

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS

"Pigmentos Fitoplanctónicos por HPLC en el Golfo de California:
Periodo Verano – Invierno 1996 – 1997".

TESIS
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS
EN OCEANOGRAFÍA COSTERA
PRESENTA:
OC. VICTOR A. MACIAS CARRANZA

*Cuando alguien es incapaz
de reírse de sí mismo, ha
llagado el momento de que
otros se rían de él.*

Thomas Szasz.

"Pigmentos Fitoplanctónicos por HPLC en el Golfo de California:

Período: Verano – Invierno 1996 – 1997"

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS
EN OCEANOGRAFÍA COSTERA

PRESENTA:

OC. VICTOR A. MACIAS CARRANZA

APROBADA POR:



Dr. José Vinicio Macías Zamora.



Dr. Gilberto Gaxiola Castro



M.C. Francisco Delgadillo Hinojosa

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología que por medio de los proyectos "DISTRIBUCIÓN Y FLUJOS DE GASES DISUELTOS EN AGUA DE MAR: INTERRELACIONES QUÍMICO BIOLÓGICAS EN EL GOLFO DE CALIFORNIA" (CLAVE: 431100-2045t) e "IMPACTO AMBIENTAL DE LAS MAREAS ROJAS" (CLAVE: 431100-1984-PT) que aportó los medios materiales y los medios económicos por medio de una beca.

A la Universidad Autónoma de Baja California por el apoyo recibido durante el desarrollo del trabajo.

Al Dr. Vinicio Macías, por la valiosa ayuda que recibí durante el desarrollo del posgrado y en especial por la confianza para permitirme trabajar con él.

Al Dr. Gilberto Gaxiola, por su disponibilidad y ayuda en el desarrollo de este trabajo.

Al M.C. Francisco Delgadillo, por los buenos consejos para el mejor desarrollo de este trabajo.

Al M.C. Julio Villaescusa, por la ayuda en el desarrollo del trabajo.

Mi agradecimiento a todas las personas que pasaron conmigo buenos y malos momentos durante la Maestría, amigos y compañeros que sin estar involucrados en la ciencia siempre me dieron su apoyo.

A Lorena y Martín, por la confianza, ayuda y amistad.

Quiero hacer un agradecimiento muy especial a mis padres, a mi hermana, a mi tía Nena y a mis abuelos porque de todos ellos he aprendido a vivir mejor.

A Jorge Loredó, por una amistad de tantos años.

Y por último, pero no al último, Francisca, gracias por tu cariño, ser quien eres y enseñarme que las mejores cosas siempre están cerca de uno mismo.

RESUMEN

Se realizaron dos cruceros en el Golfo de California desde la parte norte hasta la boca durante Septiembre de 1996 y Marzo de 1997 representando las épocas de verano e invierno respectivamente. Se colectaron muestras para el análisis de pigmentos fotosintéticos. La clorofila y los pigmentos accesorios, fueron medidos por cromatografía líquida de alta presión (HPLC) usando un detector de arreglo de diodos. En el invierno la temperatura del agua presentó una variación de los 13 °C a los 100m hasta 21 °C en la superficie. A lo largo del Golfo, la columna de agua se encontró bien mezclada hasta los 75 m en promedio. Los valores mas altos de clorofila *a* (2 mg m⁻³) para esta época se presentaron en la región de las islas. Para la época de verano la temperatura osciló entre los 15°C a los 100 m y 30 °C en la superficie a lo largo del Golfo. La columna de agua presentó una termoclina bien formada a los 50 m de profundidad. Las concentraciones de clorofila *a* son menores que en invierno (0.1 a 0.4 mg m⁻³) y se observa la presencia de dos máximos, uno en la región de las islas y otro en la parte sur del Golfo. Los máximos observados en las islas se deben a los constantes afloramientos de agua profunda que se presentan a causa de la topografía y la mezcla vertical causada por el viento y la marea. Los valores de clorofila *a* son muy cercanos a los obtenidos por otros autores para la misma zona y época del año.

La fucoxantina (Diatomeas), peridinina (Dinoflagelados) y 19'-hexanoiloxifucoxantina (Cocolitoforidos) presentaron distribuciones, que generalmente coinciden con la clorofila *a*. De la misma manera se usaron para determinar la distribución de los principales clases de fitopláncton en el Golfo de California, donde la fucoxantina representa a las Diatomeas y el pigmento accesorio mas abundante tanto en verano como en invierno, con valores de máximos de 0.24 mg m⁻³ en verano a valores de 1.8 mg m⁻³ en invierno, lo que sugiere que las diatomeas son el grupo mas abundante en el Golfo. Sin embargo, la 19'-butanoiloxifucoxantina (silicoflagelados) presentó una distribución distinta a los demás pigmentos, sugiriendo una limitada distribución de la clase a la que representa.

INDICE

	PAGINA
INTRODUCCION	1
ANTECEDENTES	6
OBJETIVOS	8
General	
Particulares	
AREA DE ESTUDIO	9
METODOLOGIA	12
Colecta de las muestras	
Desarrollo analítico	
RESULTADOS	24
DISCUSION	50
CONCLUSION	65
LITERATURA CITADA	67

FIGURAS

- Figura 1.- Localización del área de estudio y las estaciones de muestreo en el Golfo de California.
10
- Figura 2.- Esquema del equipo analítico.
15
- Figura 3.- Cromatogramas característicos para los estándares y las muestra.
20
- Figura 4.- Diagrama de flujo de la metodología.
22
- Figura 5.- Variación de la temperatura para verano e invierno en el Golfo de California.
25
- Figura 6.- Variación del oxígeno disuelto para verano e invierno en el Golfo de California.
26
- Figura 7.- Variación de la clorofila a para verano e invierno en el Golfo de California.
28
- Figura 8.- Distribución espacial de la clorofila a integrada para verano.
29
- Figura 9.- Distribución espacial de la clorofila a integrada para invierno.
30
- Figura 10.- Perfiles verticales de clorofila a, temperatura y oxígeno para verano.
31
- Figura 11.- Perfiles verticales de clorofila a, temperatura y oxígeno para invierno.
34
- Figura 12.- Variación longitudinal y estacional de la fucoxantina y el peridina en el Golfo de California.
37

- Figura 13.- Variación longitudinal y estacional de la 19'hexanoiloxi-fucoxantina y la 19'butanoiloxifucoxantina en el Golfo de California.
38
- Figura 14.- Perfiles verticales de la razones (pig/*chl a*) para fucoxantina, peridininina, 19'hexanoiloxifucoxantina y la 19'butanoiloxi-fucoxantina para verano.
40
- Figura 15.- Perfiles verticales de la razones (pig/*chl a*) para fucoxantina, peridininina, 19'hexanoiloxifucoxantina y la 19'butanoiloxifucoxantina para invierno.
42
- Figura 16.- Perfiles verticales de la suma de pigmentos fotoprotectores para las dos épocas del año.
45
- Figura 17.- Comportamiento de la concentración de temperatura y oxígeno para verano e invierno .
46
- Figura 18.- Correlación entre la temperatura y la clorofila *a*, fucoxantina y entre la clorofila *a* y la fucoxantina para verano.
47
- Figura 19.- Correlación entre la temperatura y la clorofila *a*, fucoxantina y entre la clorofila *a* y la fucoxantina para invierno.
48

TABLAS

- Tabla 1.- Localización de las estaciones de muestreo.
12
- Tabla 2.- Condiciones de trabajo del HPLC.
18
- Tabla 3.- Tiempos de retención para cada pigmento.
21

INTRODUCCIÓN

Los pigmentos del fitoplancton, entre ellos las clorofilas y los carotenos, que son utilizados para la captura de energía solar, representan un grupo de parámetros muy frecuentemente medidos en oceanografía. La variedad de estos compuestos es impresionante, ya que se reportan 13 clorofilas y mas de 500 carotenoides (Repeta y Simpson 1990). La medición de estos compuestos ha venido evolucionando a partir de mediciones de carácter grueso, como lo han sido las determinaciones espectrofotométricas y fluorimétricas hacia mediciones de carácter mas particular que permite distinguir compuestos individuales.

La utilidad práctica de las mediciones de clorofilas en particular y de pigmentos en general, son múltiples. Podemos señalar por ejemplo que estas mediciones se han utilizado para estimar biomasa fitoplanctónica (Brown *et al* 1981; Jasprica y Caríc, 1997), para estudiar actividades de pastoreo con mediciones de feopigmentos (Head y Harris, 1994; Quiblier-Llobéras *et al.*, 1996), y para distinguir regiones oceanográficas distintas (Santamaría-del-Angel *et al.*, 1994). Los pigmentos fotosintéticos y sus productos de degradación han sido usados también para generar mapas quimiotaxonómicos del fitoplancton en los océanos (Mackey *et al.*, 1996 ; Wrigth *et al.*, 1996). La utilidad de estos estudios incluye por ejemplo, observar el cambio de las características de las masas de agua (Peeken, 1997), efectuar interpretaciones de condiciones hidrográficas en aguas costeras (Bustillos-Guzman *et al*, 1995), para determinar el flujo, la transformación y la depositación del carbono orgánico proveniente de las algas (Williams and Claustre, 1991). La distribución horizontal y vertical de los pigmentos ha sido medida para evidenciar algunas de las características de los océanos tales como: los ambientes oligotróficos en el Océano Pacífico, las aguas estratificadas del Océano Indico, los florecimientos de algas en ambientes protegidos como puertos y bahías y los procesos de degradación en ambientes costeros estuarinos.

Una de las características importantes de las algas microscópicas que flotan libremente en el océano, y que representan al fitoplancton, es su distribución en parches (Alvarez-Borrego *et al* 1991). Como resultado de esta variabilidad, se producen cambios en las concentraciones de los pigmentos lo que se refleja en

variaciones en la producción primaria del océano (Tilstone et al; 1999). Estas variaciones se han atribuido a varios factores entre los que se destacan la temperatura, el nitrógeno disponible, la estratificación, la turbulencia en la columna de agua, la intensidad y calidad luminosa, el tamaño y la diversidad de especies, así como los estados fisiológicos del fitoplancton (Tilstone et al; 1999).

Adicionalmente, estos organismos son el alimento base que soporta de manera directa o indirecta, la vida en los océanos y llegan a contribuir en forma significativa en los procesos climáticos. algunos de estos puntos de influencia son el control, por medio de la fotosíntesis, de la concentración del dióxido de carbono atmosférico, la contribución al calentamiento estacional de las capas superficiales del océano debida a la absorción y dispersión de la luz, (Malin *et al*, 1992) y la producción de sustancias volátiles (dimetilsulfuro) que funcionan como núcleos de formación de nubes (Ditullio and Walker, 1995).

De la misma manera el tamaño de las células del fitoplancton puede influir en los procesos naturales para modificar el medio, como en la dinámica de las cadenas alimenticias y consecuentemente de las pesquerías (Jeffrey y Hallengraef, 1990).

Para entender mejor la contribución del fitoplancton a la variabilidad de la biomasa se creo una clasificación basada en tamaños (microplancton de 20-200 μm , nanplancton de 2-20 μm y picoplancton de 0.2-2 μm) donde el nanoplancton contribuye hasta en un 90% con la producción de clorofila *a*, tanto en aguas oceánicas como en aguas costeras (Jeffrey y Hallengraef, 1990). Por otra parte la productividad del nanoplancton es más grande con respecto al microplancton, en medios ambientes estables, como las zonas oceánicas, mientras que el microfitoplancton tiende a dominar en medios ambientes inestables, tales como las zonas costeras y cercanas a islas, donde se presentan procesos de mezcla y surgencias (Lara-Osorio, 1985).

