



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS**



**“Remoción y concentración de carbono orgánico disuelto lábil en  
agua de mar y su efecto en la actividad metabólica de bacterias  
marinas”**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE OCEANÓLOGO  
PRESENTA**

**Ana Karina Hernández García**

**Ensenada, B.C., Mayo 2016**

**Remoción y concentración de carbono orgánico disuelto lábil en  
agua de mar y su efecto en la actividad metabólica de bacterias  
marinas.**

TESIS  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE OCEANÓLOGO  
PRESENTA

Ana Karina Hernández García

APROBADO POR



Dr. Ramón Cajal Medrano  
Director de Tesis



Dr. Helmut Maske Rubach  
Sinodal



Dr. Cristian Hakspiel Segura  
Sinodal

*En memoria de mi padre*

## DEDICATORIAS

*A mí mamá, Ana Luz, por su apoyo incondicional, su confianza y su amor en todo este tiempo. Eres un gran ejemplo de vida para mí.*

*A mí hermano, Israel, por su paciencia y por creer en mí en todo momento.*

*A Julio, por compartir conmigo esta gran etapa de mi vida, por escucharme, apoyarme y alentarme durante todo el proceso.*

## AGRADECIMIENTOS

*Al Dr. Ramón Cajal Medrano, por dirigir este trabajo, por el apoyo y el aprendizaje brindando durante todo este tiempo.*

*A mis sinodales, Dr. Helmut Maske Rubach y Dr. Cristian Hakspiel Segura por sus consejos en la parte experimental y teórica de este trabajo.*

*Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo otorgado durante la realización de esta tesis (Proyecto CB-2012-01/179753, No. de becario 22826).*

*A mis amigos por creer en mí, por su apoyo y su cariño que se hicieron presente aun en la distancia.*

## ÍNDICE

ÍNDICE.....	1
ÍNDICE DE TABLAS .....	4
ÍNDICE DE FIGURAS.....	6
RESUMEN .....	10
INTRODUCCIÓN .....	11
HIPÓTESIS.....	14
OBJETIVOS.....	14
MÉTODOS.....	15
❖ Descripción del área de muestreo.....	15
❖ Toma de datos hidrológicos y colecta de muestras en campo.....	17
❖ Abundancia bacteriana por conteo directo con el colorante fluorescente DAPI (4',6- diamino-2-fenilindol).....	17
❖ Carbono orgánico disuelto (DOC) .....	18
❖ Cuantificación de carbono orgánico disuelto lábil (LDOC) mediante la determinación del consumo de oxígeno disuelto .....	18
❖ Reducción del contenido de DOM por tratamiento con ozono, carbón activado y combinación de ozono y carbón activado. ....	19
❖ Respuesta de comunidades naturales de bacterias marinas costeras a la adición de diferentes concentraciones de DOM obtenida por filtración de agua de mar por 0.2 µm y posteriormente por filtración tangencial por 70 kDa. ....	20
RESULTADOS.....	27

❖	Propiedades termohalinas y oxígeno disuelto en el área de muestreo.....	27
❖	Reducción del contenido de DOM por tratamiento con ozono, carbón activado y combinación de ozono y carbón activado. ....	32
❖	Cuantificación de carbono orgánico disuelto lábil (LDOC) mediante la determinación de la concentración de oxígeno disuelto.....	36
•	Descripción estación Antares .....	37
❖	Respuesta de comunidades naturales de bacterias marinas costeras a la adición de diferentes concentraciones de DOM obtenida por filtración de agua de mar por 0.2 $\mu\text{m}$ y posteriormente por filtración tangencial por 70 kDa. ....	42
•	Agua costera.....	42
•	Estación Antares 600 metros de profundidad.....	47
•	Estación IMECOCAL 100.40 1500 metros de profundidad, diluciones de la fracción de DOM >70 kDa y <70 kDa .....	52
•	Estación IMECOCAL 100.40 1500 metros de profundidad, agua de la fracción de DOM <70 kDa.....	57
	DISCUSIÓN.....	60
❖	Reducción del contenido de DOM por tratamiento con ozono, carbón activado y combinación de ozono y carbón activado. ....	60
❖	Respuesta de comunidades naturales de bacterias marinas costeras a la adición de diferentes concentraciones de DOM obtenida por filtración de agua de mar por un filtro de policarbonato de 0.2 $\mu\text{m}$ y posteriormente por 70 kDa...64	
•	Bioensayos con agua de mar costera, diluyendo la fracción de DOM >70 kDa con agua de la estación filtrada por 0.2 $\mu\text{m}$ tamaño de poro.....	66
•	Bioensayos con agua de mar de 600 metros de la estación Antares, diluyendo la fracción de DOM >70 kDa (concentrado) con la fracción de DOM <70 kDa (permeado) e inoculando con bacterias de agua de la costa. ....	66
•	Bioensayos con agua de mar de 1500 metros de la estación IMECOCAL 100.40 diluyendo la fracción de DOM >70 kDa (concentrado) y la fracción <70 kDa (permeado) con agua de mar de la estación filtrada por 0.2 $\mu\text{m}$ y la fracción de DOM >70 kDa (concentrado) con la fracción <70 kDa (permeado) e inoculando con bacterias de agua de la costa .....	68
	CONCLUSIONES .....	71

ANEXOS .....	72
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Anexo 1 Reducción del contenido de DOM por tratamiento con ozono, carbón activado y combinación de ozono y carbón activado para muestra de agua de mar envejecida. ....</li> <li>• Anexo 2 Reducción del contenido de DOM por tratamiento con ozono, carbón activado y combinación de ozono y carbón activado para muestra de agua de mar fresca. ....</li> <li>• Anexo 3 Respuesta de comunidades naturales de bacterias marinas costeras a la adición de diferentes concentraciones de DOM obtenida por filtración de agua de mar por un filtro de policarbonato de 0.2 <math>\mu\text{m}</math> y posteriormente por 70 kDa. ....</li> <li>• Anexo 4 Respuesta de comunidades naturales de bacterias marinas costeras a la adición de diferentes concentraciones de DOM obtenida por filtración de agua de mar por un filtro de policarbonato de 0.2 <math>\mu\text{m}</math> y posteriormente por 70 kDa. ....</li> </ul>	72 73 74 75
REFERENCIAS.....	76

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla I. Tratamiento de agua de mar costera.....	22
Tabla II. Tratamiento de agua de mar 600 metros estación Antares.....	23
Tabla III. Tratamiento de agua de mar profunda (1500 metros) estación IMECOCAL 100.40 experimento 1.....	24
Tabla IV. Tratamiento de agua de mar profunda (1500 metros) estación IMECOCAL 100.40 experimento 2.....	25
Tabla V. Tratamiento de agua de mar profunda (1500 metros) estación IMECOCAL 100.40 experimento 3.....	26
Tabla VI. Consumo total de oxígeno, tasa de consumo, abundancia bacteriana, consumo de oxígeno por célula y DOC para la muestra de agua de mar envejecida y agua de mar fresca, tratada con ozono, carbón activado y ozono más carbón activado.....	36
Tabla VII. Consumo total de oxígeno, tasa de consumo de oxígeno y abundancia bacteriana para cada profundidad de la estación Antares .....	41
Tabla VIII. Consumo total de oxígeno, tasa de consumo de oxígeno, abundancia bacteriana y consumo de oxígeno por célula para la muestra de agua de mar costera. .....	46
Tabla IX. Consumo total de oxígeno, tasa de consumo de oxígeno, abundancia bacteriana y consumo de oxígeno por célula de los tratamientos de la estación Antares a 600 metros de profundidad. ....	50

Tabla X. Consumo total de oxígeno, tasa de consumo de oxígeno, abundancia bacteriana inicial y final y consumo de oxígeno por célula para los tratamientos de la estación IMECOCAL 100.40 a 1500 metros de profundidad. Experimento 1 y 2..... 56

Tabla XI. Consumo total de oxígeno, tasa de consumo de oxígeno, abundancia bacteriana de la estación IMECOCAL100.40 a 1500 metros. Experimento 3 ..... 59

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa del área de muestreo, estación Antares (●) y estación IMECOCAL 100.40 (▪).....	16
Figura 2. Perfil de temperatura obtenido con CTD para la estación Antares (●) y estación IMECOCAL 100.40 (▪).....	27
Figura 3. Perfil de salinidad obtenido con CTD para la estación Antares (●) y estación IMECOCAL 100.40 (▪).....	28
Figura 4. Diagrama TS realizado con las mediciones de la estación Antares y estación IMECOCAL 100.40 durante el crucero. Se identifican las masas de agua: Agua Transicional del Pacífico Nororiental (ENPTW), Agua Intermedia del Pacífico Subártico (PSIW), Agua Superficial del Pacífico Subártico (PSUW) y Agua Profunda del Pacífico (DPW). .....	29
Figura 5. Perfil de oxígeno obtenido con CTD para la estación Antares (●) y estación IMECOCAL 100.40 (▪).....	31
Figura 6. Comparación del consumo total de oxígeno en el tiempo entre la muestra de agua de mar envejecida y muestra de agua de mar fresca tratadas con: ozono (a y b); carbón activado (c y d) y ozono más carbón activado (e y f) durante las 99 horas de incubación en la oscuridad. Paneles izquierdos corresponden a las muestra de agua envejecida y paneles derechos a la muestra de agua fresca. Las barras muestran las desviaciones estándar de los duplicados por cada medida. ....	32
Figura 7. Tasa de consumo calculada de acuerdo a la ecuación (2), con el tratamiento de carbón activado (a y b) y ozono más carbón activado (c y d), durante	

las 99 horas de incubación en la oscuridad. Paneles izquierdos corresponden a la muestra de agua envejecida y paneles derechos a la muestra de agua fresca. .... 34

Figura 8. Consumo total de oxígeno de la estación Antares a las profundidades de 20 metros (a), 50 metros (b), 100 metros (c), 350 metros (d) y 700 metros (e) y consumo de oxígeno acumulativo (f) para todas las profundidades durante las 241 horas de incubación en la oscuridad. .... 37

Figura 9. Tasa de consumo de oxígeno calculada de acuerdo a la ecuación (2), de la estación Antares a una profundidad de 20, 100, 350 y 700 (a) y 50 (b) metros, durante las 241 horas de incubación en la oscuridad. .... 39

Figura 10. Perfil de abundancia bacteriana de la estación Antares..... 40

Figura 11. Consumo total de oxígeno (a) y consumo de oxígeno acumulativo (b) de comunidades de bacterias marinas costeras sometidas a diferente concentración de DOM, durante 102 horas de incubación en oscuridad. La concentración de DOM se realizó por SFT y el control y las diluciones se realizaron con agua de mar filtrada por un filtro de 0.2  $\mu\text{m}$  tamaño de poro..... 42

Figura 12. Tasa de consumo de oxígeno de comunidades de bacterianas marinas costeras sometidas a diferentes concentraciones de DOM (1:10, 1:5 (a) y 1:2, 10:1 (b)) calculada de acuerdo a la ecuación (2) durante las 102 horas de incubación en oscuridad. El control y las diluciones se realizaron con agua de mar filtrada por un filtro de policarbonato de 0.2  $\mu\text{m}$  tamaño de poro. .... 44

Figura 13. Consumo total de oxígeno (a) y consumo de oxígeno acumulativo (b) de agua de 600 metros de la estación Antares inoculada con comunidades costeras de

bacterias marinas. El control y las diluciones se realizaron con el agua de mar de la fracción <70 kDa (agua permeada)..... 47

Figura 14. Consumo total de oxígeno de los tratamientos de la estación Antares a una profundidad de 600 metros. Durante las primeras 4 horas de incubación en oscuridad (a) y las últimas 4 horas de las 23 horas de incubación en oscuridad (b). El control y las diluciones se realizaron con el agua de mar de la fracción <70 kDa (permeado)..... 48

Figura 15. Tasa de consumo de oxígeno, calculada de acuerdo a la ecuación (2) de todas las soluciones de la estación Antares a una profundidad de 600 metros. .... 49

Figura 16. Consumo total de oxígeno de la estación IMECOCAL 100.40. Diluciones del agua permeada (fracción de DOM <70 kDa) (a) y del agua concentrada (fracción de DOM >70 kDa) (c). Consumo de oxígeno acumulativo para las muestras diluidas del agua permeada (b) y agua concentrada (d) a una profundidad de 1500 metros, durante el tiempo de incubación en oscuridad. El control y las diluciones se realizaron con agua de mar filtrada por un filtro de policarbonato de 0.2 µm de tamaño de poro. .... 52

Figura 17. Tasa de consumo de oxígeno calculada de acuerdo a la ecuación (2) de los tratamientos de la estación IMECOCAL 100.40 a 1500 m del agua permeada (fracción de DOM <70 kDa) (a) y diluciones del agua concentrada (fracción de DOM >70 kDa) (b), durante el tiempo de incubación en oscuridad. .... 54

Figura 18. Consumo total de oxígeno (a) y consumo de oxígeno acumulativo (b) de las diluciones de la estación IMECOCAL 100.40 a una profundidad de 1500 metros,

durante el tiempo de incubación en la oscuridad. El control y las diluciones se realizaron con agua de mar permeada (fracción de DOM <70 kDa). ..... 57

Figura 19. Tasa de consumo de oxígeno de los tratamientos de la estación IMECOCAL 100.40 a una profundidad de 1500 metros, calculada de acuerdo a la ecuación (2) durante el tiempo de incubación en oscuridad. El control y las diluciones se realizaron con agua permeada (fracción de DOM <70 kDa). ..... 58

## RESUMEN

La materia orgánica disuelta (DOM por sus siglas en inglés) en el mar constituye un reservorio de carbono tan grande como el CO<sub>2</sub> atmosférico y tiene una composición química desconocida parcialmente y variable, que incluye a compuestos y moléculas de diferente tamaño y de distinta vida media. En este trabajo intentamos disminuir la variabilidad del DOM tratando agua de mar con ozono, carbón activado y la combinación de los dos últimos para disminuir la cantidad de DOM lábil antes de su uso con bioensayos con bacterias marinas. Encontramos que el carbón activado resultó ser el tratamiento más eficiente removiendo hasta un 41% del DOC lábil original. Cuando evaluamos el efecto de la concentración y del diferente tamaño molecular del DOM (>70 kDa y <70 kDa) en el consumo total de oxígeno y la tasa de respiración de bacterias marinas, encontramos que ambas variables; concentración y tamaño molecular tienen un efecto en el metabolismo de las comunidades de bacterias que inoculamos. Nuestros resultados sugieren que ambas características, es decir, la concentración del DOM así como su composición tienen un efecto en la capacidad de las bacterias marinas para degradar la materia orgánica disuelta.

**Palabras clave:** Remoción, concentración, Carbono Orgánico Disuelto.

## INTRODUCCIÓN

La materia orgánica disuelta (DOM por sus siglas en inglés) constituye un reservorio dinámico de carbono orgánico cuya magnitud es comparable al CO<sub>2</sub> atmosférico y el interés de su estudio está ligado al ciclo del carbono global y el clima del planeta (Hansell y Carlson, 2015). Los componentes clave en el ciclo de la materia orgánica en la biosfera son tres, producción, transformación y degradación. En ecosistemas acuáticos, las bacterias heterotróficas participan en las tres etapas y son las principales responsables de la mayor parte de la degradación de la materia orgánica (del Giorno y Davis, 2003).

Una fracción muy grande (~50%) del carbono orgánico producido por fotosíntesis se convierte en carbono orgánico disuelto (DOC por sus siglas en inglés) distinto del producto fotosintético. No se conoce bien estos mecanismos de transformación que están controlados en gran parte por diferentes interacciones tróficas (Azam et al., 1983; Pomeroy et al., 2007) De tal manera que es necesario conocer su destino biogeoquímico que está vinculado con los mecanismos de producción de carbono orgánico por fotosíntesis, transformación fisicoquímica y biológica y la respiración del DOC. La mayor parte del DOC proviene de la fotosíntesis del fitoplancton marino y la diversidad de los compuestos orgánicos producidos es enorme (Bertilsson y Jones, 2003; Pomeroy, 1974) A priori esperaríamos encontrar que todos los compuestos orgánicos producidos en las células de los organismos unicelulares y superiores, sean introducidos al agua de mar de una u otra manera. El tamaño o peso molecular de la DOM es mencionado con frecuencia como un factor importante que influye en la utilización microbiana de DOM (Amon y Benner, 1996). Aunque la identificación

de compuestos orgánicos individuales y grupos de compuestos orgánicos en el agua de mar se ha llevado a cabo desde hace varias décadas (Williams 1970; Liebes, 2009), estructuralmente solamente <10% del DOC de la superficie del mar y <5% del DOC del océano profundo se han podido caracterizar a nivel molecular (Libes 2009; Repeta, 2015). Se han realizado intentos para obtener información sobre el tipo de materia orgánica disuelta (DOM) en el océano a través de su tamaño molecular. Algunos métodos como el de filtración tangencial han permitido la separación de compuestos disueltos en un amplio rango de tamaños moleculares que van desde la fracción <1000 daltones hasta 0.2  $\mu\text{m}$  (Brockmeyer y Spitzzy, 2013); sin embargo, no hay un consenso en lo que respecta a la definición clara de un umbral entre los compuestos de alto y bajo peso molecular. La mayoría del DOM (75 – 80%) está asociada a compuestos de bajo peso molecular (<1000 daltones o 1 kDa), aunque dentro de la fracción de alto peso molecular, los coloides llegan a aportar del 30 al 50% del total del reservorio del DOM. Este tipo de materia orgánica coloidal está sujeta a interacciones que producen agregados espontáneamente y conducen a la formación de geles (Verdugo 2012; Wotton, 2004; Verdugo et al., 2004). Este tipo de materia orgánica ha sido el foco de interés de la investigación porque son potencialmente sitios donde se ha documentado alta actividad heterotrófica bacteriana (Azam y Long 2001; Azam y Malfatti, 2010) y sirve como punto de partida para la formación de partículas de mayor tamaño que pueden salir de la capa superficial del océano por hundimiento y es susceptible de transformaciones fisicoquímicas entre la fase disuelta y particulada como respuesta a diferentes

fluctuaciones ambientales como la radiación solar, pH y temperatura entre otros (Chen et al., 2015).

La vida media de los diferentes constituyentes del DOM es de una escala muy amplia. Algunos constituyentes son mineralizados por bacterias heterótrofas en una escala de minutos y son los compuestos más lábiles (LDOM), los semilábiles (SLDOM) son degradados en días o meses y existen otros que por su resistencia a la degradación tienen una vida media de milenios y son refractarios (RDOM) (Jiao et al., 2014; Osterholz et al., 2015). Este último tipo de compuestos constituyen la base para plantear el concepto de la bomba microbiana de carbono (BMC) (Jiao y Azam, 2011; Lechtenfeld et al., 2015). La BMC es un mecanismo biológico propuesto recientemente que explica la dinámica del DOC y su transformación y secuestro en los océanos. El secuestro de carbón por la formación de materia orgánica refractaria (RDOM) es una propiedad básica en ecosistemas marinos, similar a lo que se ha descrito para ambientes terrestres (Maier et al., 2009). Cambios en la abundancia o composición del reservorio de DOM pueden actuar como presiones selectivas que estructuran las comunidades microbianas naturales en estos sistemas. Por otro lado, cambios en la composición y estructura de comunidades microbianas pueden también impactar en la abundancia y composición del reservorio marino de DOM conduciendo a la acumulación de diferentes RDOM con diferentes edades o persistencia en distintos ambientes (Dang y Jiao, 2014). Recientemente ha aparecido información que señala que la degradación de materia orgánica disuelta en el océano profundo pudiera ser un problema de baja dilución extrema del DOM en lugar de la recalcitrancia del RDOM (Arrieta et al. 2015). En este trabajo colectamos agua a 600

y 1200 metros de dos estaciones oceanográficas en La Corriente de California para separar la DOM en dos fracciones (<70 kDa y >70 kDa) y evaluar el efecto de su concentración y tamaño en la respiración de poblaciones de bacterias marinas costeras.

## **HIPÓTESIS**

Tanto el tamaño molecular de las diferentes fracciones de la materia orgánica disuelta (DOM) así como su concentración tienen un efecto en la capacidad metabólica de las bacterias marinas para la degradación de la materia orgánica disuelta del océano. Por lo que se espera que una mayor concentración de DOM y en la fracción de tamaños mayores (>70 kDa) estimule la producción bacteriana en términos de abundancia y respiración.

## **OBJETIVOS**

1.- Examinar el efecto del tratamiento de agua de mar natural fresca y envejecida con ozonificación, carbón activado, y la combinación de ozonificación y carbón activado, en la reducción del contenido de carbono lábil examinado por bioensayos de consumo de oxígeno, y en el carbón orgánico total por combustión catalítica de muestras de agua de mar.

2.- Evaluar el efecto en la capacidad de poblaciones naturales de bacterias marinas para degradar la materia orgánica disuelta mediante el uso de bioensayos de consumo de oxígeno, inóculos de bacterias marinas y diferentes fracciones de tamaño de DOM (>70 kDa y <70 kDa) de tres diferentes estaciones oceanográficas.

## MÉTODOS

### ❖ Descripción del área de muestreo.

Los sitios de muestreo corresponden a dos estaciones de monitoreo oceanográfico, la estación Antares (116. 96° W y 31.37° N) y la estación IMECOCAL 100.40 (117.44° W y 31.35° N) esta última perteneciente al proyecto Investigaciones Mexicanas de la Corriente de California (IMECOCAL) y ambas ubicadas al suroeste de la Bahía de Todos Santos (Figura 1), los cuales fueron muestreados a finales del mes de octubre. La hidrografía de la región se caracteriza por un flujo superficial hacia el ecuador denominado Corriente de California (CC), que transporta agua relativamente fría y con baja salinidad de la región subártica (Espinosa-Carreón et al., 2001), la cual tiene influencia hasta los 300 metros de profundidad aproximadamente (Checkley y Barth, 2009), y por un flujo subsuperficial hacia los polos a lo largo del borde del talud continental, así como por eventos de surgencia costera impulsados por los vientos del noroeste durante la mayor parte del año (Muñoz et al., 2015; Durazo et al., 2010). A escala estacional, el Agua Subártica domina durante la temporada del máximo de intensidad de surgencia en la primavera y el verano mientras que la influencia de aguas tropicales y subtropicales se observa comúnmente durante finales de verano y otoño. Debido a esto, la región sureña del Sistema de la Corriente de California se considera como una zona de transición (Durazo et al., 2010). Las características típicas de la CC (bajas temperaturas y salinidad y alta concentración de oxígeno disuelto) cambian abruptamente hacia el sureste, en frente de California, en donde hay una estructura salina compleja, o Zona

Frontal Subártica, la cual se encuentra entre la CC y las masas de agua típicas del Agua Transicional del Pacífico Nororiental (Lynn y Simpson, 1987).

