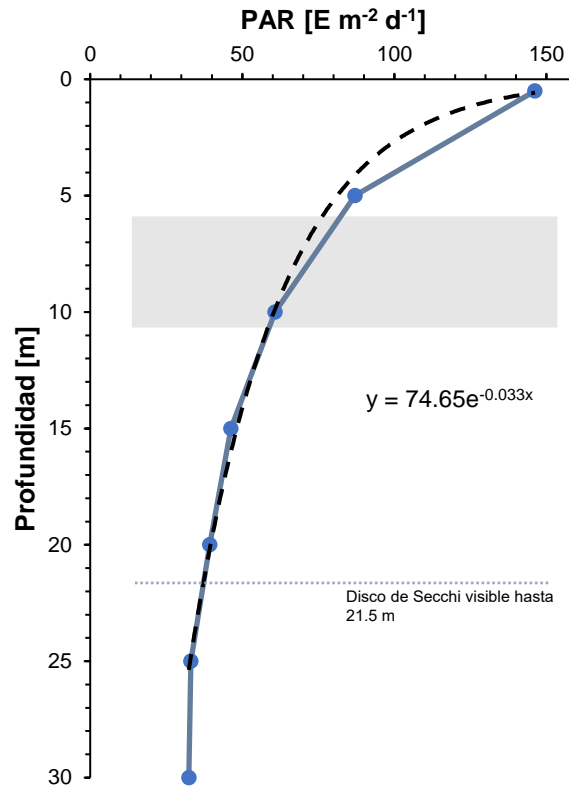


Figura 13. Perfiles verticales de radiación fotosintéticamente activa (PAR) durante la colecta de agua de mar en el punto de muestreo IronMex el 5 de septiembre de 2019. La línea segmentada negra es un ajuste exponencial aplicado al perfil de PAR para el cual se incluye la ecuación. La barra gris señala la profundidad de colecta de agua de mar (5–10 m). La línea punteada gris indica la profundidad hasta la cual fue visible el disco de Secchi.

4.1.3 Hidrografía de la columna de agua

Los perfiles de temperatura conservativa (Θ) y salinidad absoluta (S_A) tomados con el CTD revelaron la presencia de una masa de agua cálida (18.5–29.8° C) y salada (35.24–35.84 g kg⁻¹) en los primeros 100 m de profundidad del sitio de muestreo IronMex durante la colecta de agua para los experimentos (Figura 14). Los valores máximos de Θ y S_A fueron constantes desde la superficie hasta ~22 m de profundidad, a partir de donde se presentaron haloclina y termoclina pronunciadas. La profundidad de la capa de mezcla fue calculada a partir de una diferencia de densidad potencial (≥ 0.125 kg m⁻³) con respecto de la superficie, y se determinó que se encontraba a ~20 m. Bajo los

24 m de profundidad los perfiles de Θ y S_A describen una tendencia de decremento continua. La gran diferencia de Θ entre la superficie y los 100 m de profundidad ($\Delta\Theta = 11.3^\circ\text{C}$), sugiere una columna de agua altamente estratificada.

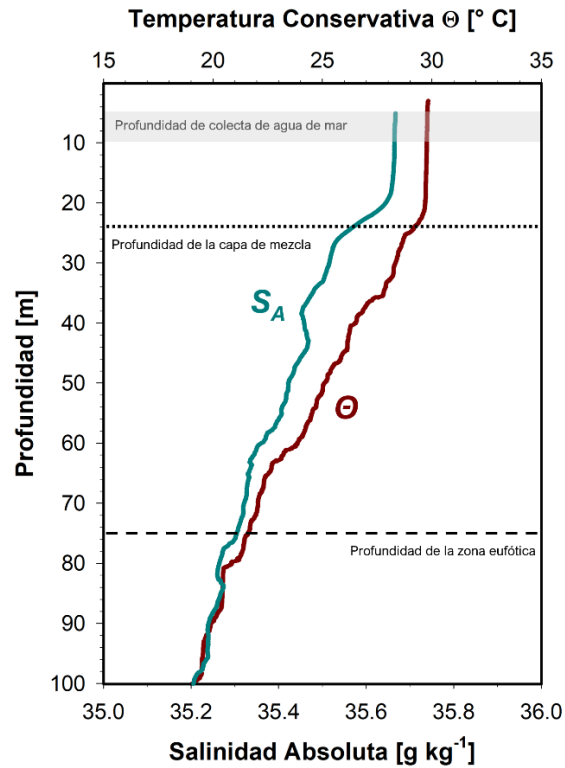


Figura 14. Perfiles verticales de temperatura conservativa (Θ) y salinidad absoluta (S_A) hasta 100 m de profundidad tomados por el CTD el 5 de septiembre de 2019 en la estación IronMex. Se señalan las profundidades de la colecta de agua de mar (5–10 m), de la capa de mezcla (0–24 m) y la de zona eufótica (0–72 m).

La totalidad de los datos de Θ y S_A recuperados por el CTD pertenecen a los rangos del AGC ($\Theta > 12^\circ\text{C}$; $S_A > 35.1\text{ g kg}^{-1}$) de acuerdo con [Portela et al. 2016](#), como se muestra en el diagrama T-S de la [figura 15](#). Cabe mencionar que estos datos caen dentro de lo que se ha reportado en el GC durante el mes de septiembre de acuerdo con perfiles históricos de Θ y S_A del [WOA \(2018\)](#).

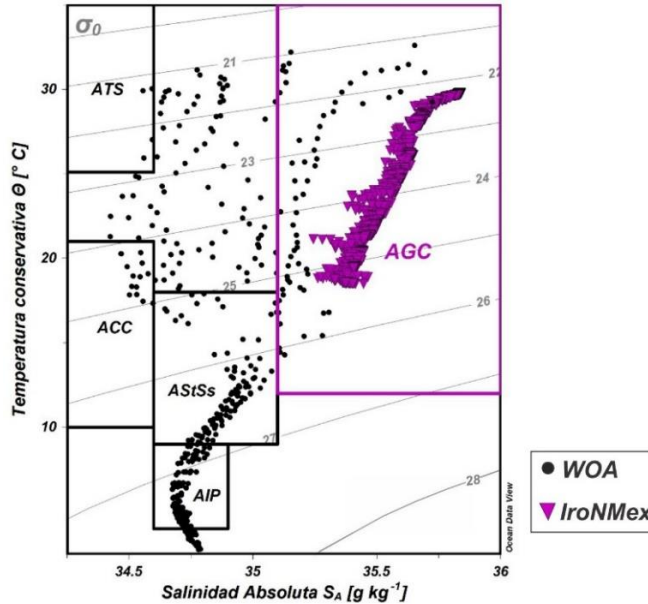


Figura 15. Diagrama de temperatura conservativa (Θ) y salinidad absoluta (S_A) para datos de CTD registrados el 5 de septiembre de 2019 en la estación IroNMex (triángulos invertidos rosas), y datos reportados para el mes de septiembre por el *World Ocean Atlas* (2018) en el Golfo de California (círculos negros). Los recuadros negros indican los rangos de Θ y S_A para las distintas masas de agua presentes en el Golfo de California de acuerdo con *Portela et al. (2016)*: Agua del Golfo de California (AGC), Agua Tropical Superficial (ATS), Agua de la Corriente de California (ACC), Agua Subtropical Subsuperficial (AStSs) y Agua Intermedia del Pacífico (AIP). Se grafican también isopícnas para la anomalía de densidad potencial (σ_0) referida a la presión a 0 m de profundidad (0 dbar).

Con el objetivo de evaluar la estabilidad de la columna de agua entre los 0 y 100 m de profundidad, se calculó el parámetro de estratificación (Φ). Este parámetro representa la energía necesaria para mezclar la columna de agua en un rango de profundidad determinado (*Simpson y Bowers, 1981*). El valor de Φ obtenido indicó que era necesario un evento de energía igual o superior a 288.46 J m^{-3} para desestabilizar la columna de agua en la estación IroNMex durante el período de colecta de agua. En otras palabras, el agua que se utilizó en los experimentos de adición de nutrientes se recolectó en la sección superficial de una columna de agua altamente estratificada y estable. Lo anterior apunta a que el agua de mar recolectada sea pobre en biomasa de fitoplancton y concentración de nutrientes.

4.1.4 Variables biológicas y nutrientes

El sensor de fluorescencia del CTD detectó bajas concentraciones de clorofila-a ($\text{Clor-}a_f$) a lo largo de su recorrido en la columna de agua (*Figura 16*). En la zona eufótica, se registró un rango de $\text{Clor-}a_f$ de $0.2\text{--}3.3 \text{ mg m}^{-3}$. Los valores más bajos ($\text{Clor-}a_f < 0.5 \text{ mg m}^{-3}$) se encontraron en los primeros 20 m de profundidad, dentro de la capa de mezcla (*Figura 16*). Cabe mencionar que no existieron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los niveles de $\text{Clor-}a_f$ promedio

calculados en los primeros 20 m de profundidad ($0.40 \pm 0.14 \text{ mg m}^{-3}$) comparados con los valores de $\text{Clor-}a_{\text{sat}}$ detectados por satélite (0.40 mg m^{-3}). Por debajo de 20 m de profundidad, justo después de la capa de mezcla, los niveles de $\text{Clor-}a_{\text{f}}$ comenzaron a incrementar gradualmente hasta alcanzar un máximo a los 36 m de profundidad (3.3 mg m^{-3}). No obstante, el agua de mar recolectada para el experimento de adición de nutrientes se encontró fuera de este máximo profundo de $\text{Clor-}a_{\text{f}}$.

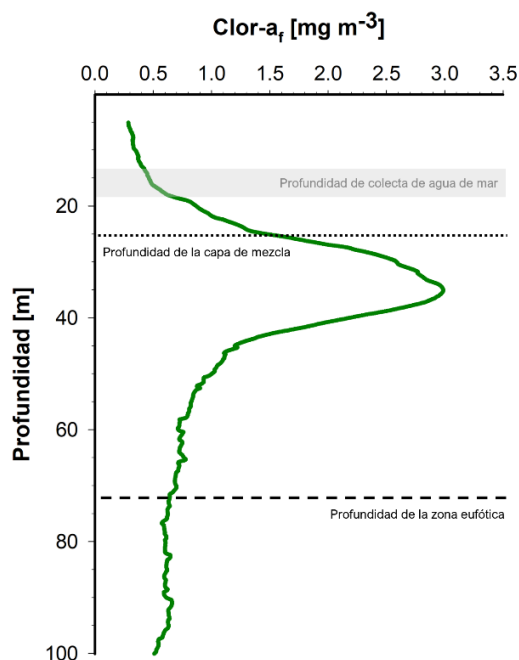


Figura 16. Perfil vertical de clorofila-a ($\text{Clor-}a_{\text{f}}$) hasta 100 m de profundidad tomados por el CTD el 5 de septiembre de 2019 en la estación IroNMex. Se señalan las profundidades de la colecta de agua de mar (5–10 m), de la capa de mezcla (0–24 m) y la de zona eufótica (0–72 m).

De manera consistente con los datos de fluorescencia reportados por el CTD, la concentración de clorofila-a total ($\text{Clor-}a_{\text{total}}$) medida en muestras de agua de mar recolectadas entre 5 y 10 m de profundidad fue de $0.32 \pm 0.02 \text{ mg m}^{-3}$. El 69% ($0.22 \pm 0.01 \text{ mg m}^{-3}$) de la $\text{Clor-}a_{\text{total}}$ medida en las botellas perteneció a células o partículas grandes ($>5 \mu\text{m}$; $\text{Clor-}a_{\text{grandes}}$). La fracción restante (31% de la $\text{Clor-}a_{\text{total}}$; $0.10 \pm 0.03 \text{ mg m}^{-3}$), correspondió a la clorofila-a en células o partículas pequeñas ($0.7\text{--}5 \mu\text{m}$; $\text{Clor-}a_{\text{chicas}}$). Por lo tanto, la biomasa de fitoplancton en el agua recolectada de la estación IroNMex se encontraba dominada por grupos de tallas más grandes, a pesar de las bajas concentraciones de $\text{Clor-}a_{\text{total}}$.

En términos de abundancia celular de las clases de tamaño grandes (micro y nano fitoplancton), se cuantificaron apenas 10 mil células L^{-1} en la muestra de agua recolectada para el experimento de adición de nutrientes. Esta comunidad consistió en una mezcla de diatomeas y

dinoflagelados, en la cual los géneros más representados fueron *Nitzschia* sp. (diatomea), *Heterocapsa* sp. (dinoflagelado) y *Chaetoceros* sp. (diatomea), en orden descendente de abundancia absoluta. En comparación, se calculó un promedio de 6 ± 1 millones células L^{-1} de la clase de tamaños del picofitoplancton.

Las bajas concentraciones de clorofila-a que se encontraron en los primeros 20 m de la estación IroNMex apuntan a una posible escasez de nutrientes en la región. Esto fue confirmado a partir del análisis de agua de mar recolectada en la estación IroNMex entre 5 y 10 m de profundidad, en el cual se encontraron niveles de macronutrientes extremadamente bajos: 50.0 ± 0.02 nmol kg^{-1} de NO_3^- y 0.86 ± 0.01 μ mol kg^{-1} de PO_4^{3-} . En el caso del H_2SiO_4 y el Fe_d , las concentraciones (7.7 ± 0.36 μ mol kg^{-1} y 1.2 ± 0.16 nmol kg^{-1} , respectivamente) fueron intermedias.

En resumen, las condiciones ambientales durante el 5 de septiembre de 2019 en la estación de muestreo IroNMex, sugieren que el agua de mar con la cual se realizaron los experimentos de adición de nutrientes es inequívocamente una muestra de un sistema oligotrófico pobre en nutrientes y metales bioesenciales, y bajo en biomasa y abundancia de fitoplancton.

4.2 Experimento de adición de nutrientes

4.2.1 Condiciones iniciales: después de la aclimatación en incubador

Después transportar el agua de mar recolectada de la estación IroNMex a los laboratorios de BDLA, y de la aclimatación de las botellas en el incubador, se tomaron muestras para medir los niveles de nutrientes, clorofila-a y fitoplancton después de la aclimatación (Tabla I). En general, las concentraciones de nutrientes y de Fe_d fueron similares a los valores ambientales, con excepción del NO_3^- , cuya extremadamente baja concentración *in situ* en la estación IroNMex (50.1 nmol kg^{-1}) se redujo aún más (15.5 nmol kg^{-1}) hacia el comienzo del experimento. En cuanto a la $Clor-a_{total}$, la concentración inicial (0.22 mg m^{-3}) fue similar a la que fue observada *in situ* (0.32 mg m^{-3}), y se mantuvo en el rango de baja clorofila-a (<0.5 mg m^{-3}). Sin embargo, se observó un aumento (decremento) de 15% en el porcentaje de $Clor-a_{total}$ representado por $Clor-a_{grandes}$ ($Clor-a_{chicas}$). Los géneros más abundantes *in situ* también fueron los más representados después de la incubación, con la adición de *Bacteriastrium* sp. (diatomea).

Por lo tanto, se considera que el procedimiento para transportar, separar y acondicionar las muestras no alteró significativamente las condiciones ambientales observadas en el punto de

muestreo, y preservó en estas el carácter oligotrófico que se buscaba para realizar el experimento de adición de nutrientes.

Tabla I. Resumen de las condiciones ambientales (estación IronMex) e iniciales (después de la aclimatación en incubador de Bahía de los Ángeles) del experimento de adición de nutrientes

| | <i>Condiciones in situ</i> | <i>Condiciones iniciales</i> |
|--|----------------------------|------------------------------|
| Temperatura [$^{\circ}$ C] | 29.9 | 30.9 |
| Irradiancia fotosintéticamente activa [$E\ m^{-2}\ d^{-1}$] | 60–90 | 75 |
| Parámetro de estratificación [$J\ m^{-3}$] | 288 | – |
| Profundidad de capa de mezcla [m] | 20 | – |
| Fe_d [$nmol\ kg^{-1}$] | 1.17 | 1.35 |
| $NO_3^- + NO_2^-$ [$nmol\ kg^{-1}$] | 50.1 | 15.6 |
| PO_4^{3-} [$\mu mol\ kg^{-1}$] | 0.85 | 0.84 |
| H_2SiO_4 [$\mu mol\ kg^{-1}$] | 7.63 | 7.32 |
| ^a Clor- a_{total} [$mg\ m^{-3}$] | 0.32 | 0.22 |
| ^b Clor- $a_{grandes}$ [$mg\ m^{-3}$] | 0.22 | 0.19 |
| ^c Clor- a_{chicas} [$mg\ m^{-3}$] | 0.10 | 0.03 |
| Abundancia de nano y microfitoplancton [$10^4\ células\ L^{-1}$] | 1 | 31 |
| Abundancia de picofitoplancton [$10^6\ células\ L^{-1}$] | 6 | 7 |

$${}^a\text{Clor-}a_{total} = \text{Clor-}a \text{ de células } > 0.7\ \mu\text{m};\ {}^b\text{Clor-}a_{grandes} = \text{Clor-}a \text{ de células } > 5\ \mu\text{m};\ \text{y}$$

$$\text{Clor-}a_{chicass} = \text{Clor-}a_{total} - \text{Clor-}a_{grandes}.$$

4.2.2 Efecto de la adición de nutrientes sobre las variables químicas

En las botellas control, las concentraciones de hierro y macronutrientes tuvieron una evolución distinta con el paso de las horas de incubación. En el caso del Fe_d , se observó una tendencia de decremento promedio de 12% (Figura 17a). En particular, la tendencia de decremento fue más intensa durante las primeras 48 h de incubación (>40%). Por otra parte, el NO_3^- se mantuvo extremadamente bajo (<0.1 $\mu mol\ kg^{-1}$) durante todo el experimento (Figura 17b). No obstante, la concentración de este macronutriente aumentó ligeramente a partir de las 72 h, pasando de 7.4 $nmol\ kg^{-1}$ a una concentración final de $71 \pm 8.1\ nmol\ kg^{-1}$. El PO_4^{3-} (Figura 17c) y el H_2SiO_4 (Figura 17d), tuvieron tasas de decremento promedio relativamente bajas y constantes (2% y 3%, respectivamente) en comparación con la del Fe_d . Así, en las botellas control, los niveles de Fe_d , PO_4^{3-} y H_2SiO_4 disminuyeron con el tiempo, mientras que el NO_3^- aumentó ligeramente.