Dentro de los análisis para determinar pigmentos, como se mencionó de manera breve al inicio, existen diferentes metodologías que se han ido mejorando por la necesidad de obtener resultados más confiables. Las mas comúnmente usadas son las técnicas espectrofotométricas, que presentaban la desventaja de sobrestimar las determinaciones de clorofila *a*, ya que los coeficientes de extinción que se tenían calculados eran muy bajos y a que existen otros compuestos que son capaces de

absorber en la misma longitud de onda de las clorofilas. De la misma manera, estas interferencias pueden presentarse también, cuando existen productos de degradación de la clorofila. Hasta la fecha el uso de nuevos coeficientes y de ecuaciones, permiten calcular de manera precisa la clorofila **a**, **b** y **c** (Jeffrey, 1997). Sin embargo existe interferencia por otros pigmentos que se encuentran en la muestra. Aun así los datos que se obtienen con esta técnica pueden ser usados si se manejan adecuadamente (Lorenzen y Jeffrey, 1980). La Fluorometría es otra de las técnicas empleadas y tiene la gran ventaja de ser hasta 50 veces más sensible que la espectrofotometría, sin embargo, su desventaja principal es que sólo se recomienda para el análisis de clorofila **a** y feoforbida **a**. La cromatografía líquida de alta presión (HPLC) fue desarrollada a principios de los 80's para determinar los pigmentos de plantas terrestres (Roy, 1987). Con el tiempo las aplicaciones se extendieron y los equipos fueron mejorados, ahora con esta técnica aplicada al medio marino se puede determinar una gran variedad de pigmentos incluyendo sus productos de degradación. Como ejemplo de lo revolucionario de la técnica, se puede mencionar que en la última década, se han revelado 20 nuevos derivados de la clorofila, como la divinil clorofila **a** y **b**, bacterioclorofilas y la clorofila **ccs-170** (Jeffrey *et al*, 1997).

Por otra parte, se estima que el fitoplancton contribuye con el 25% de la vegetación total del planeta (Jeffrey and Hallengraef, 1990), su amplia diversidad conjunta, 12 divisiones, 17 clases (Chrétiennot-Dinet M.J. *et al.*, 1993) que se encuentran en 4 grupos a los que se les denomina como algas verdes, rojas, cafés y verde-azules y solamente en la división Bacillariophyta (diatomeas) existen 210 géneros y 10,000 especies, mientras que la división Dinophyta (dinoflagelados) contiene 550 géneros y más de 4,000 especies (Jeffrey *et al*, 1997). De esta amplia variedad de organismos, resulta una complejidad pigmentaria ya descrita líneas arriba.

La fotosíntesis es el proceso mediante el cual, la energía luminosa es absorbida por los pigmentos fotosintéticos en las plantas, algas y algunas bacterias, para convertirla en energía química y obtienen poder de reducción para formar carbohidratos a partir del dióxido de carbono (Otto *et al.*, 1986). Por esto, la clorofila **a** es el principal pigmento fotosintético del reino vegetal tanto en los ambientes marinos como terrestres y su cuantificación sirve como una medida de la biomasa del

fitoplancton marino. Hoy en día, la biomasa usualmente se determina por conteos de células por medio de microscopio, pero el análisis por este método es caro y requiere de mucho tiempo (Schmid *et al.*, 1998). Se ha descubierto también, que el nanoplancton y el picoplancton son los mayores componentes de las comunidades fitoplanctónicas en el océano. Sin embargo, muchas de estas especies resultan difíciles de identificar en el microscopio, ya que además de ser pequeñas son muy frágiles y en ocasiones no sobreviven a la fijación y a los procesos de conteo para determinar abundancias de células. Por esta razón se han propuesto métodos alternativos como la cromatografía líquida de alta presión para la identificación de organismos del fitoplancton mediante el uso de sus pigmentos característicos (Mackey *et al.*, 1998). La cromatografía líquida de alta presión (HPLC) es un método analítico donde no solo es posible obtener datos correctos de clorofila *a*, sino también se obtiene información mas detallada en relación a la composición pigmentaria del fitoplancton (Schmid *et al.*, 1998).

De acuerdo con Wright y Jeffrey (1987) el conocer los diferentes pigmentos que contiene el fitoplancton pueden indicar las clases predominantes que se presentan en las poblaciones de fitoplancton, información que no se puede obtener de un simple análisis de clorofilas y sus derivados mediante espectrofotometría o fluorescencia. Por ejemplo, se han encontrado altas cantidades de clorofila *b*, típicamente representante de las algas verdes, en el Océano Pacífico Norte. En las costas de Australia, se encontró que la fucoxantina (predominantemente presente en diatomeas) es el carotenoide dominante comparado con la peridinina (dinoflagelados fotosintéticos) (Wright y Jeffrey 1987).

Ya que las clorofilas hacen la función fotosintética, son un indicador de biomasa y productividad en el océano y es probablemente el parámetro bioquímico mas usado en oceanografía. Por lo que con estas mediciones podemos tener la posibilidad de relacionar de manera directa o indirecta los pigmentos para: la estimación cualitativa de comunidades de fitoplancton; estimación del desarrollo histórico del fitoplancton en análisis de sedimentos, es decir que con el análisis de pigmentos en núcleos de sedimento se puede inferir las clases de fitoplancton que dominaron en alguna época; caracterización de masas de agua a partir de los

pigmentos marcadores de algas; interpretación del status fisiológico del fitoplancton o procesos de sedimentación del fitoplancton (Schmid *et al*, 1998). La metodología empleada en este trabajo presenta numerosas ventajas sobre otras metodologías antes publicadas. Con ella se pueden separar aproximadamente 50 pigmentos (Wright *et al*, 1991) con un sencillo sistema ternario por gradiente de solventes y con una disminución de tiempo muy significativa.

El presente trabajo se inició con la intención de proveer una idea clara y mas completa de la composición pigmentaria en el Golfo de California. Se deseaba contrastar los posibles cambios en dichas composiciones entre las estaciones del año mas características de esta área geográfica que son el invierno y el verano. En esta diferenciación estacional se pretendía encontrar valores mayores de biomasa en invierno (mayor concentración de clorofila *a*) que en verano (Alvarez-Borrego y Lara-Lara, 1991). De la misma manera, se esperaba encontrar que los pigmentos accesorios de uno de los principales grupos del fitoplancton (o el mas abundante), las diatomeas, mostraran un incremento en la concentración de la fucoxantina (Moreno *et al*, 1996).

Adicionalmente, nuestra intención fue la de establecer comparaciones verticales y latitudinales para distinguir zonas con distintas características oceanográficas que pudieran o no coincidir con aquellas previamente descritas. Se deseaba también, poder obtener una idea aproximada de la composición fitoplanctónica sin recurrir al conteo directo de los organismos aprovechando el desarrollo de programas tales como el CHEMTAX (Mackey *et al* 1996). Esta parte sin embargo, no ha sido desarrollada como parte de este trabajo de tesis.

ANTECEDENTES

Los estudios oceanográficos en el Golfo de California se iniciaron en 1937 cuando se realizaron las primeras investigaciones sobre fitoplancton (Lara-Osorio, 1985). Gilbert y Allen (1943) basados en conteos de células sugirieron que el golfo podría ser una zona muy productiva. Esto fue corroborado por Roden (1958), que proponía incrementos en la productividad del fitoplancton por efecto de surgencia, mezcla por vientos y advección en ciertas áreas del Golfo.

Lara-Lara *et al.* (1984) concluyeron que la mayor contribución a la biomasa y productividad del fitoplancton se debió al nanóplancton en la parte sur del golfo, mientras que en la parte central la biomasa se encontraba dominada por el microplancton.

Gaxiola-Castro *et al.* (1995) y Alvarez-Borrego *et al.* (1987) reportan valores de productividad de $1.66 \text{ gC/m}^2 \text{ d}$ en época de invierno para la región de las islas y de $2.4 \text{ gC/m}^2 \text{ d}$ para la región central del golfo en verano respectivamente.

En la parte norte del golfo se han registrado valores altos de clorofila *a*, llegando hasta $40 \text{ mg cl } a / \text{m}^3$ en la época de primavera (Gendrop-Funes *et al.*, 1978). Valdéz-Holguín (1986) determinó clorofila *a* desde el sur de las islas hasta la boca del Golfo durante un evento de "El Niño" y presenta valores que están en el rango de 0.5 a $3.0 \text{ mg cl } a \text{ m}^{-3}$, mientras que un estudio realizado por Lara-Osorio (1985) para la zona central del golfo reporta valores promedio de $0.5 \text{ mg cl } a \text{ m}^{-3}$.

Basados en muestreos discretos de fitoplancton, el Golfo de California había sido dividido en cuatro regiones geográficas tomando en cuenta sólo la distribución espacial, la composición taxonómica y la abundancia del microfitoplancton (Duphin y Simoneit 1991). Sin embargo, con la disponibilidad de imágenes de satélite se ha podido incluir la variabilidad en el tiempo, con lo que se han generado series de tiempo que muestran una clara variación estacional, con máximos valores de clorofila *a* en invierno y primavera y mínimos valores en verano (Santamaria-del-Angel *et al.*, 1994), de tal manera que se ha propuesto dividir el golfo hasta en 14 regiones y donde se han encontrado valores de clorofila *a* de 5 y $29 \text{ mg cl } a \text{ m}^{-3}$ en la región norte hasta valores de 0.5 y $0.65 \text{ mg cl } a \text{ m}^{-3}$ en la región sur del golfo.

Dentro de todos los estudios que se han realizado en el golfo se tienen pocos datos de pigmentos analizados por HPLC (Millán-Núñez., 1998). Datos de pigmentos analizados por HPLC en el Golfo de California fueron empleados para la calibración de satélites (Zaneveld *et al.*, 1995), y serán usados mas adelante para efecto de comparación.

Los análisis de pigmentos por HPLC en el Golfo de California han sido muy limitados, en especial en estudios realizados por mexicanos, de aquí la importancia de hacer trabajos como el presente, en el cual se sientan las bases que permitan el seguimiento de este trabajo y la comparación con estudios posteriores. La limitada cantidad de estudios de pigmentos por HPLC que se han realizado en el golfo no permite hacer una comparación directa con esta misma metodología, por esta razón se presentan comparaciones con estudios en otras partes del mundo que se han realizado utilizando estas mismas técnicas analíticas.

OBJETIVOS

General:

Evaluar las concentraciones de los principales pigmentos fitoplanctónicos (Clorofilas y carotenoides), por Cromatografía Líquida de Alta Presión (HPLC) durante las épocas de invierno y verano en el Golfo de California.

Particulares:

Adaptar una metodología de extracción y cuantificación (HPLC) eficiente para la determinación de pigmentos fitoplanctónicos.

Generar distribuciones verticales y horizontales del comportamiento de los pigmentos en el Golfo de California.

Establecer comparaciones espaciales de los niveles de los pigmentos de manera geográfica, tanto vertical como latitudinalmente, así como estacional entre verano e invierno.