Debido a que en el océano Pacífico no existe una región de formación de masas de agua, las aguas profundas se agrupan en una sola y las masas de aguas superficiales e intermedias se vuelven más complejas y numerosas. A lo largo del margen oriental del Pacífico se distribuye una única capa de agua transicional y de formación de aguas intermedias en ambos hemisferios. Estas dos capas (superficial e intermedia) de agua son el producto de aguas subpolares advectadas hacia el ecuador a lo largo del margen oriental. Representando una transición de aguas frías subárticas a más cálidas y salinas, la masa de Agua Transicional del Pacífico Nororiental (ENPTW) tiene un rango de salinidad de 33.8 a 34.3 y un rango de temperatura de 11 a 20 °C (Emery y Meincke, 1986).

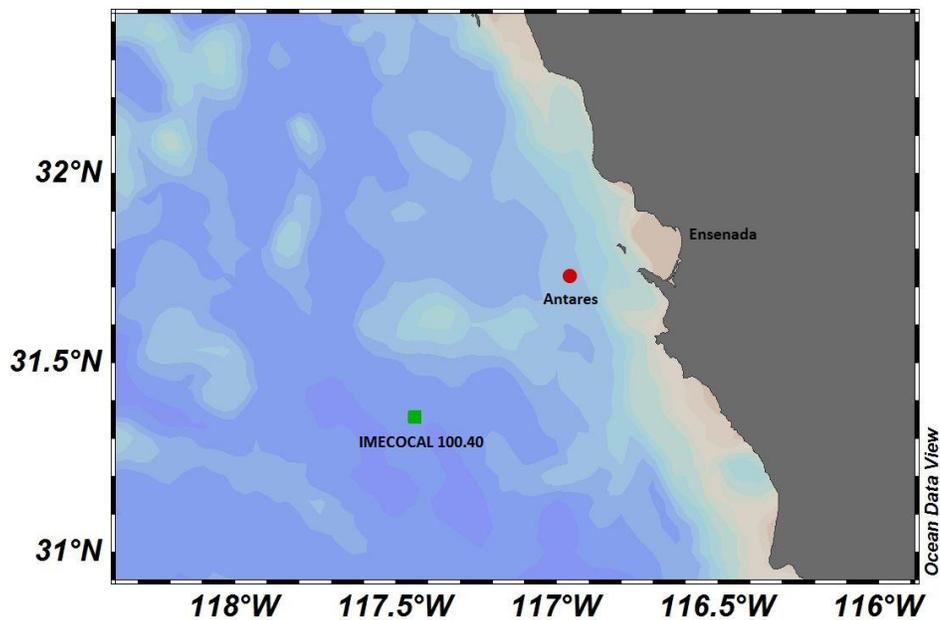


Figura 1. Mapa del área de muestreo, estación Antares (●) y estación IMECOCAL 100.40 (■).

### ❖ **Toma de datos hidrológicos y colecta de muestras en campo**

Durante el crucero OMCENS1015 (21 al 23 octubre 2015) se utilizó un perfilador de conductividad, temperatura y profundidad (CTD por sus siglas en inglés) Sea-Bird 9Plus con fluorímetro (SeaPoint SCF), Altímetro (PSA-916D) y sensores de temperatura (3plus), conductividad (4C) y oxígeno disuelto (Sea-Bird 43), asociado a un sistema Sea-Bird 11Plus en cubierta para comunicación en tiempo real. Los lances de CTD se hicieron en conjunto con una Rosetta Sea-Bird Carousel 32 con capacidad para 12 botellas Niskin de 5 litros. Para cada una de las estaciones se registraron posición geográfica, profundidad, fecha, hora y profundidad máxima del lance. Se obtuvieron muestras de la columna de agua para abundancia bacteriana, carbono orgánico particulado (POC), carbono orgánico disuelto (DOC) y carbono orgánico disuelto lábil (LDOC) únicamente en la estación Antares. En este trabajo nos enfocaremos principalmente en la estación Antares y haremos una comparación con la estación IMECOCAL 100.40.

### ❖ **Abundancia bacteriana por conteo directo con el colorante fluorescente**

#### **DAPI (4',6- diamino-2-fenilindol)**

Se colectaron 10 ml de la muestra directamente de la botella Niskin en un vial de centelleo, se fijó con una solución de formaldehído a una concentración final de 2%. Se filtró 1 ml de la muestra a través de un filtro de policarbonato negro de 0.2  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro y 25 mm de diámetro. Dicho filtro se montó en un portaobjetos con 15  $\mu\text{l}$  de una solución previamente preparada de DAPI (350  $\mu\text{L}$  de glicerol, PBS 1:1, 50  $\mu\text{L}$  de p-fenilenediamina al 0.1% y 5  $\mu\text{l}$  de DAPI 150  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ). La muestra fue observada en un microscopio de epifluorescencia Carl Zeiss, con un aumento de

100x, utilizando aceite de inmersión de baja fluorescencia y bajo a una luz de excitación de 358 nm y 461 nm. Se seleccionaron campos aleatorios hasta contar  $\geq 300$  células por muestra. La abundancia celular se determinó utilizando la ecuación 1.

$$\frac{cel}{mL} = \frac{X * F}{V} \quad (1)$$

Donde  $X$  es el promedio de células por campo,  $F$  es el cociente entre el área del filtro y el área de la rejilla y  $V$  es el volumen filtrado de la muestra.

#### ❖ **Carbono orgánico disuelto (DOC)**

La medición de carbono orgánico disuelto se realizó a partir de 40 ml del filtrado ( $< 0.4 \mu\text{m}$ ) de las muestras de agua de mar, fijadas con 200  $\mu\text{L}$  de ácido fosfórico al 50% V/V y refrigeradas por más de cuatro horas. Luego se almacenaron en la oscuridad y a temperatura ambiente en el laboratorio hasta su posterior cuantificación en un analizador de TOC/TNb Elementar modelo vario TOC cube.

#### ❖ **Cuantificación de carbono orgánico disuelto lábil (LDOC) mediante la determinación del consumo de oxígeno disuelto**

Se colectaron muestras de agua de mar de diferentes profundidades de la estación Antares (20, 50, 100, 350 y 700 metros), las cuales se filtraron por un filtro de  $0.8 \mu\text{m}$  de tamaño de poro y 47 mm de diámetro de filtro. Posteriormente se llenaron 10 botellas de vidrio para demanda bioquímica de oxígeno (DBO) de 60 ml con sensores para oxígeno “Planar Oxygen-Sensitive Spots” previamente colocados; evitando introducir burbujas de aire. Las incubaciones de las botellas se llevaron a

cabo durante 10 días en la oscuridad en el laboratorio, sumergidas en agua para evitar el ingreso de oxígeno a una temperatura entre 23 y 26 °C. Se registraron las lecturas de la concentración de oxígeno disuelto durante el periodo de incubación mediante un sensor óptico DP-PSt3-YOP y un sistema Fibox 4 (PreSens, Regensburg, Alemania). Con estos datos se estimaron los valores de consumo de oxígeno y su respectiva tasa de consumo, la cual se determinó con la ecuación 2.

$$\text{Consumo de } O_2 (\mu M h^{-1}) = \frac{\text{Concentración } O_{2\text{inicial}} - \text{Concentración } O_{2\text{final}}}{\text{tiempo inicial} - \text{tiempo final}} \quad (2)$$

❖ **Reducción del contenido de DOM por tratamiento con ozono, carbón activado y combinación de ozono y carbón activado.**

Se tomó una muestra de 20 litros de agua de mar y se dejó envejecer por tres meses, se filtró por un filtro GF/F. A partir de esta, se tomaron tres submuestras de aproximadamente 5 litros en tres diferentes matraces bola. Cada matraz fue tratado de diferente manera; el primero de ellos se ozonificó durante 24 horas y posteriormente se ventiló, es decir, se le hizo pasar un flujo de aire durante 24 horas para eliminar cualquier residuo de ozono. Al segundo se le realizó el procedimiento anterior y se le agregó aproximadamente 10 gramos de carbón activado, luego se ventiló por 24 horas de igual manera que al tratamiento previamente descrito y finalmente se filtró por un filtro de 0.2  $\mu m$  de tamaño de poro y 47 mm de diámetro. Al último matraz sólo se le agregó carbón activado y después de 24 horas se le removió por filtración con un filtro GF/F y se ventiló con aire filtrado durante 24 horas de la misma forma que los tratamientos anteriores (ver anexo 1). Posteriormente se tomaron muestras de DOC por duplicado para cada tratamiento. El carbono orgánico

disuelto lábil (LDOC) fue cuantificado mediante la determinación de la disminución de la concentración de oxígeno disuelto en el tiempo. Para ello se inoculó cada tratamiento de agua descrito a una razón 1:10 con agua de mar costera filtrada por un filtro de policarbonato de 0.8  $\mu\text{m}$  tamaño de poro y 47 mm de diámetro. Con esta agua inoculada se llenaron por duplicado 2 botellas de vidrio DBO de 150 ml con sensores para oxígeno PreSens (previamente descritos) evitando introducir burbujas de aire. Las muestras fueron incubadas en la oscuridad, sumergidas en agua para evitar el ingreso de oxígeno. Se obtuvieron datos de consumo de oxígeno y se estimaron sus respectivas tasas de consumo. Adicionalmente, se tomaron muestras para la estimación de abundancia de bacterias al tiempo inicial y al final. Se realizó lo anteriormente descrito con una muestra de 20 litros de agua de mar fresca (ver anexo 2), con el fin de comparar los diferentes tratamientos en dos tipos de agua de mar.

❖ **Respuesta de comunidades naturales de bacterias marinas costeras a la adición de diferentes concentraciones de DOM obtenida por filtración de agua de mar por 0.2  $\mu\text{m}$  y posteriormente por filtración tangencial por 70 kDa.**

Se colectó agua de mar de diferentes localidades. Una muestra de 10 litros de agua de mar superficial de la costa frente a la Facultad de Ciencias Marinas, otra de la estación Antares a una profundidad de 600 metros y de la estación de IMECOCAL 100.40 a una profundidad de 1500 metros. Las muestras fueron tratadas de igual manera, primeramente se filtraron por un filtro de 0.45  $\mu\text{m}$  y luego por un filtro Gelman de 0.2  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro. La fracción filtrada por 0.2  $\mu\text{m}$  se pasó por el

sistema de filtración tangencial (SFT) KrosFlo Research Ili TFF System, con un filtro de 70 kDa para obtener un concentrado de 1 litro, que comprende a la fracción de DOM >70 kDa y < 0.2  $\mu$ m. Para poder concentrar el agua de mar, el SFT filtra el agua dividiéndola en dos fracciones según el filtro que se le coloque. En este caso, filtra el agua a través de un filtro de 70 kDa, generando así dos fracciones de agua; la primera fracción contiene DOM <70 kDa (permeado) y la segunda de ella contiene DOM >70 kDa (concentrado). Se prepararon 4 diferentes diluciones y un control; este último se preparó en algunos tratamientos con el agua de mar filtrada por un filtro de 0.2  $\mu$ m tamaño de poro, y en otros experimentos con agua de mar de la fracción <70 kDa (Tabla I, II, III, IV y V). Para el inóculo se tomó una muestra de agua de mar de la costa (1 litro) y se filtró por un filtro de policarbonato de 0.8  $\mu$ m de tamaño de poro y 47 mm de diámetro. Por cada dilución y control se llenaron por duplicado las 10 botellas de vidrio tipo DBO de 60 ml con sensores para oxígeno “Planar Oxygen-Sensitive Spots” previamente colocados; para evitar la introducción de burbujas de aire. Las muestras fueron llevadas al laboratorio y se incubaron en la oscuridad, se sumergieron en agua para evitar el ingreso de oxígeno, manteniendo una temperatura constante de 20°C. Se registraron las lecturas de concentración de oxígeno disuelto durante el periodo de incubación mediante un sensor óptico DP-PSt3-YOP y un sistema Fibox 4 (PreSens, Resenbug, Alemania). Se estimaron los datos de consumo de oxígeno en el tiempo y se calculó su respectiva tasa de consumo. Adicionalmente, se tomaron muestras para la estimación de abundancia de bacterias al tiempo inicial y final de incubación.

Tabla I. Tratamiento de agua de mar costera. El agua fue prefiltrada primeramente por un filtro de cuerda conectado a un filtro GF/F calcinado y posteriormente por un filtro de policarbonato de 0.2  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro y en seguida varias veces por el SFT a 70 kDa, hasta concentrarla 10 veces. El concentrado se diluyó con agua de mar filtrada por un filtro de policarbonato de 0.2  $\mu\text{m}$  tamaño de poro de la siguiente manera 10:1, 1:2 1:5 y 1:1. El inóculo utilizado consiste en agua de mar de la costa filtrada por un filtro de policarbonato de 0.8  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro. El control fue agua de mar filtrada por un filtro de policarbonato de 0.2  $\mu\text{m}$  tamaño de poro.

Tratamiento del agua	Agua de mar concentrada, fracción de DOM >70 kDa (ml)	Agua de mar filtrada 0.2 $\mu\text{m}$ (ml)	Inóculo, agua de mar filtrada 0.8 $\mu\text{m}$ (ml)
Muestra diluida 10:1	500	0	50
Muestra diluida 1:2	250	250	50
Muestra diluida 1:5	100	400	50
Muestra diluida 1:1	50	450	50
Agua de mar filtrada por 0.2 $\mu\text{m}$	0	500	50

Nota: ver anexo 3

Tabla II. Tratamiento de agua de mar 600 metros estación Antares. El agua fue prefiltrada primeramente por un filtro de cuerda conectado a un filtro GF/F calcinado y posteriormente por un filtro de policarbonato de 0.2  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro y en seguida varias veces por el SFT a 70 kDa, hasta concentrarla 10 veces. El concentrado se diluyó con agua de la fracción <70 kDa (permeado) de la siguiente manera 1:5, 1:10, 1:20 y 1:100. El inóculo utilizado consiste en agua de mar de la costa filtrada por un filtro de policarbonato de 0.8  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro. El control fue con agua de la fracción <70 kDa (permeado).

Tratamiento del agua	Agua de mar concentrada, fracción de DOM >70 kDa (ml)	Agua de mar permeada, fracción de DOM <70 kDa (ml)	Inóculo, agua de mar filtrada 0.8 $\mu\text{m}$ (ml)
Muestra diluida 1:5	34	119	17
Muestra diluida 1:10	17	136	17
Muestra diluida 1:20	8.5	144.5	17
Muestra diluida 1:100	1.7	151.3	17
Fracción de agua <70 kDa	0	153	17

Nota: ver anexo 4

Tabla III. Tratamiento de agua de mar profunda (1500 metros) IMECOCAL estación 100.40 experimento 1 El agua fue prefiltrada primeramente por un filtro de cuerda conectado a un filtro GF/F calcinado y posteriormente por un filtro de policarbonato de 0.2  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro y en seguida varias veces por el SFT a 70 kDa, hasta concentrarla 10 veces. El concentrado se diluyó con agua de mar filtrada por un filtro de policarbonato de 0.2  $\mu\text{m}$  tamaño de poro de la siguiente manera 10:1, 1:2 1:5 y 1:1. El inóculo utilizado consiste en agua de mar de la costa filtrada por un filtro de policarbonato de 0.8  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro. El control fue con agua de mar filtrada por un filtro de policarbonato de 0.2  $\mu\text{m}$  tamaño de poro.

Tratamiento del agua	Agua de mar concentrada, fracción de DOM >70 kDa (ml)	Agua de mar filtrada 0.2 $\mu\text{m}$ (ml)	Inóculo, agua de mar filtrada 0.8 $\mu\text{m}$ (ml)
Muestra diluida C 10:1	315	0	35
Muestra diluida C 1:2	175	140	35
Muestra diluida C 1:5	70	245	35
Muestra diluida C 1:10	35	280	35
Agua de mar filtrada por 0.2 $\mu\text{m}$	0	153	17

Nota: ver anexo 3

Tabla IV. Tratamiento de agua de mar profunda (1500 metros) IMECOCAL estación 100.40 experimento 2. El agua fue prefiltrada primeramente por un filtro de cuerda conectado a un filtro GF/F calcinado y posteriormente por un filtro de policarbonato de 0.2  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro y en seguida varias veces por el SFT a 70 kDa, hasta concentrarla 10 veces. El permeado (fracción de agua <70 kDa) se diluyó con agua de mar filtrada por un filtro de policarbonato de 0.2  $\mu\text{m}$  tamaño de poro de la siguiente manera 10:1, 1:2 1:5 y 1:1. El inóculo utilizado consiste en agua de mar de la costa filtrada por un filtro de policarbonato de 0.8  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro. El control fue con agua de mar filtrada por un filtro de policarbonato de 0.2  $\mu\text{m}$  tamaño de poro.

Tratamiento del agua	Agua de mar permeada, fracción de DOM <70 kDa (ml)	Agua de mar filtrada 0.2 $\mu\text{m}$ (ml)	Inóculo, agua de mar filtrada 0.8 $\mu\text{m}$ (ml)
Muestra diluida P 10:1	153	0	17
Muestra diluida P 1:2	85	68	17
Muestra diluida P 1:5	34	119	17
Muestra diluida P 1:10	17	136	17
Agua de mar filtrada por 0.2 $\mu\text{m}$	0	153	17

Nota: ver anexo 3

Tabla V. Tratamiento de agua de mar profunda (1500 metros) IMECOCAL estación 100.40 experimento 3. El agua fue prefiltrada primeramente por un filtro de cuerda conectado a un filtro GF/F calcinado y posteriormente por un filtro de policarbonato de 0.2  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro y en seguida varias veces por el SFT a 70 kDa, hasta concentrarla 10 veces. El concentrado (fracción de agua >70 kDa) se diluyó con agua de mar filtrada por un filtro de policarbonato de 0.2  $\mu\text{m}$  tamaño de poro de la siguiente manera 10:1, 1:2 1:5 y 1:1. El inóculo utilizado consiste en agua de mar de la costa filtrada por un filtro de policarbonato de 0.8  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro. El control fue con agua de mar filtrada por un filtro de policarbonato de 0.2  $\mu\text{m}$  tamaño de poro.

Tratamiento del agua	Agua de mar concentrada, fracción de DOM >70 kDa (ml)	Agua de mar permeada, fracción de DOM <70 kDa (ml)	Inóculo agua de mar filtrada 0.8 $\mu\text{m}$ (ml)
Muestra diluida 10:1	180	0	20
Muestra diluida 1:2	100	80	20
Muestra diluida 1:5	40	140	20
Muestra diluida 1:1	20	160	20
Fracción de agua <70 kDa	0	180	20

Nota: ver anexo 4

## RESULTADOS

### ❖ Propiedades termohalinas y oxígeno disuelto en el área de muestreo

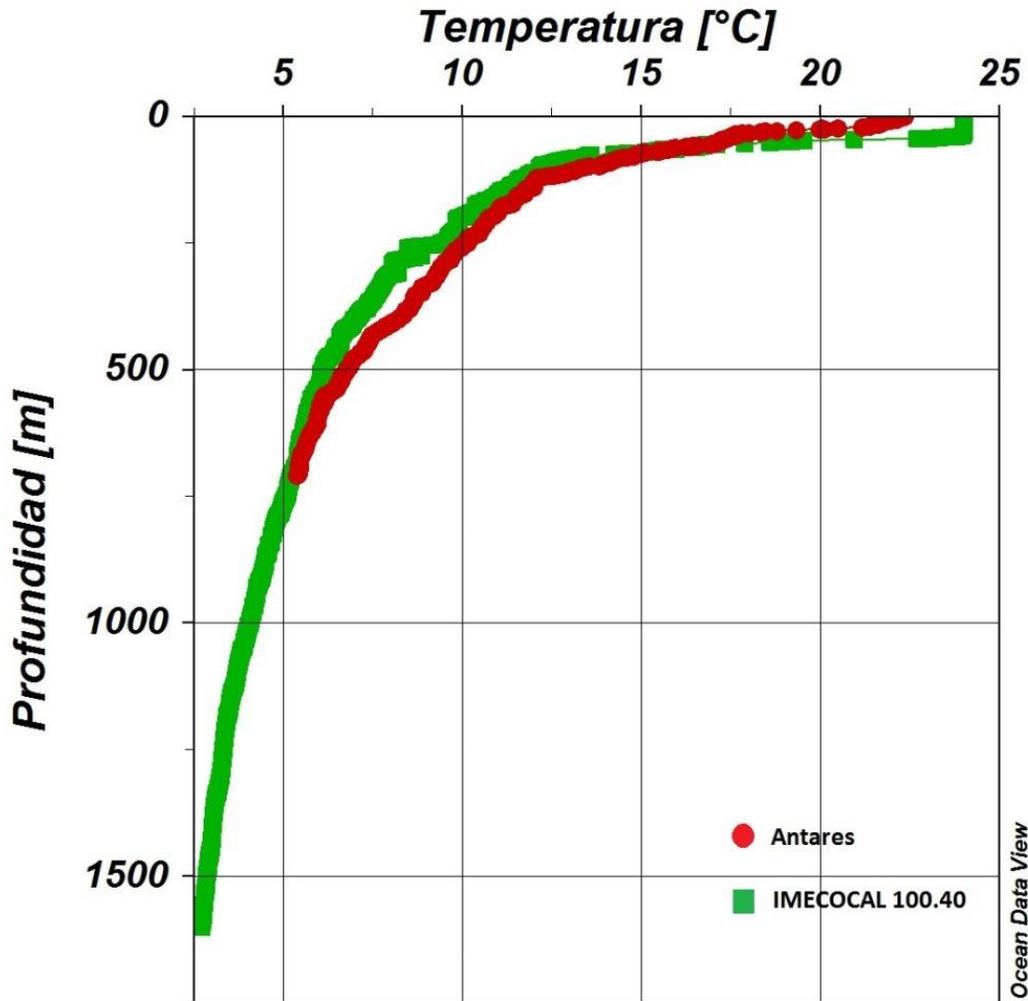


Figura 2. Perfil de temperatura obtenido con CTD para la estación Antares (●) y estación IMECOCAL 100.40 (■).