En el tratamiento +Fe, el método de análisis detectó un máximo de $11.3 \pm 0.122\ nmol\ Fe_d\ kg^{-1}$ a partir de la adición de la solución de $FeCl_3$ (Figura 17e). Esta concentración máxima disminuyó con el tiempo, con una tasa del 76% en las primeras 24 h de incubación, y después con una tasa promedio de 15% entre las 24 h y el final del experimento. En este mismo tratamiento, la concentración de NO_3^- varió de forma similar a las botellas control, manteniéndose debajo de 0.1 $\mu mol\ kg^{-1}$ y alcanzó un máximo (38 $nmol\ kg^{-1}$) a las 96 h de incubación (Figura 17f). Cabe resaltar

que la adición de FeCl₃ de grado reactivo no resultó en un aumento inicial de NO₃⁻. Tanto los niveles de PO₄³⁻ (Figura 17g) como el H₂SiO₄ (Figura 17h) evolucionaron de forma similar a los de las botellas control, con una tasa de decremento promedio del 3% y 1%, respectivamente. Así, la adición de FeCl₃ tuvo un efecto similar sobre los macronutrientes al observado en las botellas control, mientras que el pulso inicial de hierro fue removido más rápidamente que en el control.

En las botellas que recibieron la adición del tratamiento +NO₃ se observó un máximo en la concentración de NO₃⁻ de 9.79±0.011 μmol kg⁻¹ (Figura 17j) en el inicio del experimento que se redujo gradualmente durante la incubación a una tasa promedio del 2% hasta alcanzar una concentración final de 9.31 μmol kg⁻¹. Por otro lado, se observó un decremento del 57% en la concentración de Fe_d durante las primeras 24 h (Figura 17i), y después con una tasa promedio de 7% durante el periodo restante de experimentación. Alrededor del 78% del Fe_d fue removido al cabo de 120 h de incubación, equivalente a una reducción en la concentración de Fe_d de aproximadamente 1 nmol kg⁻¹. Al igual que la solución aditiva del tratamiento +Fe, la solución de KNO₃ (grado de pureza del 99%) no introdujo Fe_d a las botellas con el tratamiento +NO₃. Por su parte, los niveles de PO₄³⁻ y H₂SiO₄ también decrecieron ligeramente con el paso de las horas en tasas promedio del 5% (Figura 17k) y 2% (Figura 17l), respectivamente. En comparación con las botellas control, bajo el tratamiento +NO₃ se observaron tendencias promedio de decremento de Fe_d y PO₄³⁻ más pronunciadas, una evolución de los niveles de H₂SiO₄ similar al control, y una tendencia baja de decremento de NO₃⁻.

El tratamiento +Fe+NO₃ tuvo el mayor efecto sobre la concentración de macronutrientes y de hierro en las botellas durante el experimento (Figura 17m-p). La concentración de Fe_d se redujo con el tiempo a una tasa del 80% en las primeras 24 h de incubación después de la introducción de la solución aditiva, y después con una tasa promedio de 37% (Figura 17m). En ambos periodos, estas tasas de decremento en la concentración de Fe_d fueron más intensas que en las botellas control y en las botellas con tratamiento +Fe. La concentración final de Fe_d fue 0.31±0.13 nmol kg⁻¹, similar a la obtenida en el tratamiento +NO₃, y más baja que la obtenida en las botellas control y +Fe. En el caso del NO₃⁻, se registró un máximo al inicio de la incubación que se mantuvo relativamente constante hasta las 72 h de experimento (Figura 17n). No obstante, entre las 72 y 96 h de incubación, se observó una reducción del 99% en los niveles de NO₃⁻, resultando en una concentración (~40 nmol kg⁻¹) similar a la observada *in situ* (~50 nmol kg⁻¹). Tanto el PO₄³⁻ (Figuras 17o) como el H₂SiO₄ (Figura 17p), mantuvieron una evolución similar al control durante

las primeras horas de incubación. Sin embargo, entre las 72 y las 96 h, se observó una disminución en su concentración del 89% y del 72%, respectivamente. Así, únicamente el tratamiento +Fe+NO₃ resultó en un efecto sobre los nutrientes PO₄³⁻ y H₂SiO₄ distinto al observado en las botellas control. Estas evidencias experimentales apuntan a una comunidad de fitoplancton limitada tanto por NO₃⁻ como por Fe_d.

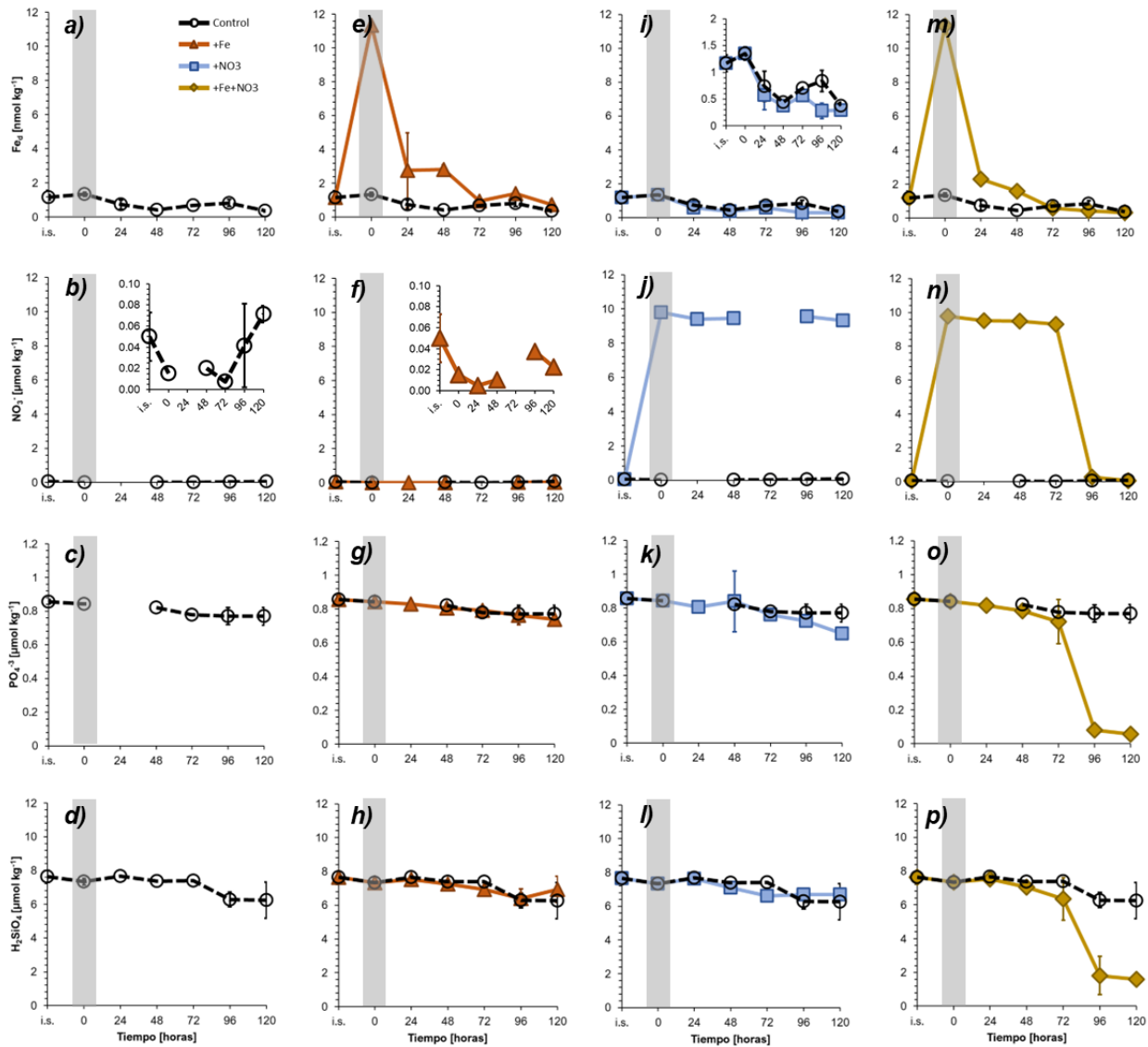


Figura 17. Concentraciones promedio de (a, e, i, m) hierro disuelto (Fe_d), (b, f, j, n) nitrato (NO_3^-), (c, g, k, o) fosfato (PO_4^{3-}), y (d, h, l, p) ácido silícico (H_2SiO_4) durante los cinco días de incubación de las botellas control (línea discontinua y círculos negros) y de los tratamientos: + Fe (línea continua y triángulos rojos), +NO₃ (línea continua y cuadrados azules), y +Fe+NO₃ (línea continua y rombos amarillos). En el eje “x” de tiempo se incluye: 1) el momento en que fue visitada la estación IronMex, representando en “y” la concentración in situ (i.s.); 2) el comienzo del experimento a partir de la aclimatación de las botellas y justo antes de la adición de cada tratamiento (0 h); y 3) cinco tiempos adicionales de muestreo en intervalos de 24 h. Se señala con una línea gris el comienzo de la incubación que corresponde con la adición de los tratamientos. Se presentan las desviaciones estándar a manera de barras de error, aunque en algunos los valores son más pequeños que los símbolos. En el control y el tratamiento +Fe, las concentraciones de NO₃⁻ detectadas por el instrumento de análisis fueron $\leq 0.1 \mu mol kg^{-1}$ durante todo el experimento.

4.2.3 Efecto de la adición de nutrientes sobre la clorofila-a

En las botellas control, los niveles de clorofila-a total (Clor-a_{tot}) se mantuvieron por debajo de 0.5 mg m⁻³ durante todo el experimento (Figura 18a). La concentración de Clor-a_{tot} al comienzo de la incubación fue 0.22±0.02 mg m⁻³. El máximo de Clor-a_{tot} (0.45±0.04 mg m⁻³) se presentó al cabo de 96 h, decreciendo a 0.41±0.01 mg Clor-a_{tot} m⁻³ al término de la incubación.

En cuanto a los tratamientos aditivos, el tratamiento +Fe fue el único que no tuvo un efecto evidente sobre la concentración de Clor-a_{tot}, ya que no se detectaron diferencias significativas ($p>0.05$) con respecto a los niveles de Clor-a_{tot} en las muestras control (Figura 18 b). Tanto en las botellas control como en el tratamiento +Fe, la Clor-a_{tot} se mantuvo en un rango <0.50 mg m⁻³ durante toda la incubación, alcanzando un máximo de 0.47±0.31 mg m⁻³ a las 96 h, similar al del control. No obstante, al término de la incubación, la concentración de Clor-a_{tot} en las botellas +Fe (0.24±0.05 mg m⁻³) fue inferior a la de las botellas control (0.41±0.01 mg Clor-a_{tot} m⁻³).

En un marcado contraste con el tratamiento +Fe, las concentraciones de Clor-a_{tot} en las botellas con el tratamiento +NO₃ presentaron un incremento significativo ($p<0.05$) con respecto al control (Figura 18c). Los valores de Clor-a_{tot} en las botellas superaron los 0.50 mg m⁻³ a partir de las primeras 24 h de haber sido fertilizadas con KNO₃. La máxima concentración de Clor-a_{total} (1.00±0.02 mg m⁻³) se registró al finalizar el experimento. Esto es especialmente relevante ya que, en un lapso de 120 h, la Clor-a_{tot} incrementó su concentración 4.5 veces. Estos resultados indican que los enriquecimientos con nitrato favorecieron el crecimiento del fitoplancton en muestras colectadas en el gran desierto marino del NGC que se forma durante verano.

De manera similar al tratamiento +NO₃, la concentración de Clor-a_{tot} en las botellas fertilizadas con el tratamiento mixto (+Fe+NO₃; Figura 18d) fue significativamente mayor ($p<0.05$) que en las botellas control. De hecho, justo como fue descrito para las botellas +NO₃, las concentraciones de Clor-a_{tot} en el tratamiento mixto se acercaron a 0.5 mg m⁻³ después de un periodo de incubación de 24 h. Sin embargo, el tratamiento mixto alcanzó un máximo de Clor-a_{tot} (1.29 mg m⁻³) que fue superior y se produjo 24 h antes que el máximo detectado en el tratamiento +NO₃. Este incremento es muy importante, ya que, en tan solo 96 h, la clorofila-a aumentó 5.8 veces en comparación con la concentración inicial. Estos resultados sugieren que los suministros de hierro, por su cuenta, no estimulan un incremento en la clorofila-a en las aguas superficiales oligotróficas del NGC durante verano. Para tener este efecto, son necesarios pulsos combinados de hierro y nitrato.

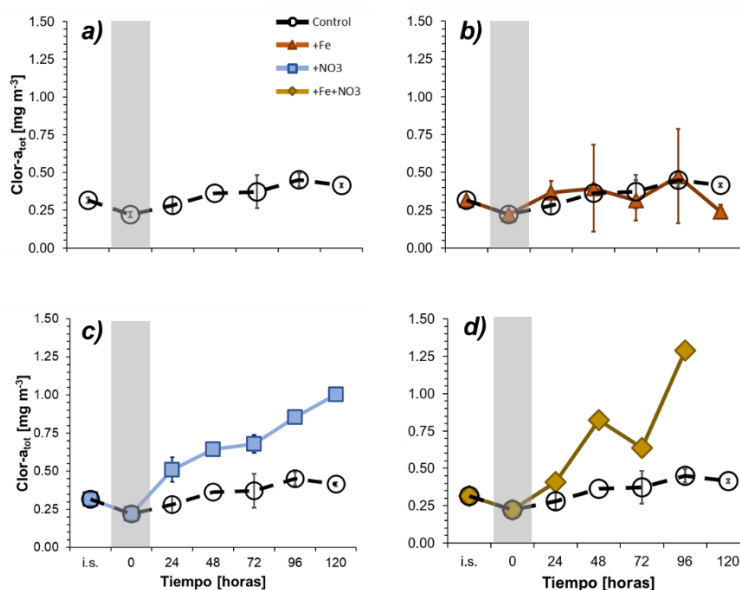


Figura 18. Clorofila-a total ($Clor-a_{tot}$) en las botellas control (línea discontinua y círculos negros) y de los tratamientos: +Fe (línea continua y triángulos rojos), +NO₃ (línea continua y cuadrados azules), y +Fe+NO₃ (línea continua y rombos amarillos). En el eje “x” de tiempo se incluye: 1) el momento en que fue visitada la estación IronMex, representando en “y” las concentraciones in situ (i.s.); 2) el comienzo del experimento a partir de la aclimatación de las botellas y justo antes de la adición de cada tratamiento (0 h); y 3) cinco tiempos adicionales de muestreo en intervalos de 24 h. Se señala con una línea gris el comienzo de la incubación que corresponde con la adición de los tratamientos. Se presentan las desviaciones estándar a manera de barras de error, aunque en algunos casos los valores son más pequeños que los símbolos. Entiéndase $Clor-a_{tot}$ como la $Clor-a$ extraída de material $>0.7 \mu m$.

En las botellas control, las fracciones de clorofila-a, extraída tanto de partículas grandes ($>5 \mu m$, $Clor-a_{grandes}$) y pequeñas ($0.7-5 \mu m$, $Clor-a_{chicas}$), se presentaron durante toda la incubación por debajo de 0.35 mg m^{-3} y prácticamente sin ningún cambio (Figuras 19a y b). La $Clor-a_{grandes}$ fue $0.19 \pm 0.04 \text{ mg m}^{-3}$ al inicio del experimento, alcanzó su máximo ($0.34 \pm 0.06 \text{ mg m}^{-3}$) a las 72 h, y finalizó en $0.27 \pm 0.10 \text{ mg m}^{-3}$. Por su parte, la $Clor-a_{chicas}$ al comienzo de la incubación fue $0.03 \pm 0.02 \text{ mg m}^{-3}$ e incrementó ligeramente con el paso del tiempo hasta llegar a $0.15 \pm 0.05 \text{ mg m}^{-3}$ a las 120 h. De manera similar a lo observado *in situ* (sección 4.1.3), y en las condiciones iniciales (Tabla I, sección 4.2.1), la $Clor-a_{grandes}$ fue responsable por el mayor aporte de $Clor-a_{tot}$ ($>50\%$) durante toda la incubación.

El tratamiento +Fe no alteró significativamente ($p > 0.05$) las fracciones de tamaño de la clorofila-a con respecto del control (Figuras 19c y d). En las botellas +Fe, los niveles de $Clor-a_{grandes}$ y $Clor-a_{chicas}$ también se mantuvieron relativamente bajas ($<0.35 \text{ mg m}^{-3}$) durante toda la incubación. La $Clor-a_{grandes}$ alcanzó un máximo ($0.31 \pm 0.19 \text{ mg m}^{-3}$) similar al del control a las 96 h. El máximo en los niveles de $Clor-a_{chicas}$ ($0.22 \pm 0.13 \text{ mg m}^{-3}$) se presentó a las 48 h.