Establecer, cuando sea posible, las relaciones entre las distribuciones pigmentarias con alguna o algunas de las variables físicas y químicas, y buscar así, aquellos factores principales que controlen las abundancias y distribuciones de los pigmentos en esta región.

Inferir la posible predominancia de algunos grupos de microalgas, en base a los pigmentos característicos de cada grupo, preestablecidos por diferentes investigadores.

ÁREA DE ESTUDIO

El Golfo de California es un mar marginal del Océano Pacífico que se sitúa al noroeste de la República Mexicana entre los 23° y 32° N y 107° y 115° O (Figura 1). Se limita al oeste por la península de Baja California y al este por los estados de Sonora y Sinaloa. Tiene una longitud aproximada de 1100 Km. y un ancho promedio de 135 Km. El Golfo de California se divide en dos grandes zonas a partir de la región de las islas. La zona norte que se caracteriza por ser somera (200 m) y la región sur que es muy profunda (> 300 m) (Moreno *et al.*, 1996).

Las masas de agua en la parte norte son de origen local, formadas por evaporación excesiva por calentamiento, mientras que las masas de agua de la porción sur son casi las mismas que las del océano adyacente, modificadas por la evaporación excesiva del lugar. Las masas de agua superficiales encontradas en la parte sur del golfo son de tres tipos: Agua fría de la corriente de California, con temperatura de 22 °C y una salinidad menor a 34.6 ‰; agua del Pacífico Tropical Oriental, con una salinidad intermedia y una temperatura cálida y agua del Golfo de California, templada y muy salina. Se presenta una gran variabilidad estacional en la distribución relativa de estas masas de agua debido a los cambios interanuales y estacionales de las corrientes del Pacífico del Este (Valdez-Holguín 1986).

En el invierno (diciembre – marzo) las capas superficiales se enfrían y la fuerza del viento ha aumentando de tal manera que se genera el rompimiento de la termoclina, permitiendo la mezcla de los nutrientes en las capas superiores. De esta manera, las capas superiores permanecen ricas en nutrientes durante el invierno dando lugar a un florecimiento de fitoplancton, por lo que la estación de invierno es la más productiva (Lavín *et al.*, 1997).

El viento del norte en la región del golfo provoca surgencias en las costas de Sonora y Sinaloa (Alvares-Borrego y Lara-Lara, 1991). El agua de la surgencia se puede reconocer por su salinidad y temperatura menores a la superficial. Por el contrario, con los vientos del sur, la costa de Baja California es la que presenta las surgencias ocasionales aunque aparentemente de menor intensidad.

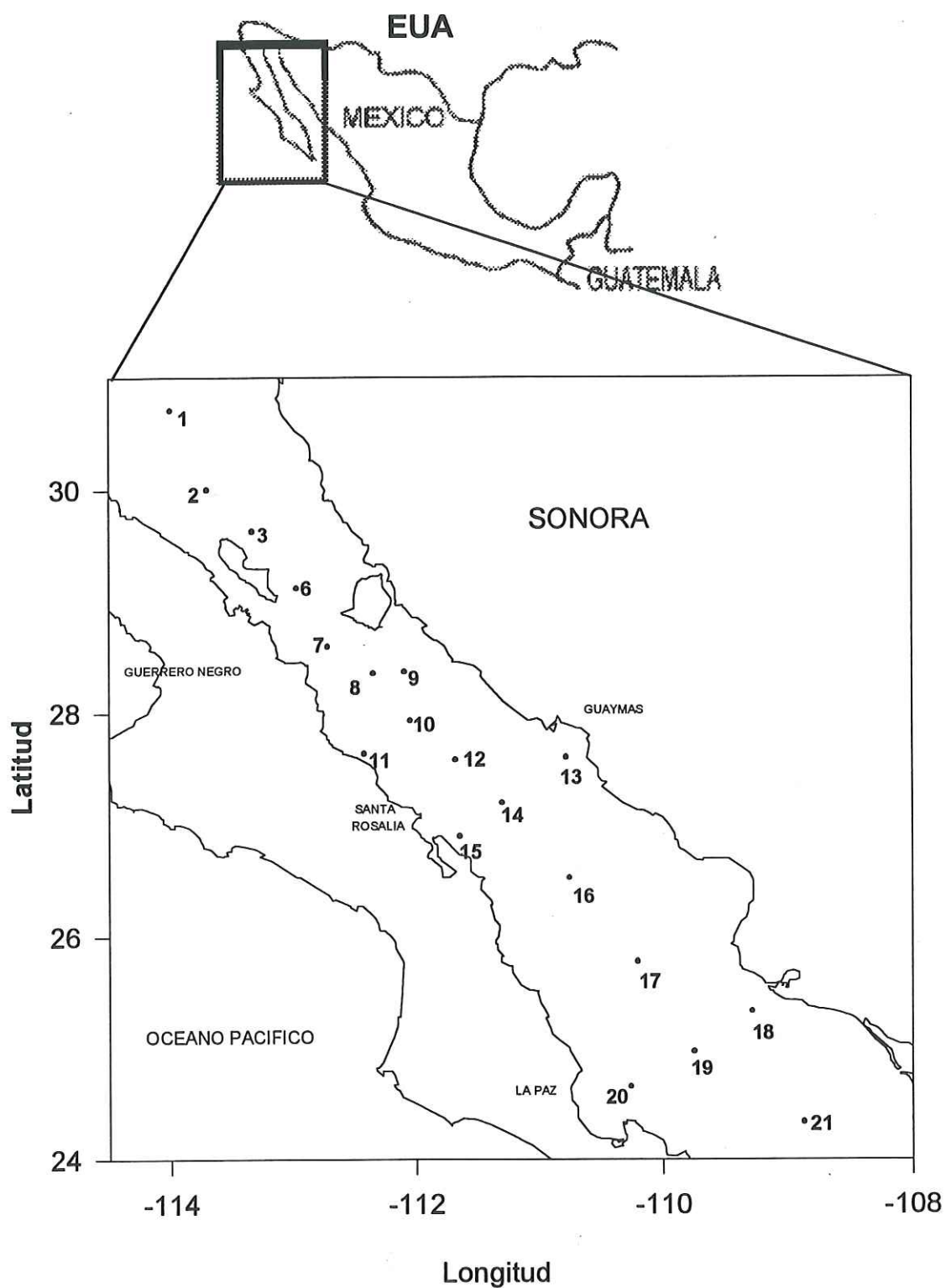


Figura 1.- Localización del área de estudio y las estaciones de muestreo en el Golfo de California.

Lavín *et al* (1997) describe una circulación superficial del Golfo de California que presenta un fuerte ciclo estacional, con un flujo de agua que entra en la época de verano y un flujo de salida en la época de invierno. Sin embargo aclara que el viento no es el principal generador de corrientes en la escala estacional.

METODOLOGÍA

Colecta de las muestras

Durante los periodos del 15 al 28 de septiembre de 1996 (representando la época de verano) y del 8 al 22 de marzo de 1997 (representando la época de invierno), se realizaron dos cruceros oceanográficos en el B/O Francisco de Ulloa (CICESE). Para el muestreo se establecieron 19 estaciones distribuidas a lo largo del Golfo de California (figura 1), con lo que se esperaba obtener una caracterización general. La localización geográfica de las estaciones se encuentra descrita en la tabla I.

Tabla 1 .- Localización de las estaciones de muestreo

ESTACIÓN	LATITUD °N	LONGITUD °W
1	30.711	114.002
2	30.002	113.700
3	29.627	113.330
6	29.117	112.965
7	28.595	112.712
8	28.355	112.345
9	28.370	112.093
10	27.932	112.074
11	27.637	112.417
12	27.580	111.685
13	27.603	110.792
14	27.198	111.313
15	26.898	111.648
16	26.525	110.768
17	25.722	110.207
18	24.333	108.865

19	24.967	109.747
20	24.652	110.265
21	25.328	109.282

Se realizaron lances hidrográficos utilizando botellas GO-FLO de 5 L de capacidad. Se obtuvieron muestras de agua para hacer mediciones de oxígeno disuelto, salinidad, muestras para la determinación de nutrientes (NO_3 , PO_4 y SiO_2) así como muestras de agua para la determinación de pigmentos. De manera simultánea se lanzó una roseta con capacidad para 6 botellas y un perfilador (CTD seabird), con el que se realizaron mediciones de temperatura, profundidad, oxígeno, salinidad y presión. En particular para las muestras de pigmentos, se establecieron las siguientes profundidades de muestreo: 10, 20, 30, 50, 75 y 100 m de profundidad con lo que se cubría la zona eufótica. La cantidad de agua que se colectó para el análisis de pigmentos en cada crucero fue distinta. En el primer crucero (MEGAMARCO I) se colectaron 500 ml de agua. Durante el segundo crucero (MEGAMARCO II) se colectaron 1000 ml. Sin embargo el protocolo seguido a la colecta del agua fue el mismo para ambos cruceros. El agua que se colectó fue filtrada utilizando un sistema de filtración Waltman con cierre magnético. Se usaron filtros GF/F (tamaño de poro nominal de $0.47\mu\text{m}$ y un diámetro de 47 mm) a los que se les eliminó cualquier residuo orgánico colocándolos en la mufla por un periodo de 4 hrs. a 400°C . Terminada la filtración, el filtro se colocó en una caja de petri (plástica), se etiquetaba correctamente y se cubría con papel aluminio para evitar la entrada de luz. Posteriormente se colocaban en hielo seco (-20°C) para preservarlas durante el viaje.

En el crucero de verano sólo se muestrearon las estaciones 7, 8, 9, 10, 11, 12, 15, 16, 17, 18, 19 y 21. Para el crucero de invierno, se colectaron muestras de la estación 1 a la 3 y de la 6 a la 21. Las diferencias en los muestreos se debieron a distintas situaciones, entre ellas, a fallas en el equipo, así como en la falta de tiempo de barco ocasionado principalmente por mal tiempo.

Desarrollo analítico

Una vez en el laboratorio, las muestras se mantuvieron en congelación (-20°C) para preservarlas hasta el momento de la extracción. Todo el material de vidrio que fue usado se limpio con jabón Micro[®] y agua desionizada, posteriormente se puso en la mufla por 4 hrs. a 400°C . El material volumétrico a diferencia de lo anterior se lavó con jabón Micro[®], agua desionizada y se limpio con metanol, acetona y diclorometano (B&J, grado HPLC).

La extracción de los pigmentos se realizó en base a la técnica descrita por Wright *et al.* (1991), quien propone el uso de acetona o metanol 100% como solvente y una extracción por medio de ultrasonido generado dentro del recipiente de extracción mediante una sonda de 4 mm de diámetro. Esta técnica no resultó eficiente en pruebas preliminares que realizamos en nuestro laboratorio. Por esta razón, se realizaron experimentos para mejorar la calidad de la extracción. Se concluyó que una mejor eficiencia de extracción se obtenía con una combinación de acetona y metanol en una proporción de 9:1 (v:v), esta combinación es usada y recomendada también por Jeffrey *et al.* (1997). De esta forma, se realizó la extracción de las muestras como sigue: Los filtros se colocaron en tubos con 5 ml de solvente, en paquetes de 7 tubos en un baño de agua fría (10°C) con ultrasonido por un periodo de 25 minutos. Terminada la extracción, el solvente conteniendo los pigmentos es pasado por un filtro Acrodisc BCR PTFE de teflón, de 13mm de diámetro y de $0.2\ \mu\text{m}$ de tamaño de poro para eliminar los residuos del filtro que se desprendieron en el momento de la extracción. El extracto se coloca luego en un tubo de ensayo graduado y el solvente se evapora utilizando un flujo de nitrógeno dentro del tubo hasta obtener un volumen final de 0.5 ml. Este volumen es transferido a viales de 2 ml de color ámbar con una atmósfera de nitrógeno y puestos en refrigeración hasta el momento de su análisis por HPLC. Todo esto se hace con la finalidad de mantener en perfecto estado los pigmentos evitando su degradación.