Las temperaturas máximas registradas fueron en superficie, con valores de 24.3 y 22.3 °C para las estaciones IMECOCAL 100.40 y Antares respectivamente. Las mínimas fueron de 2.7°C para la estación 100.40 a una profundidad de 1600 metros, mientras que para la estación Antares la mínima fue de 5.3°C a una profundidad de

700 metros. Cabe mencionar que la estación IMECOCAL 100.40 presentó una termoclina más profunda, a los 37 metros de profundidad comparada con la estación Antares, la cual fue a los 22 metros.

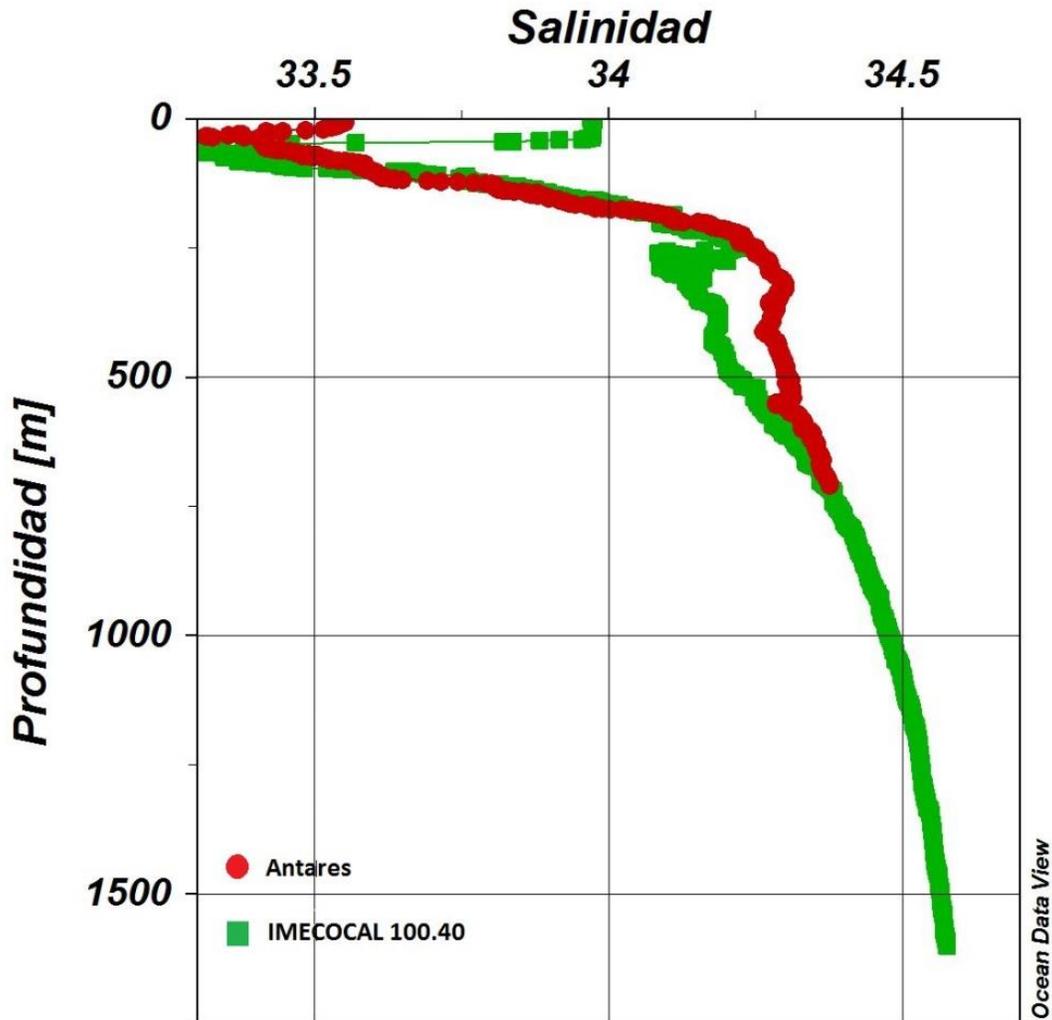


Figura 3. Perfil de salinidad obtenido con CTD para la estación Antares (●) y estación IMECOCAL 100.40 (■).

Los valores de salinidad en superficie fueron de 33.97 y 33.55 para las estaciones IMECOCAL 100.40 y Antares respectivamente, valor que permaneció constante hasta la profundidad de termoclina de cada estación. Los valores máximos de salinidad que se registraron fueron a los 700 metros con 34.37 en la estación

Antares, mientras que para la estación IMECOCAL 100.40 fue de 34.58 a los 1600 metros.

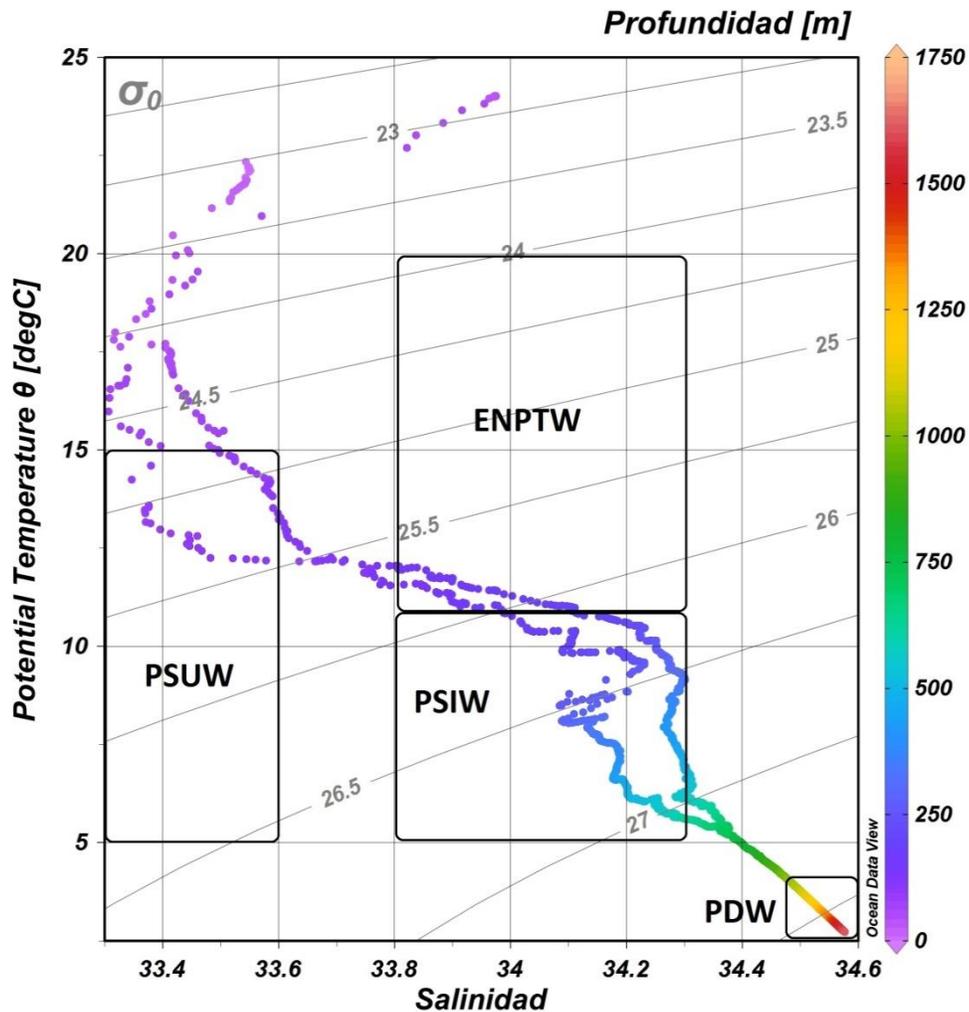


Figura 4. Diagrama TS realizado con las mediciones de la estación Antares y estación IMECOCAL 100.40 durante el crucero. Se identifican las masas de agua: Agua Transicional del Pacífico Nororiental (ENPTW), Agua Intermedia del Pacífico Subártico (PSIW), Agua Superficial del Pacífico Subártico (PSUW) y Agua Profunda del Pacífico (DPW).

El diagrama TS obtenido con los datos de CTD muestran la presencia de cuatro masas de agua, dos de las cuales son de agua superficial (0 – 500 metros), una llamada Agua Transicional del Pacífico Nororiental (ENPTW) con valores de salinidad

entre los 33.8 y 34.3 y de temperatura valores de entre los 11 y 20 °C; y Agua Superficial del Pacífico Subártico (PSUW) con valores de temperatura entre los 3 y 15 °C y de salinidad de entre 32.6 y 33.6; una masa de agua intermedia (500 – 1500 metros) llamada Agua Intermedia del Pacífico Subártico (PSIW) con valores entre los 33.8 y 34.3 de salinidad y de temperatura entre los 5 y 12 °C y una masa de agua profunda (1500 – 3000 metros) correspondiente al Agua Profunda del Pacífico (DPW). (Emery, 2013; Durazo 2015). Aunque existe la señal de estas cuatro masas de agua en las estaciones, solo dos están presentes en las profundidades a las cuales se tomaron las muestras de agua, las cuales son PSIW en la estación Antares (600 metros) y DPW en la estación IMECOCAL 100.40 (1500 metros).

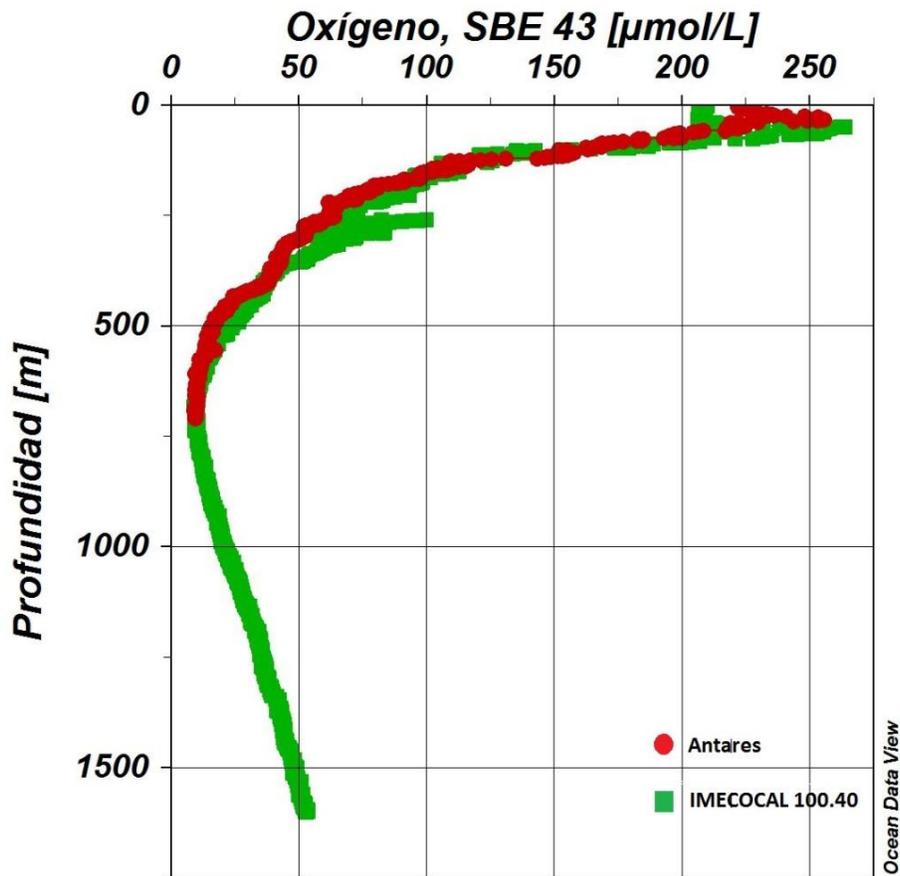


Figura 5. Perfil de oxígeno obtenido con CTD para la estación Antares (●) y estación IMECOCAL 100.40 (■).

Los valores de oxígeno registrados en superficie fueron de 222 y 208  $\mu\text{M}$  para las estaciones Antares e IMECOCAL 100.40 respectivamente, los cuales aumentaron con la profundidad hasta alcanzar los 254  $\mu\text{M}$  a los 34 metros en la estación Antares y 263  $\mu\text{M}$  a los 50 metros en la estación IMECOCAL 100.40. El núcleo de la zona de mínimo oxígeno (ZMO) se registró a los 700 metros en la estación Antares con valores de 9.8  $\mu\text{M}$ ; mientras que para la estación IMECOCAL 100.40 a los 735 metros con 10  $\mu\text{M}$ . En ésta última, la concentración de oxígeno aumentó paulatinamente con la profundidad hasta alcanzar los 50  $\mu\text{M}$  a una profundidad de 1500 metros.

❖ Reducción del contenido de DOM por tratamiento con ozono, carbón activado y combinación de ozono y carbón activado.

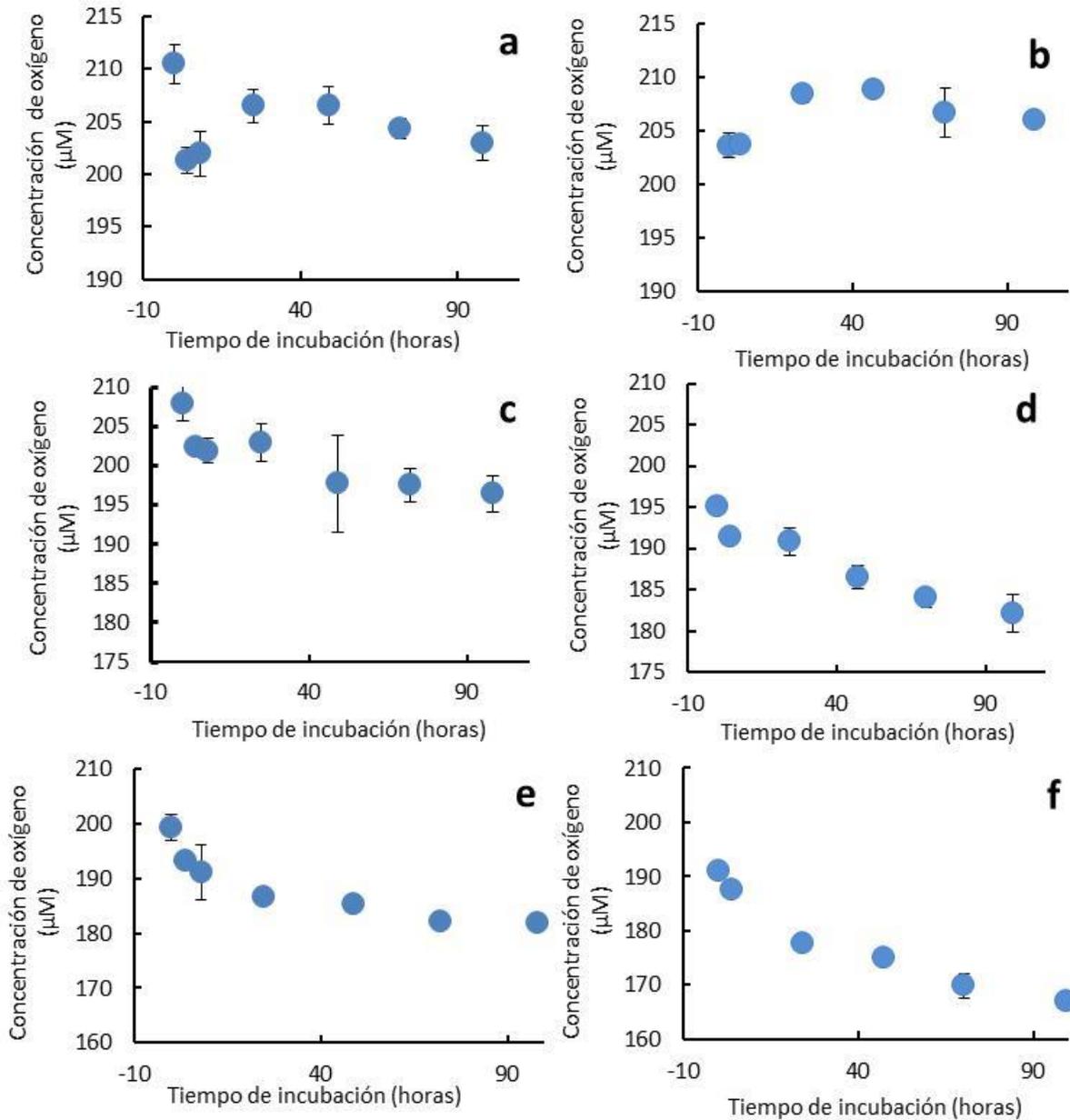


Figura 6. Comparación del consumo total de oxígeno en el tiempo entre la muestra de agua de mar envejecida y muestra de agua de mar fresca tratadas con: ozono (a y b); carbón activado (c y d) y ozono más carbón activado (e y f) durante las 99 horas de incubación en la oscuridad. Paneles izquierdos corresponden a las muestra de

agua envejecida y paneles derechos a la muestra de agua fresca. Las barras muestran las desviaciones estándar de los duplicados por cada medida.

En la figura 6 se puede observar que las muestras de agua de mar envejecida (a) y agua de mar fresca (b) con el tratamiento de ozono en general no revelaron un comportamiento claro del consumo total de oxígeno, por el contrario se presentó una aparente producción de oxígeno por la descomposición del ozono (StaeHELLN y Holgné, 1985) el cual es más evidente para la muestra de agua de mar fresca; por lo que no se pudo determinar el consumo total de oxígeno de la muestra para ninguno de los dos casos.

Para el tratamiento con carbón activado en la muestra de agua de mar fresca (d) se observó una pendiente ligeramente mayor (0.12) que la gráfica de agua de mar envejecida (Figura 6 c, 0.08) lo que nos indica un consumo total de oxígeno total fue mayor, con valores de 11.5 y 13  $\mu\text{M}$  de oxígeno para muestra de agua de mar envejecida y muestra de agua de mar fresca, respectivamente.

Para el tratamiento con ozono más carbón activado, el consumo total de oxígeno en todo el período de incubación para la muestra de agua de mar fresca (f) es evidentemente mayor con 24.2  $\mu\text{M}$  de oxígeno en comparación con la muestra de agua de mar envejecida (e) que presentó un consumo total de 17.3  $\mu\text{M}$  de oxígeno.

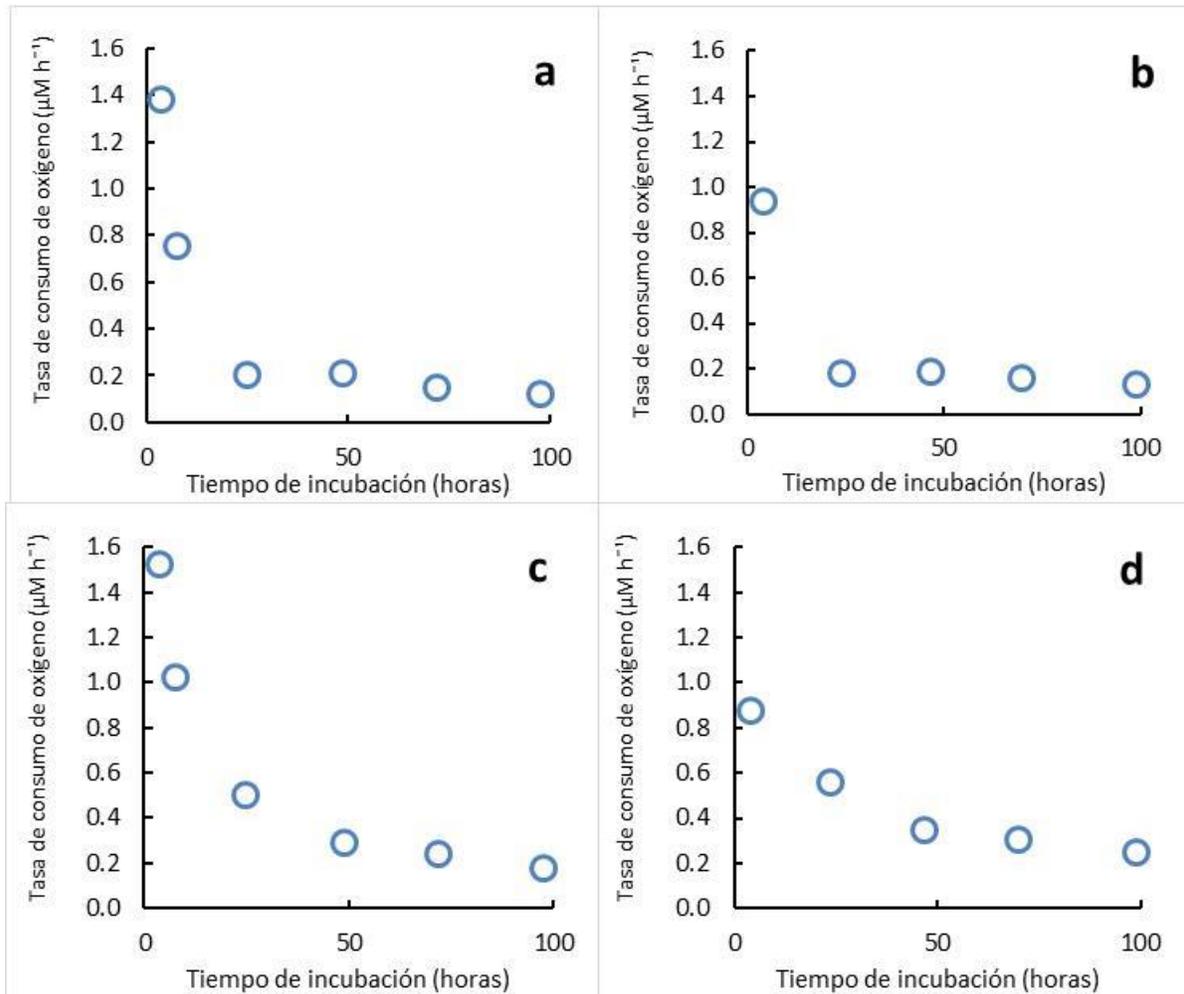


Figura 7. Tasa de consumo calculada de acuerdo a la ecuación (2), con el tratamiento de carbón activado (a y b) y ozono más carbón activado (c y d), durante las 99 horas de incubación en la oscuridad. Paneles izquierdos corresponden a las muestra de agua envejecida y paneles derechos a la muestra de agua fresca.