El aumento de la Clor- a_{tot} observado en las botellas +NO₃ (Figura 18c) estuvo dado principalmente por un incremento en la fracción de Clor- a_{chicas} (Figura 19f). El máximo de Clor- a_{chicas} ($0.70 \pm 0.02 \text{ mg m}^{-3}$) observado al término de la incubación (Figura 19f) fue 20 veces mayor que el valor inicial, y sobrepasó el máximo de Clor- a_{grandes} (0.43 mg m^{-3}) a las 96 h (Figura 19e).

Finalmente, bajo el tratamiento +Fe+NO₃, se observaron incrementos significativos ($p < 0.05$) en las fracciones de Clor- a_{grandes} y Clor- a_{chicas} durante las primeras 72 h de incubación. En el caso de la Clor- a_{grandes} , un máximo de 0.62 mg m^{-3} se presentó a las 48 horas. Por su parte, la Clor- a_{chicas} tuvo su máximo (0.37 mg m^{-3}) a las 72 h. Desafortunadamente, se perdieron las muestras más allá de este punto de tiempo.

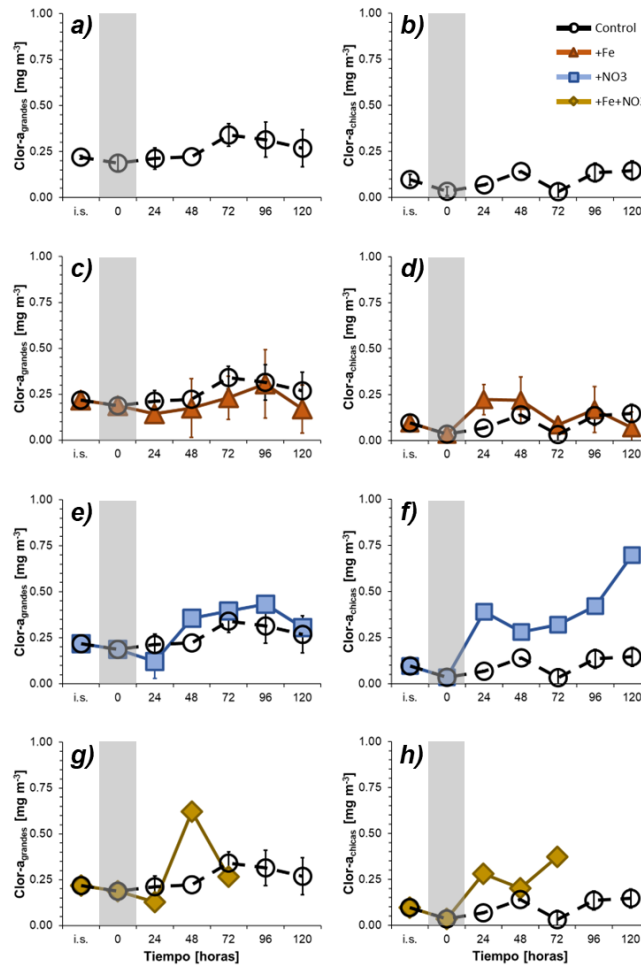


Figura 19. Clorofila- a aportada por las células grandes (Clor- a_{grandes}) y células chicas (Clor- a_{chicas}) durante las 120 h de incubación en las botellas control (línea discontinua y círculos negros) y de los tratamientos: +Fe (línea continua y triángulos rojos), +NO₃ (línea continua y cuadrados azules), y +Fe+NO₃ (línea continua y rombos amarillos). En el eje “x” de tiempo se incluye: 1) el momento en que fue visitada la estación IronMex, representando en “y” las concentraciones in situ (i.s.); 2) el comienzo del experimento a partir de la aclimatación de las botellas y justo antes de la adición de cada tratamiento (0 h); y 3) cinco tiempos adicionales de muestreo en intervalos de 24 h. Se presentan las desviaciones estándar a manera de barras de error, aunque en algunos casos los valores son más pequeños que los símbolos. Entiéndase Clor- a_{grandes} como la Clor- a extraída de material $> 5 \mu\text{m}$, y Clor- a_{chicas} como la Clor- a extraída de material $0.7\text{-}5 \mu\text{m}$.

4.2.4 Efecto de la adición de nutrientes sobre la comunidad fitoplanctónica

Para comparar la abundancia fitoplanctónica, se tomó como referencia el punto de tiempo con los valores máximos de Clor-a_{Total}. En las botellas control, el máximo de Clor-a_{Total} (0.45 mg m⁻³ a las 96 h; **Figura 18a**) estuvo dado por una comunidad de fitoplancton dominada por picofitoplancton (~3 millones de células L⁻¹, 98% de las células cuantificadas; **Figura 21a**), y una baja abundancia de nano y micro fitoplancton (~60 mil células L⁻¹, 2% de las células cuantificadas; **Figura 20a**). En este punto de la incubación (96 h), los grupos dominantes del nano y microfitoplancton fueron las bacilariofitas (91%), las cianobacterias (8%) y las dinofitas (1%) (**Figura 22**). Entre ellos, los géneros más abundantes fueron *Chaetoceros* spp. y *Bacteriastrum* spp. (ambos de la familia Chaetocerotaceae), y la diatomea Bacilarial *Nitzschia* spp. A partir de las 48 h, la abundancia de picofitoplancton cayó hasta alcanzar niveles incluso inferiores a los observados al inicio del experimento (**Figura 21a**).

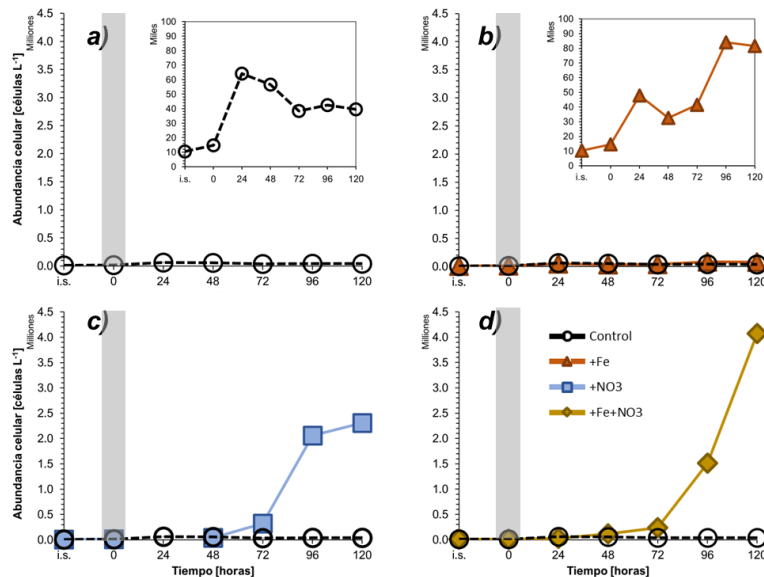


Figura 20. Abundancia celular de nano y microfitoplancton durante los cinco días de incubación de las botellas control (línea discontinua y círculos negros) y de los tratamientos: +Fe (línea continua y triángulos rojos), +NO₃ (línea continua y cuadrados azules), y +Fe+NO₃ (línea continua y rombos amarillos). En el eje “x” de tiempo se incluye: 1) el momento en que fue visitada la estación IronMex, representando en “y” la concentración in situ (i.s.); 2) el comienzo del experimento a partir de la aclimatación de las botellas y justo antes de la adición de cada tratamiento (0 h); y 3) cinco tiempos adicionales de muestreo en intervalos de 24 h. Se señala con una línea gris el comienzo de la incubación que corresponde con la adición de los tratamientos. Se incluyen paneles con el eje vertical magnificado para observar tendencias en el control y el tratamiento +Fe, en los cuales las abundancias celulares determinadas por el método fueron $\leq 1E+5$ células L⁻¹ durante todo el experimento.

Bajo el tratamiento +Fe, el máximo de Clor-a_{Total} (0.47 mg m⁻³ a las 96 h; **Figura 18b**) coincidió con la ocurrencia de la abundancia máxima del nano y microfitoplancton (~84 mil células L⁻¹, 3% de las células cuantificadas; **Figuras 20b y 22**). No obstante, el picofitoplancton fue más

abundante (~ 2 millones de células L^{-1} , 97% de las células cuantificadas; Figuras 21b y 22). De hecho, el picofitoplancton tuvo su máxima abundancia (~ 22 millones de células L^{-1}) 24 h después de la adición de $FeCl_3$. Así, a pesar de que la abundancia celular del picofitoplancton superó la del nano y microfitoplancton, este último grupo aportó la mayor parte de la biomasa fitoplanctónica. En este punto de la incubación (96 h), los grupos dominantes del nano y microfitoplancton fueron las bacilariofitas (85%), las dinofitas (12%) y los ciliados (3%), con una alta representación de diatomeas de la familia Bacillariaceae (*Cylindrotheca* spp. y *Nitzschia* spp.), y el dinoflagelado *Heterocapsa* spp. Tomando todo lo anterior en cuenta, la adición experimental de $FeCl_3$ no resultó en cambios aparentes en la estructura de la comunidad fitoplanctónica con respecto del control.

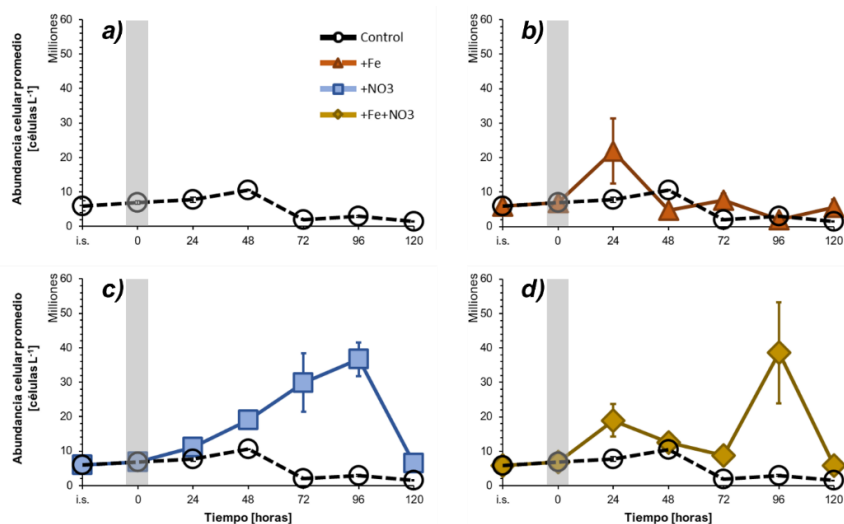


Figura 21. Abundancia celular promedio de picofitoplancton durante los cinco días de incubación de las botellas control (línea discontinua y círculos negros) y de los tratamientos: +Fe (línea continua y triángulos rojos), +NO₃ (línea continua y cuadrados azules), y +Fe+NO₃ (línea continua y rombos amarillos). En el eje “x” de tiempo se incluye: 1) el momento en que fue visitada la estación IronMex, representando en “y” la concentración in situ (i.s.); 2) el comienzo del experimento a partir de la aclimatación de las botellas y justo antes de la adición de cada tratamiento (0 h); y 3) cinco tiempos adicionales de muestreo en intervalos de 24 h. Se señala con una línea gris el comienzo de la incubación que corresponde con la adición de los tratamientos. Se presentan las desviaciones estándar a manera de barras de error; aunque en algunos casos los valores son más pequeños que los símbolos.

El tratamiento +NO₃ (Figura 20c) tuvo un claro efecto estimulante sobre el crecimiento del fitoplancton. El máximo de $Chl-a_{Total}$ (1.00 mg m^{-3} a las 120 h; Figura 18c) también correspondió con la máxima abundancia del nano y microfitoplancton (~ 1.3 millones de células L^{-1} , 16% de las células cuantificadas, Figuras 20c y 22). No obstante, también se observó un crecimiento en la abundancia del picofitoplancton: su máximo se presentó a las 96 h (~ 38 millones de células), y colapsó a las 120 h (~ 6.5 millones de células, 84% de las células cuantificadas; Figuras 21c y 22). Si bien la abundancia relativa del nano y microfitoplancton incrementó con respecto de la del picofitoplancton bajo el tratamiento +NO₃, es claro que el crecimiento de ambos grupos fue

estimulado. A las 120 h, las bacilariofitas (96%) fueron el grupo dominante del nano y microfitoplancton, seguidas por los dinoflagelados (4%). De manera interesante, los géneros más representados fueron los mismos que en el tratamiento +Fe (*Cylindrotheca* spp., *Nitzschia* spp. y *Heterocapsa* spp.).

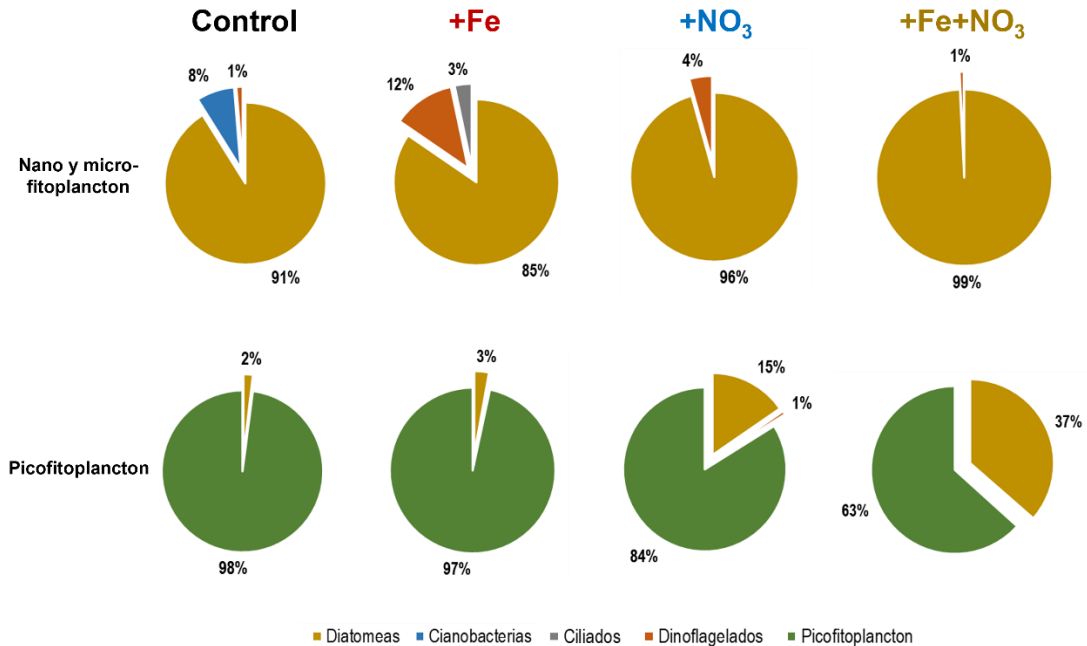


Figura 22. Abundancia relativa de distintos grupos de nano y microfitoplancton, y abundancia relativa de nano y microfitoplancton y picofitoplancton en el control y en los tratamientos +Fe, +NO₃, +Fe+NO₃ durante el punto de tiempo correspondiente con los máximos valores de clorofila-a (96 h, 96 h, 120 h y 120h, respectivamente).

Finalmente, el tratamiento +Fe+NO₃ tuvo el mayor efecto estimulante sobre el crecimiento del nano y microfitoplancton (Figura 20d). La máxima abundancia absoluta de nano y microfitoplancton en este experimento (~3.4 millones de células L⁻¹, 37% de las células cuantificadas) se presentó a las 120 h (Figura 20d). El grupo dominante del nano y microfitoplancton fueron las diatomeas (99%; Figura 22), de las cuales fueron abundantes *Cylindrotheca* spp., *Nitzschia* spp. y *Chaetoceros* spp. En cuanto al picofitoplancton, la abundancia máxima en todo el experimento se presentó a las 96 h bajo este tratamiento (~39 millones de células L⁻¹). Sin embargo, al igual que bajo el tratamiento +NO₃, el número de células de este grupo de tallas cayó por debajo de 6 millones de células L⁻¹ (63% de las células cuantificadas; Figuras 21d y 22) a las 120 h de incubación. De esta forma, en las botellas +Fe+NO₃ se tuvo el cambio más pronunciado en la estructura de la comunidad de fitoplancton con respecto del control.

5. DISCUSIÓN

Los resultados del experimento de incubación mostraron cambios importantes en las propiedades químicas y biológicas de las aguas enmendadas con Fe y NO_3^- . Con base en estos resultados, a continuación se evaluará cuál es el elemento, o la combinación de elementos, causante(s) de la oligotrofia en el desierto marino dentro del cual se encuentra la estación IronMex. Esta evaluación de limitación será comparada con resultados de experimentos previos en el GC y otros sitios de estudio. Finalmente, se discutirá sobre las posibles implicaciones de los resultados de este experimento en un escenario de cambio climático, así como las limitaciones de la investigación y la necesidad de realizar más estudios de limitación por nutrientes en el GC.