Todo el trabajo en el laboratorio se condujo bajo condiciones especiales como son: ausencia de luz blanca (se trabajo con luz amarilla) un ambiente fresco dentro del laboratorio y puertas y ventanas cubiertas para evitar la entrada de luz. Los solventes

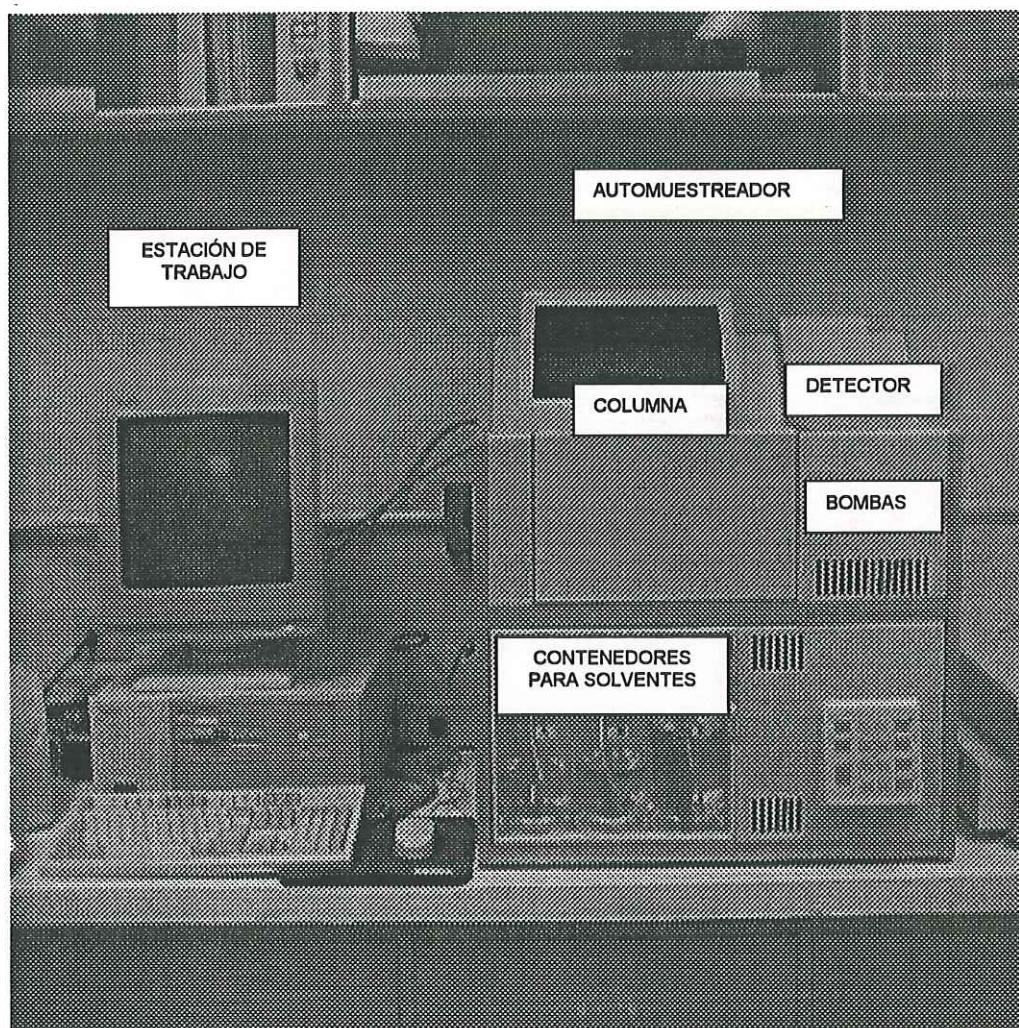


Figura 2.-Equipo de Cromatografía de Líquida de Alta Presión y sus componentes.

usados fueron de alta pureza (B&J grado HPLC), filtrados para eliminar toda impureza que pudiera dañar el cromatógrafo.

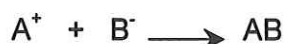
El análisis cualitativo y cuantitativo de los pigmentos se determinó por cromatografía líquida de alta presión (HPLC) en un equipo Hewlett Packard 1090, equipado con un sistema ternario de solventes, un detector de arreglo de diodos (UV-visible) con un rango de longitudes de onda de 190 a 600 nm, un detector de fluorescencia (Varian modelo 9075) conectado en línea y controlado por un integrador PE Nelson. Para el monitoreo de la clorofila *a* este último detector se programó a 450 nm en la excitación y 680 nm en la emisión. Este equipo cuenta además, con un automuestreador que permite realizar el análisis de hasta 100 muestras de manera continua, sin detener el equipo. La columna que fue usada es de las denominadas de fase inversa C-18 (Lichrospher 100 RP-18 de 5 μ m y una longitud de 125 x 24 mm), el sistema consistió de dos columnas en línea y una precolumna utilizada como protección. Todo el sistema es controlado por una computadora HP Vectra, la cual también tiene la tarea de guardar y procesar la información generada (figura 2).

A continuación se describe brevemente y de manera general el funcionamiento del equipo de cromatografía líquida.

En HPLC, se le denomina fase móvil a los solventes que son usados para transportar la muestra a través de la columna, estos deben ser previamente filtrados (0.2 μ m) y colocados en los reservorios, de aquí que la composición del eluente vaya a estar determinado por la proporción relativa de cada solvente en la mezcla. Esta mezcla es proporcionado por un sistema de bombas de alta presión que lo llevan hacia la columna. La muestra es aplicada al inicio de la columna, por medio de un sistema de válvulas o sistema de inyección que permite introducir volúmenes de 25 a 250 μ l de muestra. Los componentes de la muestra son llevados por el eluente a través de la columna. El paso del soluto que proviene de la columna es monitoreado por un detector y registrado en la computadora (figura 2). La resolución de las muestras es afectada por los cambios en el solvente y por su interacción con la fase estacionaria de la columna cromatográfica. Una composición constante de solvente (elución isocrática) es adecuada solo para algunos compuestos. Sin embargo, los cambios en la composición del solvente (elución por gradiente) se presentan como una herramienta

muy poderosa en la optimización y en la separación de las mezclas.

La adición de otros compuestos como; fosfato de tetrabutilamonio en los solventes, permiten una alternativa para alterar la retención de los compuestos y favorecer la separación, en este trabajo se utilizó acetato de amonio combinado con el metanol (80:20 v:v) (tabla 2). Esto se conoce como partición por ion-par y está basado en usar un sistema de eluentes (descrito arriba) que contiene un ion-contrario (counter-ion) con carga opuesta a la de los iones que van a ser analizados, y el cual formará un ion-par con los componentes iónicos de la muestra:



A^{+} Ion de la muestra

B^{-} Ion contrario

AB Ion par

El prerequisite esencial del ion contrario, es que contenga altas cantidades de sustituyentes para que el ion-par que se formará presente un carácter hidrofóbico, provocando un cambio en la retención cromatográfica, permitiendo separar con mayor eficiencia mezclas que contienen analitos iónicos y no iónicos (Braithwaite and Smith, 1985).

Las condiciones de trabajo para el HPLC como son, los solventes, las columnas, el detector y la combinación de los solventes que forma un gradiente facilitando la separación de los compuestos (tabla 2), en un principio se basaron en aquellas recomendadas por Wright *et al.* (1991), pero durante el desarrollo de pruebas preliminares se definieron las condiciones finales de trabajo, las cuales se describen a continuación:

En los análisis de prueba se encontraron diversos puntos críticos, los cuales influían de manera diferente. Durante la inyección las muestras estaban expuestas a la relativamente altas temperatura que imperaba dentro del laboratorio. De esta manera, las muestras pudieran degradarse, ya que el tiempo de permanencia en el

automuestreador era prolongado (el tiempo del análisis por muestra es de 45 min.). Se decidió analizar solo grupos de 7 muestras a la vez. El punto mas crítico, fué en la variación de los tiempos de retención que se presentaba debido al cambio de la temperatura en la columna. Ya que este cromatógrafo no viene equipado con controlador de la temperatura de la columna por debajo de la temperatura ambiente. Para resolver esta situación, se instaló una chaqueta de acrílico alrededor de la columna la cual era enfriada con agua a una temperatura constante (15°C), manteniendo así una excelente reproducibilidad en los tiempos de retención.

Tabla 2 .- Condiciones de trabajo del HPLC, una modificación del método descrito por Wright *et al*, (1991).

Condiciones			
De las bombas:			
Tiempo de termino:	35 min		
Tiempo de estabilización:	10 min		
Flujo del solvente:	1 ml/min		
Presión mínima:	0 bar		
Presión máxima:	400 bar		
Solvente A:	metanol : acetato de amonio (80:20)		
Solvente B:	acetonitrilo : agua (90:10)		
Solvente C:	acetato de etilo		
Inyector:			
Volumen de inyección:	200 µL		
Velocidad:	833.3 µL/min		
Gradiente de solventes:			
Tiempo (min)	% (B)	% (C)	Flujo (ml/min)
0	0	0	1
2	100	0	1
2.6	90	10	1

	13.6	65	35	1
	20	31	69	1
	22	100	0	1
	25	100	0	1
	30	0	0	1
	35	0	0	1
Del detector:				
Tiempo final:	al de la bomba 35 min			
Tiempo de estabilización:	10 min			
Intervalo de muestreo:	0.32 segundos			
Autobalance:	Encendido			
Señales:				
Señal	Medición (nm)	Referencia (nm)		
A	436	560		
B	450	530		
Recuperación del espectro:				
	Guardar:	Todo		
De.	350 nm			
Hasta:	600 nm			
Cada:	2 nm			

Durante la detección de los compuestos, se programó el detector para que funcionara monitoreando dos longitudes de onda, con lo que se cuantificaron los pigmentos clorofilicos (436 nm) y los carotenos (450 nm). Simultaneamente, se generaron los espectros de 350 a 600 nm. Aunque se obtuvieron los datos del detector de fluorescencia, estos no se procesaron ya que se logró detectar en todas las muestras, la presencia de clorofila *a*. En la figura 4 se resume el procedimiento analítico que comprendió la determinación de los pigmentos fotosintéticos.