Respecto a la tasa de consumo (Figura. 7) se observó que en general para los dos tratamientos (tratamiento de carbón activado y ozono más carbón activado) y en ambas muestras de agua de mar (envejecida y fresca) el comportamiento fue decreciente, es decir las tasas de consumo disminuyeron con el tiempo de incubación y permanecieron casi constantes después de las 20 horas de incubación

en el tratamiento con carbón activado, y de las 47 horas de incubación en el tratamiento con ozono más carbón activado. Las tasas de consumo fueron calculadas a partir de la pendiente de la regresión lineal obtenida entre el consumo de oxígeno y el tiempo de incubación (Tabla VI). Se estimaron tasas de consumo de oxígeno de  $0.8 \mu\text{M h}^{-1}$  y  $0.12 \mu\text{M h}^{-1}$  para las muestras de agua de mar envejecida (a) y fresca (d), respectivamente, con el tratamiento de carbón activado, así como de  $0.12 \mu\text{M h}^{-1}$  y  $0.24 \mu\text{M h}^{-1}$  para las muestras de agua de mar envejecida (c) y fresca (d), respectivamente, con el tratamiento de ozono más carbón activado.

Los resultados de concentración de DOC para ambas muestras de agua (Tabla VI), tomando como control el valor del agua envejecida y agua de mar fresca sin tratar, revelaron que el carbono activado removió 10% y 41%, respectivamente. Para la muestra de agua de mar fresca tratada con ozono más carbón activado se removió 22% del DOC. Sin embargo los tratamientos de ozono y ozono más carbón activado en la muestra de agua de mar envejecida, así como el tratamiento de ozono en agua de mar fresca, registraron un incremento de 0.9%, 11% y 9% de DOC, respectivamente, respecto a sus controles. Respecto al consumo de oxígeno por célula, se observa que el tratamiento con ozono más carbón activado mostró mayor consumo en comparación con el tratamiento de carbón activado, tanto para el agua de mar envejecida y como la fresca.

Tabla VI. Consumo total de oxígeno, tasa de consumo (calculada de acuerdo a la pendiente de la regresión lineal), abundancia bacteriana, consumo de oxígeno por célula y DOC para la muestra de agua de mar envejecida y agua de mar fresca, ambas filtradas por 0.2  $\mu\text{m}$  tamaño de poro, sin tratamiento (controles) y tratada con ozono, carbón activado y ozono y carbón activado.

Tipo de agua	Tratamiento	Consumo total de oxígeno ( $\mu\text{M}$ )	Tasa de consumo de oxígeno ( $\mu\text{M h}^{-1}$ )	Abundancia bacteriana (Células $\text{ml}^{-1}$ )		Consumo de oxígeno por célula ( $\text{pM Célula}^{-1}$ )	DOC ( $\mu\text{M}$ )
				Inicial	Final		
Envejecida	Ozono	---	---	$2.81 \times 10^4$	$2.47 \times 10^4$	---	91.8
	Carbón activado	11.5	0.08	$4.01 \times 10^5$	$8.03 \times 10^5$	$1.43 \times 10^{-2}$	74.5
	Ozono y Carbón activado	17.3	0.12	$1.38 \times 10^5$	$2.78 \times 10^5$	$6.22 \times 10^{-2}$	83.2
	Control	---	---	---	---	---	82.4
Fresca	Ozono	---	---	$7.40 \times 10^3$	$7.40 \times 10^3$	---	130
	Carbón activado	13	0.12	$4.72 \times 10^5$	$4.84 \times 10^5$	$2.69 \times 10^{-2}$	70.6
	Ozono y Carbón activado	24.2	0.24	$1.06 \times 10^5$	$3.09 \times 10^5$	$7.83 \times 10^{-2}$	93.3
	Control	---	---	---	---	---	118.3

❖ **Cuantificación de carbono orgánico disuelto lábil (LDOC) mediante la determinación de la concentración de oxígeno disuelto.**

- Descripción estación Antares

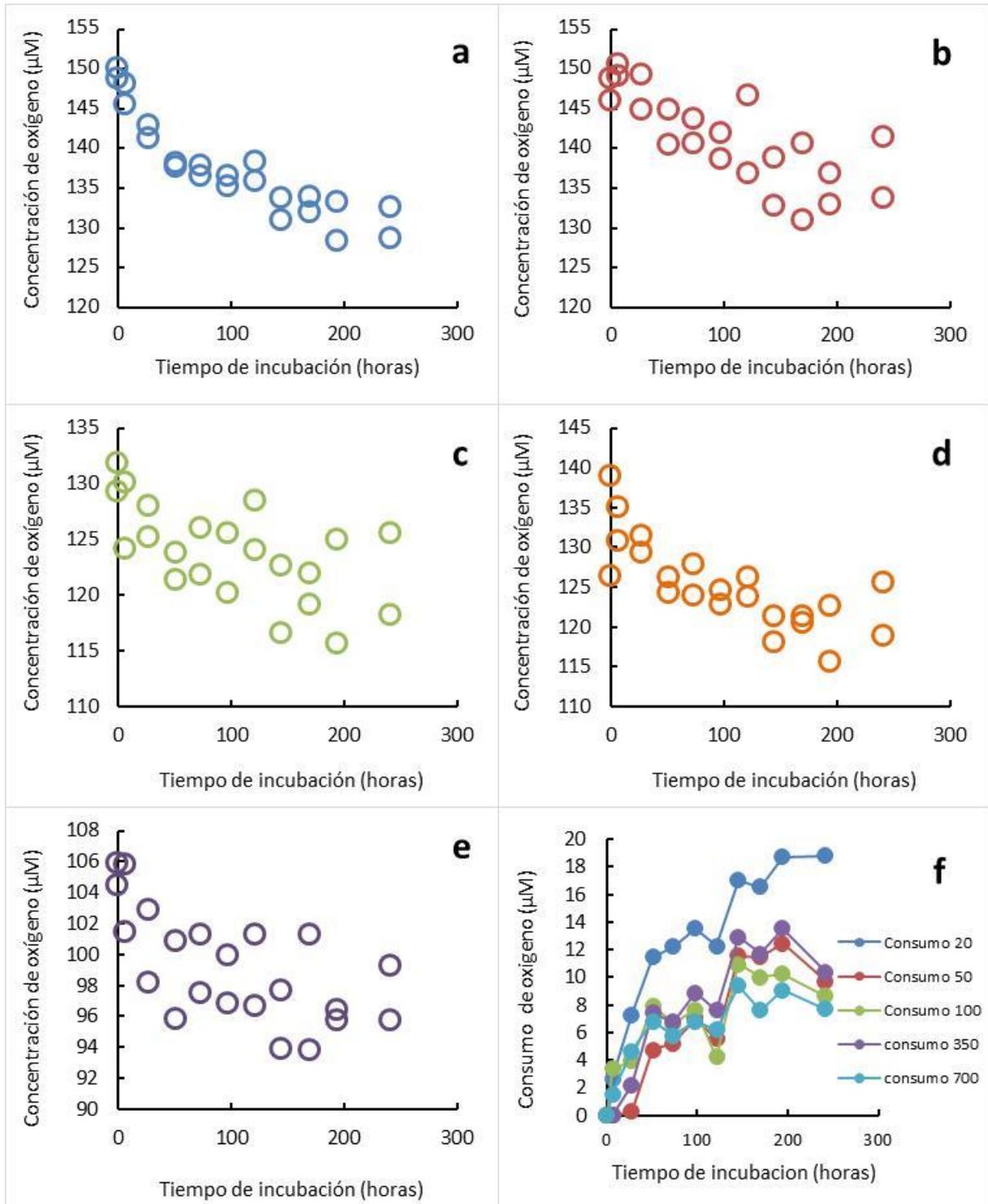


Figura 8. Consumo total de oxígeno de la estación Antares a las profundidades de 20 metros (a), 50 metros (b), 100 metros (c), 350 metros (d) y 700 metros (e) y consumo

de oxígeno acumulativo (f) para todas las profundidades durante las 241 horas de incubación en la oscuridad.

En la figura 8 se observa que la concentración inicial de oxígeno de las muestras a diferentes profundidades va desde los 150 y 105  $\mu\text{M}$ . En general todas las muestras y su respectivo duplicado tienen un comportamiento decreciente similar. Las profundidades 50 (b), 100 (c) y 700 (e) metros, muestran mayor variabilidad en comparación con las profundidades de 20 (a) y 350 (d) metros.

Se puede observar que, respecto al consumo de oxígeno acumulativo (f) la muestra a los 20 metros presentó un mayor valor, seguido de la de 350 y 50 metros, mientras que las profundidades de 100 y 700 metros fueron las menores en consumir en oxígeno.

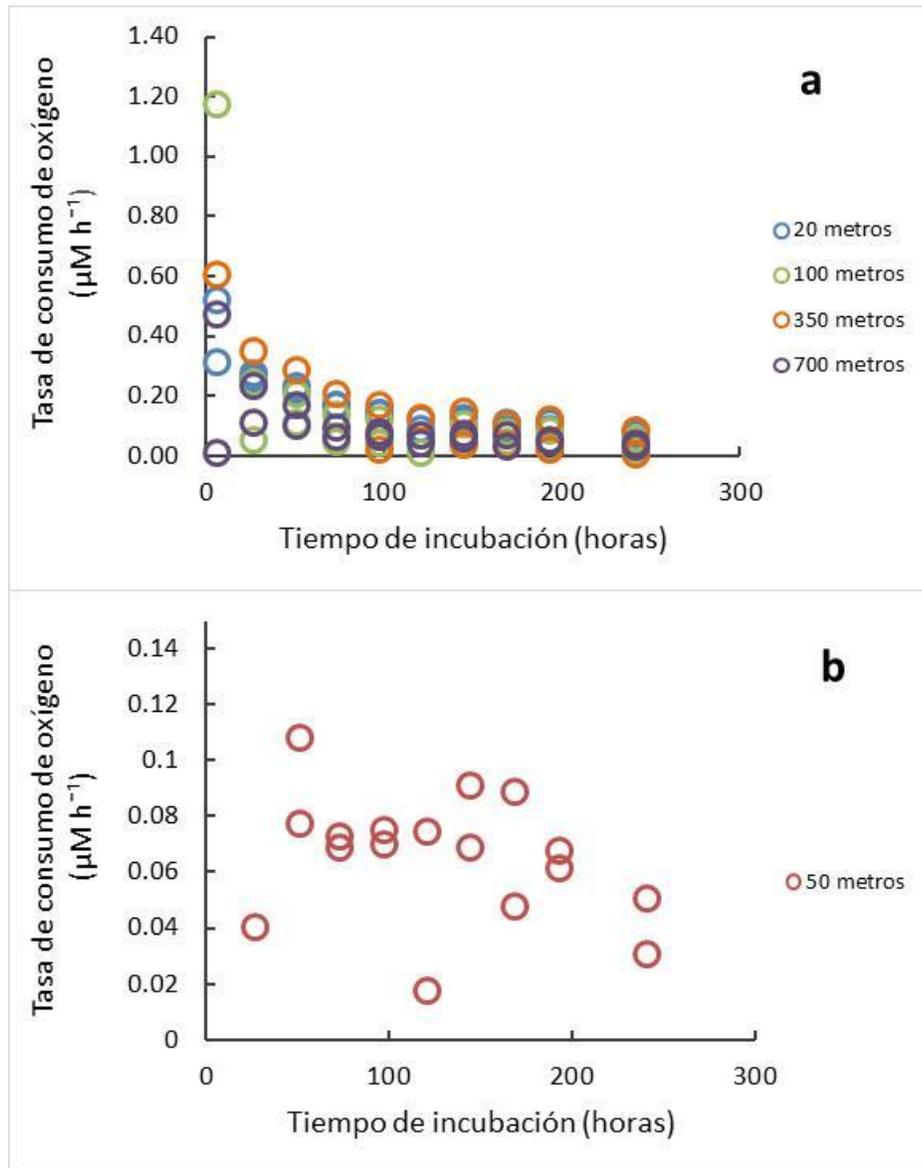


Figura 9. Tasa de consumo de oxígeno calculada de acuerdo a la ecuación (2), de la estación Antares a una profundidad de 20, 100, 350 y 700 (a) y 50 (b) metros, durante las 241 horas de incubación en la oscuridad.

La tasa de consumo para cuatro de las profundidades (Figura 9) presenta un decaimiento exponencial muy similar entre ellas. En la tabla VII se observa que la mayor tasa de consumo (calculado de acuerdo a la pendiente de la regresión lineal) se registró en la muestra de 20 metros ( $0.07 \mu\text{M h}^{-1}$ ), seguido por las muestras de

350 ( $0.06 \mu\text{M h}^{-1}$ ), 100 ( $0.03 \mu\text{M h}^{-1}$ ) y 700 metros. La profundidad de 50 metros registró mayor variabilidad, comportamiento que no se presentó en el resto de las muestras; sin embargo, el promedio de la tasa de consumo calculada para esta profundidad fue de  $0.05 \mu\text{M h}^{-1}$ .

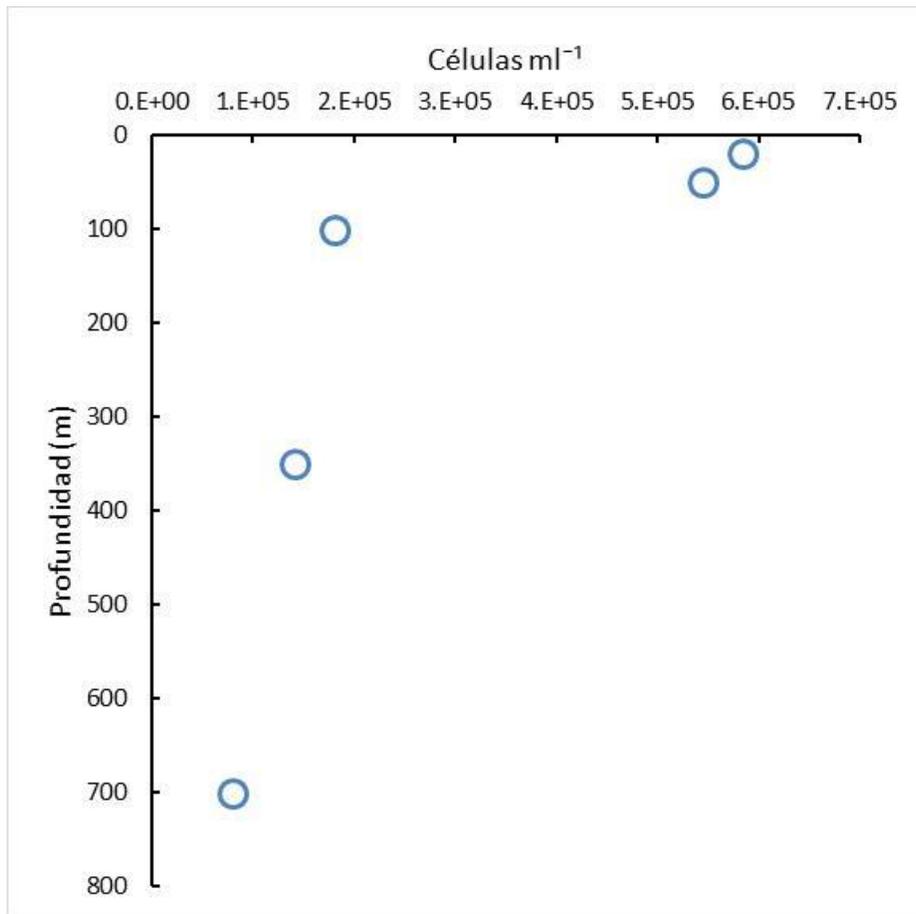


Figura 10. Perfil de abundancia bacteriana de la estación Antares.

En la figura 10 se observa un comportamiento esperado en la abundancia bacteriana, es decir que esta decrece conforme la profundidad aumenta, disminuyendo la abundancia hasta seis veces entre las muestras de 20 y 700 metros.

Tabla VII. Consumo total de oxígeno durante 250 horas de incubación para cada profundidad de la estación Antares y su tasa de consumo de oxígeno (obtenida por la pendiente de la regresión lineal de todos los datos), abundancia bacteriana.

Profundidad (metros)	Consumo total de oxígeno ( $\mu\text{M}$ )	Tasa de consumo de oxígeno ( $\mu\text{M h}^{-1}$ )	Abundancia bacteriana (Células $\text{ml}^{-1}$ )
20	18.7	0.07	$5.81 \times 10^5$
50	12.5	0.05	$5.45 \times 10^5$
100	10.3	0.03	$1.80 \times 10^5$
350	13.5	0.05	$1.41 \times 10^5$
700	9.1	0.03	$7.89 \times 10^4$

En la tabla VII se observó que respecto al consumo total de oxígeno y a la tasa de consumo, la muestra de 20 metros presentó mayores valores, seguido por la muestra de 50 metros, aunque en esta última, la tasa de consumo reveló una gran variabilidad en los datos (Fig. 18). La muestra de 350 metros mostró mayor consumo total de oxígeno en comparación con la muestra de 100 metros, sin embargo, la tasa de consumo de ambas muestras fue muy similar. La muestra de 700 metros registró el menor consumo y tasa de consumo de oxígeno. Respecto a la abundancia bacteriana, esta también disminuyó hasta seis veces conforme la profundidad aumentaba entre las muestras de 20 y 700 metros.

❖ Respuesta de comunidades naturales de bacterias marinas costeras a la adición de diferentes concentraciones de DOM obtenida por filtración de agua de mar por 0.2  $\mu\text{m}$  y posteriormente por filtración tangencial por 70 kDa.

- Agua costera

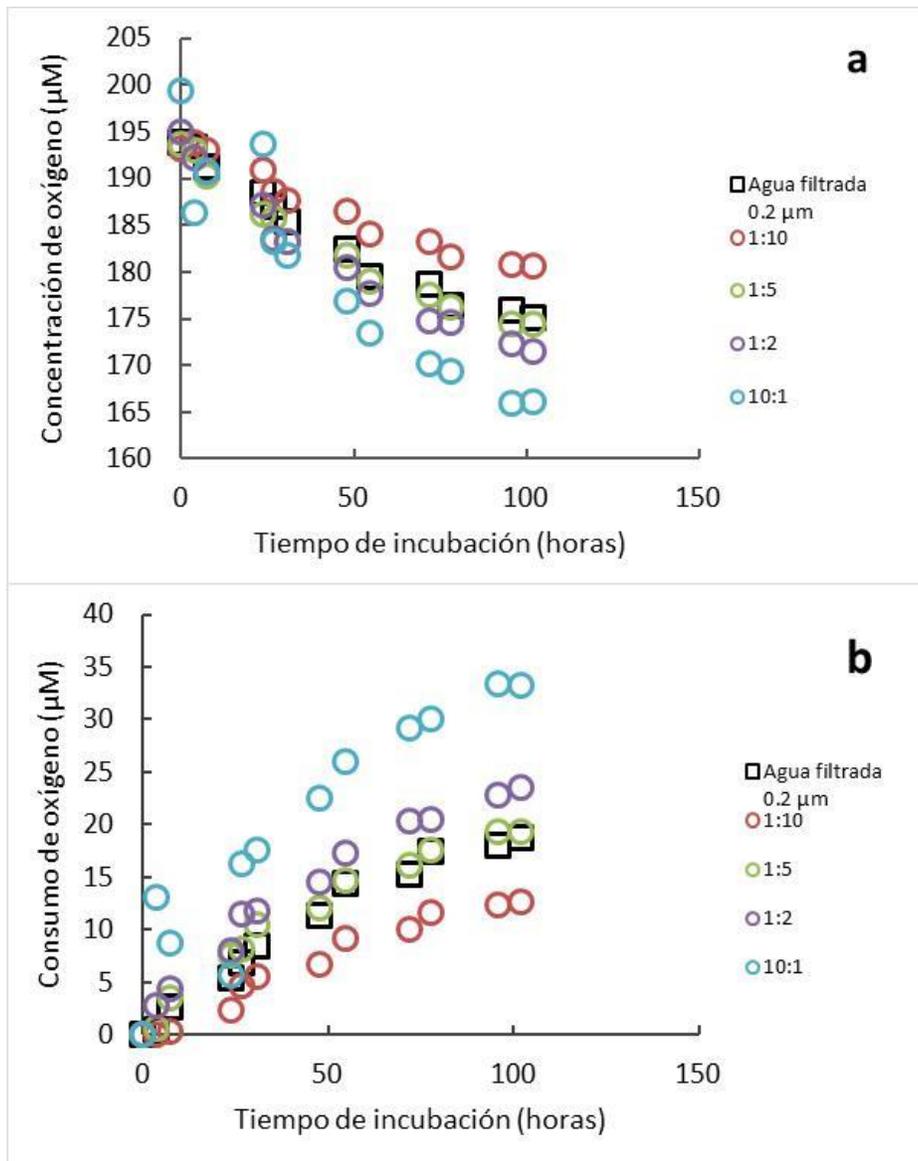


Figura 11. Consumo total de oxígeno (a) y consumo de oxígeno acumulativo (b) de comunidades de bacterias marinas costeras sometidas a diferente concentración de

DOM, durante 102 horas de incubación en oscuridad. La concentración de DOM se realizó por SFT y el control y las diluciones se realizaron con agua de mar filtrada por un filtro de 0.2  $\mu\text{m}$  tamaño de poro.

De acuerdo a la figura 11 se observa claramente que el mayor consumo total de oxígeno se presentó en las muestras con mayor volumen del concentrado, es decir, la fracción de DOM >70 kDa. El tratamiento 10:1 consumió 33.2  $\mu\text{M}$  de oxígeno en las 100 horas de incubación, casi el doble que la muestra control, seguido de las muestras al 1:2 y 1:5 con 23.5 y 19.3  $\mu\text{M}$  de oxígeno, respectivamente. Finalmente la dilución al 1:10 tuvo un consumo total oxígeno de 12.7  $\mu\text{M}$ , incluso menor que el control con 18.7  $\mu\text{M}$  de oxígeno.