5.1 Evidencias de limitación basadas en la concentración de nutrientes *in situ*

En el verano de 2019, las aguas superficiales en el giro ciclónico del NGC presentaron condiciones oligotróficas típicas de esta temporada: temperaturas elevadas, alta estratificación, bajos niveles de clorofila-a, y concentraciones de NO_3^- extremadamente bajas (Tabla I; Bustos-Serrano y Castro-Valdez, 2006; Segovia-Zavala et al., 2009; Torres-Delgado et al., 2013). La concentración de Fe_d ($1.17 \text{ nmol kg}^{-1}$) se encontró dentro del rango de valores superficiales reportados para la región central del GC durante primavera (no detectado–5 nM; Segovia-Zavala et al., 2009, 2010) y por debajo de los reportados para el Canal de Ballenas durante el verano tardío (2.8–3.6 nM; Segovia-Zavala et al., 2011). Esta concentración de Fe_d fue comparable con las reportadas en aguas superficiales de otros mares marginales y zonas costeras, en donde se han identificado ciertos grados de limitación por hierro: la porción sur del sistema de surgencias de la costa de California (Firme et al., 2003; King y Barbeau, 2011; Biller y Bruland, 2014), el Mar Mediterráneo (Bonnet y Guieu, 2006) y el Mar de Arabia (Chinni et al., 2019; Chinni y Singh, 2022). En cambio, la concentración de NO_3^- fue extremadamente baja ($50.1 \text{ nmol kg}^{-1}$; Tabla I), comparable con el rango de valores superficiales reportados durante el verano en la región norteña del GC ($<0.1 \text{ } \mu\text{mol kg}^{-1}$; White et al., 2007), pero muy por debajo de los niveles observados en el Canal de Ballenas ($7.1 \pm 1 \text{ } \mu\text{M}$, Torres-Delgado et al., 2013) y el sistema de la Corriente de California (5–15 μM ; Biller et al., 2013).

La razón estequiométrica $\text{Fe}_d:\text{NO}_3^-$ ha sido utilizada como una herramienta para evaluar la limitación Liebig de Fe o N sobre el fitoplancton (Elrod et al., 2008; King y Barbeau, 2011; Biller y Bruland, 2014): si $\text{Fe}_d:\text{NO}_3^-$ es $<0.2 \text{ nmol } \mu\text{mol}^{-1}$, se considera que existe limitación por Fe,

mientras que una razón mayor representa limitación por N (Biller et al., 2013). La razón $\text{Fe}_d:\text{NO}_3^-$ en el agua de mar recolectada en la estación IronMex fue $>20 \text{ nmol } \mu\text{mol}^{-1}$, indicando que el fitoplancton se encontraba limitado por la disponibilidad del N y no por el Fe. Por otro lado, las bajas razones molares $\text{NO}_3^-:\text{PO}_4^{3-}$ (<0.1) y $\text{NO}_3^-:\text{H}_2\text{SiO}_4$ (<0.01) confirman que la comunidad fitoplanctónica no contaba con suficiente NO_3^- para aprovechar el PO_4^{3-} y el H_2SiO_4 disponibles (Bertilsson et al., 2003; Geider y La Roche, 2002; Klausmeier et al., 2004; Redfield, 1934, 1958).

Otra herramienta que se utiliza para evaluar la limitación por nutrientes es la estimación de la tasa de crecimiento específico de las diatomeas (Monod, 1942):

$$\mu_S = \frac{\mu_{\max}[S]}{[S]+K_\mu},$$

en donde μ_s es la tasa específica de crecimiento, μ_{\max} es la máxima tasa de crecimiento, $[S]$ es la concentración del nutriente en cuestión, y K_μ es la constante de saturación para el mismo nutriente a la cual $\mu_{\max}=0.5\mu$. Esta variable se calcula para cada nutriente en cuestión. Cuando $\mu_{\text{Nutriente1}} > \mu_{\text{Nutriente2}}$, se considera que el *Nutriente2* es el nutriente limitante de la tasa de crecimiento de diatomeas.

Para la muestra recolectada en la estación IronMex se calcularon μ_s para Fe_d y NO_3^- (μ_{Fe} y μ_{N}) considerando valores promedio de μ_{\max} (1.5 día^{-1}) y K_μ (0.35 nmol L^{-1} y $1.6 \mu\text{mol L}^{-1}$ para Fe_d y NO_3^- , respectivamente), reportados para diatomeas (Sarrouh et al., 2005). Los valores obtenidos fueron $\mu_{\text{Fe}} = 1.16 \text{ día}^{-1}$ y $\mu_{\text{N}} = 0.05 \text{ día}^{-1}$. Para el Fe_d , el valor de $\mu_{\text{Fe}}/\mu_{\max}$ (0.77) indica condiciones moderadas de limitación por hierro. No obstante, $\mu_{\text{N}}/\mu_{\max}$ (0.03) señala limitación severa por NO_3^- . Además, debido a que $\mu_{\text{Fe}} > \mu_{\text{N}}$, se considera que el NO_3^- , y no el Fe_d , es el nutriente limitante de la tasa de crecimiento de diatomeas.

Finalmente, una evidencia adicional sobre la condición de limitación por N en la estación IronMex puede aproximarse a través del cálculo del nitrógeno estrella (N^*), parámetro que indica el exceso de NO_3^- con respecto de PO_4^{3-} bajo una estequiometría de remineralización redfieldiana (i.e., 16N:1P; Redfield et al., 1963). N^* se calcula de la siguiente manera:

$$N^* = N - r_{\text{N:P}}P + 2.9,$$

donde N es la concentración de NO_3^- , $r_{\text{N:P}}$ es la razón estequiométrica N:P durante la remineralización, y P es la concentración de PO_4^{3-} (Deutsch et al., 2001; Gruber y Sarmiento, 1997; Michaels et al., 1996). El N^* ($-9.3 \mu\text{mol}$) calculado apunta a la existencia de condiciones de limitación por N de la comunidad de fitoplancton que no tiene la habilidad de fijar este nutriente. Se han reportado valores similares de N^* para la región central y sureña del GC durante distintas

estaciones del año (Torres-Delgado et al., 2013; White et al., 2007). Bajo condiciones de limitación por N, el resto de los macronutrientes y metales traza esenciales disponibles pueden ser aprovechados por fijadores de nitrógeno, que suelen tener una alta demanda celular de Fe (Kustka et al., 2002, 2003), y pueden estar limitados por su escasez (Jiang et al., 2018). Debido a que los fijadores de nitrógeno tienen tasas de crecimiento lentas (Landolfi et al., 2015), existen muy pocos estudios que muestran condiciones de limitación del fitoplancton por nitrato, y un aumento en el crecimiento de los fijadores de nitrógeno a partir de la adición de Fe (e.g., Mills et al., 2004; Moisander et al., 2012). No obstante, las concentraciones de Fe_d en la estación IronMex fueron considerablemente más altas que en otras regiones oligotróficas del océano, en las cuales se ha reportado limitación por Fe de los fijadores de nitrógeno (Ward et al., 2013). Las altas concentraciones superficiales de Fe_d que estimulan la fijación de N en verano pueden ser el resultado combinado de un importante abastecimiento atmosférico de polvo rico en Fe desde los desiertos circundantes que aterrizan en aguas muy cálidas capaces de catalizar su disolución (Félix-Bermúdez et al., 2020; Muñoz-Barbosa et al., 2017, 2020).

Estas aproximaciones claramente sugieren la presencia de condiciones de limitación por N en el ambiente marino del giro ciclónico del NGC. Muchos estudios de limitación por nutrientes culminan el análisis en este punto. Sin embargo, los experimentos de incubación ofrecen evidencias indispensables para corroborar los resultados obtenidos utilizando cálculos indirectos. Además, los experimentos permiten evaluar el efecto de la adición de más de un nutriente, lo que permite identificar condiciones de co-limitación. Todo esto, con un enfoque especialmente diseñado para evaluar cambios en la estructura de la comunidad fitoplanctónica asociados a los distintos tratamientos.

5.2 Evidencias experimentales de limitación por nutrientes

En general, en los experimentos de adición de nutrientes se han identificado tres tipos de evidencias que apuntan al alivio de condiciones de limitación por parte del nutriente adicionado (Bannon et al., 2022): 1) disminución en la concentración de macronutrientes a partir de la adición del elemento limitante; 2) aumento en la biomasa fitoplanctónica, frecuentemente representada por la concentración de clorofila-a; y 3) cambios en la estructura de la comunidad fitoplanctónica hacia clases de tamaño, grupos y géneros favorecidos por el elemento adicionado. A continuación, se

evaluarán los tres criterios mencionados en el contexto de los resultados experimentales con la finalidad de profundizar en lo sugerido por las evidencias de limitación *in situ* (ver sección 5.1).

5.2.1 Cambios en la concentración de nutrientes

De manera interesante, la concentración de Fe_d disminuyó rápidamente en las botellas +Fe y +Fe+ NO_3 hasta llegar a niveles similares a los del control hacia el final de la incubación (Figura 17a). Estos cambios indican que, en el agua oligotrófica del NGC, los pulsos de Fe_d son prontamente removidos de la fase disuelta. De hecho, en la zona eufótica del GC se han reportado tiempos de residencia de Fe_d muy cortos (de 14 horas a 6 días; Segovia-Zavala et al., 2009; 2010). Estos tiempos de residencia cortos son el resultado de remociones abióticas hacia la fase particulada (e.g., *scavenging* [adsorción]), o del consumo de lujo por diatomeas pennadas como *Pseudonitzschia* spp. (Lampe et al., 2018; Twining et al., 2021; Twining y Baines, 2022) o por cianobacterias fijadoras de nitrógeno como *Trichodesmium* spp. (Chen et al., 2011). Lo anterior resalta la importancia de las distintas rutas de aporte de Fe_d hacia el GC, cuyo influjo total debe compensar las pérdidas para evitar el desarrollo de condiciones de limitación.

En un marcado contraste con las muestras enmendadas con $FeCl_3$, los tratamientos con KNO_3 (+ NO_3 y +Fe+ NO_3) resultaron en cambios en las concentraciones de otros nutrientes, siendo el tratamiento mixto el que produjo las disminuciones más pronunciadas en todos los nutrientes (Figura 17m–p). Es posible que, bajo el tratamiento + NO_3 , el consumo de nutrientes haya sido restringido por la baja disponibilidad de Fe. Por ejemplo, para obtener N a partir de NO_3^- , el fitoplancton necesita reducir este macronutriente a NH_4^+ utilizando las enzimas nitrato y nitrito reductasa (Kumar y Bera, 2020), las cuales requieren Fe (Timmermans et al., 1994). Por lo tanto, la baja biodisponibilidad de Fe_d puede impedir el consumo de NO_3^- —y otros nutrientes—, y así restringir la producción nueva (King y Barbeau, 2007; Maldonado y Price, 1996). En este estudio, 24 h después de la adición del tratamiento + NO_3 , la razón estequiométrica $Fe:NO_3^-$ ($0.06 \text{ nmol } \mu\text{mol}^{-1}$) y las tasas de crecimiento específicas ($\mu_{Fe}/\mu_{max} = 0.63$, $\mu_N/\mu_{max} = 0.86$) apuntan al desarrollo de condiciones de limitación por Fe que prevalecieron y se agravaron durante el resto de la incubación ($Fe:NO_3^- = 0.03 \text{ nmol } \mu\text{mol}^{-1}$, $\mu_{Fe}/\mu_{max} = 0.46$, $t = 120 \text{ h}$). En comparación, después de 24 h bajo el tratamiento +Fe+ NO_3 , la razón $Fe:NO_3^-$ ($0.24 \text{ nmol } \mu\text{mol}^{-1}$) y las tasas de crecimiento específico ($\mu_{Fe}/\mu_{max} = 0.87$, $\mu_N/\mu_{max} = 0.86$) señalan un abastecimiento de estos dos nutrientes que, no sólo permitió el agotamiento gradual de Fe_d y macronutrientes (NO_3^- , PO_4^{3-} y H_2SiO_4), sino

también el desarrollo condiciones de limitación por Fe_d ($Fe: NO_3^- = 0.06 \text{ nmol } \mu\text{mol}^{-1}$, $\mu Fe/\mu_{\text{max}} = 0.63$, $t = 72 \text{ h}$), y después por NO_3^- ($Fe: NO_3^- = 7.6 \text{ nmol } \mu\text{mol}^{-1}$, $\mu N/\mu_{\text{max}} = 0.03$, $t = 120 \text{ h}$). Colectivamente, estas evidencias resaltan la importancia de la disponibilidad de Fe_d en esta región para que los aportes de nutrientes puedan ser aprovechados por el fitoplancton. Además, los cambios químicos evaluados sugieren la presencia de condiciones de limitación del crecimiento celular principalmente por N y, de manera secundaria o serial, por Fe en las aguas oligotróficas típicamente presentes en el desierto marino del NGC durante verano.

5.2.2 Cambios en los niveles de clorofila-a

5.2.2.1 Efecto de la adición de $FeCl_3$ en los niveles de clorofila-a

De entrada, se puede descartar al Fe_d como el nutriente limitante de la biomasa fitoplanctónica (representada por la $Clor-a_{\text{total}}$), ya que el incremento en los niveles de $Clor-a_{\text{total}}$ detectado 96 h después de la adición del tratamiento +Fe ($2.1\times$; [Figura 18b](#)) no fue significativamente distinto ($p>0.05$) al del control ($2.0\times$ a las 96 h; [Figura 18a](#)). Este ligero incremento de $Clor-a_{\text{total}}$ ha sido reportado en controles de otros experimentos de fertilización (e.g., [Ferreira et al., 2020](#); [King y Barbeau, 2007](#); [Zhang et al., 2019](#)), y se atribuye al alivio de la presión por pastoreadores y a la presencia de condiciones de iluminación más estables ([Hausse et al., 2012](#); [Schuback et al., 2015](#)).

En términos de la evolución de la clorofila-a en las fracciones de tamaño, la respuesta favorable de la $Clor-a_{\text{chicas}}$ al tratamiento +Fe durante las primeras 48 h de incubación ([Figura 19d](#)), podría estar ligada a un ligero aumento en la actividad fotosintética de cianobacterias fijadoras de nitrógeno. Este grupo de organismos pequeños ($10^0 \mu\text{m}^3$) tiene requisitos estequiométricos de Fe:P ($6\text{--}271 \text{ nmol } \mu\text{mol}^{-1}$; [Berman-Frank et al., 2007](#)) que pueden ser hasta un orden de magnitud más altos ($<11 \text{ nmol } \mu\text{mol}^{-1}$; [Quigg et al., 2003](#)) que el de los taxones compuestos por células fitoplanctónicas más grandes ($>10^1 \mu\text{m}^3$). La adición de 10 nmol kg^{-1} de $FeCl_3$ elevó la razón Fe:P de $1.4 \text{ nmol } \mu\text{mol}^{-1}$ a $13.5 \text{ nmol } \mu\text{mol}^{-1}$, y estimuló el crecimiento de estas células. De hecho, de manera correspondiente con el incremento obtenido en $Clor-a_{\text{chicas}}$, el efecto sobre la razón Fe:P sólo se observó durante las primeras 48 h de incubación. Así, es posible que aportes sostenidos de Fe_d beneficien a la comunidad de fijadores de nitrógeno en el área de estudio.

5.2.2.2 Efecto de la adición de KNO_3 en los niveles de clorofila-a

De forma contundente, el crecimiento en la biomasa de fitoplancton fue dado principalmente por la Clor-a_{chicas} bajo el tratamiento +NO₃. Con base en esto, se calculó la tasa de crecimiento específico (μ) en las dos fracciones de tamaño (X ; Clor-a_{chicas} y Clor-a_{grandes}):

$$\mu = \frac{\ln(Clora_X)_t - \ln(Clora_X)_{t_0}}{t},$$

donde t es el tiempo de máximo crecimiento en días (Leynaert et al., 2001). En las botellas control, la μ calculada para Clor-a_{grandes} y Clor-a_{chicas} fue 0.2 d⁻¹ y 0.3 d⁻¹, respectivamente. En comparación, en las botellas que recibieron el tratamiento +NO₃, la μ de Clor-a_{grandes} fue 0.2 d⁻¹, y la μ de Clor-a_{chicas} fue del triple (0.6 d⁻¹). Estos resultados indican que las células chicas son las primeras en aprovechar los enriquecimientos con el nutriente limitante, contrario a lo que se ha reportado comúnmente en la literatura (e.g., Bruland et al., 2001; Malone, 1980). Estos autores han reportado que las diatomeas pennadas, son el grupo de fitoplancton que genera florecimientos algales después de un evento de fertilización, La dominancia de células grandes se asocia con una alta exportación de carbono fuera de la zona eufótica, ya sea por su mayor velocidad de hundimiento o por su empaquetamiento en *pellets* [bolitas] fecales densas producidas por pastoreadores grandes (Calbet y Landry, 2004; Guidi et al., 2009; Jin et al., 2006; Michaels y Silver, 1988). Así, el aumento en Clor-a_{total} bajo el tratamiento +NO₃ soportado principalmente por la fracción celular chica implica que, en el ambiente oligotrófico del NGC, pulsos naturales de NO₃⁻, que no estén acompañados por Fe_d, podrían resultar en una exportación de carbono menguada.

El tratamiento +Fe+NO₃ tuvo el mayor efecto sobre la Clor-a_{total} (μ de Clor-a_{grandes} = 0.6 d⁻¹; μ de Clor-a_{chicas} = 0.8 d⁻¹). Estos resultados apoyan la propuesta realizada en la **sección 5.2.1**, sobre la prevalencia de condiciones de limitación primaria del fitoplancton por NO₃⁻, y de limitación serial por Fe_d. De hecho, en estudios de limitación por nutrientes realizados en otros sistemas oligotróficos con limitación primaria por NO₃⁻ y limitación serial por Fe_d, se han reportado observaciones experimentales similares a las de este trabajo (Tabla II y referencias citadas): 1) la adición de Fe tiene un efecto pequeño sobre los niveles finales de clorofila-a; 2) la adición de N tiene un efecto moderado en los niveles finales de clorofila-a; y 3) la adición combinada de N y Fe tiene un efecto mayor sobre los niveles finales de clorofila-a.