La identificación de los pigmentos se lleva a cabo por medio de la comparación

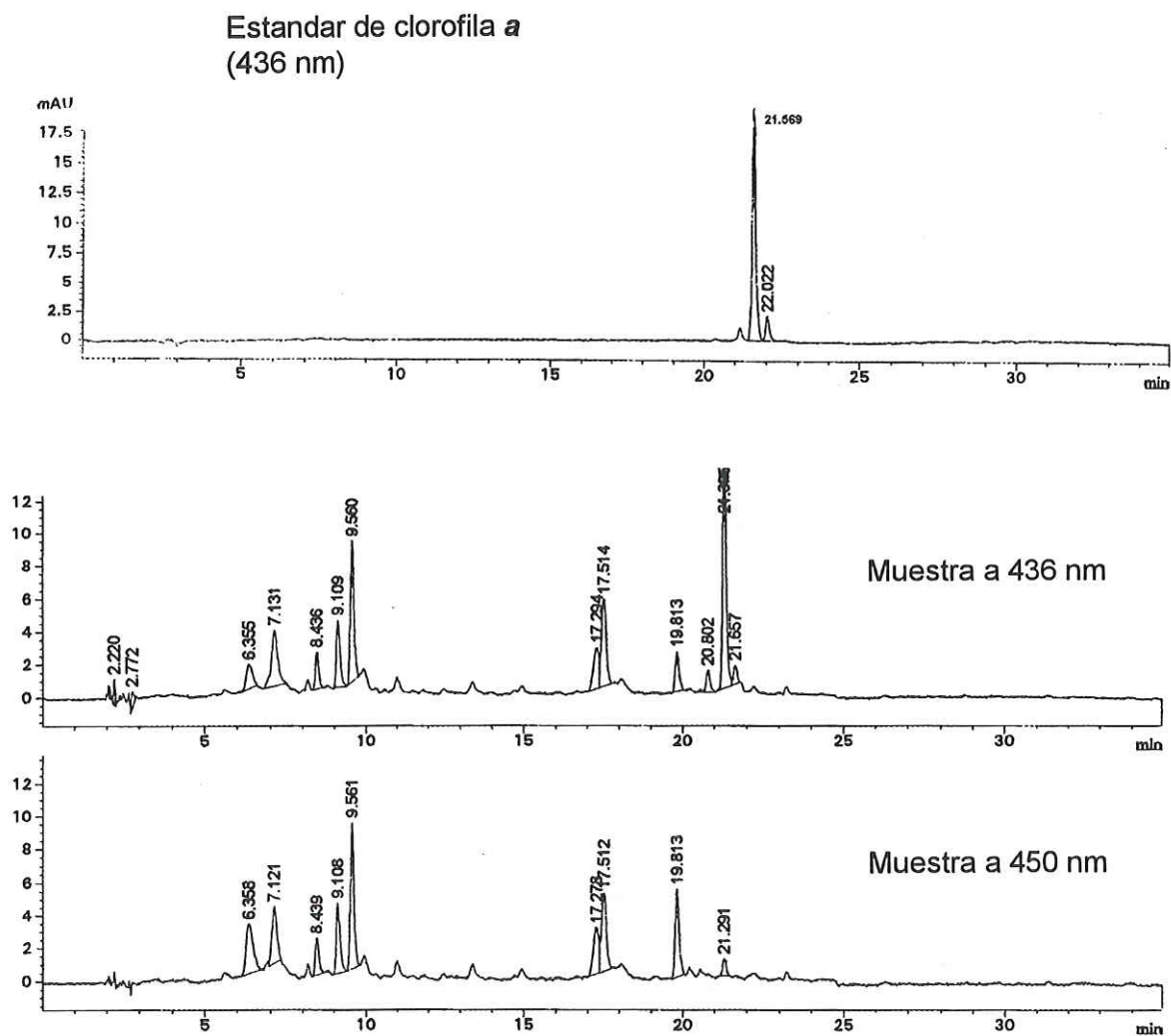


Figura 3.- Cromatogramas característicos obtenidos del HPLC.

de los tiempos de retención obtenidos a partir de estándares puros (obtenidos de VKI Water Quality Institute y SIGMA Chemical Co.) (figura 3) así como comparando sus espectros, los que son diferentes para cada pigmento.

La cuantificación de los pigmentos se realizó por medio de curvas de calibración determinadas a partir de cuatro concentraciones diferentes en cada pigmento (figura 3). La concentración de los pigmentos se calculó de acuerdo a sus coeficientes de extinción específicos en el caso de la clorofila *a*, *b*, luteína, β -caroteno ya que su presentación fue en polvo. Por otra parte la trans-cantaxantina fue usada como estándar interno para hacer correcciones por volumen durante el proceso de extracción. El resto de los pigmentos (Diadinoxantina, Clorofila *c*, Fucoxantina, 19'-Hexanoiloxifucoxantina, Peridinina, 19'-Butanoiloxifucoxantina, Violaxantina, Cantaxantina y Aloxantina) se calcularon directamente de las concentraciones proporcionadas por el fabricante. Para ello se usó un ajuste del tipo $y = ax^b$. Todas las curvas presentaron una buena correlación ($r^2 > 0.9$), se calcularon las concentraciones para cada uno de los pigmentos identificados (Tabla 3).

Tabla 3.- Tiempos de retención para cada pigmento dado en minutos.

PIGMENTOS	TIEMPO DE RETENCIÓN (min)
Clorofila c	7.3
Peridinina	8.2
19'butanoiloxifucoxantina	8.5
Fucoxantina	9.1
19'hexanoiloxifucoxantina	9.6
Violoxantina	11.8
Diadinoxantina	13.4
Aloxantina	15.0
Luteína	16.7
Zeaxantina	17.2
Clorofila b	19.7
Clorofila a	21.2
β - caroteno	23.1

Con los resultados obtenidos se crearon distribuciones espaciales por medio de isolineas de concentración. Los 5 pigmentos que se describen en este trabajo se eligieron considerando su importancia de representación; la clorofila *a*, por ser el principal pigmento y medida de la biomasa, la fucoxantina, peridinina, 19-

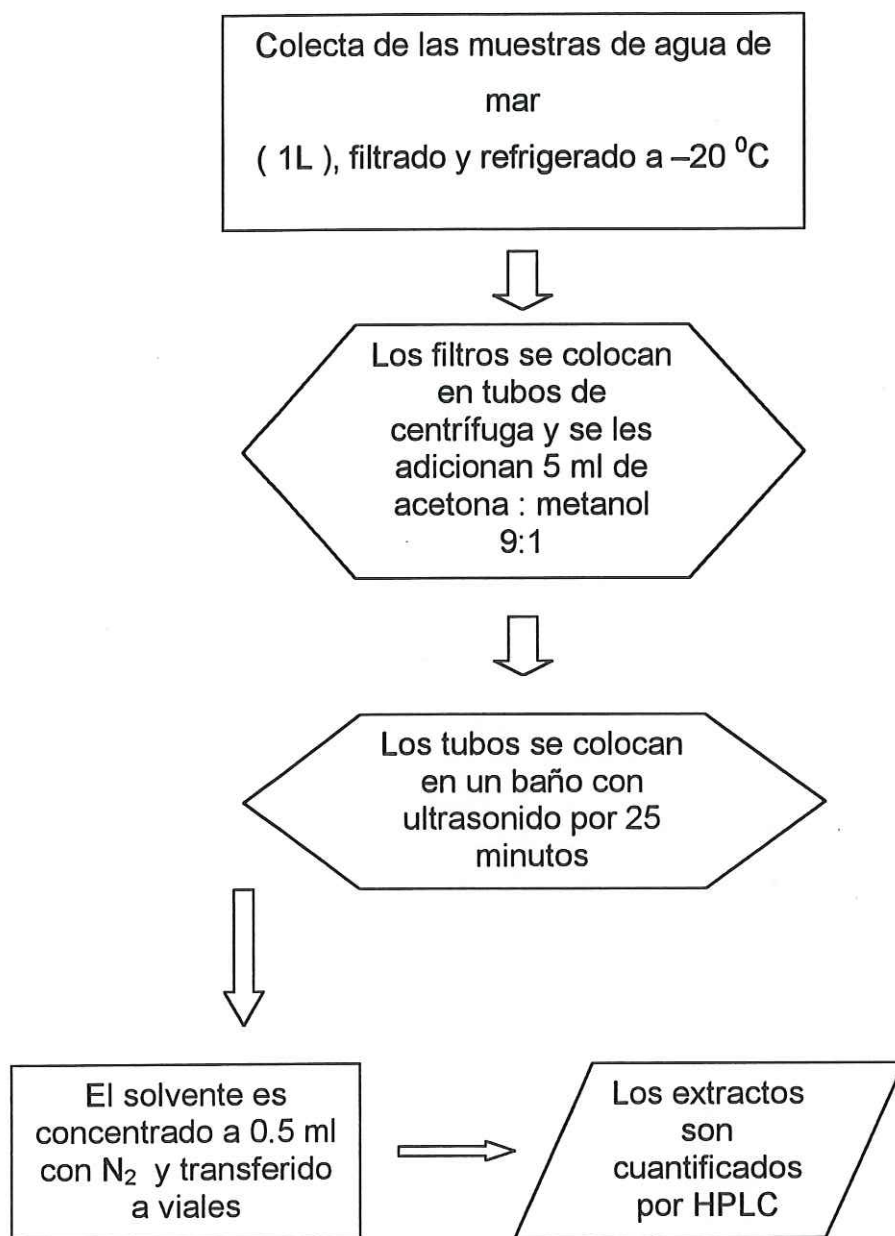


Figura 4 .- Procedimiento para el análisis de las muestras de fitoplancton
(diagrama de flujo)

Hexanoiloxifucoxantina y 19- butanoiloxifucoxantina por ser los pigmentos representativos de los principales grupos de fitoplancton en el Golfo de California (Round, 1967; Hernández-Becerril, 1983) La interpolación tipo Krigin (Davis 1986) fue empleada para la generación de las isolíneas.

El parametro de estratificación fue calculado por medio del parámetro de estratificación (Φ , Simpson *et al.*, 1977), entre 0 y 100 m como una mezcla de la medida de la mezcla vertical. Esto es, cuando se presentan valores de 0 representa una columna bien mezclada. Mientras que se incrementa con la estratificación.

REUSLTADOS

En general, para verano, las temperaturas de la columna del agua fueron mas altas que en la época de invierno. En la figura 5 se muestra una sección longitudinal, que comprende solamente las estaciones centrales (ver figura 1). En ella se observa que la temperatura presenta condiciones de estratificación con gradientes de 2°C aproximadamente y un rango entre los 29°C y los 16°C disminuyendo con la profundidad. Sin embargo, se observa un elevamiento de las isotermas en la zona de las grandes islas (estaciones 7 y 8).

A diferencia del verano, la temperatura en invierno disminuyó de manera significativa, con un rango entre los 21° y 13° C disminuyendo con la profundidad. En la parte norte del golfo y hasta la región de las islas (estaciones 1, 2, 3, 6 y 7) se presentan temperaturas bajas (16°C), comparadas con la parte sur (estación 10-21) con temperaturas de 20°C en la superficie. Las isotermas reflejan una columna de agua mezclada a lo largo del golfo, con mayor intensidad de mezcla en la zona de las islas (estaciones 6, 7 y 8).

En la figura 6 se presentan las distribuciones de oxígeno en cortes longitudinales para las estaciones centrales, siendo el comportamiento muy similar al que se presenta en la temperatura. En verano se presenta una fuerte estratificación (4.0 a 0.6 mg l^{-1}) aún en la zona de las islas, donde solo se observa un ligero levantamiento en la isolíneas. Por el contrario en invierno se tiene una columna de agua bien mezclada hasta profundidades de aproximadamente 70m , con relativamente altas concentraciones de oxígeno disuelto (6.0 mg l^{-1}). Mientras que en la zona de las islas las isolíneas se levantan desde los 100m hasta la superficie indicando una intensa mezcla en esa área.