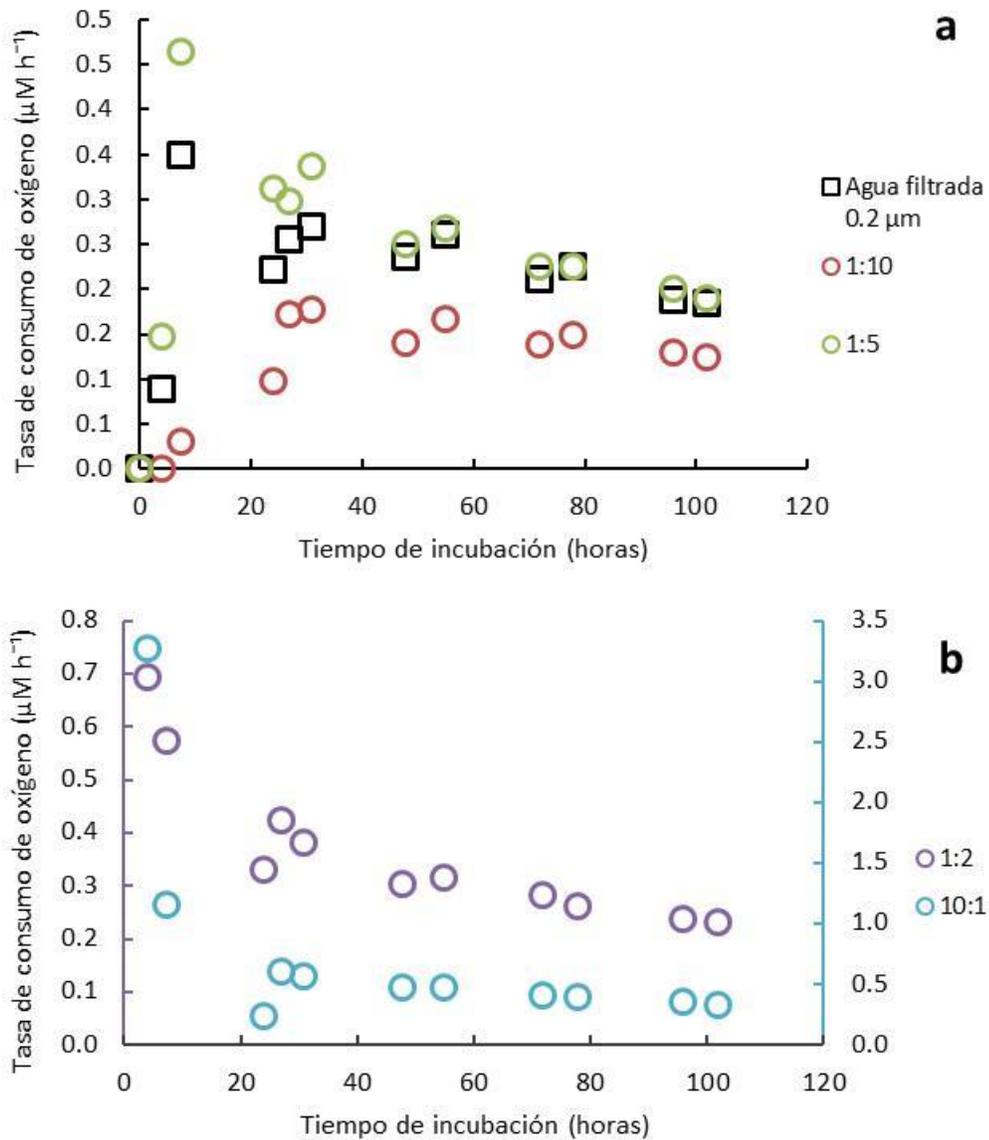


Figura 12. Tasa de consumo de oxígeno de comunidades de bacterianas marinas costeras sometidas a diferentes concentraciones de DOM [1:10, 1:5 (a) y 1:2, 10:1 (b)] calculada de acuerdo a la ecuación (2) durante las 102 horas de incubación en oscuridad. El control y las diluciones se realizaron con agua de mar filtrada por un filtro de policarbonato de 0.2  $\mu\text{m}$  tamaño de poro.

Las tasas de consumo de la muestra de comunidades costeras de bacterias marinas (calculada de acuerdo a la pendiente de la regresión lineal) para los tratamientos

cuya DOM es más diluido 1:10, 1:5 y el control (figura 12) no presentaron un comportamiento claro, el cual estuvo aparentemente relacionado con la temperatura que varió durante el día entre los 22 a hasta los 25 °C durante las 102 horas de incubación. La tasa de consumo calculadas para estas muestras fueron de 0.19, 0.14 y 0.19  $\mu\text{M h}^{-1}$  respectivamente.

Para los tratamientos cuya concentración de DOM sería mayor 1:2 y 10:1 la tasa de consumo decreció con el tiempo debido probablemente al agotamiento de sustrato lábil, a la acumulación de metabolitos y/o algún otro mecanismo de inhibición de la actividad metabólica. La tasa de consumo calculadas a través de la pendiente de la regresión lineal fueron de 0.22  $\mu\text{M h}^{-1}$  y de 0.30  $\mu\text{M h}^{-1}$  para el tratamiento 1:2 y 10:1 respectivamente (Tabla VIII).

En la Tabla VIII se observa que respecto al consumo total de oxígeno y tasa de consumo (calculado a partir de las pendientes de las regresiones lineales), el tratamiento 10:1 presentó mayores valores, seguido los tratamientos 1:2 y 1:5, patrón que se mostró también para la tasa de consumo. El control registró un mayor consumo de oxígeno y tasa de consumo en comparación al tratamiento 1:10. Respecto a la abundancia bacteriana se obtuvo mayor abundancia celular en las muestras tomadas al tiempo final para todas las muestras diluidas, en comparación con el tiempo inicial. El consumo de oxígeno por célula es mayor para la dilución de 1:2 y menor para la dilución 10:1.

Tabla VIII. Consumo total de oxígeno, tasa de consumo de oxígeno (calculada por la pendiente de la regresión lineal de todos los datos), abundancia bacteriana y consumo de oxígeno por célula para las diluciones de la muestra de agua de mar costera.

Dilución	Consumo total de oxígeno ( $\mu\text{M}$ )	Tasa de consumo de oxígeno ( $\mu\text{M h}^{-1}$ )	Abundancia bacteriana (Células $\text{ml}^{-1}$ )		Consumo de oxígeno por célula ( $\text{pM Célula}^{-1}$ )
			Inicial	Final	
Control Agua filtrada 0.2 $\mu\text{m}$	18.7	0.19	$9.53 \times 10^5$	$9.96 \times 10^6$	$1.88 \times 10^{-3}$
Muestra diluida 1:10	12.7	0.14	$5.45 \times 10^5$	$6.24 \times 10^5$	$3 \times 10^{-2}$
Muestra diluida 1:5	19.3	0.19	$6.89 \times 10^5$	$8.61 \times 10^5$	$2.17 \times 10^{-2}$
Muestra diluida 1:2	23.5	0.22	$1.42 \times 10^6$	$1.24 \times 10^6$	1.5
Muestra diluida 10:1	33.2	0.30	$2.56 \times 10^6$	$3.05 \times 10^6$	$6.13 \times 10^{-3}$

- Estación Antares 600 metros de profundidad

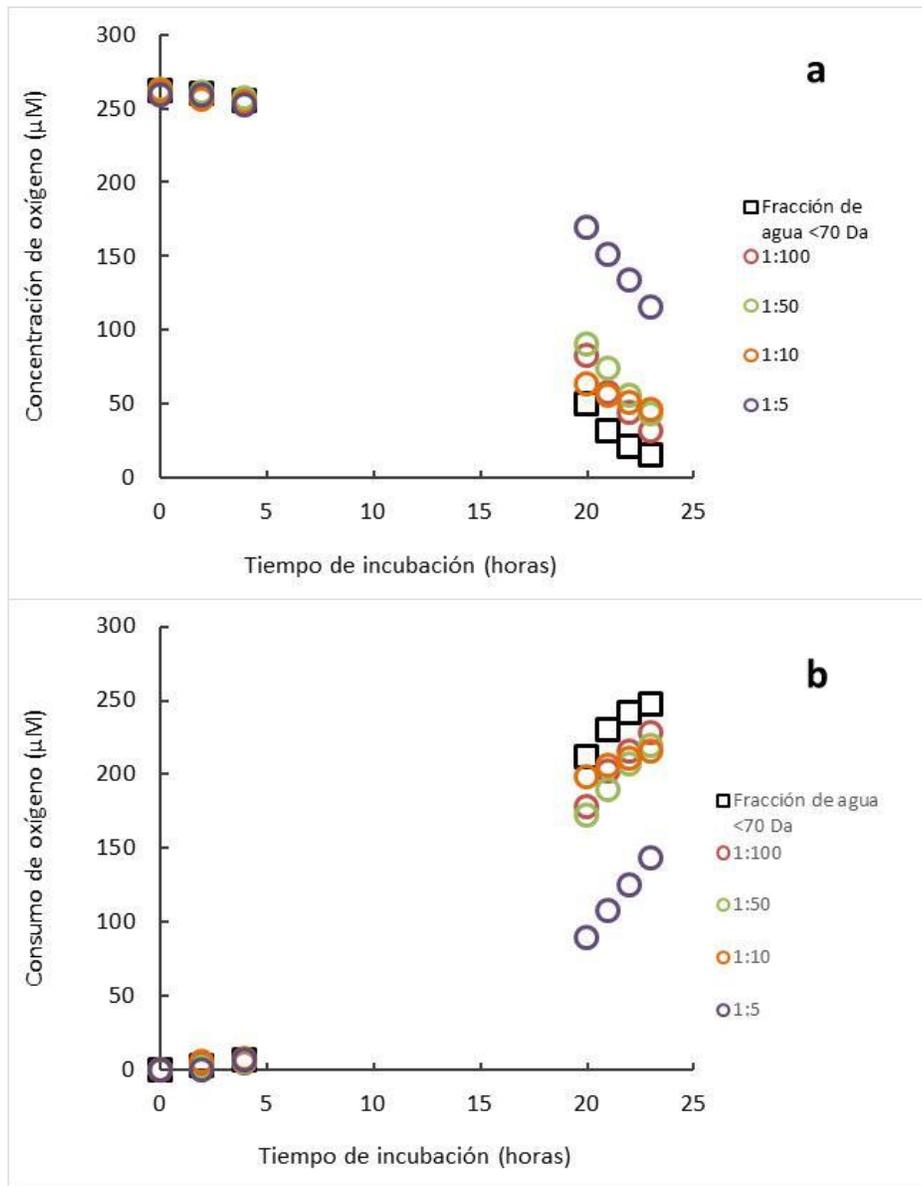


Figura 13. Consumo total de oxígeno (a) y consumo de oxígeno acumulativo (b) de agua de 600 metros de la estación Antares inoculada con comunidades costeras de bacterias marinas. El control y las diluciones se realizaron con el agua de mar de la fracción <70 kDa (agua permeada).

De acuerdo a la figura 13 en las primeras cuatro horas todos los tratamientos tuvieron un comportamiento muy similar, sin embargo durante las últimas cuatro

horas de incubación, la muestra diluida 1:5 es la única que mostró un comportamiento diferente a las demás presentando un menor consumo total de oxígeno. Esto se puede ver tanto en la gráfica de consumo de total oxígeno (a) y consumo de oxígeno acumulativo (b).

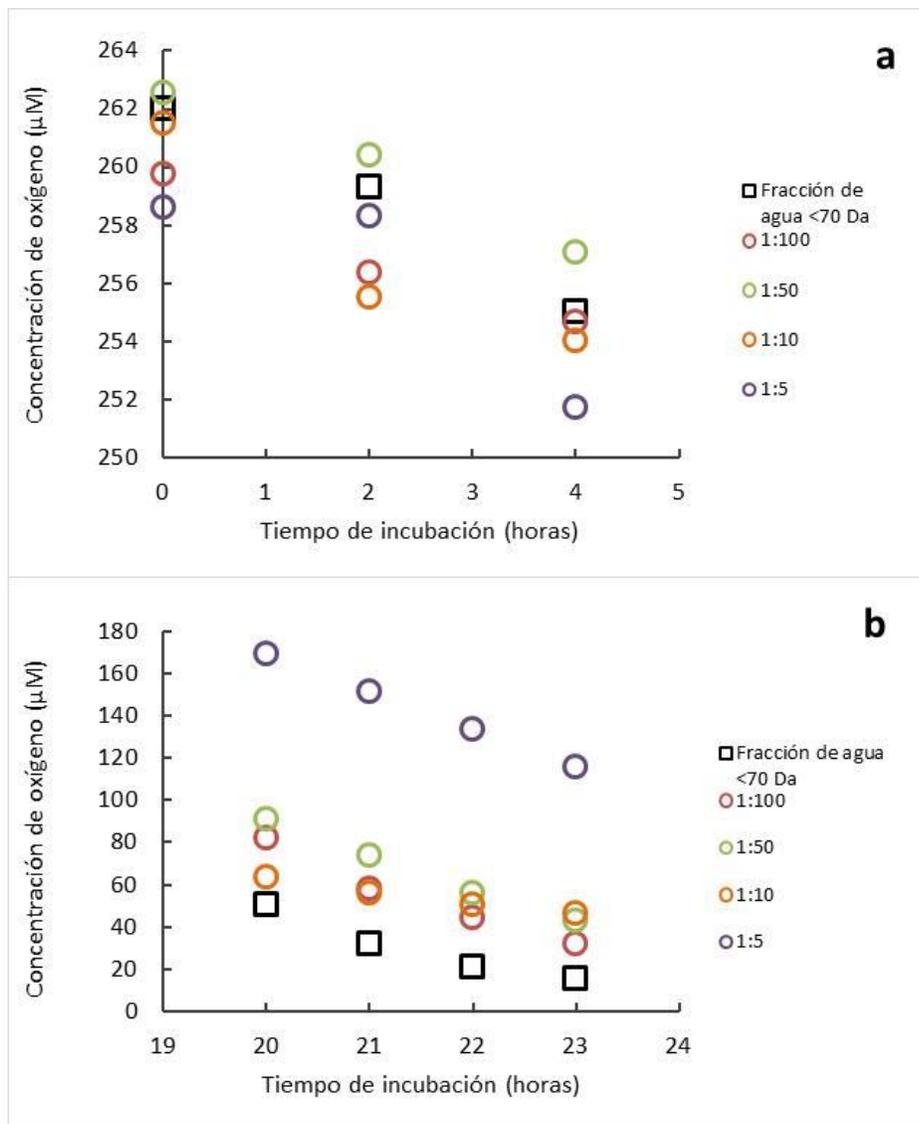


Figura 14. Consumo total de oxígeno de los tratamientos de la estación Antares a una profundidad de 600 metros. Durante las primeras 4 horas de incubación en oscuridad (a) y las últimas 4 horas de las 23 horas de incubación en oscuridad (b). El

control y las diluciones se realizaron con el agua de mar de la fracción <70 kDa (permeado).

Para los tratamientos de la estación Antares a 600 metros (Figura 14), durante las primeras cuatro horas incubación todos los tratamientos presentaron un comportamiento muy similar, y durante las últimas cuatro horas de incubación se observaron diferencias. En general todos los tratamientos presentaron un decremento en el oxígeno, sin embargo la muestra control (muestra con fracción de agua <70 kDa) presentó el mayor consumo; mientras que la muestra diluida 1:5 mostró el menor consumo total de oxígeno. El resto de los tratamientos tuvieron un comportamiento muy similar entre ellos durante las últimas cuatro horas de incubación.

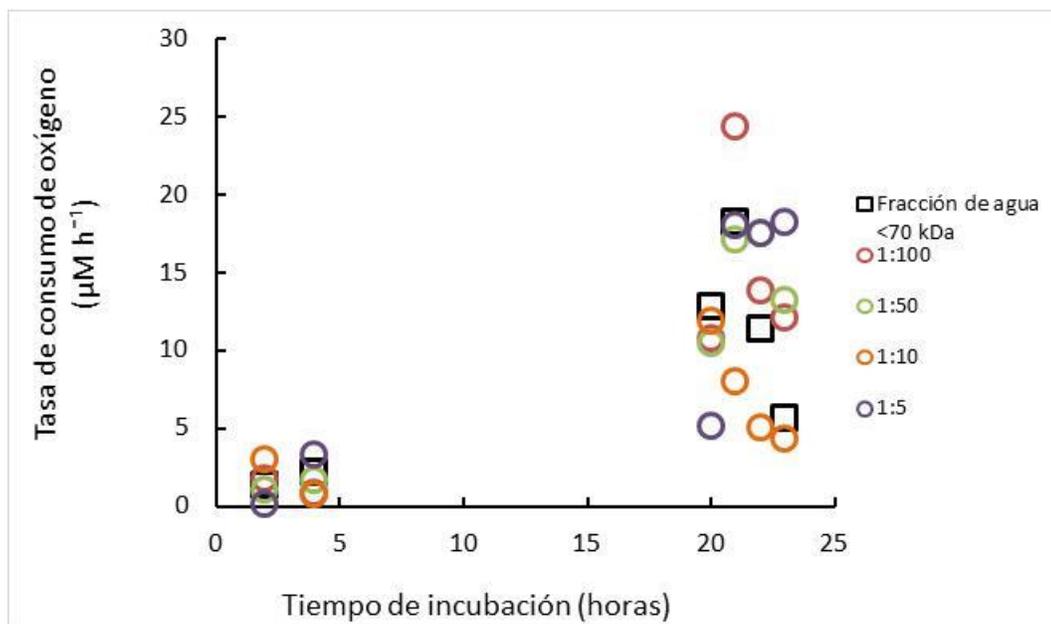


Figura 15. Tasa de consumo de oxígeno, calculada de acuerdo a la ecuación (2) de todas las soluciones de la estación Antares a una profundidad de 600 metros.

Se registró un decremento exponencial de las tasas de consumo de oxígeno de todas las diluciones (Figura 25). Con base a la tabla IX, la mayor tasa de consumo, la cual se determinó con las pendientes de la regresión lineal, se presentó en la muestra control con  $11.63 \mu\text{M h}^{-1}$  seguido por las muestras de 1:100, 1:10 y 1:50 con valores entre  $9.9$  y  $10.34 \mu\text{M h}^{-1}$ ; y finalmente con la menor tasa de consumo ( $5.88 \mu\text{M h}^{-1}$ ) la dilución de 1:5.

Tabla IX. Consumo total de oxígeno, tasa de consumo de oxígeno (calculada por la pendiente de la regresión lineal de todos los datos), abundancia bacteriana y consumo de oxígeno por célula de los tratamientos de la estación Antares a 600 metros de profundidad.

Dilución	Horas de incubación	Consumo total de oxígeno ( $\mu\text{M}$ )	Tasa de consumo de oxígeno ( $\mu\text{M h}^{-1}$ )	Abundancia bacteriana (Células $\text{ml}^{-1}$ )		Consumo de oxígeno ( $\text{pM Célula}^{-1}$ )
				inicial	final	
Control DOM <70 kDa	0 - 4	7	1.75	$1.78 \times 10^5$	$7.22 \times 10^6$	$3.42 \times 10^{-2}$
	20 -23	35.2	11.69			
	0 - 23	246.9	11.63			
Muestra diluida 1:100	0 - 4	5.1	1.28	$1.89 \times 10^5$	$4.07 \times 10^6$	$6.07 \times 10^{-2}$
	20 -23	50.3	16.48			
	0 - 23	227.8	10.34			
Muestra diluida 1:50	0 - 4	5.5	1.37	$1.70 \times 10^5$	$3.58 \times 10^6$	$6.09 \times 10^{-2}$
	20 -23	47.7	16.06			
	0 - 23	219.7	9.9			
Muestra diluida 1:10	0 - 4	7.5	1.88	$2.41 \times 10^5$	$5.09 \times 10^6$	$4.85 \times 10^{-2}$
	20 -23	17.3	5.7			
	0 - 23	125.2	10.27			
Muestra diluida 1:5	0 - 4	6.9	1.73	$2.32 \times 10^5$	$8.71 \times 10^5$	$2.83 \times 10^{-1}$
	20 -23	53.8	17.88			
	0 - 23	143.2	5.88			

En la Tabla IX se observa el consumo total de oxígeno y tasa de consumo calculada con base en pendientes de la regresión lineal de todos los datos, en donde los tratamientos 1:100 presentaron los mayores valores, seguido por los tratamientos 1:10, 1:50, la fracción de agua >70 Da y 1:5. El mayor consumo de oxígeno se presentó en las últimas horas cuatro horas de las 23 horas de incubación para todas las diluciones. Respecto a la abundancia bacteriana todos los tratamientos registraron mayor número de células al tiempo final en comparación con el tiempo inicial. El consumo de oxígeno por célula fue mayor para la muestra diluida 1:5, mientras que el resto de las diluciones registraron un consumo de oxígeno entre 3 y  $6 \times 10^{-2} \text{ pM Célula}^{-1}$ .