Tabla II. Cambios en los niveles de clorofila-a en experimentos de adición de nutrientes en los cuales se determinó limitación primaria por NO_3^- y limitación serial por Fe_d

| | +Fe | + NO_3 | +Fe+ NO_3 | Estudio |
|---|-----|-----------------|--------------------|-------------------------------|
| Incremento en la clorofila-a^a | 2x | 6x | 10x | <i>Li et al. (2015)</i> |
| | 1x | 2x | 7x | <i>Browning et al. (2017)</i> |
| | 1x | 2x | 5x | <i>Browning et al. (2020)</i> |
| | 1x | 7x | 16x | <i>Browning et al. (2022)</i> |
| | 2x | 5x | >6x ^b | <i>Este trabajo</i> |

^aIncremento en clorofila-a entre el inicio de la incubación (t = 0 h) y el punto de tiempo correspondiente al valor máximo de clorofila-a.

^bIncremento correspondiente al penúltimo día de incubación (t = 96 h), ya que se perdieron las muestras de este tratamiento para t = 120 h. Sin embargo, con base en las abundancias celulares (ver **sección 5.2.3**) y en el aspecto visual de las muestras filtradas (anecdótico) correspondientes a este tratamiento y punto de tiempo, es posible que el incremento en clorofila-a haya sido mucho mayor que 6x.

Es importante resaltar que todos los bioensayos que revelaron condiciones de limitación por NO_3^- (primaria) y Fe_d (serial) mencionados en la **tabla II** fueron parte de campañas oceanográficas que consideraron múltiples estaciones de muestreo y áreas de estudio que abarcaron escalas espaciales de cientos a miles de kilómetros, en las cuales la mayoría de los experimentos encontraron condiciones de co-limitación por dos o más nutrientes o metales traza. Lo anterior sugiere que la presencia de condiciones de co-limitación es más frecuente y prevalente de lo que se creía con anterioridad, retando el paradigma de limitación por un solo nutriente. De hecho, un metaanálisis de experimentos de limitación de fitoplancton marino ([Browning y Moore, 2023](#)) reveló que la superficie del océano presenta condiciones que se aproximan a la co-limitación por N y Fe en escalas espaciales aplicables a sistemas como el GC. Por esta razón, a pesar de que en este trabajo las evidencias experimentales apuntan a la limitación serial por NO_3^- y Fe, no se descarta la posibilidad de encontrar condiciones de co-limitación por este par de nutrientes en algún otro punto del desierto marino del NGC, o durante otra estación del año.

5.2.3 Cambios en la comunidad fitoplanctónica

La comunidad de fitoplancton en el punto de muestreo se caracterizó por bajas abundancias celulares y la dominancia de grupos de tallas pequeñas (10 mil células de nano y microfitoplancton L^{-1} , y 6 millones de células de picofitoplancton L^{-1}). El picofitoplancton tiende a dominar la biomasa fitoplanctónica en regiones oligotróficas como los giros subtropicales ([Alvain et al., 2005](#); [Flombaum et al., 2013](#); [Marañón, 2015](#)), debido a que su alta relación superficie/volumen les permite adquirir nutrientes con mayor eficiencia ([Raven, 1998](#)). El dominio del picofitoplancton en la superficie se ha reportado para otros sitios en el GC durante verano ([Hakspiel-Segura et al., 2023](#); [Millán-Núñez et al., 2023](#); [Puigcorbé et al., 2015](#); [White et al., 2013](#)).

A pesar de que el picofitoplancton dominó en las botellas durante toda la incubación, se observaron cambios importantes en la composición de la comunidad fitoplanctónica a partir de la adición de nutrientes (Figura 22). Como se mostró en la sección 4.2.4, la adición de los tratamientos +NO₃ y +Fe+NO₃ benefició particularmente a las diatomeas. Este grupo de fitoplancton se caracteriza por tener crecimiento rápido cuando los nutrientes son abundantes (Chen et al., 2023; Margalef, 1958). De hecho, el aumento de la abundancia celular de diatomeas a partir de la adición (experimental o pulsos naturales) de nutrientes limitantes ha sido una observación documentada ampliamente en la literatura (e.g., Endo et al., 2013; Feng et al., 2010; Ferreira et al., 2020; Mills et al., 2018; Seubert et al., 2017; Zhang et al., 2019). En el NGC, los géneros que más se beneficiaron fueron las diatomeas pennadas *Nitzschia* spp., *Pseudonitzschia* spp. y *Cylindrotheca* spp. Tanto *Nitzschia* spp. como *Pseudonitzschia* spp. pueden producir la neurotoxina ácido domoico y formar florecimientos algales nocivos (FAN; Cochland et al., 2023; Maldonado et al., 2002). Esto es relevante, ya que los FANs que tienen lugar en el GC podrían ser detonados por eventos de fertilización natural de Fe y NO₃⁻. Sin embargo, se requieren más estudios experimentales que ayuden a comprender la asociación entre la disponibilidad de nutrientes en el Golfo y los cambios en la estructura de la comunidad fitoplanctónica. Comprender dicha asociación, no sólo será útil para predecir eventos FAN, sino también para estudiar la eficiencia de la bomba biológica en este y otros mares marginales, en un escenario de cambio climático en el cual se proyecta la expansión de regiones del océano con baja productividad (Polovina et al., 2008).

5.3 Implicaciones biogeoquímicas ante un escenario de variabilidad climática

Actualmente, la limitación por nutrientes regula el crecimiento del fitoplancton en grandes regiones del océano. Ante un inminente escenario de variabilidad climática caracterizado por el incremento de forzantes antropogénicos, se podría pronosticar un recrudescimiento de los patrones de limitación a través de cambios en el abastecimiento y consumo de nutrientes. La tendencia de aumento en la temperatura superficial del mar se ha relacionado con un mayor grado de estratificación de la columna de agua (Behrenfeld et al. 2006; Boyce et al., 2010; Doney et al., 2012), lo que limita el aporte de nutrientes hacia la zona eufótica a través de la surgencia de, o mezcla con, aguas más profundas ricas en nutrientes (Beardall et al., 2009). De hecho, algunos estudios sugieren que las zonas superficiales más oligotróficas del océano (i.e., desiertos marinos)

se están expandiendo debido al incremento en la estratificación y profundización de la nitraclina (Irwin y Oliver, 2009; Polovina et al., 2008, 2011). Al mismo tiempo, las tendencias de calentamiento y acidificación de la superficie del océano alteran las condiciones fisicoquímicas en la columna de agua y favorecen la solubilidad del hierro (Félix-Bermúdez et al., 2020; Zhu et al., 2023).

Ante los cambios observados y proyectados, es complicado determinar qué grupos de fitoplancton serán “ganadores” y “perdedores” bajo este escenario. Generalmente, se piensa que el fitoplancton de tallas pequeñas adaptado a las condiciones de escasez de nutrientes será favorecido si las zonas oligotróficas se expanden (Agawin et al., 2000; Litchman et al., 2007; Morán et al., 2010; Mouriño-Carballido et al., 2016). Se ha demostrado también que el calentamiento de las aguas superficiales durante la primavera y el invierno puede reducir la biomasa máxima y el tamaño celular promedio durante un florecimiento algal en aguas más productivas (Lassen et al., 2010; Sommer y Lengfellner, 2008; Sommer y Lewandowska, 2011). El incremento en los niveles de CO₂ y en la temperatura pueden aliviar los costos energéticos de procesos metabólicos y fotosintéticos en el fitoplancton más grande, permitiéndoles utilizar esa energía para la adquisición de nutrientes limitantes (Van de Waal y Litchman, 2020). Sin embargo, lo anterior ha sido cuestionado en estudios que muestran que la limitación por nitrógeno inhibe la adaptación térmica en diatomeas (Aranguren-Gassis et al., 2019). Además, las tasas metabólicas del fitoplancton pueden incrementar junto con la temperatura sólo si los nutrientes son abundantes (Marañón et al., 2012, 2014, 2018). Adicionalmente, especies formadoras de FANs podrían ser beneficiadas en algunos casos (Fu et al., 2012; Gárate-Lizárraga et al., 2016; Hallegraeff, 2010; Jöhnk et al., 2008; Paerl et al., 2014; Ruiz-de la Torre et al., 2013). Por último, se ha sugerido que el calentamiento de la superficie del océano podría reducir la demanda celular de hierro de los diazótrofos, y aliviar la limitación por este micronutriente de la fijación de nitrógeno (Jöhnk et al., 2008; Jiang et al., 2018; Levitan et al., 2007).

En el caso particular del NGC, existe incertidumbre sobre cómo y con qué magnitud la variabilidad climática de largo plazo afectará los patrones biogeoquímicos. En realidad, la mayoría de los estudios sobre variabilidad climática en el GC son limitados y enfocados únicamente en la boca de este mar marginal (e.g., Bernal et al., 2001) o considerando series de tiempo cortas que no son adecuadas para resolver la variabilidad a largo plazo (e.g., Hakspiel-Segura et al., 2022; Lluch-Cota et al., 2010). No obstante, un análisis reciente de una serie de tiempo de 25 años (1998–2022)

de datos satelitales en el Golfo reportó tendencias anuales de aumento en la temperatura del mar ($0.036^{\circ}\text{C año}^{-1}$) y de disminución en la clorofila-a ($0.012\text{ mg m}^{-3}\text{ año}^{-1}$) superficiales, asociadas principalmente con oscilaciones interanuales (i.e., “El Niño” Oscilación Sur) o decadales (i.e., Oscilación Decadal del Pacífico) en el océano Pacífico (López-Martínez et al., 2023). También se ha sugerido que la variabilidad climática puede intensificar las diferencias entre las estaciones ‘frías’ y ‘cálidas’ en el NGC (Lluch-Cota, 2000).

Considerando lo anterior, si el calentamiento de la superficie del océano provoca aumentos en la profundidad de la nitraclina y el grado de estratificación de la columna de agua, al tiempo que favorecen la deposición de polvos de origen desértico ricos en hierro y su disolución, se exacerbarán las condiciones de limitación por nitrato en el NGC. Ante este escenario, la comunidad de picofitoplancton, en especial la de fijadores de nitrógeno, podría ser la más beneficiada, y su aporte a la exportación de carbono en esta región cobraría una mayor relevancia.

5.4 Limitaciones y recomendaciones para futuras investigaciones

Después de los experimentos de fertilización en mesoescala, los experimentos en botellas son las herramientas más valiosas para estudiar la limitación por nutrientes en los sistemas marinos. Sin embargo, es importante reconocer que esta metodología es una aproximación que no contempla la combinación compleja de procesos físicos, biológicos y químicos que rigen la zona eufótica. La mera utilización de una botella para la incubación puede estresar a la comunidad de fitoplancton y afectar su comportamiento y estructura (Bannon et al., 2022). Además, en el ambiente cerrado y de volumen reducido que caracteriza a las botellas de incubación, es complicado reproducir los procesos naturales de mezcla con otras masas de agua, intercambio de gases, así como el dinamismo y la heterogeneidad que resultarían en condiciones variables de luz y disponibilidad de nutrientes (Venrick et al., 1977). No obstante, se considera que el sistema de circulación y regulación térmica (sección 3.2.3), en conjunción con la agitación frecuente de las botellas (sección 3.2.5), lograron replicar adecuadamente las condiciones de la superficie del océano durante el muestreo y el experimento (secciones 3.2.1 y 3.2.2), al tiempo que minimizaron los “efectos de botella” descritos, ya que evitó el desarrollo de diferencias significativas ($p>0.05$) entre las condiciones ambientales y las condiciones iniciales en las botellas (Tabla I). Para experimentos futuros, se sugiere bombear agua directamente desde la superficie del mar.

Las incubaciones en botellas también corren el riesgo de introducir contaminación a la muestra de agua de mar recolectada (e.g., [Li et al., 2015](#)). Por esta razón, se siguieron estrictos protocolos de limpieza durante la metodología (**sección 3**), y se reportó la concentración de los nutrientes de interés en el ambiente y después de la aclimatación en las botellas (**Tabla I**). Importantemente, que el fitoplancton haya respondido mejor a la adición del tratamiento +Fe+NO₃ que +NO₃ (**Figura 18**) indica que el protocolo de limpieza seguido evitó la contaminación por Fe en las muestras. Sin embargo, el efecto contrario (i.e., remoción de Fe) es quizás más difícil de evitar. Se ha reportado que, bajo condiciones de pH cercanas a 8.1, el Fe se adsorbe rápidamente a las partículas en el agua de mar y las paredes de las botellas utilizadas comúnmente en los estudios de limitación por este micronutriente ([Fischer et al., 2007](#); [Schlosser et al., 2011](#)). Para reducir este efecto, es recomendable pre-equilibrar las botellas con agua de mar con bajas concentraciones de Fe y optimizar la razón volumen/superficie (i.e., la razón volumen/superficie está inversamente relacionada con la magnitud de este efecto).

Finalmente, se reconoce que la exclusión deliberada de los pastoreadores puede alterar la estructura de la comunidad de fitoplancton aislada en las botellas y resultar en observaciones sesgadas ([Nogueira et al., 2014](#)). Además, es importante notar que la estrategia de filtración utilizada sólo excluyó a los pastoreadores grandes ($\geq 210 \mu\text{m}$). Consumidores del picofitoplancton pequeños y cosmopolitas, como virus y protistas ([Calbet y Landry, 2004](#); [Raven, 1998](#)), posiblemente estuvieron presentes en las botellas durante la incubación ([Cushing y Horwood, 1998](#)) y regularon el crecimiento del picofitoplancton. Junto con los pastoreadores grandes, las diatomeas más grandes y/o formadoras de colonias también pudieron ser removidas por la filtración ([Nogueira et al., 2014](#)). El efecto en conjunto de la exclusión de pastoreadores y fitoplancton grande es la alteración de las tasas de crecimiento neto y específico, y de la estructura de la comunidad. Para evitar problemas asociados con la extrapolación de los resultados del experimento al ambiente natural, se recomienda no pre-filtrar la muestra de agua de mar.

6. CONCLUSIONES

En este trabajo, se evaluaron las condiciones de limitación por hierro y nitrato sobre la comunidad fitoplanctónica en uno de los desiertos marinos ($< 0.5 \text{ mg clor-a m}^{-3}$) que se forman en el Golfo de California durante verano. Con base en el uso de proxies biogeoquímicas (razones

estequiométricas y tasas de crecimiento específico) y de un experimento de adición de nutrientes (+NO₃, +Fe, y +Fe+NO₃) de 120 hrs, se determinó la presencia de condiciones de limitación en una estación (IronMex; 29° 33.840' N, 113° 43.770' O) ubicada dentro de un parche oligotrófico en la región norte del Golfo de California durante el verano de 2019. Diferentes evidencias biogeoquímicas señalaron el potencial de limitación de N con base en las condiciones ambientales. Sin embargo, el experimento de adición de nutrientes proveyó evidencias adicionales que corroboraron el estado limitante del N y revelaron la limitación serial por Fe. Si bien se observó un aumento significativo en la clorofila-a y la abundancia de los grupos de fitoplancton en las botellas bajo el tratamiento +NO₃, la adición combinada +NO₃+Fe estimuló el mayor aumento en estas variables, y resultó en el consumo de macronutrientes hasta el agotamiento, así como en cambios drásticos en la estructura de la comunidad de fitoplancton. Si las tendencias de calentamiento de la superficie del océano continúan o se pronuncian durante el siglo XXI, se espera que la limitación por nitrógeno se exacerbe en el NGC durante veranos más cálidos. Lo anterior resalta el valor de realizar experimentos con la comunidad fitoplanctónica *in situ* para estudiar el efecto de la adición de nutrientes.