En la figura 7, se presenta la distribución vertical de la clorofila *a* a lo largo del golfo, mostrando en verano dos máximos. El primer máximo aparece en la estación 10 y el segundo en la estación 17 con un valor máximo de 0.4mg cl a m^{-3} , representando la biomasa. En invierno, la distribución de la biomasa es hasta >4 veces mayor, presenta un máximo de $1.8\text{ mg cl a m}^{-3}$ en las estaciones 6 y 7, mientras que el resto del golfo en su parte superficial ($0\text{-}25\text{ m}$) muestra una concentración de alrededor de

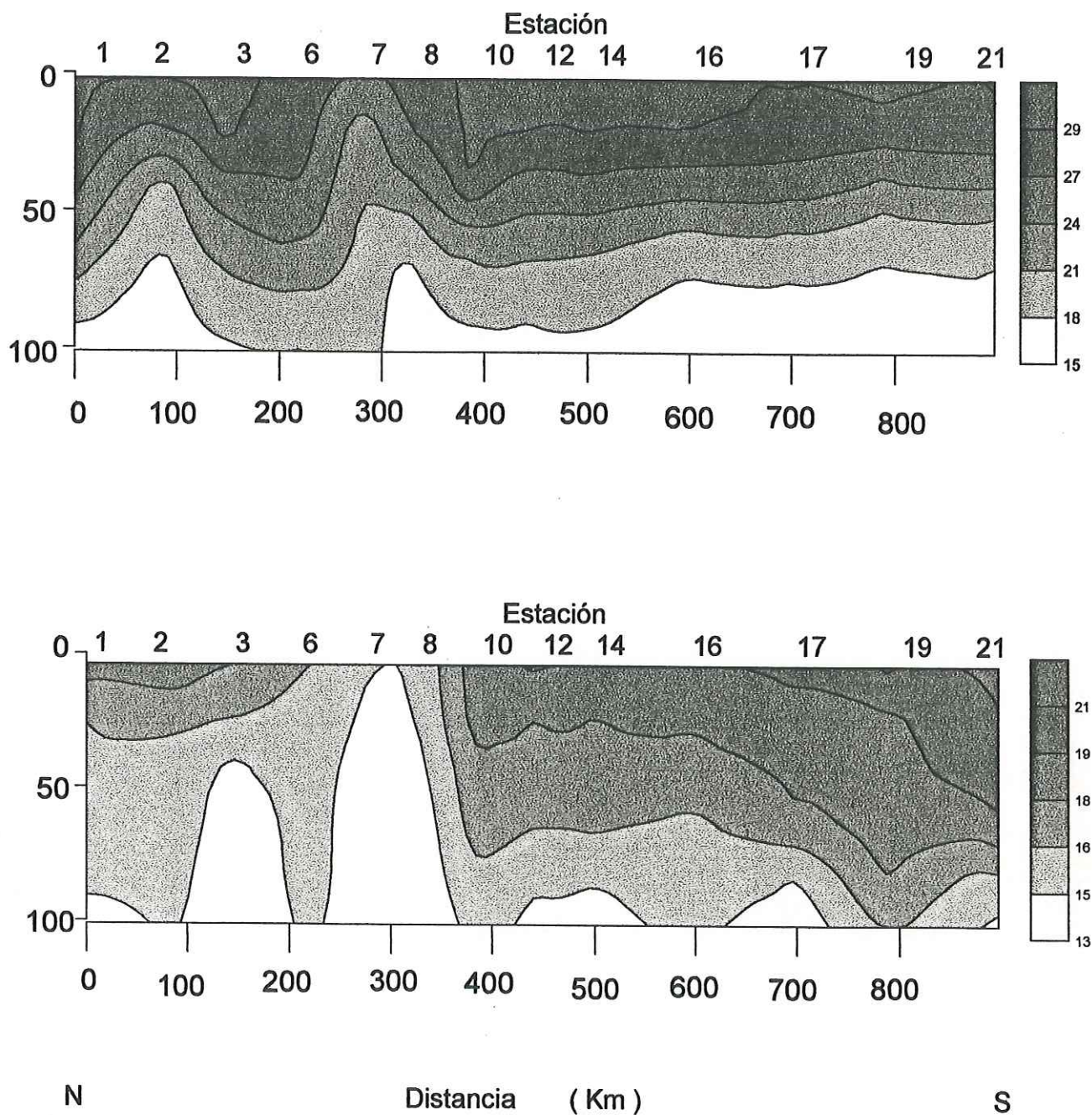


Figura 5.- Variación de temperatura ($^{\circ}\text{C}$) y profundidad (metros) para verano (arriba) e invierno (abajo) en un transecto central de la cabeza (N) hacia la boca (S).

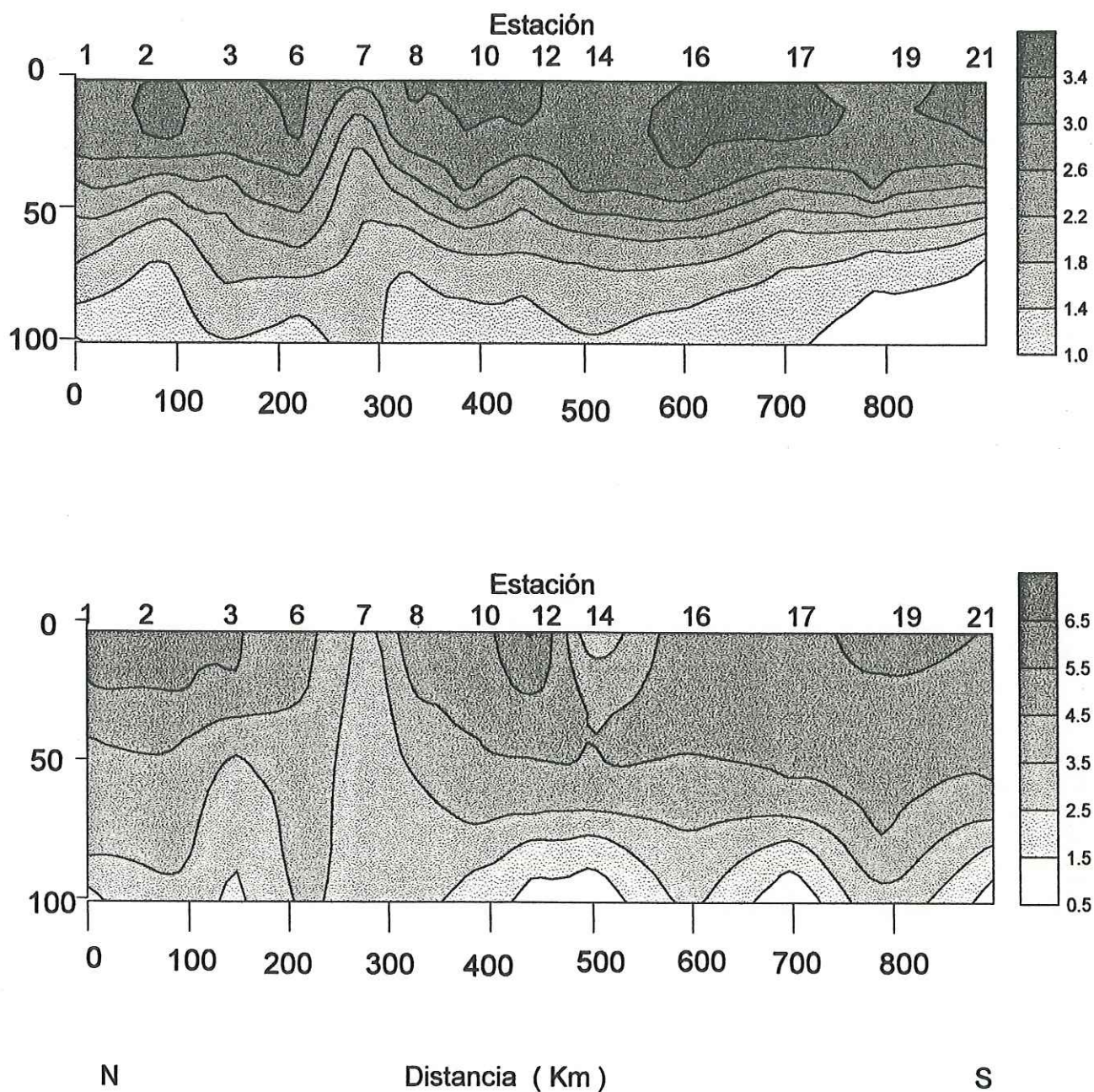


Figura 6.- Variación de oxígeno (ml / l) y profundidad (metros) para verano (arriba) e invierno (abajo) en un transecto central de la cabeza (N) hacia la boca (S).

1.0 mg cl a m⁻³. En la figura 8 y 9 se presenta la distribución de la clorofila *a* integrada, en las que se observa una similitud con la figura 7 donde los máximos de cada estación se encuentran localizados en las mismas zonas. Sin embargo, en esta figura, las estaciones laterales si están formando parte del gráfico, por lo que se observa en el verano en la estación 10, no solo un máximo central, sino que también se extiende hacia la costa (estaciones 9 y 11, ver figura 1). La distribución se observa mejor en invierno, permitiendo observar el máximo que se había encontrado en el transecto transversal y donde se pudiera hacer una zonación, representada por las concentraciones medias que se presentan en la zona de las islas (25 mg cl a m⁻²) y en promedio, presenta la parte central del Golfo, siendo menores a 15 (mg cl a m⁻²).

Las distribuciones espaciales de clorofila *a* y la distribución de la temperatura superficial (imagen de satélite) se presentan en las figuras 8 y 9 representando la estación de verano e invierno respectivamente. La distribución de clorofila *a* en la época de verano presenta dos máximos, uno muy cercano a la zona de las islas y otro localizado cerca de la bahía de La Paz, en ambos casos, no se observa una relación evidente con la temperatura superficial. En la época de invierno es muy claro que la temperatura disminuye considerablemente en relación al verano, sin embargo al sur de las islas los valores de clorofila son homogéneos a lo largo del golfo, mientras que en la zona de las islas se presentan los valores mas altos que caracterizan esta zona.

Los perfiles de la figura 10 presentan a la clorofila *a*, la temperatura y el oxígeno para cada una de las estaciones. En verano se observa que todas las estaciones presentan una termoclina bien definida. Esta se localiza desde muy cercanas a la superficie, como en las estaciones 7 y 8 donde la temperatura varió de los 23°C hasta los 30°C, hasta alcanzar una profundidad de 40m en promedio para el resto de las estaciones. Las temperaturas durante todo el muestreo se mantuvieron en un promedio de 29°C en la superficie y de 16°C a los 100 m.