- Estación IMECOCAL 100.40 1500 metros de profundidad, diluciones de la fracción de DOM >70 kDa y <70 kDa

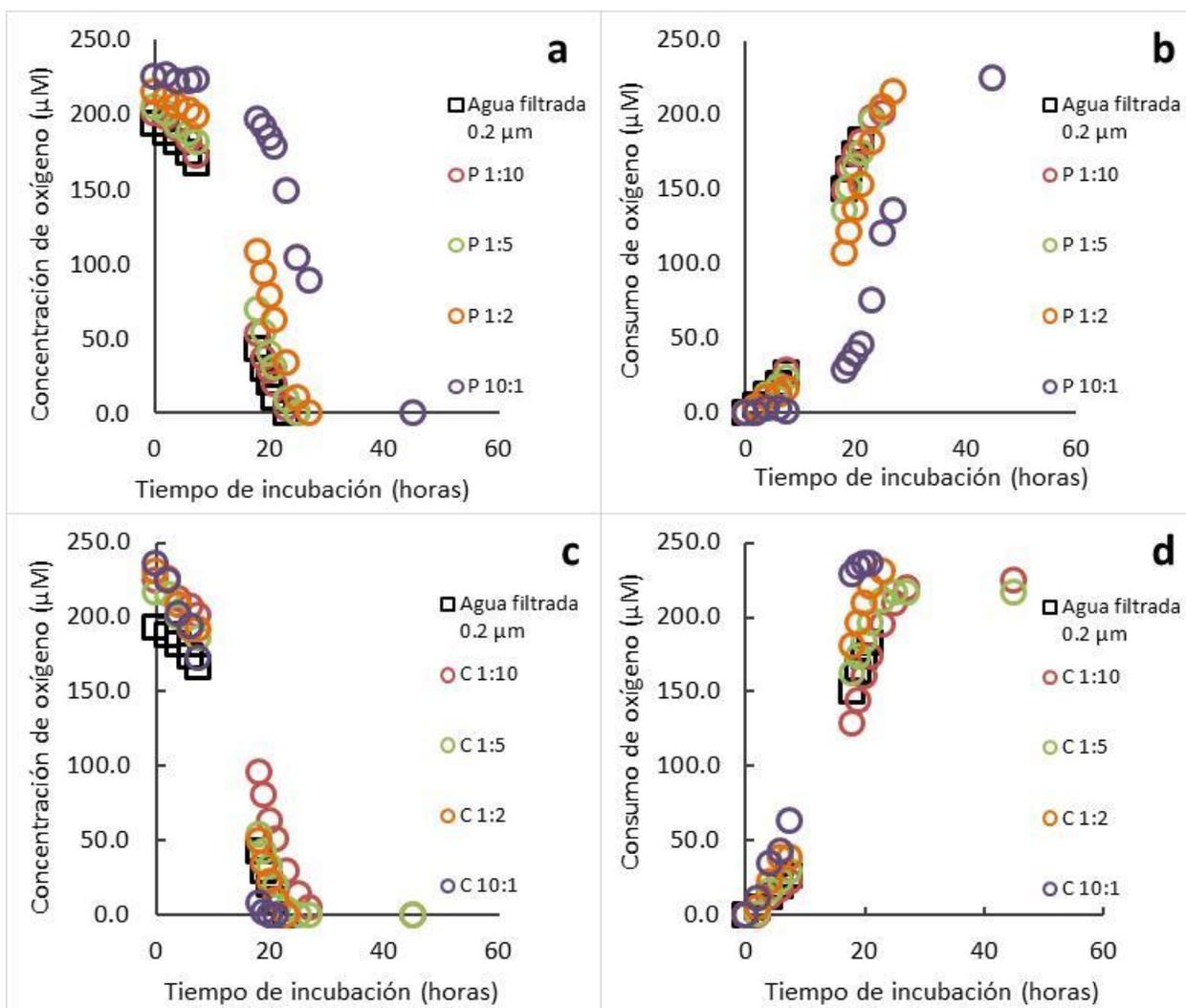


Figura 16. Consumo total de oxígeno de la estación IMECOCAL 100.40. Diluciones del agua permeada (fracción de DOM <70 kDa) (a) y del agua concentrada (fracción de DOM >70 kDa) (c). Consumo de oxígeno acumulativo para las muestras diluidas del agua permeada (b) y agua concentrada (d) a una profundidad de 1500 metros, durante el tiempo de incubación en oscuridad. El control y las diluciones se realizaron con agua de mar filtrada por un filtro de policarbonato de 0.2  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro.

Para la muestra a 1500 metros de la estación IMECOCAL 100.40, el consumo total de oxígeno (Figura 16) mostró que aquellos tratamientos con menor volumen del permeado (a y b) y por lo tanto mayor volumen de agua de dilución (agua filtrada por un filtro de 0.2  $\mu\text{m}$  tamaño de poro) presentaron un mayor consumo de oxígeno, muy similar a la muestra control; tanto en el consumo de oxígeno (a), como en el consumo acumulativo (b), la dilución P 10:1 fue la que presentó un comportamiento diferente al resto. Para los tratamientos con agua concentrada (c y d) en general todas las diluciones tuvieron un comportamiento similar; se observó que las diluciones más concentradas, es decir aquellas en las que había mayor volumen del concentrado (fracción de DOM >70 kDa) 10:1, 1:2 y 1:5 el consumo total de oxígeno fue mayor. Sin embargo las diluciones de 1:2 y 1:5 tuvieron un comportamiento muy similar al control (agua de mar filtrada por un filtro de policarbonato de 0.2  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro).

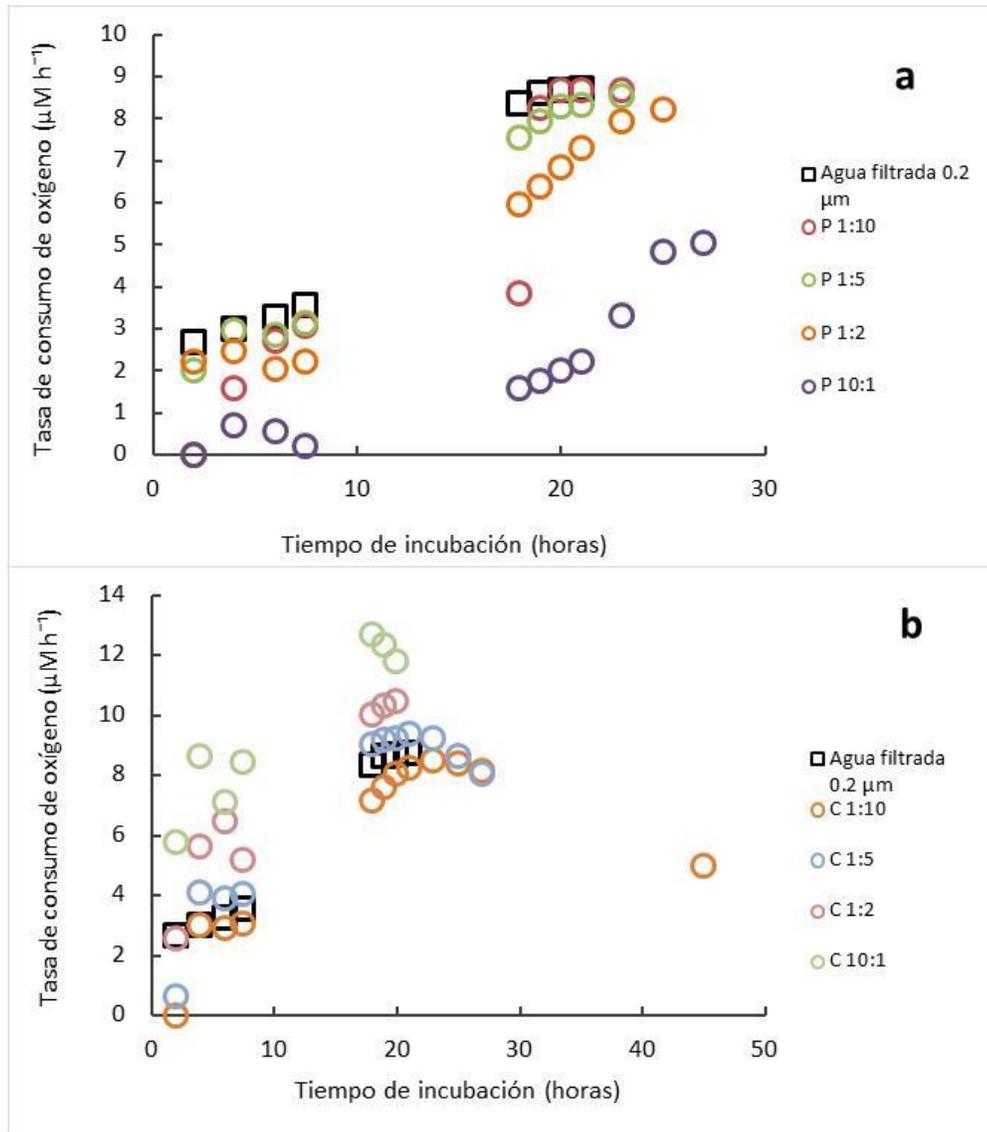


Figura 17. Tasa de consumo de oxígeno calculada de acuerdo a la ecuación (2) de los tratamientos de la estación IMECOCAL 100.40 a 1500 m del agua permeada (fracción de DOM <70 kDa) (a) y diluciones del agua concentrada (fracción de DOM >70 kDa) (b), durante el tiempo de incubación en oscuridad.

La tasa de consumo para ambas fracciones de la muestra de agua, permeada (a) (fracción de DOM <70 kDa) y concentrado (b) (fracción de DOM >70 Da), se presentan en la figura 17. Aquellos tratamientos con menor volumen del permeado

(fracción de DOM >70 kDa) tuvieron una mayor tasa de consumo, muy similares a la tasa de consumo de la muestra control. Los tratamientos C 10:1 y C 1:2 presentaron las mayores tasas de consumo (calculadas de acuerdo a la pendiente de la regresión lineal) de ambas fracciones de la muestra de agua, siendo el tratamiento C 10:1 la primera en agotar el oxígeno disuelto presente en la muestra.

De acuerdo a la Tabla X, las abundancias bacterianas para la mayoría de los tratamientos, presentaron mayores abundancias en el tiempo final que en el tiempo inicial, exceptuando el tratamiento C 10:1. En general y de acuerdo a las anotaciones hechas en el momento en que se observaron las muestras en el microscopio, las bacterias en las muestras del permeado (fracción de DOM <70 kDa) presentaron un mayor tamaño comparado con las muestras del concentrado (fracción de DOM >70 kDa). Aunque el consumo total de oxígeno fue mayor para las diluciones del concentrado, el consumo de oxígeno por célula fue mayor en las diluciones de las muestras con agua permeada, exceptuando la muestra P 1:10.

Tabla X. Consumo total de oxígeno, tasa de consumo de oxígeno (calculada de acuerdo a la pendiente de la regresión lineal), abundancia bacteriana inicial y final y consumo de oxígeno por célula para los tratamientos de la estación IMECOCAL 100.40 a 1500 metros de profundidad. El permeado es agua de mar filtrada por el sistema de filtración tangencial (fracción de DOM <70 kDa) y el concentrado es la fracción de DOM >70 kDa.

Dilución	Consumo total de oxígeno ( $\mu\text{M}$ )	Tasa de consumo de oxígeno ( $\mu\text{M h}^{-1}$ )	Abundancia bacteriana ( $\text{Células ml}^{-1}$ )		Consumo de oxígeno por célula ( $\text{pM Célula}^{-1}$ )
			Inicial	Final	
Control Agua filtrada 0.2 $\mu\text{m}$	193.2	9.53	$8.11 \times 10^5$	$4.02 \times 10^6$	$4.81 \times 10^{-2}$
Muestra diluida P 1:10	201.1	9.57	$6.13 \times 10^5$	$3.28 \times 10^6$	$5.89 \times 10^{-2}$
Muestra diluida P 1:5	204.6	9.13	$7.34 \times 10^5$	$2.12 \times 10^6$	$9.11 \times 10^{-2}$
Muestra diluida P 1:2	215.1	8.29	$5.16 \times 10^5$	$3.28 \times 10^6$	$5.89 \times 10^{-2}$
Muestra diluida P 10:1	224.9	4.21	$1.81 \times 10^5$	$3.05 \times 10^6$	$6.33 \times 10^{-2}$
Muestra diluida C 1:10	224.1	9.07	$1.26 \times 10^6$	$2.95 \times 10^6$	$6.55 \times 10^{-1}$
Muestra diluida C 1:5	216.2	9.59	$1.25 \times 10^6$	$3.53 \times 10^6$	$5.47 \times 10^{-2}$
Muestra diluida C 1:2	230.8	11.2	$9.60 \times 10^5$	$4.67 \times 10^6$	$4.14 \times 10^{-2}$
Muestra diluida C 10:1	236	12.95	$4.69 \times 10^6$	$3.48 \times 10^6$	$5.55 \times 10^{-2}$

- Estación IMECOCAL 100.40 1500 metros de profundidad, agua de la fracción de DOM <70 kDa

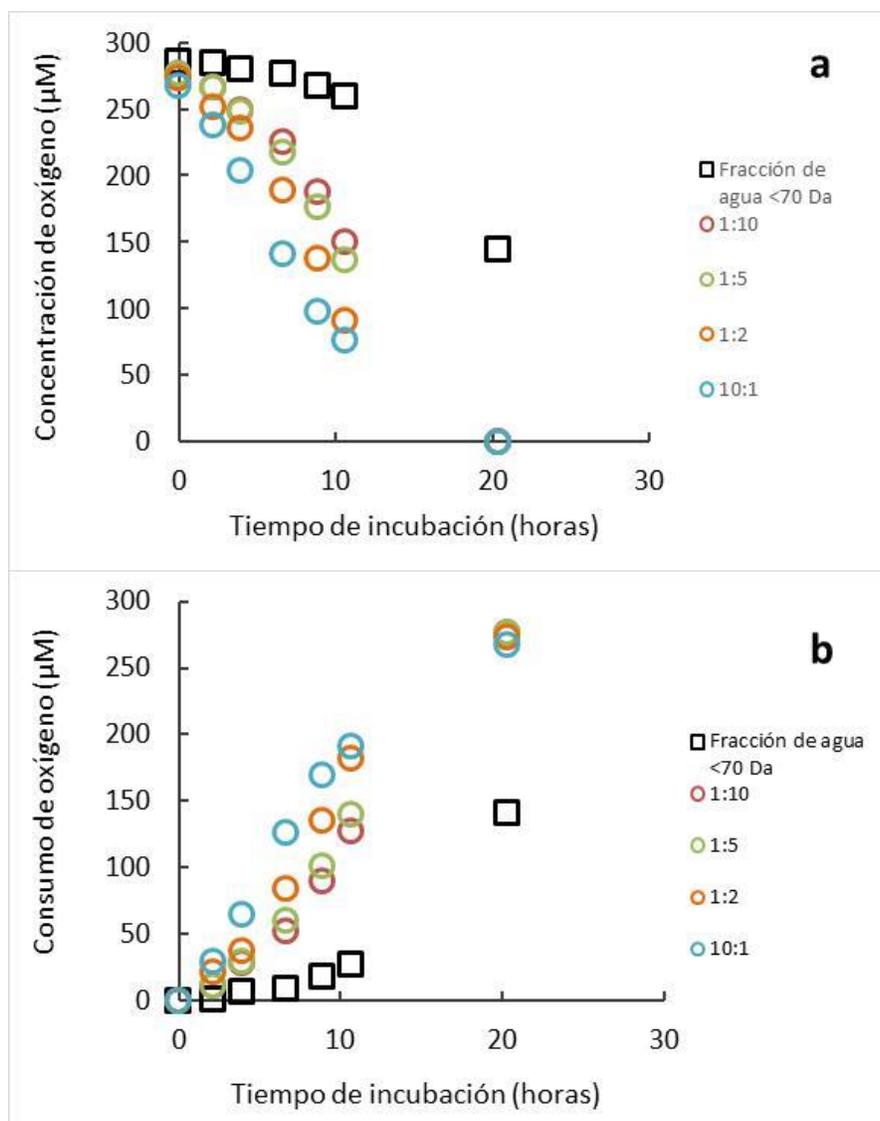


Figura 18. Consumo total de oxígeno (a) y consumo de oxígeno acumulativo (b) de las diluciones de la estación IMECOCAL 100.40 a una profundidad de 1500 metros, durante el tiempo de incubación en la oscuridad. El control y las diluciones se realizaron con agua de mar permeada (fracción de DOM <70 kDa).

En la figura 18 se registraron que de manera general todos los tratamientos presentaron el mismo comportamiento a excepción de la muestra control. Esta última

durante el mismo tiempo de incubación no logró agotar por completo el oxígeno presente, consumiendo aproximadamente la mitad que en el resto de las diluciones (~140  $\mu\text{M}$  de oxígeno)

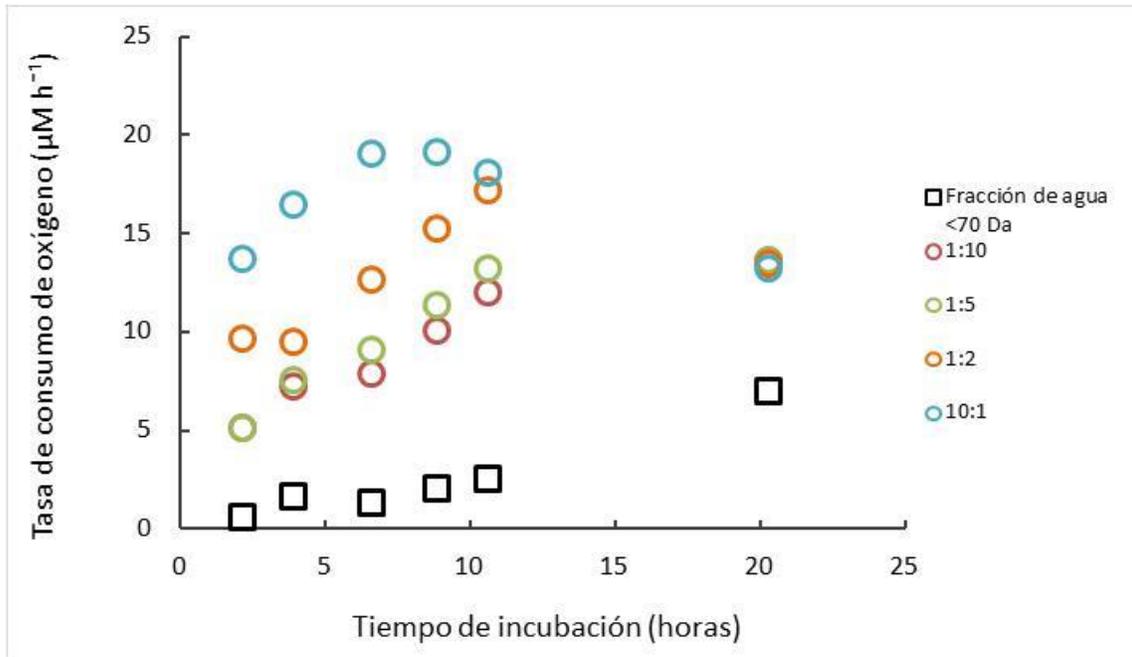


Figura 19. Tasa de consumo de oxígeno de los tratamientos de la estación IMECOCAL 100.40 a una profundidad de 1500 metros, calculada de acuerdo a la ecuación (2) durante el tiempo de incubación en oscuridad. El control y las diluciones se realizaron con agua permeada (fracción de DOM <70 kDa).

De acuerdo a la tasa de consumo (Figura 19) se observa que al igual que el consumo total de oxígeno, la muestra control presentó un comportamiento diferente al resto de las diluciones, con la menor tasa de consumo de oxígeno de  $6.83 \mu\text{M h}^{-1}$ , mientras que la tasa de consumo para las diluciones 1:10, 1:5 y 1:2 es de valores desde  $14.05$  a  $14.30 \mu\text{M h}^{-1}$  mientras que para la dilución 10:1 su tasa de consumo fue de  $13.69 \mu\text{M h}^{-1}$ .

Tabla XI. Consumo total de oxígeno, tasa de consumo de oxígeno (calculada de acuerdo a la pendiente), abundancia bacteriana (inicial y final), de las soluciones del concentrado (fracción de agua >70 kDa) de la estación IMECOCAL100.40 a 1500 metros. El control y las diluciones se realizaron con agua permeada (fracción de DOM < 70 kDa).

Dilución	Consumo total de oxígeno ( $\mu\text{M}$ )	Tasa de consumo de oxígeno ( $\mu\text{M h}^{-1}$ )	Abundancia bacteriana (Células $\text{ml}^{-1}$ )		Consumo de oxígeno ( $\rho\text{M Célula}^{-1}$ )
			Inicial	Final	
Control DOM <70 kDa	140	6.83	$1.63 \times 10^5$	$1.73 \times 10^6$	$1.65 \times 10^{-1}$
Muestra diluida 1:10	276.6	14.05	$4.82 \times 10^5$	$3.54 \times 10^6$	$7.82 \times 10^{-2}$
Muestra diluida 1:5	276.8	14.23	$6.41 \times 10^5$	$4.35 \times 10^6$	$6.36 \times 10^{-2}$
Muestra diluida 1:2	272.3	14.30	$8.4 \times 10^5$	$5.13 \times 10^6$	$5.31 \times 10^{-2}$
Muestra diluida 10:1	267.5	13.69	$1.68 \times 10^6$	$5.74 \times 10^6$	$4.66 \times 10^{-2}$

En la Tabla XI podemos observar que respecto al consumo total de oxígeno el inóculo en la muestra control (DOM <70 kDa) presentó una mayor tasa de consumo, sin embargo, debido a que el resto de las diluciones agotaron el oxígeno a las 20 horas, ya no se siguió midiendo para este. El resto de las diluciones presentaron una misma tasa de consumo. Respecto a la abundancia bacteriana se tienen mayor número de células por mililitro en las muestras tomadas al tiempo final de la incubación para todas las diluciones, aumentando en la mayoría de ellas un orden de

magnitud comparado al tiempo inicial. Así mismo, las abundancias en el tiempo final muestran un ligero incremento conforme se aumenta la proporción del concentrado; sin embargo, el consumo de oxígeno por célula denota mayor actividad en las muestras más diluidas. Este experimento muestra que las comunidades de bacterias costeras inoculadas respondieron bien a las dos fracciones de materia orgánica utilizada <70 kDa y >70 kDa.

## **DISCUSIÓN**

### **❖ Reducción del contenido de DOM por tratamiento con ozono, carbón activado y combinación de ozono y carbón activado.**

El carbono orgánico disuelto en el agua de mar constituye una fuente de sustrato para bacterias heterótrofas marinas (Ogawa y Tanoue, 2002; Findlay, 2003) y pueden llegar a producir diversos efectos en su metabolismo y crecimiento. El estudio de bacterias marinas en cultivo debe de tener en cuenta el contenido de carbono orgánico disuelto y particulado cuando se pretende estudiar bacterias en cultivos monoespecíficos o incluso trabajando con ensamblajes microbianos naturales. ZoBell (1946) argumentó sobre el uso de agua de mar envejecida en la oscuridad durante meses con objeto de reducir la variabilidad orgánica cuando preparaba el medio que ahora se conoce como medio ZoBell. Sin embargo la reducción del contenido orgánico del agua de mar después de la filtración y envejecimiento no elimina por completo la posibilidad de que algún remanente orgánico permanezca en el medio que se pretende preparar.