7. LISTA DE REFERENCIAS

- Agawin, N. S. R., Duarte, C. M., & Agustí, S. (2000). Nutrient and temperature control of the contribution of picoplankton to phytoplankton biomass and production. *Limnology and Oceanography*, 45(3), 591–600. <https://doi.org/10.4319/lo.2000.45.3.0591>
- Alvain, S., Moulin, C., Dandonneau, Y., & Bréon, F. M. (2005). Remote sensing of phytoplankton groups in case 1 waters from global SeaWiFS imagery. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 52(11), 1989–2004. <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2005.06.015>
- Álvarez-Borrego, S. (2002). Physical Oceanography. In T. J. Case, M. L. Cody, & E. Ezcurra (Eds.), *Island Biogeography in the Sea of Cortés II* (p. 0). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/oso/9780195133462.003.0008>
- Álvarez-Borrego, S. (2012). *Phytoplankton biomass and production in the Gulf of California: A review*. 55(2), 119–128. <https://doi.org/10.1515/bot.2011.105>

- Álvarez-Borrego, S., & Gaxiola-Castro, G. (1988). Photosynthetic parameters of northern gulf of California phytoplankton. *Continental Shelf Research*, 8(1), 37–47. [https://doi.org/10.1016/0278-4343\(88\)90023-4](https://doi.org/10.1016/0278-4343(88)90023-4)
- Álvarez-Borrego, S., & Giles-Guzmán, A. D. (2012). *Opal in Gulf of California sediments as a tool to estimate the vertical component of water exchange between the Gulf and the Pacific Ocean*. 55(2), 161–168. <https://doi.org/10.1515/bot.2011.104>
- Álvarez-Borrego, S., & Lara-Lara, J. R. (1991). The Physical Environment and Primary Productivity of the Gulf of California. In J. P. Dauphin & B. R. T. Simoneit (Eds.), *The Gulf and Peninsular Province of the Californias* (Vol. 47, p. 0). American Association of Petroleum Geologists. <https://doi.org/10.1306/M47542C26>
- Alvarez-Borrego, S., & Medellín, R. A. (2010). Physical, Chemical, and Biological Oceanography of the Gulf of California. In R. C. Brusca (Ed.), *The Gulf of California* (pp. 24–48). University of Arizona Press. <https://doi.org/10.2307/j.ctt181hwrc.6>
- Alvarez-Borrego, S., Rivera, J. A., Gaxiola-Castro, G., Acosta-Ruiz, M. J., & Schwartzlose, R. A. (1978). Nutrientes En El Golfo de California. *Ciencias Marinas*, 5(2), Article 2. <https://doi.org/10.7773/cm.v5i2.322>
- Aranguren-Gassis, M., Kremer, C. T., Klausmeier, C. A., & Litchman, E. (2019). Nitrogen limitation inhibits marine diatom adaptation to high temperatures. *Ecology Letters*, 22(11), 1860–1869. <https://doi.org/10.1111/ele.13378>
- Armstrong, F. A. J., Stearns, C. R., & Strickland, J. D. H. (1967). The measurement of upwelling and subsequent biological process by means of the Technicon Autoanalyzer® and associated equipment. *Deep Sea Research and Oceanographic Abstracts*, 14(3), 381–389. [https://doi.org/10.1016/0011-7471\(67\)90082-4](https://doi.org/10.1016/0011-7471(67)90082-4)
- Bannon, C., Rapp, I., & Bertrand, E. M. (2022). Community Interaction Co-limitation: Nutrient Limitation in a Marine Microbial Community Context. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.846890>
- Beardall, J., Stojkovic, S., & Larsen, S. (2009). Living in a high CO₂ world: Impacts of global climate change on marine phytoplankton. *Plant Ecology & Diversity*, 2(2), 191–205. <https://doi.org/10.1080/17550870903271363>
- Behrenfeld, M. J., O'Malley, R. T., Siegel, D. A., McClain, C. R., Sarmiento, J. L., Feldman, G. C., Milligan, A. J., Falkowski, P. G., Letelier, R. M., & Boss, E. S. (2006). Climate-driven

- trends in contemporary ocean productivity. *Nature*, 444(7120), Article 7120. <https://doi.org/10.1038/nature05317>
- Beier, E., & Ripa, P. (1999). Seasonal Gyres in the Northern Gulf of California. *Journal of Physical Oceanography*, 29(2), 305–311. [https://doi.org/10.1175/1520-0485\(1999\)029<0305:SGITNG>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1175/1520-0485(1999)029<0305:SGITNG>2.0.CO;2)
- Berman-Frank, I., Quigg, A., Finkel, Z. V., Irwin, A. J., & Haramaty, L. (2007). Nitrogen-fixation strategies and Fe requirements in cyanobacteria. *Limnology and Oceanography*, 52(5), 2260–2269. <https://doi.org/10.4319/lo.2007.52.5.2260>
- Bernal, G., Ripa, P., & Herguera, J. C. (2001). Oceanographic and climatic variability in the lower gulf of california: Links with the tropics and north pacific. *Ciencias Marinas*, 27(4), Article 4. <https://doi.org/10.7773/cm.v27i4.498>
- Bertilsson, S., Berglund, O., Karl, D. M., & Chisholm, S. W. (2003). Elemental composition of marine Prochlorococcus and Synechococcus: Implications for the ecological stoichiometry of the sea. *Limnology and Oceanography*, 48(5), 1721–1731. <https://doi.org/10.4319/lo.2003.48.5.1721>
- Biller, D. V., & Bruland, K. W. (2014). The central California Current transition zone: A broad region exhibiting evidence for iron limitation. *Progress in Oceanography*, 120, 370–382. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2013.11.002>
- Biller, D. V., Coale, T. H., Till, R. C., Smith, G. J., & Bruland, K. W. (2013). Coastal iron and nitrate distributions during the spring and summer upwelling season in the central California Current upwelling regime. *Continental Shelf Research*, 66, 58–72. <https://doi.org/10.1016/j.csr.2013.07.003>
- Bonnet, S., & Guieu, C. (2006). Atmospheric forcing on the annual iron cycle in the western Mediterranean Sea: A 1-year survey. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 111(C9). <https://doi.org/10.1029/2005JC003213>
- Boyce, D. G., Lewis, M. R., & Worm, B. (2010). Global phytoplankton decline over the past century. *Nature*, 466(7306), Article 7306. <https://doi.org/10.1038/nature09268>
- Bray, N. A. (1988). Water mass formation in the Gulf of California. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 93(C8), 9223–9240. <https://doi.org/10.1029/JC093iC08p09223>

- Browning, T. J., Achterberg, E. P., Rapp, I., Engel, A., Bertrand, E. M., Tagliabue, A., & Moore, C. M. (2017). Nutrient co-limitation at the boundary of an oceanic gyre. *Nature*, *551*(7679), 242–246. <https://doi.org/10.1038/nature24063>
- Browning, T. J., Al-Hashem, A. A., Hopwood, M. J., Engel, A., Wakefield, E. D., & Achterberg, E. P. (2020). Nutrient regulation of late spring phytoplankton blooms in the midlatitude North Atlantic. *Limnology and Oceanography*, *65*(6), 1136–1148. <https://doi.org/10.1002/lno.11376>
- Browning, T. J., Liu, X., Zhang, R., Wen, Z., Liu, J., Zhou, Y., Xu, F., Cai, Y., Zhou, K., Cao, Z., Zhu, Y., Shi, D., Achterberg, E. P., & Dai, M. (2022). Nutrient co-limitation in the subtropical Northwest Pacific. *Limnology and Oceanography Letters*, *7*(1), 52–61. <https://doi.org/10.1002/lol2.10205>
- Browning, T. J., & Moore, C. M. (2023). Global analysis of ocean phytoplankton nutrient limitation reveals high prevalence of co-limitation. *Nature Communications*, *14*(1), 5014. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-40774-0>
- Bruland, K. W., Franks, R. P., Knauer, G. A., & Martin, J. H. (1979). Sampling and analytical methods for the determination of copper, cadmium, zinc, and nickel at the nanogram per liter level in sea water. *Analytica Chimica Acta*, *105*, 233–245. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(01\)83754-5](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(01)83754-5)
- Bruland, K. W., Rue, E. L., & Smith, G. J. (2001). Iron and macronutrients in California coastal upwelling regimes: Implications for diatom blooms. *Limnology and Oceanography*, *46*(7), 1661–1674. <https://doi.org/10.4319/lo.2001.46.7.1661>
- Bustos-Serrano, H., & Castro-Valdez, R. (2006). Flux of nutrients in the Gulf of California: Geostrophic approach. *Marine Chemistry*, *99*(1), 210–219. <https://doi.org/10.1016/j.marchem.2005.09.012>
- Calbet, A., & Landry, M. R. (2004). Phytoplankton growth, microzooplankton grazing, and carbon cycling in marine systems. *Limnology and Oceanography*, *49*(1), 51–57. <https://doi.org/10.4319/lo.2004.49.1.0051>
- Carrillo, L., & Palacios-Hernández, E. (2002). Seasonal Evolution of the Geostrophic Circulation in the Northern Gulf of California. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, *54*(2), 157–173. <https://doi.org/10.1006/ecss.2001.0845>

- Castro, R., Lavín, M. F., & Ripa, P. (1994). Seasonal heat balance in the Gulf of California. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 99(C2), 3249–3261. <https://doi.org/10.1029/93JC02861>
- Chen, Y., Li, M., Glibert, P. M., & Heil, C. (2023). Muy waters: Modeling the succession from to strategists (diatoms to dinoflagellates) following a nutrient release from a mining facility in Florida. *Limnology and Oceanography*, 68(10), 2288–2304. <https://doi.org/10.1002/lno.12420>
- Chen, Y., Tovar-Sanchez, A., Siefert, R. L., Sañudo-Wilhelmy, S. A., & Zhuang, G. (2011). Luxury uptake of aerosol iron by *Trichodesmium* in the western tropical North Atlantic. *Geophysical Research Letters*, 38(18). <https://doi.org/10.1029/2011GL048972>
- Chinni, V., & Singh, S. K. (2022). Dissolved iron cycling in the Arabian Sea and sub-tropical gyre region of the Indian Ocean. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 317, 325–348. <https://doi.org/10.1016/j.gca.2021.10.026>
- Chinni, V., Singh, S. K., Bhushan, R., Rengarajan, R., & Sarma, V. V. S. S. (2019). Spatial variability in dissolved iron concentrations in the marginal and open waters of the Indian Ocean. *Marine Chemistry*, 208, 11–28. <https://doi.org/10.1016/j.marchem.2018.11.007>
- Chisholm, S. W. (1992). Phytoplankton Size. In P. G. Falkowski, A. D. Woodhead, & K. Vivirito (Eds.), *Primary Productivity and Biogeochemical Cycles in the Sea* (pp. 213–237). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-0762-2_12
- Cochlan, W. P., Bill, B. D., Cailipan, A. B., & Trainer, V. L. (2023). Domoic acid production by *Pseudo-nitzschia australis*: Re-evaluating the role of macronutrient limitation on toxigenicity. *Harmful Algae*, 125, 102431. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2023.102431>
- Cullen, J. J. (1991). Hypotheses to explain high-nutrient conditions in the open sea. *Limnology and Oceanography*, 36(8), 1578–1599. <https://doi.org/10.4319/lo.1991.36.8.1578>
- Cushing, D. H., & Horwood, J. W. (1998). Experiments on nutrient limitation in bottles. *Journal of Plankton Research*, 20(8), 1527–1538. <https://doi.org/10.1093/plankt/20.8.1527>
- Delgadillo-Hinojosa, F., Camacho-Ibar, V., Huerta-Díaz, M. A., Torres-Delgado, V., Pérez-Brunius, P., Lares, L., Marinone, S. G., Segovia, J. A., Peña-Manjarrez, J. L., García-Mendoza, E., & Castro, R. (2015). Seasonal behavior of dissolved cadmium and Cd/PO4 ratio in Todos Santos Bay: A retention site of upwelled waters in the Baja California peninsula, Mexico. *Marine Chemistry*, 168, 37–48. <https://doi.org/10.1016/j.marchem.2014.10.010>

- Delgadillo-Hinojosa, F., Macías-Zamora, J. V., Segovia-Zavala, J. A., & Torres-Valdés, S. (2001). Cadmium enrichment in the Gulf of California. *Marine Chemistry*, 75(1), 109–122. [https://doi.org/10.1016/S0304-4203\(01\)00028-7](https://doi.org/10.1016/S0304-4203(01)00028-7)
- Delgadillo-Hinojosa, F., Segovia-Zavala, J. A., Huerta-Díaz, M. A., & Atilano-Silva, H. (2006). Influence of geochemical and physical processes on the vertical distribution of manganese in Gulf of California waters. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 53(8), 1301–1319. <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2006.06.002>
- Deutsch, C., Gruber, N., Key, R. M., Sarmiento, J. L., & Ganachaud, A. (2001). Denitrification and N₂ fixation in the Pacific Ocean. *Global Biogeochemical Cycles*, 15(2), 483–506. <https://doi.org/10.1029/2000GB001291>
- Doney, S. C., Ruckelshaus, M., Duffy, J. E., Barry, J. P., Chan, F., English, C. A., Galindo, H. M., Grebmeier, J. M., Hollowed, A. B., Knowlton, N., Polovina, J., Rabalais, N. N., Sydeman, W. J., & Talley, L. D. (2012). Climate Change Impacts on Marine Ecosystems. *Annual Review of Marine Science*, 4(Volume 4, 2012), 11–37. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-041911-111611>
- Elrod, V. A., Johnson, K. S., Fitzwater, S. E., & Plant, J. N. (2008). A long-term, high-resolution record of surface water iron concentrations in the upwelling-driven central California region. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 113(C11). <https://doi.org/10.1029/2007JC004610>
- Endo, H., Yoshimura, T., Kataoka, T., & Suzuki, K. (2013). Effects of CO₂ and iron availability on phytoplankton and eubacterial community compositions in the northwest subarctic Pacific. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 439, 160–175. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2012.11.003>
- Escalante, F., Valdez-Holguín, J. E., Álvarez-Borrego, S., & Lara-Lara, J. R. (2013). Temporal and spatial variation of sea surface temperature, chlorophyll a, and primary productivity in the Gulf of California. *Ciencias Marinas*, 39(2), Article 2. <https://doi.org/10.7773/cm.v39i2.2233>
- Félix-Bermúdez, A., Delgadillo-Hinojosa, F., Lares, M. L., Torres-Delgado, E. V., Huerta-Díaz, M. A., Tovar-Sánchez, A., & Camacho-Ibar, V. F. (2023). Spatial variability of dissolved nickel is enhanced by mesoscale dynamics in the Gulf of Mexico. *Frontiers in Marine Science*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.1036331>

- Félix-Bermúdez, A., Delgadillo-Hinojosa, F., Torres-Delgado, E. V., & Muñoz-Barbosa, A. (2020). Does Sea Surface Temperature Affect Solubility of Iron in Mineral Dust? The Gulf of California as a Case Study. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 125(9), e2019JC015999. <https://doi.org/10.1029/2019JC015999>
- Feng, Y., Hare, C. E., Rose, J. M., Handy, S. M., DiTullio, G. R., Lee, P. A., Smith, W. O., Peloquin, J., Tozzi, S., Sun, J., Zhang, Y., Dunbar, R. B., Long, M. C., Sohst, B., Lohan, M., & Hutchins, D. A. (2010). Interactive effects of iron, irradiance and CO₂ on Ross Sea phytoplankton. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 57(3), 368–383. <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2009.10.013>
- Ferreira, A., Sá, C., Silva, N., Beltrán, C., Dias, A. M., & Brito, A. C. (2020). Phytoplankton response to nutrient pulses in an upwelling system assessed through a microcosm experiment (Algarrobo Bay, Chile). *Ocean & Coastal Management*, 190, 105167. <https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2020.105167>
- Firme, G. F., Rue, E. L., Weeks, D. A., Bruland, K. W., & Hutchins, D. A. (2003). Spatial and temporal variability in phytoplankton iron limitation along the California coast and consequences for Si, N, and C biogeochemistry. *Global Biogeochemical Cycles*, 17(1). <https://doi.org/10.1029/2001GB001824>
- Fischer, A. C., Kroon, J. J., Verburg, T. G., Teunissen, T., & Wolterbeek, H. Th. (2007). On the relevance of iron adsorption to container materials in small-volume experiments on iron marine chemistry: 55Fe-aided assessment of capacity, affinity and kinetics. *Marine Chemistry*, 107(4), 533–546. <https://doi.org/10.1016/j.marchem.2007.08.004>
- Flombaum, P., Gallegos, J. L., Gordillo, R. A., Rincón, J., Zabala, L. L., Jiao, N., Karl, D. M., Li, W. K. W., Lomas, M. W., Veneziano, D., Vera, C. S., Vrugt, J. A., & Martiny, A. C. (2013). Present and future global distributions of the marine Cyanobacteria *Prochlorococcus* and *Synechococcus*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(24), 9824–9829. <https://doi.org/10.1073/pnas.1307701110>
- Fu, F. X., Tatters, A. O., & Hutchins, D. A. (2012). Global change and the future of harmful algal blooms in the ocean. *Marine Ecology Progress Series*, 470, 207–233. <https://doi.org/10.3354/meps10047>
- Gárate-Lizárraga, I., Okolodkov, Y. B., & Cortés-Altamirano, R. (2016). Microalgas formadoras de florecimientos algales en el Golfo de California. In E. García-Mendoza, S. I. Quijano-

- Scheggia, A. Olivos-Ortiz, & E. J. Núñez-Vázquez (Eds.), *Florecimientos Algales Nocivos en México* (pp. 130–145). CICESE.
- Geider, R., & La Roche, J. (2002). Redfield revisited: Variability of C:N:P in marine microalgae and its biochemical basis. *European Journal of Phycology*, 37(1), 1–17. <https://doi.org/10.1017/S0967026201003456>
- GMAO. (2019a). *Modern-Era Retrospective analysis for Research and Applications, Version 2 (MERRA-2) 2d, 1-Hourly, Instantaneous, Single-Level, Assimilation, Land Surface Forcings* (Version 5.12.4) [Procesamiento de datos satelitales; netCDF]. Goddard Earth Sciences Data and Information Services Center (GES DISC). <https://doi.org/10.5067/RCMZA6TL70BG>
- GMAO. (2019b). *Modern-Era Retrospective analysis for Research and Applications, Version 2 (MERRA-2) 2d, 1-Hourly, Time-Averaged, Single-Level, Assimilation, Land Surface Forcings* (Version 5.12.4) [Procesamiento de datos satelitales; netCDF]. Goddard Earth Sciences Data and Information Services Center (GES DISC). <https://doi.org/10.5067/L0T5GEG1NYFA>
- Gordon, L., Jennings, J., Ross, A., & Krest, J. (1993). A Suggested Protocol for Continuous Flow Automated Analysis of Seawater Nutrients (Phosphate, Nitrate, Nitrite and Silicic Acid) in the WOCE Hydrographic Program and the Joint Global Ocean Fluxes Study. *Methods Manual WHPO*, 91–1.
- Gruber, N., & Sarmiento, J. L. (1997). Global patterns of marine nitrogen fixation and denitrification. *Global Biogeochemical Cycles*, 11(2), 235–266. <https://doi.org/10.1029/97GB00077>
- Guidi, L., Stemmann, L., Jackson, G. A., Ibanez, F., Claustre, H., Legendre, L., Picheral, M., & Gorsky, G. (2009). Effects of phytoplankton community on production, size, and export of large aggregates: A world-ocean analysis. *Limnology and Oceanography*, 54(6), 1951–1963. <https://doi.org/10.4319/lo.2009.54.6.1951>
- Hakspiel-Segura, C., Delgadillo-Hinojosa, F., Lares, M. L., Torres-Delgado, E. V., Félix-Bermúdez, A., Segovia-Zavala, J. A., Camacho-Ibar, V., Muñoz-Barbosa, A., & Millán-Núñez, E. (2023). Nitrogen limitation prevents the effects of iron or dust additions on biological carbon fixation in the Gulf of California. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 561, 151866. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2022.151866>