El oxígeno disuelto presenta un comportamiento similar al de la temperatura, con valores superficiales de 3.5 ml l⁻¹ de O₂ descendiendo hasta 1.0 ml l⁻¹ de O₂. En todas las estaciones, los máximos de clorofila están presentes sobre la termoclina, siendo esta una barrera física que impide su paso a mayor profundidad. Las estaciones 9, 10, 11, 15 y 17 presentaron los valores mas altos de clorofila, con

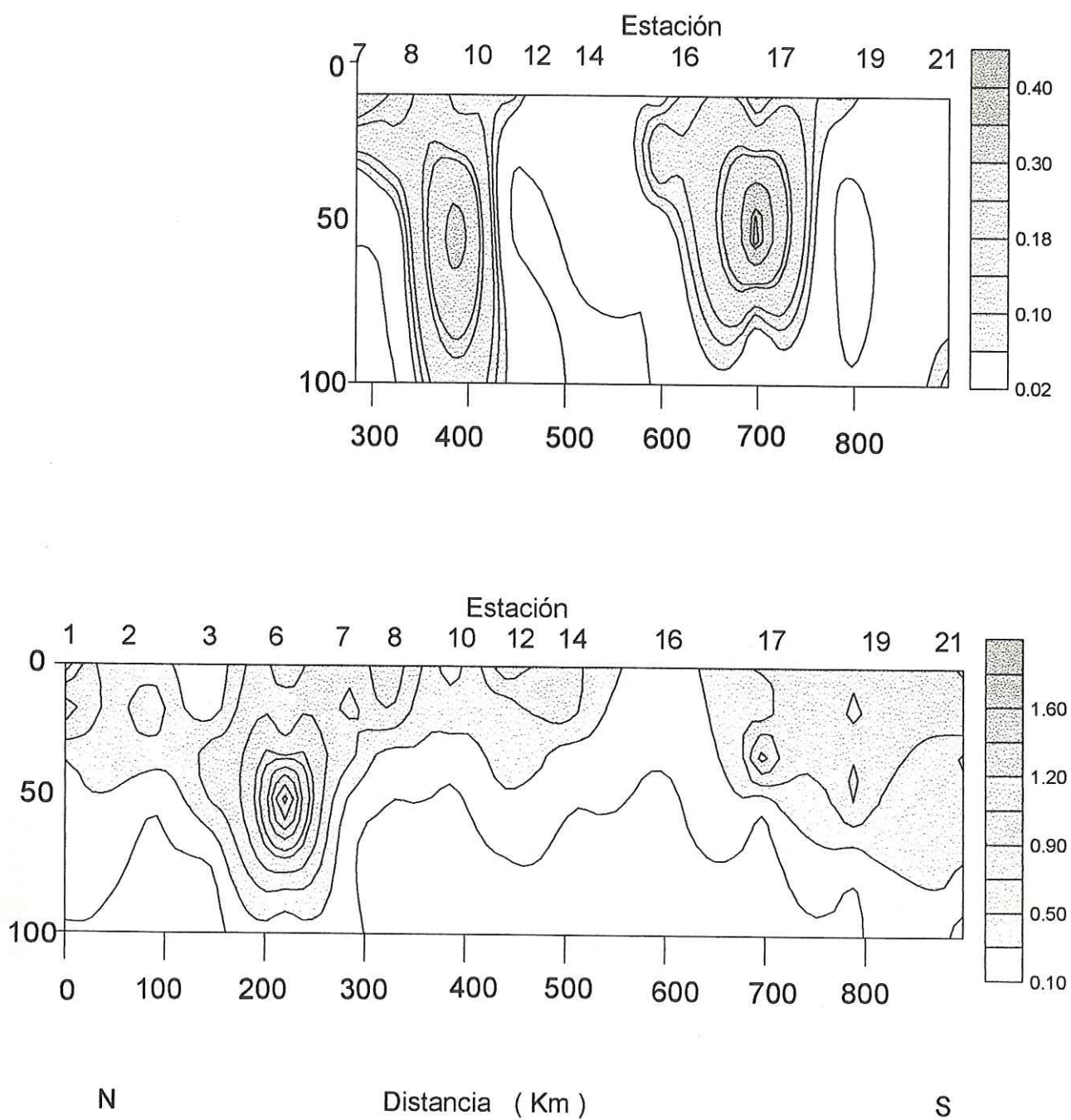


Figura 7.- Variación de clorofila a (mg/m^3 y profundidad en metros) para verano (arriba) e invierno (abajo) en un transecto central de la cabeza (N) hacia la boca (S).

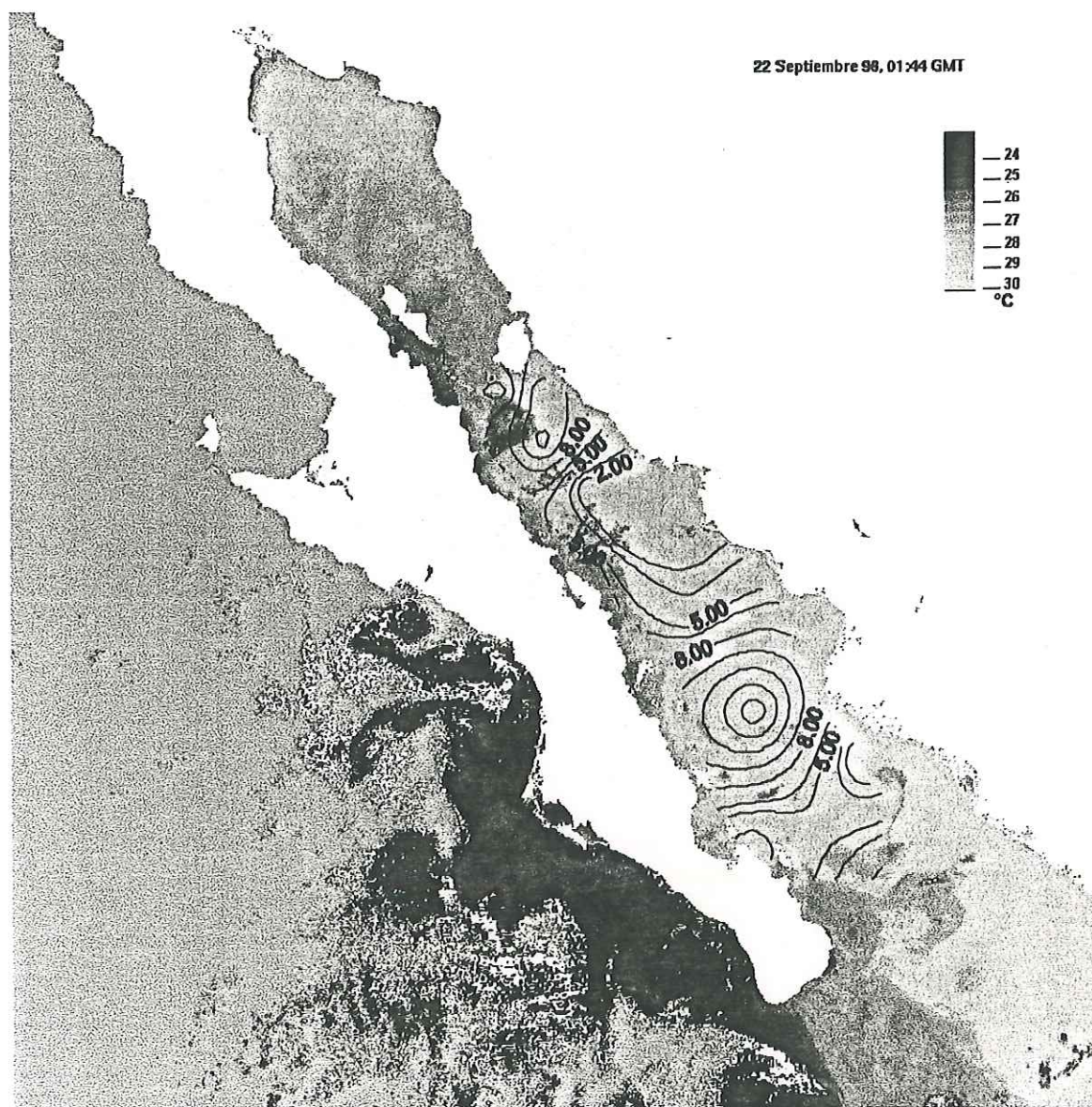


Figura 8.- Distribución de la clorofila *a* integrada (mg chl *a* / m²) sobre la distribución de temperatura superficial para el Golfo de California en verano.

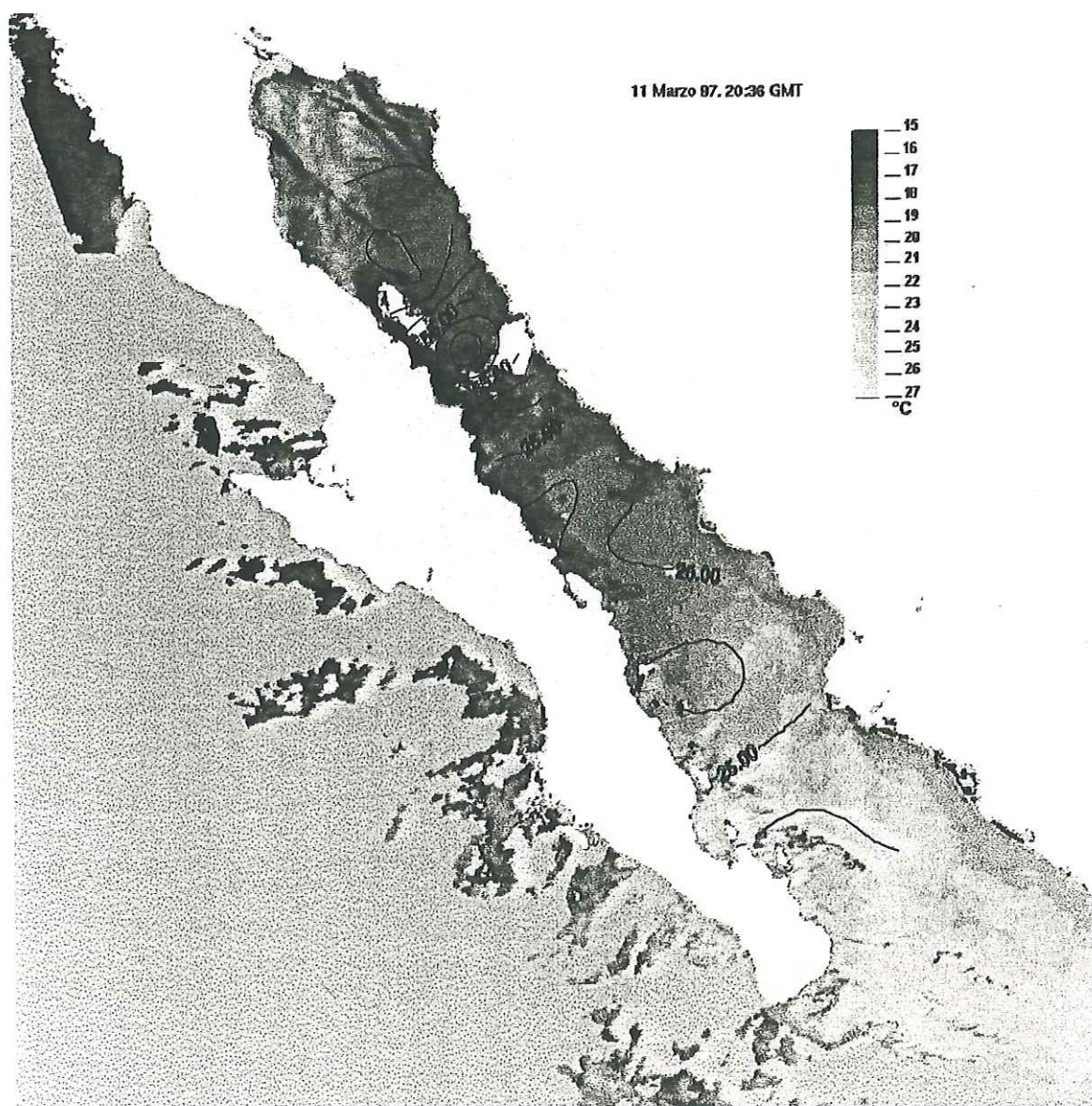


Figura 9.- Distribución de la clorofila *a* integrada ($\text{mg cl } a / \text{m}^2$) sobre la distribución de temperatura superficial para el Golfo de California en invierno.