En la primera parte de este trabajo evaluamos la eficiencia para remover el carbono orgánico disuelto utilizando el envejecimiento de agua de mar, su tratamiento con ozono, con carbón activado y la combinación de ambos, evaluando el efecto de los diferentes tratamientos en la respiración de ensamblajes de bacterias marinas.

El tratamiento únicamente con ozono en ambos tipos de agua de mar produce más DOC (por combustión catalítica) que cuando las muestras no son tratadas (control) y que el resto de los tratamientos (Tabla VI). Aparentemente la oxidación con ozono de la materia orgánica, previa al análisis del DOC por combustión catalítica con alta temperatura introduce una cierta cantidad de DOC que no estaba presente en el control. Aún si se considera el valor absoluto del DOC encontrado después del tratamiento con ozono en ambas muestras, notamos que este valor no exceden la cantidad de DOC típica para aguas costeras ( $\geq 150 \mu\text{M}$ ) (Hansel y Carlson, 2015; Hill y Wheeler, 2002).

La muestra de agua de mar fresca tratada con ozono registró  $130 \mu\text{M}$  de DOC en comparación con la muestra de agua de mar envejecida que registró  $91.8 \mu\text{M}$ . Este comportamiento en el DOC con el tratamiento con ozono no está del todo comprendido. Es conocido que el ozono tiene un elevado potencial oxidante y ha sido usado para desinfectar, ocasionando destrucción de la pared celular, daños en los constituyentes de ácidos nucleicos, reacciones con radicales productos de la descomposición del ozono, entre otras y no elimina por completo el DOC e incluso genera la liberación de estos compuestos orgánicos presentes en el agua (Rakness, et al., 1993; Rodríguez et al., 2008; EPA 1999). Así mismo, el efecto del ozono sobre

la muestra podría alterar la naturaleza química del DOC (Lee y Herichs, 1993) haciéndolo más lábil y detectable durante el análisis con el sistema de combustión catalítica de alta temperatura usado (Sharp et al., 1993). Por otro lado también se podría pensar en una contaminación por carbono orgánico en el sistema de ozonificación, sin embargo esto no aparece en el tratamiento con ozono más carbón activado, consideramos poco probable este efecto dado que el ambiente interno en la cámara y mangueras del sistema de ozonificación constituye un ambiente altamente oxidante que no permitiría la presencia de carbono reducido en grandes cantidades.

Al comparar la remoción de DOC entre tratamientos, el empleo de carbón activado mostró diferencias significativas entre los valores de DOC de ambos tipos de agua (Wilcoxon T-student  $p < 0.05$ ) indicando que en la muestra de agua de mar fresca hubo apenas  $3.9 \mu\text{M}$  más de remoción que en la envejecida, es decir que el envejecimiento del agua de mar por dos meses no tuvo un efecto significativo en la reducción del carbono lábil (Tabla VI). Sin embargo esta comparación es relativa dado que estamos comparando una muestra de agua de mar costera fresca con otra muestra costera tomada en otro momento y que ha sido envejecida. Este resultado puede ser atribuido a la propiedad de adsorción del carbón activado, a su gran porosidad interna y la gran superficie de contacto para remover la materia orgánica presente en el agua (McDougall, 1991; Reyes et al, 2006); no obstante, en este estudio confirmamos que el tratamiento con carbono activado presentó limitaciones cuando se expone a altas y moderadas concentraciones de DOC. En el caso del agua envejecida no se detectaron diferencias estadísticas entre este tratamiento y el

de ozono (Wilcoxon T-student;  $p>0.05$ ) sugiriendo que la remoción de DOC por carbón activado es mayoritariamente de naturaleza lábil.

De acuerdo con la figura 6 y con la comparación estadística entre los pares de datos de los tratamientos para remover DOC (Wilcoxon T-student  $p>0.05$ ) no hay evidencias para asegurar un claro efecto del tratamiento con ozono en agua de mar fresca o envejecida en comparación con el tratamiento con carbón activado y el tratamiento con ozono más carbón activado. Probablemente esto es debido a la conversión química de ozono a oxígeno bajo las condiciones de saturación por ozono que ocurre durante las primeras horas del tratamiento del agua (Staehelin y Holgné, 1985; Nadezhdin, 1988), lo cual no permitió calcular el consumo de oxígeno en estos experimentos.

La combinación del ozono y carbón activado muestran una mayor degradación de materia orgánica lábil para el agua de mar fresca (equivalente a  $24.2 \mu\text{M}$  de  $\text{O}_2$ ) en comparación con el agua de mar envejecida ( $17.3 \mu\text{M}$  de  $\text{O}_2$ , Wilcoxon T-student;  $p<0.05$ ). También revelan una mayor tasa de consumo de oxígeno ( $0.24 \mu\text{M h}^{-1}$ ) para el agua de mar fresca que para el agua envejecida ( $0.12 \mu\text{M h}^{-1}$ ), durante las 99 horas de incubación (Tabla VI). En general, este resultado implicaría que el déficit en el consumo total de oxígeno y la tasa de consumo de oxígeno representa una remoción del 50% del carbono lábil únicamente por envejecimiento.

Cuando se evalúa el efecto del tratamiento únicamente con carbón activado para agua de mar fresca y envejecida, también encontramos que el consumo total de oxígeno es mayor en la muestra de agua de mar fresca ( $13 \mu\text{M}$  de oxígeno) que el de

la muestra de agua de mar envejecida (11.5  $\mu\text{M}$  de oxígeno Wilcoxon T-student;  $p < 0.05$ ) indicando, como es de esperarse que la muestra de agua de mar fresca contiene un mayor contenido de carbono lábil.

❖ **Respuesta de comunidades naturales de bacterias marinas costeras a la adición de diferentes concentraciones de DOM obtenida por filtración de agua de mar por un filtro de policarbonato de 0.2  $\mu\text{m}$  y posteriormente por 70 kDa.**

La disponibilidad de DOM para bacterias heterotróficas probablemente depende de su composición bioquímica y tamaño molecular y de la incidencia de otros factores ambientales como la concentración de nutrientes, la temperatura, la radiación solar etc. (del Giorgo y Davis, 2003; Santos et al., 2014).

Schwedt et al. (2015) comprobaron que bacterias marina heterotróficas son capaces de proliferar con concentraciones bajas de DOC como las que se reportan en medios marinos ultra oligotróficos. Estos autores estudiaron la especie marina de *Pseudovibrio* sp. cultivándola en dos medios; agua de mar artificial ultra pura y agua de mar natural oligotrófica. Encontraron que en ambos ambientes hubo crecimiento bacteriano, inclusive en el sustrato de agua de mar ultra pura la cual contenía 4.4  $\mu\text{mol C L}^{-1}$ , el cual era mucho menor que en el cultivo de agua de mar natural oligotrófica 83  $\mu\text{mol C L}^{-1}$ .

Existen antecedentes de varios experimentos de dilución de DOC que han sido usados para evaluar la relación de la concentración de DOC en la ausencia de cualquier cambio potencial en su composición (Findlay, 2003). Amon y Benner (1996)

aislaron materia orgánica de alto peso molecular (DOM >1000 Da) de muestras cercanas a la costa del Golfo de México e hicieron tres diferentes diluciones para examinar directamente los efectos de la concentración en la ausencia de diferencias en la composición de DOM. Ellos encontraron un aumento aproximadamente lineal en la producción bacteriana y la respiración con una concentración creciente aunque las pendientes para ambos procesos fueron menores de 1:1, además de que moléculas de alto peso molecular mostraron mayor labilidad. Existe en la actualidad una hipótesis que postula que el sustrato orgánico en aguas profundas es lábil pero no puede ser usado por procariontas a concentraciones menores a la que compensa la inversión energética para su asimilación y degradación (Arrieta et al., 2015). Estos autores pusieron a prueba la hipótesis de no detección de crecimiento significativo en procariontas cuando se incrementa la concentración de DOC, situación que se encuentra en aguas profundas donde el DOC es refractario. Encontrando que la eficiencia del crecimiento mostraba una tendencia a incrementar con el aumento en la concentración de DOC en todos los experimentos, lo que sugiere un efecto positivo de la concentración que podría estar relacionado con el alivio de la limitación de sustrato.

En este trabajo se realizaron varios experimentos de respiración con diferentes muestras de agua de mar correspondientes a agua costera de la playa frente a la Facultad de Ciencias Marinas, agua de 600 metros de la estación Antares, y agua profunda (1500 metros) de la estación IMECOCAL 100.40, en donde se concentró el DOC y posteriormente se inoculó con comunidades de bacterias heterotróficas marinas de la costa.

- **Bioensayos con agua de mar costera, diluyendo la fracción de DOM >70 kDa con agua de la estación filtrada por 0.2 µm tamaño de poro.**

Para la muestra con agua de mar costera se observa un claro efecto positivo de la concentración de DOC en el metabolismo bacteriano (Figura 11), es decir, para aquellas muestras diluidas con mayor volumen del concentrado (fracción de DOM >70 kDa) el consumo de oxígeno fue sustancialmente mayor (Tabla VIII), sin embargo observamos que la respiración no agotó la reserva de oxígeno disuelto de la muestra. Esto puede deberse a la presencia de factores limitantes para la degradación del DOM y que incluyen la limitación por nutrientes inorgánicos y vitaminas, la acumulación de metabolitos en el bioensayo, mortalidad por lisis viral, etc. (Carlucci y Pramer, 1959; Zweifel et al., 1993), así como también la presencia de una cantidad limitada de DOC lábil. En esta situación no es posible definir claramente el mecanismo responsable. Sin embargo en las zonas costeras las condiciones que normalmente se presentan son favorables para los organismos ya que son de los ecosistemas más productivos, es decir que es difícil esperar una limitación de nutrientes (Lara-Lara et al., 2008).

- **Bioensayos con agua de mar de 600 metros de la estación Antares, diluyendo la fracción de DOM >70 kDa (concentrado) con la fracción de DOM <70 kDa (permeado) e inoculando con bacterias de agua de la costa.**

En la muestra de agua de la estación Antares a 600 metros de profundidad, (Figuras 13 y 14, Tabla IX), el experimento se puede separar en dos partes de acuerdo al tiempo de incubación. En resumen los tratamientos que contenían una mayor

proporción del agua del permeado (fracción de DOM <70 kDa) mostraron mayor respuesta en términos de consumo de oxígeno de las bacterias que con respecto a la fracción de DOM >70 kDa. Es decir que los compuestos de bajo peso molecular, procedente de esta muestra de la zona del mínimo oxígeno, fueron mejor aprovechados por las bacterias y reflejado en el mayor consumo de oxígeno. Esto sugiere que la concentración y composición de sustancias orgánicas en esta fracción de tamaño mostraron mayor labilidad y jugaron un papel importante en el crecimiento bacteriano, sin embargo no se descarta la posibilidad de que posterior a la filtración tangencial dichas moléculas se hayan asociado a manera de geles que promovieran el sustrato de la comunidad procariota (Wotton, 2004). El efecto que hemos encontrado en este experimento se realizó con bacterias costeras expuestas a agua de una región profunda. Se detectó que las comunidades costeras inoculadas pueden degradar compuestos orgánicos de bajo peso molecular de los cuales ignoramos su composición, a pesar de que la variación en la concentración podría tener un claro efecto en su metabolismo.

Una comparación múltiple no paramétrica entre los datos de consumo de oxígeno de las diluciones de la muestra procedente de la estación Antares (600 metros) y su control revelaron diferencias significativas entre las mediciones durante la primera fase de incubación (0-4 horas) y entre las 20 y 23 horas (Friedman ANOVA,  $p < 0.05$ ). No obstante, durante las dos fases de incubación ninguna de las diluciones fue estadísticamente diferente del control (Wilcoxon  $z = 1.6$  y  $1.8$  respectivamente;  $p > 0.05$ ) sugiriendo que la concentración de DOM no afectó a la respiración de las bacterias durante el bioensayo.

Por otra parte, no hay que descartar la posibilidad de que parcialmente la respuesta de las bacterias hacia las diferentes fracciones de tamaño molecular de la materia orgánica esté influenciada en parte por su composición química y por las características fenotípicas y genotípicas del inoculo.

- **Bioensayos con agua de mar de 1500 metros de la estación IMECOCAL 100.40 diluyendo la fracción de DOM >70 kDa (concentrado) y la fracción <70 kDa (permeado) con agua de mar de la estación filtrada por 0.2  $\mu\text{m}$  y la fracción de DOM >70 kDa (concentrado) con la fracción <70 kDa (permeado) e inoculando con bacterias de agua de la costa**

Para la muestra de agua de mar de la estación IMECOCAL 100.40 a 1500 metros se realizaron tres experimentos con el fin de evaluar qué tipo de agua (permeado, concentrado o agua de mar filtrada por 0.2  $\mu\text{m}$ ) tenía mayor efecto sobre la respiración bacteriana.

En general las muestras diluidas del concentrado para los tres experimentos (fracción de DOM >70 kDa) (Tabla X, Figura 16, Tabla XI, Figura 18) presentaron un mayor consumo total de oxígeno y tasa de consumo de oxígeno en comparación con las muestras de la fracción de DOM <70 kDa (permeado). El efecto de la dilución (Tabla X) sugiere que las tasas de respiración son mayores cuando el contenido de DOM incluye un volumen mayor de la fracción completa (agua filtrada por 0.2  $\mu\text{m}$ ) mientras que para las diluciones del concentrado (Tabla X y XI) las tasas de respiración fueron mayores cuando el DOM incluye un mayor volumen de la fracción de DOM >70 kDa. El consumo de oxígeno en el concentrado y en el permeado

muestra un patrón similar entre ellas, agotando el oxígeno en las primeras 25 horas. Sin embargo, en el primer experimento la dilución P10:1 fue la que presentó la menor velocidad de consumo de oxígeno. Esta muestra contenía un mayor volumen de agua con DOM <70 kDa. Esto nos indica que al comparar estos dos experimentos, la fracción del DOM >70 kDa fue la que mostró mayor influencia sobre la actividad de las bacterias marinas, ya que fueron estas diluciones las primeras en agotar el oxígeno presente. Estadísticamente se observaron diferencias significativas entre el control y todas las diluciones del permeado y el concentrado, excepto con la dilución C10:1 (Wilcoxon  $Z=0.7$ ;  $p>0.05$ ) con la cual se observó el mayor consumo de oxígeno.

La comparación entre los tratamientos demostró que la proporción de agua con DOM >70 kDa es un factor que controla la actividad de la comunidad procariota. De esta manera el contenido de DOC de la muestra de la estación IMECOCAL 100.40 a 1500 metros, generalmente considerada como refractaria y que probablemente se encuentra muy diluida, estimula la respiración de bacterias procariotas cuando estas tienen una mayor probabilidad de encuentro con el sustrato y menor inversión energética para saturar el proceso de transporte al interior de la célula (Arrieta et al., 2015). Esto nos indica que el DOM de la fracción de mayor tamaño puede ser utilizado por bacterias marinas de la costa, y que además posiblemente la naturaleza de la materia orgánica circundante a 1500 metros no es del todo refractaria como se pensaba.

La preferencia de las bacterias por DOM concentrado de alto peso molecular, seguido de la fracción completa (filtrada por 0.2  $\mu\text{m}$ ) y por último de la fracción de DOM de menor peso molecular (<70 kDa) podría ser una característica asociada a la procedencia de las masas de agua presentes, la temporada climática y el nivel de producción de la zona. El muestreo fue efectuado durante finales del verano e inicio de otoño, temporada caracterizada por aun un predominio de estratificación en la columna de agua. No obstante, esta estación es considerada por sus niveles de producción como una zona mesotrófica (Gaxiola-Castro et al., 2007a), la cual podría tener cantidades moderadas de exportación de material particulado que en bajo ciertas condiciones físicas y químicas de la columna de agua podrían abastecer el reservorio de DOM a mayores profundidades (Chavez et al., 2002; Gaxiola-Castro et al., 2007b).

Estadísticamente en el caso de las muestras de la estación IMECOCAL 100.40 se observaron diferencias significativas entre el control y todas las diluciones del permeado y el concentrado, excepto con la dilución C 10:1 (Wilcoxon  $Z=0.7$ ;  $p>0.05$ ) con la cual se observó el mayor consumo de oxígeno.

Tal como reportan Schwedt et al., (2015) las bacterias marinas pueden vivir en ambientes con bajas concentraciones de DOC, aunque en este trabajo no estudiamos ninguna especie o ensamblaje microbiano conocido en particular, si se encontró respuesta de las bacterias marinas en medios con baja concentración de DOC. De acuerdo con Arrieta et al (2015) y Amon y Benner (1996), existe una influencia de la concentración de DOC en el metabolismo bacteriano, nuestros

resultados concuerdan con ellos, sin embargo es importante mencionar que no solo influye la concentración del DOM en las muestras de agua de mar, sino que también el tamaño molecular juega un papel importante y posiblemente la estructura de la comunidad procariota presente.

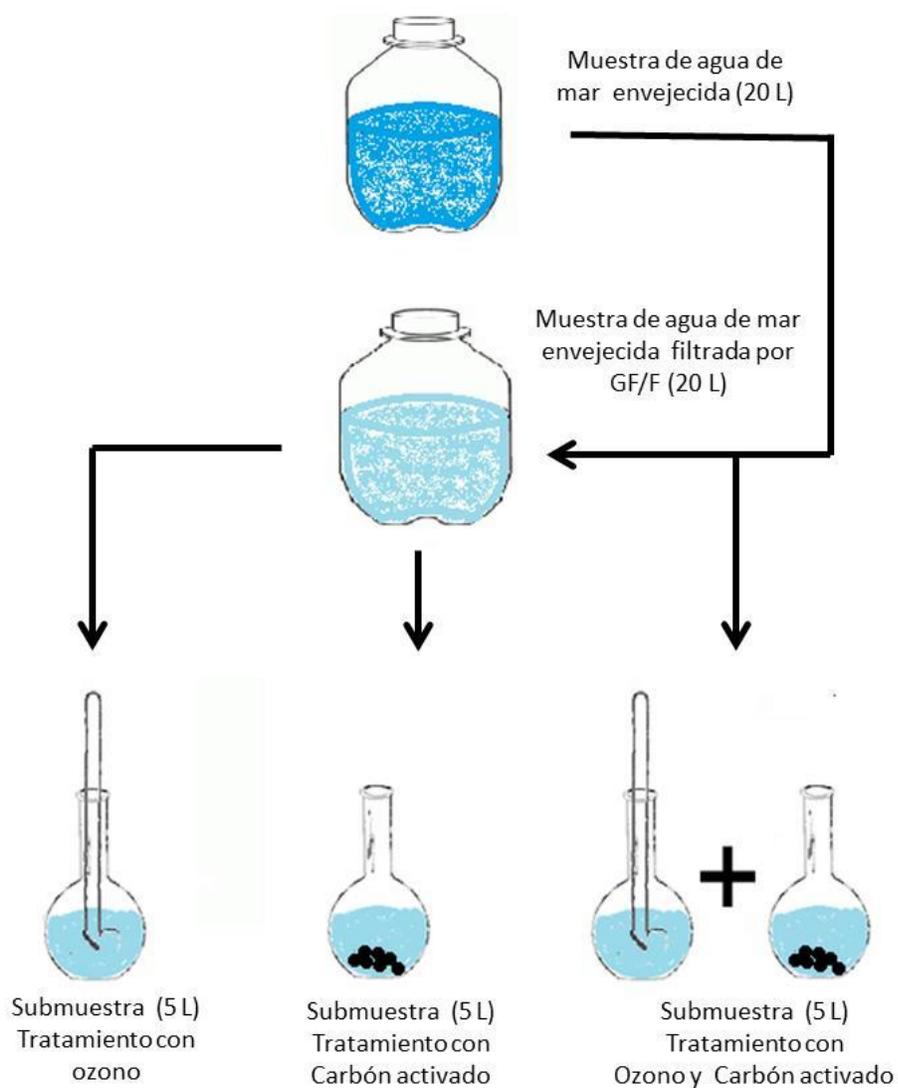
## **CONCLUSIONES**

Aunque existen varios métodos para la remoción de DOM en muestras de agua de mar, hemos encontrado que no todos ellos son efectivos. El carbón activado es un material adsorbente que se utiliza en diversos campos, y su utilización por si sola es capaz de remover una mayor cantidad de DOC, en comparación con otros métodos como la ozonificación que es un tratamiento utilizado para tratamientos de agua residuales.

Por otro lado la concentración de DOM de diferente tamaño molecular  $<70$  kDa o  $>70$  kDa tiene un claro efecto en el metabolismo de bacterias marinas costeras. Encontramos que estas son capaces de metabolizar DOM de muestras de agua de mar de 600 y 1500 metros, que presumiblemente tendría una mayor recalcitrancia que la DOM de la zona eufótica. Sin embargo la cantidad de DOM presente no es la única variable a considerar. En algunas ocasiones las bacterias marinas tuvieron una mayor preferencia por DOM de bajo peso molecular y en otras por DOM de alto peso molecular, indicando que el tamaño y probablemente la composición química también juega un papel importante. Aunque no es fácil explicar esta situación ya que desconocemos la variabilidad de la respuesta de los diferentes inóculos de bacterias costeras que usamos.