- Hakspiel-Segura, C., Martínez-López, A., Antonio Delgado-Contreras, J., Robinson, C. J., & Gómez-Gutiérrez, J. (2022). Temporal variability of satellite chlorophyll-*a* as an ecological resilience indicator in the central region of the Gulf of California. *Progress in Oceanography*, 205, 102825. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2022.102825>
- Hallegraeff, G. M. (2010). Ocean Climate Change, Phytoplankton Community Responses, and Harmful Algal Blooms: A Formidable Predictive Challenge. *Journal of Phycology*, 46(2), 220–235. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2010.00815.x>
- Hasle, G. R. (1978). The Inverted-Microscope Method. In A. Sournia (Ed.), *Phytoplankton manual* (pp. 88–96). UNESCO.
- Hauss, H., Franz, J. M. S., & Sommer, U. (2012). Changes in N:P stoichiometry influence taxonomic composition and nutritional quality of phytoplankton in the Peruvian upwelling. *Journal of Sea Research*, 73, 74–85. <https://doi.org/10.1016/j.seares.2012.06.010>
- Hidalgo-González, R. M., & Álvarez-Borrego, S. (2004). Total and new production in the Gulf of California estimated from ocean color data from the satellite sensor SeaWiFS. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 51(6), 739–752. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2004.05.006>
- Hutchins, D. A., DiTullio, G. R., Zhang, Y., & Bruland, K. W. (1998). An iron limitation mosaic in the California upwelling regime. *Limnology and Oceanography*, 43(6), 1037–1054. <https://doi.org/10.4319/lo.1998.43.6.1037>
- Irwin, A. J., & Oliver, M. J. (2009). Are ocean deserts getting larger? *Geophysical Research Letters*, 36(18). <https://doi.org/10.1029/2009GL039883>
- Jeffrey, S. W., & Humphrey, G. F. (1975). New spectrophotometric equations for determining chlorophylls *a*, *b*, *c*1 and *c*2 in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochimie Und Physiologie Der Pflanzen*, 167(2), 191–194. [https://doi.org/10.1016/S0015-3796\(17\)30778-3](https://doi.org/10.1016/S0015-3796(17)30778-3)
- Jiang, H.-B., Fu, F.-X., Rivero-Calle, S., Levine, N. M., Sañudo-Wilhelmy, S. A., Qu, P.-P., Wang, X.-W., Pinedo-Gonzalez, P., Zhu, Z., & Hutchins, D. A. (2018). Ocean warming alleviates iron limitation of marine nitrogen fixation. *Nature Climate Change*, 8(8), 709–712. <https://doi.org/10.1038/s41558-018-0216-8>
- Jin, X., Gruber, N., Dunne, J. P., Sarmiento, J. L., & Armstrong, R. A. (2006). Diagnosing the contribution of phytoplankton functional groups to the production and export of particulate

- organic carbon, CaCO₃, and opal from global nutrient and alkalinity distributions. *Global Biogeochemical Cycles*, 20(2). <https://doi.org/10.1029/2005GB002532>
- Jöhnk, K. D., Huisman, J., Sharples, J., Sommeijer, B., Visser, P. M., & Stroom, J. M. (2008). Summer heatwaves promote blooms of harmful cyanobacteria. *Global Change Biology*, 14(3), 495–512. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2007.01510.x>
- Karl, D., Michaels, A., Bergman, B., Capone, D., Carpenter, E., Letelier, R., Lipschultz, F., Paerl, H., Sigman, D., & Stal, L. (2002). Dinitrogen fixation in the world's oceans. *Biogeochemistry*, 57(1), 47–98. <https://doi.org/10.1023/A:1015798105851>
- King, A. L., & Barbeau, K. (2007). Evidence for phytoplankton iron limitation in the southern California Current System. *Marine Ecology Progress Series*, 342, 91–103. <https://doi.org/10.3354/meps342091>
- King, A. L., & Barbeau, K. A. (2011). Dissolved iron and macronutrient distributions in the southern California Current System. *Journal of Geophysical Research*, 116(C3), C03018. <https://doi.org/10.1029/2010JC006324>
- Klausmeier, C. A., Litchman, E., Daufresne, T., & Levin, S. A. (2004). Optimal nitrogen-to-phosphorus stoichiometry of phytoplankton. *Nature*, 429(6988), 171–174. <https://doi.org/10.1038/nature02454>
- Komjarova, I., & Blust, R. (2006). Comparison of liquid–liquid extraction, solid-phase extraction and co-precipitation preconcentration methods for the determination of cadmium, copper, nickel, lead and zinc in seawater. *Analytica Chimica Acta*, 576(2), 221–228. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2006.06.002>
- Kremling, K., Andreae, M. O., Brüggemann, L., van den Berg, C. m. g., Prange, A., Schirmacher, M., Koroleff, E., Kremling, K., & Kus, J. (1999). Determination of trace elements. In K. Grasshoff, K. Kremling, & Ehrhardt (Eds.), *Methods of Seawater Analysis* (pp. 253–364). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9783527613984.ch12>
- Kumar, A., & Bera, S. (2020). Revisiting nitrogen utilization in algae: A review on the process of regulation and assimilation. *Bioresource Technology Reports*, 12, 100584. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2020.100584>
- Kustka, A., Carpenter, E. J., & Sañudo-Wilhelmy, S. A. (2002). Iron and marine nitrogen fixation: Progress and future directions. *Research in Microbiology*, 153(5), 255–262. [https://doi.org/10.1016/S0923-2508\(02\)01325-6](https://doi.org/10.1016/S0923-2508(02)01325-6)

- Kustka, A., Sañudo-Wilhelmy, S., Carpenter, E. J., Capone, D. G., & Raven, J. A. (2003). A Revised Estimate of the Iron Use Efficiency of Nitrogen Fixation, with Special Reference to the Marine Cyanobacterium *Trichodesmium* Spp. (Cyanophyta). *Journal of Phycology*, 39(1), 12–25. <https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.2003.01156.x>
- Lampe, R. H., Mann, E. L., Cohen, N. R., Till, C. P., Thamatrakoln, K., Brzezinski, M. A., Bruland, K. W., Twining, B. S., & Marchetti, A. (2018). Different iron storage strategies among bloom-forming diatoms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(52), E12275–E12284. <https://doi.org/10.1073/pnas.1805243115>
- Landolfi, A., Koeve, W., Dietze, H., Kähler, P., & Oschlies, A. (2015). A new perspective on environmental controls of marine nitrogen fixation. *Geophysical Research Letters*, 42(11), 4482–4489. <https://doi.org/10.1002/2015GL063756>
- Lassen, M. K., Nielsen, K. D., Richardson, K., Garde, K., & Schlüter, L. (2010). The effects of temperature increases on a temperate phytoplankton community—A mesocosm climate change scenario. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 383(1), 79–88. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2009.10.014>
- Lavín, M. F., Castro, R., Beier, E., & Godínez, V. M. (2013). Mesoscale eddies in the southern Gulf of California during summer: Characteristics and interaction with the wind stress. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 118(3), 1367–1381. <https://doi.org/10.1002/jgrc.20132>
- Lavín, M. F., Durazo, R., Palacios, E., Argote, M. L., & Carrillo, L. (1997). Lagrangian Observations of the Circulation in the Northern Gulf of California. *Journal of Physical Oceanography*, 27(10), 2298–2305. [https://doi.org/10.1175/1520-0485\(1997\)027<2298:LOOTCI>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1175/1520-0485(1997)027<2298:LOOTCI>2.0.CO;2)
- Lavín, M. F., Gaxiola-Castro, G., Robles, J. M., & Richter, K. (1995). Winter water masses and nutrients in the northern Gulf of California. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 100(C5), 8587–8605. <https://doi.org/10.1029/95JC00138>
- Lavín, M. F., & Marinone, S. G. (2003). An Overview of the Physical Oceanography of the Gulf of California. In O. U. Velasco Fuentes, J. Sheinbaum, & J. Ochoa (Eds.), *Nonlinear Processes in Geophysical Fluid Dynamics: A tribute to the scientific work of Pedro Ripa* (pp. 173–204). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-010-0074-1_11

- Lavín, M. F., & Organista, S. (1988). Surface heat flux in the northern Gulf of California. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 93(C11), 14033–14038. <https://doi.org/10.1029/JC093iC11p14033>
- Ledesma-Vázquez, J., Johnson, M. E., Gonzalez-Yajimovich, O., & Santamaría-del-Angel, E. (2009). Gulf of California Geography, Geological Origins, Oceanography, and Sedimentation Patterns. In M. E. Johnson & J. Ledesma-Vázquez (Eds.), *Atlas of Coastal Ecosystems in the Western Gulf of California* (pp. 1–10). The University of Arizona Press.
- Lee-Sánchez, E., Camacho-Ibar, V. F., Velásquez-Aristizábal, J. A., Valencia-Gasti, J. A., & Samperio-Ramos, G. (2022). Impacts of mesoscale eddies on the nitrate distribution in the deep-water region of the Gulf of Mexico. *Journal of Marine Systems*, 229, 103721. <https://doi.org/10.1016/j.jmarsys.2022.103721>
- Levitan, O., Rosenberg, G., Setlik, I., Setlikova, E., Grigel, J., Klepetar, J., Prasil, O., & Berman-Frank, I. (2007). Elevated CO₂ enhances nitrogen fixation and growth in the marine cyanobacterium *Trichodesmium*. *Global Change Biology*, 13(2), 531–538. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2006.01314.x>
- Leynaert, A., Tréguer, P., Lancelot, C., & Rodier, M. (2001). Silicon limitation of biogenic silica production in the Equatorial Pacific. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 48(3), 639–660. [https://doi.org/10.1016/S0967-0637\(00\)00044-3](https://doi.org/10.1016/S0967-0637(00)00044-3)
- Li, Q., Legendre, L., & Jiao, N. (2015). Phytoplankton responses to nitrogen and iron limitation in the tropical and subtropical Pacific Ocean. *Journal of Plankton Research*, 37(2), 306–319. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbv008>
- Litchman, E., Klausmeier, C. A., Schofield, O. M., & Falkowski, P. G. (2007). The role of functional traits and trade-offs in structuring phytoplankton communities: Scaling from cellular to ecosystem level. *Ecology Letters*, 10(12), 1170–1181. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2007.01117.x>
- Lluch-Cota, S. E., Parés-Sierra, A., Magaña-Rueda, V. O., Arreguín-Sánchez, F., Bazzino, G., Herrera-Cervantes, H., & Lluch-Belda, D. (2010). Changing climate in the Gulf of California. *Progress in Oceanography*, 87(1), 114–126. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2010.09.007>
- Lluch-Cota, S.-E. (2000). Coastal upwelling in the eastern Gulf of California. *Oceanologica Acta*, 23(6), 731–740. [https://doi.org/10.1016/S0399-1784\(00\)00121-3](https://doi.org/10.1016/S0399-1784(00)00121-3)

- Locarnini, R. A., Mishonov, A. V., Baranova, O. K., Boyer, T. P., Zweng, M. M., Garcia, H. E., Reagan, J. R., Seidov, D., Weathers, K., Paver, C. R., & Smolyar, I. V. (2018). *World Ocean Atlas 2018, Volume 1: Temperature* [netCDF]. NOAA Atlas NESDIS 81. <https://www.ncei.noaa.gov/products/world-ocean-atlas>
- Lonsdale, P. (1989). Geology and tectonic history of the Gulf of California. In E. L. Winterer, D. M. Hussong, & R. W. Decker (Eds.), *The Eastern Pacific Ocean and Hawaii: Vol. N* (p. 0). Geological Society of America. <https://doi.org/10.1130/DNAG-GNA-N.499>
- López-Martínez, J., Farach-Espinoza, E. B., Herrera-Cervantes, H., & García-Morales, R. (2023). Long-Term Variability in Sea Surface Temperature and Chlorophyll a Concentration in the Gulf of California. *Remote Sensing*, *15*(16), Article 16. <https://doi.org/10.3390/rs15164088>
- Maclsaac, E. A., & Stockner, J. G. (1993). Enumeration of Phototrophic Picoplankton by Autofluorescence Microscopy. In *Handbook of Methods in Aquatic Microbial Ecology*. CRC Press.
- Maldonado, M. T., Hughes, M. P., Rue, E. L., & Wells, M. L. (2002). The effect of Fe and Cu on growth and domoic acid production by *Pseudo-nitzschia multiseries* and *Pseudo-nitzschia australis*. *Limnology and Oceanography*, *47*(2), 515–526. <https://doi.org/10.4319/lo.2002.47.2.0515>
- Maldonado, M. T., & Price, N. M. (1996). Influence of N substrate on Fe requirements of marine centric diatoms. *Marine Ecology Progress Series*, *141*, 161–172. <https://doi.org/10.3354/meps141161>
- Malone, T. C. (1980). Size-Fractionated Primary Productivity of Marine Phytoplankton. In P. G. Falkowski (Ed.), *Primary Productivity in the Sea* (pp. 301–319). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4684-3890-1_17
- Marañón, E. (2015). Cell Size as a Key Determinant of Phytoplankton Metabolism and Community Structure. *Annual Review of Marine Science*, *7*(Volume 7, 2015), 241–264. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-010814-015955>
- Marañón, E., Cermeño, P., Huete-Ortega, M., López-Sandoval, D. C., Mouriño-Carballido, B., & Rodríguez-Ramos, T. (2014). Resource Supply Overrides Temperature as a Controlling Factor of Marine Phytoplankton Growth. *PLOS ONE*, *9*(6), e99312. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0099312>

- Marañón, E., Cermeño, P., Latasa, M., & Tadonlélé, R. D. (2012). Temperature, resources, and phytoplankton size structure in the ocean. *Limnology and Oceanography*, 57(5), 1266–1278. <https://doi.org/10.4319/lo.2012.57.5.1266>
- Marañón, E., Lorenzo, M. P., Cermeño, P., & Mouriño-Carballido, B. (2018). Nutrient limitation suppresses the temperature dependence of phytoplankton metabolic rates. *The ISME Journal*, 12(7), 1836–1845. <https://doi.org/10.1038/s41396-018-0105-1>
- Margalef, R. (1958). Temporal Succession and Spatial Heterogeneity in Phytoplankton. In A. A. Buzzati-Traverso (Ed.), *Perspectives in Marine Biology* (DGO-Digital original, 1, pp. 323–350). University of California Press. <https://doi.org/10.2307/jj.8441698.27>
- Marinone, S. G. (2003). A three-dimensional model of the mean and seasonal circulation of the Gulf of California. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 108(C10). <https://doi.org/10.1029/2002JC001720>
- Marinone, S. G., & Lavín, M. F. (2003). Residual Flow and Mixing in the Large Islands Region of the Central Gulf of California. In O. U. Velasco Fuentes, J. Sheinbaum, & J. Ochoa (Eds.), *Nonlinear Processes in Geophysical Fluid Dynamics: A tribute to the scientific work of Pedro Ripa* (pp. 213–236). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-010-0074-1_13
- McGillicuddy, D. J. (2016). Mechanisms of Physical-Biological-Biogeochemical Interaction at the Oceanic Mesoscale. *Annual Review of Marine Science*, 8(Volume 8, 2016), 125–159. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-010814-015606>
- Mercado-Santana, J. A., Santamaría-del-Ángel, E., González-Silvera, A., Sánchez-Velasco, L., Gracia-Escobar, M. F., Millán-Núñez, R., & Torres-Navarrete, C. (2017). Productivity in the Gulf of California large marine ecosystem. *Environmental Development*, 22, 18–29. <https://doi.org/10.1016/j.envdev.2017.01.003>
- Michaels, A. F., Olson, D., Sarmiento, J. L., Ammerman, J. W., Fanning, K., Jahnke, R., Knap, A. H., Lipschultz, F., & Prospero, J. M. (1996). Inputs, losses and transformations of nitrogen and phosphorus in the pelagic North Atlantic Ocean. *Biogeochemistry*, 35(1), 181–226. <https://doi.org/10.1007/BF02179827>
- Michaels, A. F., & Silver, M. W. (1988). Primary production, sinking fluxes and the microbial food web. *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers*, 35(4), 473–490. [https://doi.org/10.1016/0198-0149\(88\)90126-4](https://doi.org/10.1016/0198-0149(88)90126-4)