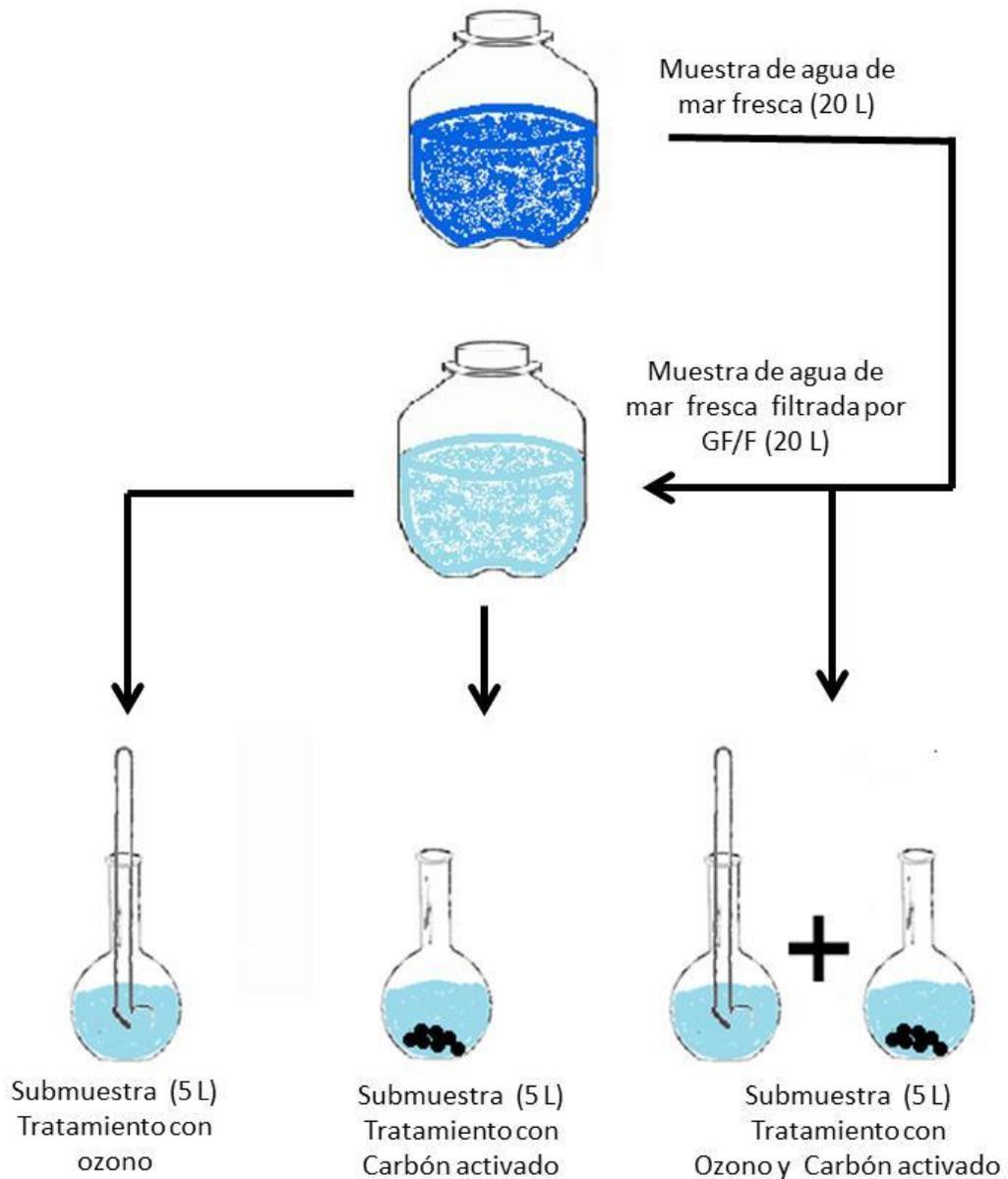
## ANEXOS

- Anexo 1 Reducción del contenido de DOM por tratamiento con ozono, carbón activado y combinación de ozono y carbón activado para muestra de agua de mar envejecida.



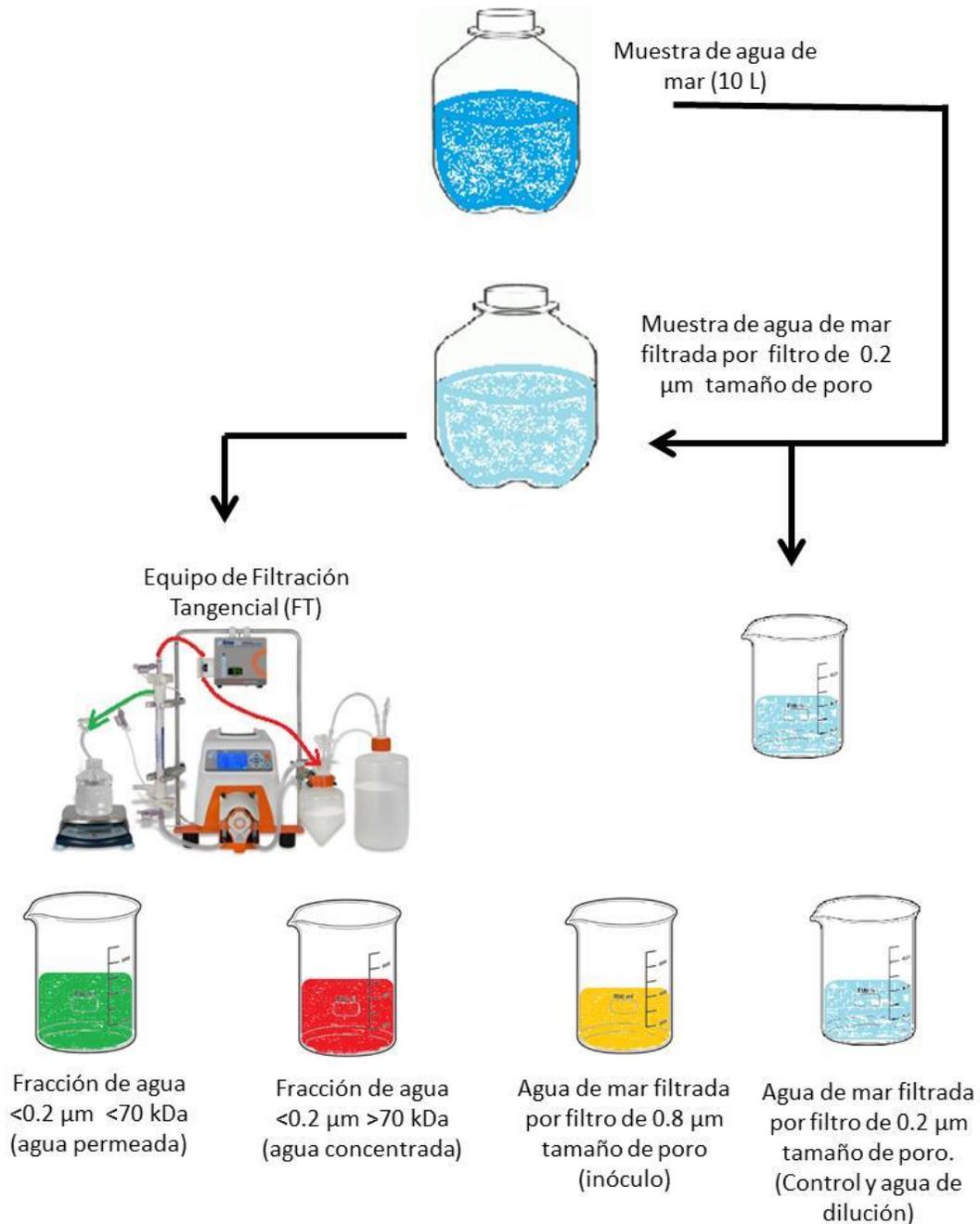
Todas las submuestras fueron ventiladas por 24 horas después de cada tratamiento

- Anexo 2 Reducción del contenido de DOM por tratamiento con ozono, carbón activado y combinación de ozono y carbón activado para muestra de agua de mar fresca.

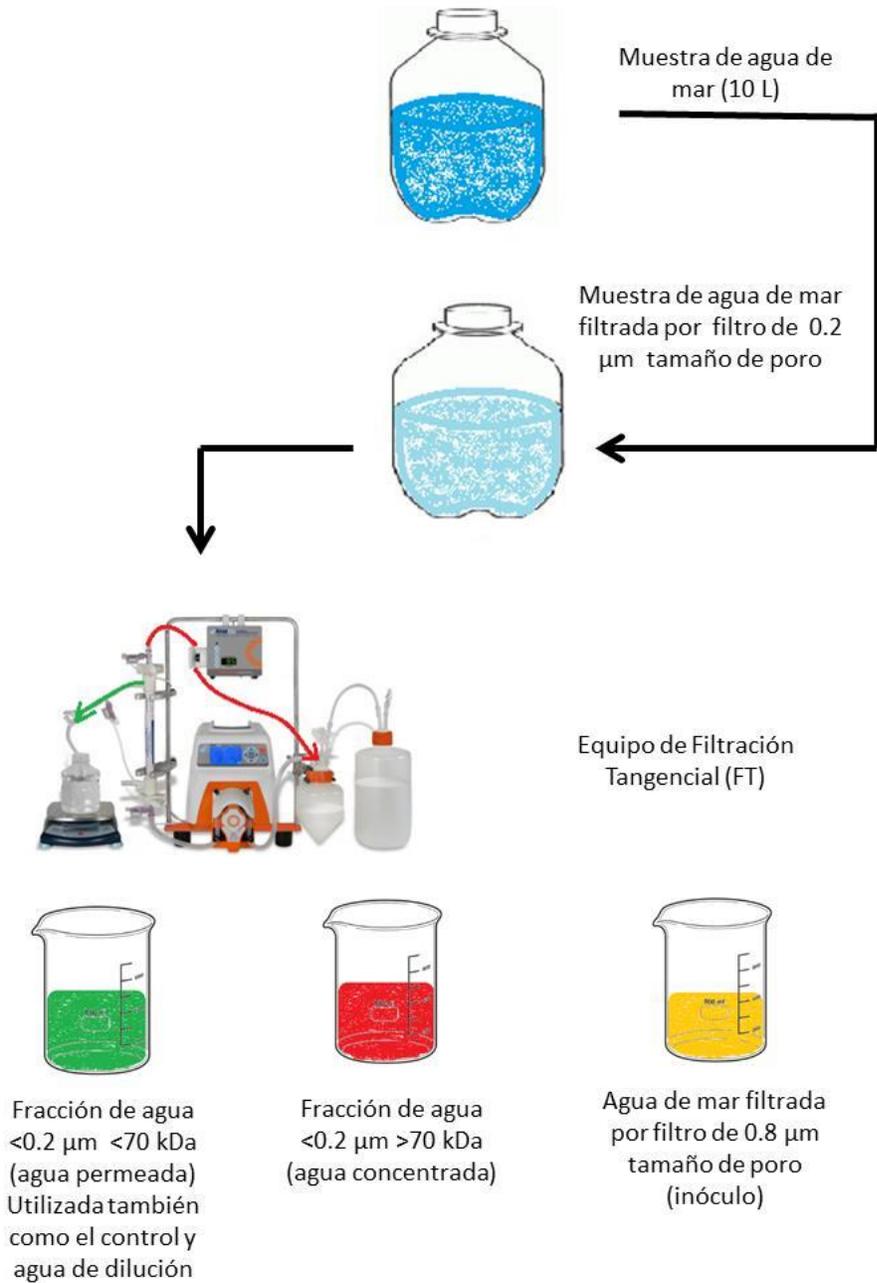


Todas las submuestras fueron ventiladas por 24 horas después de cada tratamiento

- Anexo 3 Respuesta de comunidades naturales de bacterias marinas costeras a la adición de diferentes concentraciones de DOM obtenida por filtración de agua de mar por un filtro de policarbonato de 0.2  $\mu\text{m}$  y posteriormente por 70 kDa.



- **Anexo 4 Respuesta de comunidades naturales de bacterias marinas costeras a la adición de diferentes concentraciones de DOM obtenida por filtración de agua de mar por un filtro de policarbonato de 0.2  $\mu\text{m}$  y posteriormente por 70 kDa.**



## REFERENCIAS

Amon R. W. y Benner R. (1996) Bacterial utilization of different size classes of dissolved organic matter. Volume 41(1) *Limnology and Oceanography* 41-51

Arrieta J.M., Mayol E., Hansman R.L., Herndl G.J. Dittmar T. y Duarte C.M. (2015) Dilution limits dissolved organic carbon utilization in the deep ocean. *Science* 348: 331-333.

Azam F., Fenchel T., Field J. G. Gray J. S., Meyer-Reil L. A. y Thingstad F. (1983) The ecological role of water-column microbes in the sea. *Marine Ecology Progress Series* 10: 257-263

Azam F. y Long R.A. (2001) Sea snow microcosms. *Nature*. 414: 495, 497–498. PMID: 11734832

Azam F. y Malfatti F. (2007) Microbial structuring of marine ecosystems. *Nature Reviews Microbiology*; 5: 782–791. PMID: 17853906

Bertilsson S. y Jones Jr. J.B. (2003) Supply of dissolved organic matter to aquatic ecosystems: autochthonous sources. En *Aquatic ecosystems DOM* (3-24). USA: Academic Press.

Brockmeyer B. y Spitzzy A. (2013) Evaluation of a disc tube methodology for nano and ultrafiltration of natural dissolved organic matter (DOM). *International Journal of Organic Chemistry*, 3, 17-25.

Carlucci A. F. y Pramer D. (1959) Factors affecting the survival of bacteria in sea water. *Microbiological Process Report* (7) 388-392

Chavez E. P., Pennington J.T., Castro C. G., Ryan J. P., Michisaki R. P., Schlining B., Walz P., Buck K. R., McFadyen A. y Collins C. A. (2002) Biological and chemical consequences of the 1997 -1998 El niño in central California waters. *Progress in Oceanography* (54) 205-232

Checkley D. M. y Barth J. A. (2009) Patterns and processes in the California Current System. *Progress in Oceanography* 83, 49-64.

Chen C.S., Anaya J.M., Chen EY T., Farr E. y Chin W.C. (2015) Ocean Warming–Acidification Synergism Undermines Dissolved Organic Matter Assembly. *PLoS ONE* 10(2): e0118300. doi:10.1371/journal.pone.0118300.

Dang H. y Jiao N. (2014) Perspectives On the microbial carbon pump with special reference to microbial respiration and ecosystem efficiency in large estuarine systems, *Biogeosciences* 11, 3887-3897.

Del Giorgio P.A., y Davis J. (2003) Patterns in Dissolved Organic Matter Lability and Consumption across Aquatic Ecosystems. En *Aquatic ecosystems DOM* (399-424). USA: Academic Press.

Durazo R., Ramírez-Manguilar A. M., Miranda L. E. y Soto-Mardones L. A. (2010) Climatología de variables hidrográficas en Gaxiola-Castro G., Durazo R. (eds), *Dinámica del ecosistema pelágico frente a Baja California 1997-2007*. SEMARNAT, INE, CICESE y UABCC 25-57.

Durazo R. (2015) Seasonality of the transitional region of the California Current System off Baja California, *J. Geophys. Res. Oceans*, 120 1173-1196.

Emery W.J. y Meincke J. (1986) Global water masses: summary and review  
*Oceanologica Acta* 9(4) 383-391

Emery W.J. (2003) *Water types and water masses*, Academic Press 1556-1567,

Environmental Protection Agency (EPA) (1999) Ozone disinfection. Wastewater  
Technology Fact Sheet. United States. EPA 832-F-063

Espinosa Carreón T.L., Gaxiola Castro G., Robles Pacheco J.M. y Nájera Martínez S  
(2001) Temperatura, salinidad, nutrientes y clorofila a en aguas costeras de la  
Ensenada Sur de California. *Ciencias Marinas* 27(3), 397-422

Findlay S. (2003) Bacterial response to variation of Dissolved Organic Matter. En  
*Aquatic ecosystems DOM* (399-424). USA: Academic Press.

Gaxiola Castro G., Cepeda Morales J., Nájera Martínez S., Espinosa Carreón T. L.,  
De la Cruz Orozco M. E., Sosa Avalos R., Aguirre Hernández E. y Cantú Ontiveros J.  
P. (2007a) Biomasa y producción del fitoplancton En *Dinámica del ecosistema  
pelágico frente a Baja California, 1997-2007* (59-85) Gaxiola Castro G. y Durazo R.  
(editores) SEMARNAT, INE, CICESE, UABC México

Gaxiola Castro G., De la Cruz Orozco M. E., Nájera Martínez S., Martínez Gaxiola  
M. D. y Rodríguez Gamboa A. (2007b) Nutrientes: efectos de procesos locales y de  
gran escala En *Dinámica del ecosistema pelágico frente a Baja California, 1997-2007*  
(209-225) Gaxiola Castro G. y Durazo R. (editores) SEMARNAT, INE, CICESE,  
UABC México

Hansell, D. A. y Carlson C. A. (2015), *Biogeochemistry of Marine Dissolved Organic Matter*, 2nd ed., 712 pp., Elsevier, Waltham, Mass.

Hill J.K. y Wheeler P.A. (2002) Organic carbon and nitrogen in the northern California current system: comparison of offshore, river plume, and coastally upwelled water. *Progress in Oceanography* 53 369-387.

Jiao N. y Azam F. (2011) Microbial Carbon Pump and its significance for carbon sequestration in the ocean. En *Microbial carbon pump in the ocean* (46-48). USA: Science AAAS.

Jiao N., Robinson C., Azam F., Thomas H., Baltar F., Dang H., Hardman-Mountford N. J., Johnson M., Kirchman D. L., Kock B. P., Legendre L., Li C., Liu J., Tuo T., Luo Y. W., Miltra A., Romanou A., Tang K., Wang X., Zhang C. y Zhang R. (2014) Mechanisms of microbial carbon sequestration in the ocean – future research directions. *Biogeosciences*, 11, 5285-5306.

Lara Lara J. R., Arreola Lizárraga J. A., Calderón Aguilera L. E, Camacho-Ibar V. F., de la Lanza Espino G., Escofet Giansone A., Espejel Carbajal M. I., Guzmán Arroyo M., LadaH L., López Hernández M., Meling López E., Casasola Barceló P., Reyes Bonilla H., Ríos Jara E. y Zertuche González J. A. (2008) Los ecosistemas costeros, insulares y epicontinentales en Capital natural de México. (1) Conocimiento actual de la biodiversidad CONABIO, México 109-134

Lechtenfeld O., Hertkorn N., Shen Y. y Witt M., Benner R. (2015) Marine sequestration of carbon in bacterial metabolites. *Nat Commun.* 6:6711 doi: 10.1038/ncomms7711

Lee C. y Henrichs S. M. (1993) How the nature of dissolved organic matter might affect the analysis of dissolved organic carbon Volume 41, Issues 1–3, January 1993, 105-120.

Libes M. S. (2009). Introduction to marine biogeochemistry. United States of America: Academic Press.

Lynn R.J. y Simpson J. J. (1987) The California Current System: The seasonal variability of its physical characteristics. Journal of geophysical research. 92 (C12) 12947-12966.

Maier M.R., Pepper I.L. y Gerba C.P. (2009). Environmental Microbiology. Primera Edición Academic Press, Amsterdam.

McDougall G.J. (1991) The physical nature and manufacture of activated carbon. Journal of the South African Institute of Mining and Metallurgy, 91 (4) 109-120.

Muñoz-Anderson M. A., Lara-Lara J. R., Álvarez-Borrego S., Bazán-Guzmán C. y de la Cruz-Orozco M. (2015) Water-air fluxes in the coastal upwelling zone off northern Baja California. Ciencias Marinas 41 (2) 157-168.

Nadezhdin A. D. (1988) Mechanism of ozone decomposition in water. The role of termination. Ind. Eng. Chem. 27 (4) 548-550.

Ogawa H. y Tanoue E (2002) Dissolved Organic Matter in Oceanic Waters. Journal of Oceanography 59, 129-147.

Osterholz H., Niggemann J., Giebel H. A., Simon M. y Dittmar T. (2015) Inefficient microbial production of refractory dissolved organic matter in the ocean. *Nat. Commun.* 6:7422 10.1038/nacomms8422.

Pomeroy R. L. (1974). The ocean's food web a changing paradigm. *BioScience*, 24, 499-504.

Pomeroy R. L., Williams P. J., Azam F. y Hobbie J. (2007) The microbial Loop. *Oceanography* 20 (2) 28-33.

Rakness, K. L., Corsaro K. M., Hale G. y Blank B. D (1993) Wastewater Disinfection with Ozone: Process Control and Operating Results. *Ozone: Science and Engineering* 15. (6.) 497–514.

Repeta D. J. (2015) Chemical characterization and cycling of Dissolved Organic Matter en *Biogeochemistry of Marine Dissolved Organic Matter* 21-63.

Reyes Toriz E. D., Cerino Córdova F. J. y Suárez Herrera M. A. (2006) Remoción de metales pesados con carbón activado como soporte de biomasa. *Ingenierías*, IX (31) 59-64.

Rodriguez T., Botelho D. y Cleto E. (2008) Tratamiento de efluentes industriales de naturaleza recalcitrante usando ozono, peróxido de hidrógeno y radiación ultravioleta. *Frac. Ing. Univ. Antioquia*. 46 24-38.

Santos L., Santos E. B. H., Dias J. M., Cunha A. y Almeida (2014) Photochemical and microbial alterations of DOM spectroscopic properties in the estuarine system Ria de Aveiro. *Photochemical & photobiological sciences* (13) 1146-1159

- Schwedt A., Seidel M., Dittmar T., Simon M., Bondarev V., Romano S., Lavik G. y Shulz Voft H. N. (2015) Substrate use of *Pseudovibrio* sp. Growing in ultra-oligotrophic seawater. PLoS ONE 10 (3):e0121675. doi:10.1371/journal.pone.0121675
- Sharp J.H., Suzukib y., Mundayc W.L. (1993) A comparison of dissolved organic carbon in North Atlantic Ocean nearshore waters by high temperature combustion and wet chemical oxidation. Marine Chemistry 41, Issues 1–3, January 1993, 253–259.
- Staehelln J. y Holgné Jürg (1985) Descomposition of ozone in wáter in the presence of organic solutes acting as promoters and inhibitors of radical chain reactions. Environment Science Technology, 19, (12) 1206-1213.
- Verdugo P., Alldredge A. L., Azam F., Kirchman D. L., Passow U. y Santschi P. H. (2004) The oceanic gel phase: a bridge in the DOM-POM continuum. Marine Chemistry, 92, 67-85.
- Verdugo P. (2012) Marine microgels. Marine Sciences 2012.(4) 375-400
- Williams P.J. (1970) Biological and chemical aspects of Dissolved Organic Matter in sea water. En Chemical Oceanography (301-357). England: 1970.
- Wotton R. S. (2004) The ubiquity and many roles of exopolymers (EPS) in aquatic systems. Scientia Marina 68 (1) 13-21
- Zobell C.E. (1946) Marine microbiology chronica botanica, Co., Waltham, Mass.

Zweifel L. U., Norrman B. y Hagström Å. (1993) Consumption of dissolved organic carbon by marine bacteria and demand for inorganic nutrients. *Marine Ecology Progress Series* (101) 23-32