- Millán-Nuñez, E., Delgadillo-Hinojosa, F., Hakspiel-Segura, C., Torres-Delgado, E. V., Félix-Bermúdez, A., Segovia-Zavala, J. A., Camacho-Ibar, V. F., & Muñoz-Barbosa, A. (2023). Composición y biomasa fitoplanctónica bajo condiciones oligotróficas en la cuenca de Guaymas (golfo de California). *Ciencias Marinas*. <https://doi.org/10.7773/cm.y2023.3302>
- Mills, M. M., Brown, Z. W., Laney, S. R., Ortega-Retuerta, E., Lowry, K. E., van Dijken, G. L., & Arrigo, K. R. (2018). Nitrogen Limitation of the Summer Phytoplankton and Heterotrophic Prokaryote Communities in the Chukchi Sea. *Frontiers in Marine Science*, 5. <https://doi.org/10.3389/fmars.2018.00362>
- Mills, M. M., Ridame, C., Davey, M., La Roche, J., & Geider, R. J. (2004). Iron and phosphorus co-limit nitrogen fixation in the eastern tropical North Atlantic. *Nature*, 429(6989), 292–294. <https://doi.org/10.1038/nature02550>
- Moisander, P. H., Zhang, R., Boyle, E. A., Hewson, I., Montoya, J. P., & Zehr, J. P. (2012). Analogous nutrient limitations in unicellular diazotrophs and *Prochlorococcus* in the South Pacific Ocean. *The ISME Journal*, 6(4), 733–744. <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.152>
- Monod, J. (1942). *Recherches sur la croissance des cultures bactériennes* (Vol. 1). Hermann & Cie.
- Morán, X. A. G., López-Urrutia, Á., Calvo-Díaz, A., & Li, W. K. W. (2010). Increasing importance of small phytoplankton in a warmer ocean. *Global Change Biology*, 16(3), 1137–1144. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2009.01960.x>
- Mouriño-Carballido, B., Hojas, E., Cermeño, P., Chouciño, P., Fernández-Castro, B., Latasa, M., Marañón, E., Morán, X. A. G., & Vidal, M. (2016). Nutrient supply controls picoplankton community structure during three contrasting seasons in the northwestern Mediterranean Sea. *Marine Ecology Progress Series*, 543, 1–19. <https://doi.org/10.3354/meps11558>
- Muñoz-Barbosa, A., Delgadillo-Hinojosa, F., Torres-Delgado, E. V., Félix-Bermúdez, A., & Castro, R. (2020). Bajacalifornian dust deposition and atmospheric input of iron to the Gulf of California during the summer. *Marine Chemistry*, 225, 103850. <https://doi.org/10.1016/j.marchem.2020.103850>
- Muñoz-Barbosa, A., Segovia-Zavala, J. A., Huerta-Díaz, M. A., Delgadillo-Hinojosa, F., Torres-Delgado, E. V., Lares, M. L., Marinone, S. G., & Gutiérrez-Galindo, E. A. (2017). Atmospheric iron fluxes in the northern region of the Gulf of California: Implications for

- primary production and potential Fe limitation. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 129, 69–79. <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2017.10.008>
- NASA OB.DAAC. (2019). *Aqua Moderate Resolution Imaging Spectroradiometer (MODIS) Level-3 Ocean Color Data* [Procesamiento de datos satelitales; netCDF]. NASA Ocean Color. <https://oceandata.sci.gsfc.nasa.gov/l3/>
- NASA OB.DAAC. (2023). *Aqua Moderate Resolution Imaging Spectroradiometer (MODIS) Level-3 Ocean Color Data* [Procesamiento de datos satelitales; netCDF]. NASA Ocean Color. <https://oceandata.sci.gsfc.nasa.gov/l3/>
- NASA OB.PG. (2019). *Sea Data Analysis Software* (Version 7.5.3) [Computer software]. <https://seadas.gsfc.nasa.gov/>
- Nogueira, P., Domingues, R. B., & Barbosa, A. B. (2014). Are microcosm volume and sample pre-filtration relevant to evaluate phytoplankton growth? *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 461, 323–330. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2014.09.006>
- Ocean Productivity. (2002). *Net Primary Productivity Products from the Carbon-based Production Model-2 (CbPM2)* (Version R2022) [Procesamiento de datos satelitales; HDF]. Oregon State University Ocean Productivity website. <http://sites.science.oregonstate.edu/ocean.productivity/>
- Paerl, H. W., Hall, N. S., Peierls, B. L., & Rossignol, K. L. (2014). Evolving Paradigms and Challenges in Estuarine and Coastal Eutrophication Dynamics in a Culturally and Climatically Stressed World. *Estuaries and Coasts*, 37(2), 243–258. <https://doi.org/10.1007/s12237-014-9773-x>
- Palacios-Hernández, E., Beier, E., Lavín, M. F., & Ripa, P. (2002). *The Effect of the Seasonal Variation of Stratification on the Circulation of the Northern Gulf of California*. https://journals.ametsoc.org/view/journals/phoc/32/3/1520-0485_2002_032_0705_teotsv_2.0.co_2.xml
- Polovina, J. J., Dunne, J. P., Woodworth, P. A., & Howell, E. A. (2011). Projected expansion of the subtropical biome and contraction of the temperate and equatorial upwelling biomes in the North Pacific under global warming. *ICES Journal of Marine Science*, 68(6), 986–995. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsq198>
- Polovina, J. J., Howell, E. A., & Abecassis, M. (2008). Ocean's least productive waters are expanding. *Geophysical Research Letters*, 35(3). <https://doi.org/10.1029/2007GL031745>

- Portela, E., Beier, E., Barton, E. D., Castro, R., Godínez, V., Palacios-Hernández, E., Fiedler, P. C., Sánchez-Velasco, L., & Trasviña, A. (2016). Water Masses and Circulation in the Tropical Pacific off Central Mexico and Surrounding Areas. *Journal of Physical Oceanography*, 46(10), 3069–3081. <https://doi.org/10.1175/JPO-D-16-0068.1>
- PREDMAR-CICESE. (2019). *Predicción de Mareas: Bahía de Los Ángeles, Septiembre 2019* [Calendario mensual de mareas]. CICESE. <https://predmar.cicese.mx/calmen/pdf/bla/bla1909.pdf>
- Puigcorbé, V., Benitez-Nelson, C. R., Masqué, P., Verdeny, E., White, A. E., Popp, B. N., Prahl, F. G., & Lam, P. J. (2015). Small phytoplankton drive high summertime carbon and nutrient export in the Gulf of California and Eastern Tropical North Pacific. *Global Biogeochemical Cycles*, 29(8), 1309–1332. <https://doi.org/10.1002/2015GB005134>
- Quigg, A., Finkel, Z. V., Irwin, A. J., Rosenthal, Y., Ho, T.-Y., Reinfelder, J. R., Schofield, O., Morel, F. M. M., & Falkowski, P. G. (2003). The evolutionary inheritance of elemental stoichiometry in marine phytoplankton. *Nature*, 425(6955), 291–294. <https://doi.org/10.1038/nature01953>
- Raven, J. A. (1998). The twelfth Tansley Lecture. Small is beautiful: The picophytoplankton. *Functional Ecology*, 12(4), 503–513. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2435.1998.00233.x>
- Redfield, A. (1934). On the proportions of organic derivatives in sea water and their relation to the composition of plankton. In R. J. Daniel (Ed.), *James Johnstone memorial volume* (pp. 177–192). University Press of Liverpool.
- Redfield, A. C. (1958). The Biological Control of Chemical Factors in the Environment. *American Scientist*, 46(3), 230A – 221.
- Redfield, A. C., Ketchum, B. H., & Richards, F. A. (1963). The Influence of Organisms on the Composition of the Sea Water. In M. N. Hill (Ed.), *The Sea* (Vol. 2, pp. 26–77). Interscience Publishers.
- Ripa, P. (1997). *Toward a Physical Explanation of the Seasonal Dynamics and Thermodynamics of the Gulf of California*. https://journals.ametsoc.org/view/journals/phoc/27/5/1520-0485_1997_027_0597_tapeot_2.0.co_2.xml
- Roden, G. I. (1958). Oceanographic and Meteorological Aspects of the Gulf of California. *Pacific Science*, 12(1), 21–45.

- Roden, G. I. (1964). Oceanographic Aspects of Gulf of California. In T. H. van Andel & G. G. Shor Jr. (Eds.), *Marine Geology of the Gulf of California: A symposium* (Vol. 3, p. 0). American Association of Petroleum Geologists. <https://doi.org/10.1306/M3359C2>
- Ruiz-de la Torre, M. C., Maske, H., Ochoa, J., & Almeda-Jauregui, C. O. (2013). Correction: Maintenance of Coastal Surface Blooms by Surface Temperature Stratification and Wind Drift. *PLOS ONE*, 8(6), 10.1371/annotation/a2f49bbd. <https://doi.org/10.1371/annotation/a2f49bbd-e226-4a15-900a-5946cff07d75>
- Rusnak, G. A., Fisher, R. L., & Shepard, F. P. (1964). Bathymetry and Faults of Gulf of California 1. In T. H. van Andel & G. G. Shor Jr. (Eds.), *Marine Geology of the Gulf of California: A symposium* (Vol. 3, p. 0). American Association of Petroleum Geologists. <https://doi.org/10.1306/M3359C3>
- Santamaría-del-Ángel, E., Álvarez-Borrego, S., & Müller-Karger, F. E. (1994). Gulf of California biogeographic regions based on coastal zone color scanner imagery. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 99(C4), 7411–7421. <https://doi.org/10.1029/93JC02154>
- Sarthou, G., Timmermans, K. R., Blain, S., & Tréguer, P. (2005). Growth physiology and fate of diatoms in the ocean: A review. *Journal of Sea Research*, 53(1), 25–42. <https://doi.org/10.1016/j.seares.2004.01.007>
- Schlitzer, R. (2023). *Ocean Data View* (Version 5.6.5) [Computer software]. <https://odv.awi.de>
- Schlösser, C., De La Rocha, C. L., & Croot, P. L. (2011). Effects of iron surface adsorption and sample handling on iron solubility measurements. *Marine Chemistry*, 127(1), 48–55. <https://doi.org/10.1016/j.marchem.2011.07.008>
- Schuback, N., Schallenberg, C., Duckham, C., Maldonado, M. T., & Tortell, P. D. (2015). Interacting Effects of Light and Iron Availability on the Coupling of Photosynthetic Electron Transport and CO₂-Assimilation in Marine Phytoplankton. *PLOS ONE*, 10(7), e0133235. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133235>
- Segovia-Zavala, J. A., Delgadillo-Hinojosa, F., Lares-Reyes, M. L., Huerta-Díaz, M. A., Muñoz-Barbosa, A., Santamaría-del-Ángel, E., Torres-Delgado, E. V., & Sañudo-Wilhelmy, S. A. (2011). Vertical distribution of dissolved iron, copper, and cadmium in Ballenas Channel, Gulf of California. *Ciencias Marinas*, 37(4A), Article 4A. <https://doi.org/10.7773/cm.v37i4A.1967>

- Segovia-Zavala, J. A., Delgadillo-Hinojosa, F., Lares-Reyes, M. L., Huerta-Díaz, M. A., Muñoz-Barbosa, A., & Torres-Delgado, E. V. (2009). Atmospheric input and concentration of dissolved iron in the surface layer of the Gulf of California. *Ciencias Marinas*, 35(1), Article 1. <https://doi.org/10.7773/cm.v35i1.1432>
- Segovia-Zavala, J. A., Lares, M. L., Delgadillo-Hinojosa, F., Tovar-Sánchez, A., & Sañudo-Wilhelmy, S. A. (2010). Dissolved iron distributions in the central region of the Gulf of California, México. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 57(1), 53–64. <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2009.10.007>
- Seubert, E. L., Gellene, A. G., Campbell, V., Smith, J., Robertson, G., & Caron, D. A. (2017). Incubation experiments to determine the response of a natural plankton community to treated sewage effluent. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 186, 250–262. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2016.07.018>
- Simpson, J. H., & Bowers, D. (1981). Models of stratification and frontal movement in shelf seas. *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers*, 28(7), 727–738. [https://doi.org/10.1016/0198-0149\(81\)90132-1](https://doi.org/10.1016/0198-0149(81)90132-1)
- Simpson, J. H., Souza, A. J., & Lavín, M. F. (1994). Tidal Mixing in the Gulf of California. In K. J. Beven, P. C. Chatwin, & J. H. Millbank (Eds.), *Mixing and Transport in the Environment* (pp. 169–182). Wiley. <https://nora.nerc.ac.uk/id/eprint/503312/1/simsonetalgul1994.pdf>
- Sommer, U., & Lengfellner, K. (2008). Climate change and the timing, magnitude, and composition of the phytoplankton spring bloom. *Global Change Biology*, 14(6), 1199–1208. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2008.01571.x>
- Sommer, U., & Lewandowska, A. (2011). Climate change and the phytoplankton spring bloom: Warming and overwintering zooplankton have similar effects on phytoplankton. *Global Change Biology*, 17(1), 154–162. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2010.02182.x>
- Sverdrup, H. U. (1939). *The Gulf of California: Preliminary Discussion of the Cruise of the “E. W. Scripps” in February and March, 1939*. <https://escholarship.org/uc/item/9j62f2x9>
- Timmermans, K. R., Stolte, W., & de Baar, H. J. W. (1994). Iron-mediated effects on nitrate reductase in marine phytoplankton. *Marine Biology*, 121(2), 389–396. <https://doi.org/10.1007/BF00346749>
- Torres-Delgado, E. V., Delgadillo-Hinojosa, F., Camacho-Ibar, V. F., Huerta-Díaz, M. A., Segovia-Zavala, J. A., Hernández-Ayón, J. M., & Galindo-Bect, S. (2013). Wintertime enrichment

- of inorganic nutrients in the Ballenas Channel, Gulf of California. *Ciencias Marinas*, 39(2), Article 2. <https://doi.org/10.7773/cm.v39i2.2236>
- Torres-Orozco, E. (1993). *Análisis volumétrico de las masas de agua del Golfo de California* [Tesis de maestría en ciencias, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada]. <http://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1007/2881>
- Twining, B. S., Antipova, O., Chappell, P. D., Cohen, N. R., Jacquot, J. E., Mann, E. L., Marchetti, A., Ohnemus, D. C., Rauschenberg, S., & Tagliabue, A. (2021). Taxonomic and nutrient controls on phytoplankton iron quotas in the ocean. *Limnology and Oceanography Letters*, 6(2), 96–106. <https://doi.org/10.1002/lol2.10179>
- Twining, B. S., & Baines, S. B. (2022). Luxury iron uptake and storage in pennate diatoms from the equatorial Pacific Ocean. *Metallomics*, 14(7), mfac035. <https://doi.org/10.1093/mtomcs/mfac035>
- Utermöhl, H. (1958). Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. *Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie*, 9(1), 1–38. <https://doi.org/10.1080/05384680.1958.11904091>
- Van de Waal, D. B., & Litchman, E. (2020). Multiple global change stressor effects on phytoplankton nutrient acquisition in a future ocean. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 375(1798), 20190706. <https://doi.org/10.1098/rstb.2019.0706>
- Venrick, E. L., Beers, J. R., & Heinbokel, J. F. (1977). Possible consequences of containing microplankton for physiological rate measurements. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 26(1), 55–76. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(77\)90080-6](https://doi.org/10.1016/0022-0981(77)90080-6)
- Venrick, E. L., & Hayward, T. L. (1984). Determining Chlorophyll on the 1984 CalCOFI Surveys. *CalCOFI Reports*, XXV, 74–79.
- Ward, B. A., Dutkiewicz, S., Moore, C. M., & Follows, M. J. (2013). Iron, phosphorus, and nitrogen supply ratios define the biogeography of nitrogen fixation. *Limnology and Oceanography*, 58(6), 2059–2075. <https://doi.org/10.4319/lo.2013.58.6.2059>
- Westberry, T., Behrenfeld, M. J., Siegel, D. A., & Boss, E. (2008). Carbon-based primary productivity modeling with vertically resolved photoacclimation. *Global Biogeochemical Cycles*, 22(2). <https://doi.org/10.1029/2007GB003078>

- White, A. E., Foster, R. A., Benitez-Nelson, C. R., Masqué, P., Verdeny, E., Popp, B. N., Arthur, K. E., & Prahl, F. G. (2013). Nitrogen fixation in the Gulf of California and the Eastern Tropical North Pacific. *Progress in Oceanography*, *109*, 1–17. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2012.09.002>
- White, A. E., Prahl, F. G., Letelier, R. M., & Popp, B. N. (2007). Summer surface waters in the Gulf of California: Prime habitat for biological N₂ fixation. *Global Biogeochemical Cycles*, *21*(2). <https://doi.org/10.1029/2006GB002779>
- Wilkerson, F. P., Dugdale, R. C., Kudela, R. M., & Chavez, F. P. (2000). Biomass and productivity in Monterey Bay, California: Contribution of the large phytoplankton. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, *47*(5), 1003–1022. [https://doi.org/10.1016/S0967-0645\(99\)00134-4](https://doi.org/10.1016/S0967-0645(99)00134-4)
- Zhang, C., Yao, X., Chen, Y., Chu, Q., Yu, Y., Shi, J., & Gao, H. (2019). Variations in the phytoplankton community due to dust additions in eutrophication, LNLC and HNLC oceanic zones. *Science of The Total Environment*, *669*, 282–293. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.068>
- Zhu, K., Achterberg, E. P., Bates, N. R., Gerringa, L. J. A., Middag, R., Hopwood, M. J., & Gledhill, M. (2023). Influence of Changes in pH and Temperature on the Distribution of Apparent Iron Solubility in the Oceans. *Global Biogeochemical Cycles*, *37*(5), e2022GB007617. <https://doi.org/10.1029/2022GB007617>
- Zweng, M. M., Reagan, J. R., Seidov, D., Boyer, T. P., Locarnini, R. A., Garcia, H. E., Mishonov, A. V., Baranova, O. K., Weathers, K., Paver, C. R., & Smolyar, I. V. (2018). *World Ocean Atlas 2018, Volume 2: Salinity* [netCDF]. NOAA Atlas NESDIS 81. <https://www.ncei.noaa.gov/products/world-ocean-atlas>