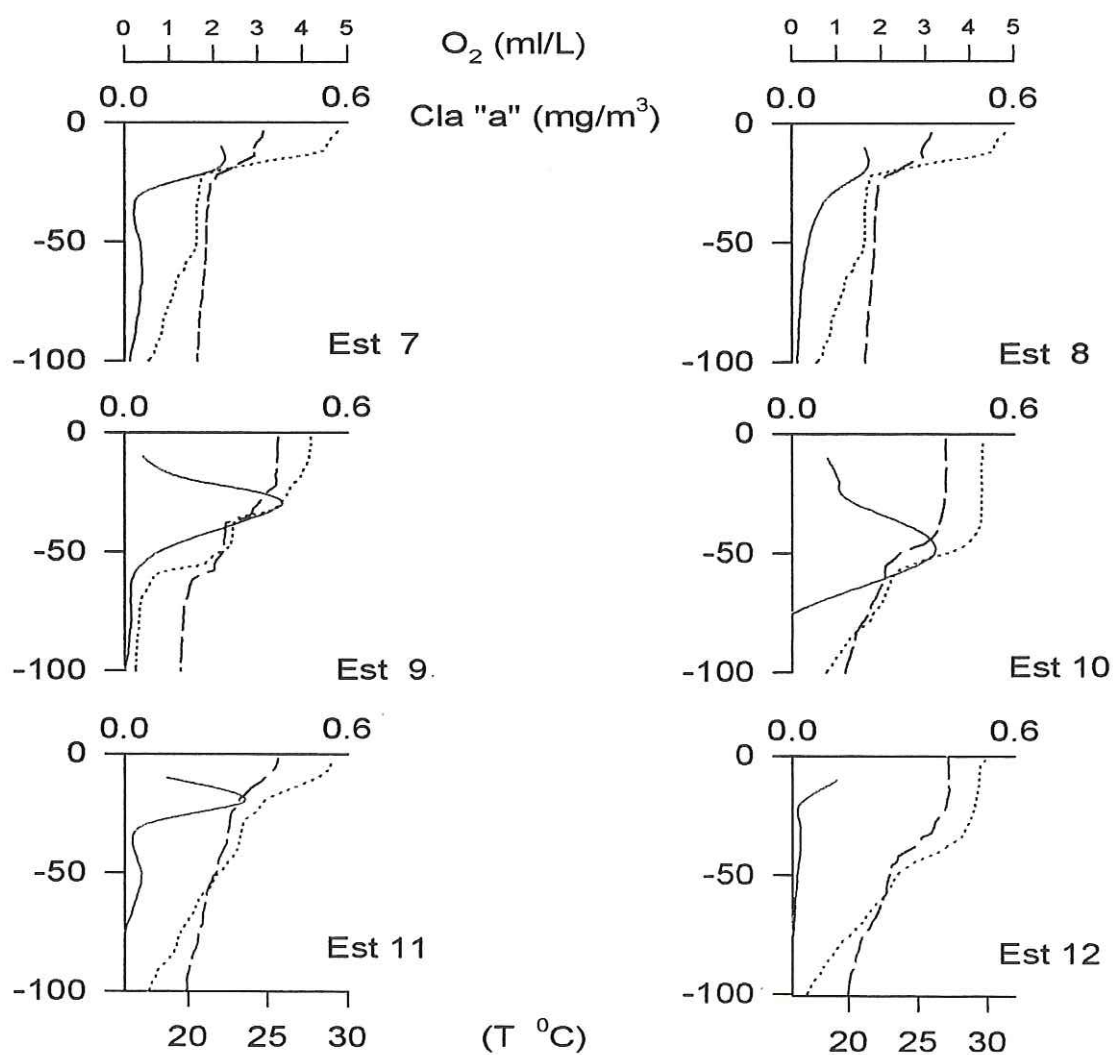


Figura 10.- Perfiles verticales de clorofila a (verde, línea continua), temperatura (roja, línea punteada) y oxígeno (azul, línea discontinua), para la época de verano en el Golfo de California.

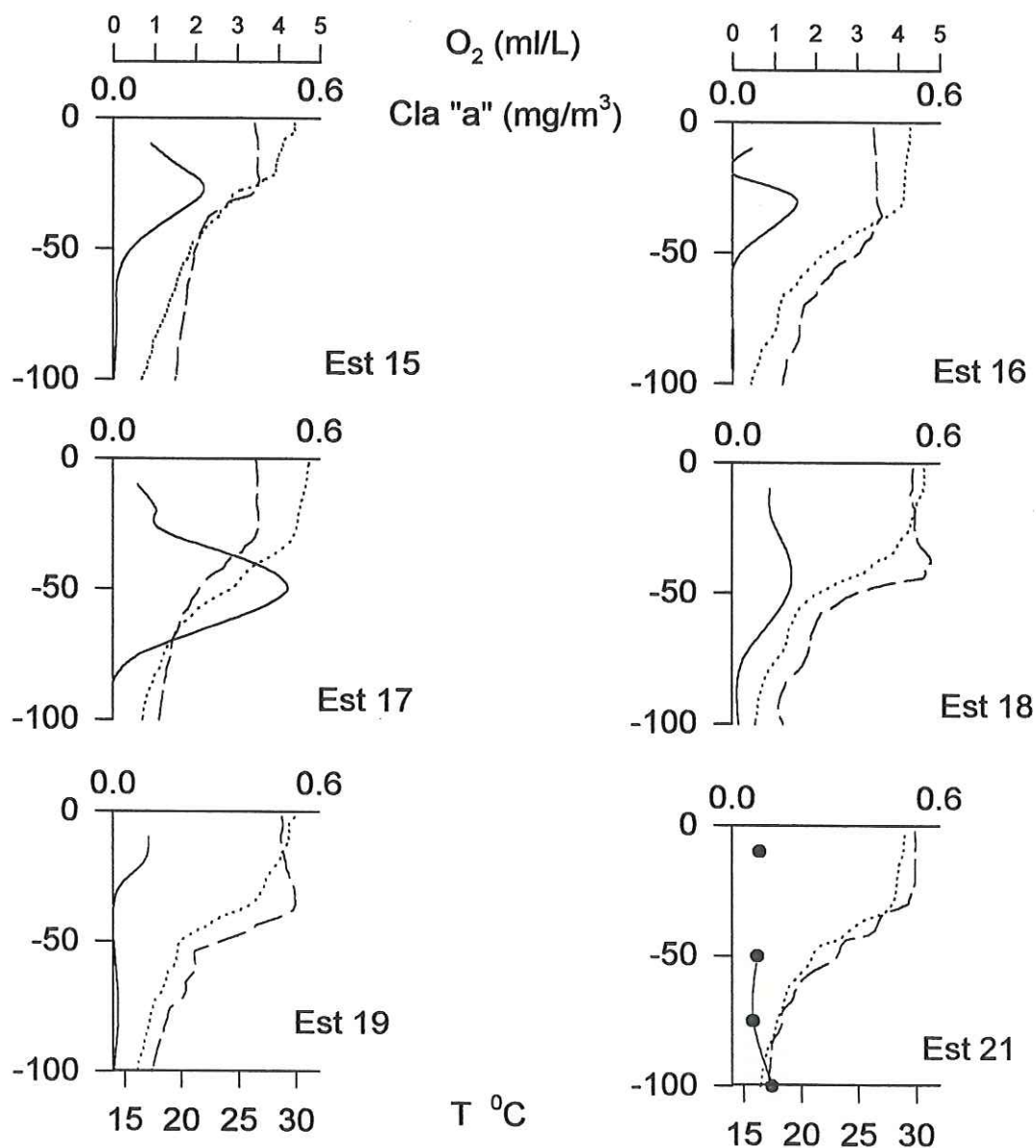


Figura 10.- Perfiles verticales de clorofila a (verde, línea continua), temperatura (roja, línea punteada) y oxígeno (azul, línea discontinua), para la época de verano en el Golfo de California.

valores entre los 0.2 y 0.5 mg cl *a* m⁻³. Para la estación 21 no se lograron analizar las profundidades de 20 y 30m; sin embargo es posible que ahí se pudiera haber encontrado el máximo.

Por el contrario, en la época de invierno (figura 11), se midieron temperaturas que van de los 20°C en la superficie a 13°C a los 100m. La termoclina no se observa o se hace evidente sino sólo por debajo de los 80m en la mayoría de las estaciones. Esto refleja una columna de agua mezclada, especialmente en las estaciones 6, 7 y 8 que se encuentran justo en la zona de las islas y que mostraron las temperaturas más bajas (14°C) a lo largo de todo el perfil. Solamente las estaciones 2, 3 y 11 presentan termoclina superficial con un cambio muy pequeño en la temperatura (4°C). Al igual que en verano, el oxígeno sigue el mismo comportamiento que la temperatura con lecturas superficiales 6 ml l⁻¹ y de 3 ml l⁻¹ a los 100m en promedio para todas las estaciones. Los perfiles de clorofila registraron máximos entre los 0 y 30 m con valores desde 0.3 hasta 2.0 mg cl *a* mg m⁻³ y sólo las estaciones 6, 18 y 19 presentan máximos por debajo de esta profundidad, por lo que la falta de la termoclina permite que las poblaciones fitoplanctónicas se encuentren a mayores profundidades. Solamente la estación 16 presenta valores de clorofila *a* por debajo del promedio (0.6 mg cl *a* m⁻³) y aparentemente no presenta un máximo.

Las figuras 12 y 13 muestran en cortes longitudinales los cuatro pigmentos característicos de cuatro de los grupos fitoplanctónicos más importantes del golfo. La fucoxantina que en verano presenta dos máximos bien definidos, uno en la parte central del golfo y otro en la parte sur, cerca de la estación 17 con valores aproximados de 0.2 mg fucoxantina m⁻³ a una profundidad intermedia de 50m. Por otra parte, en invierno se presenta en la parte sur (estaciones 17, 18 y 21) y la parte norte (estación 1 y 2) máximos subsuperficiales (15m) con valores de 1.9 mg fucoxantina m⁻³, mientras que el resto del golfo presenta una distribución mas o menos homogénea con valores de 0.3 a 0.5 mg fucoxantina m⁻³.

Peridininina (figura 12), es el pigmento que presenta un cambio en el patrón de distribución latitudinal, ya que el máximo se presenta en verano hacia la estación 17 con valores de 0.08 mg peridininina m⁻³ hasta 0.02 mg peridininina m⁻³ y en el resto del golfo prácticamente no se presenta. Por otra parte, la distribución en invierno muestra

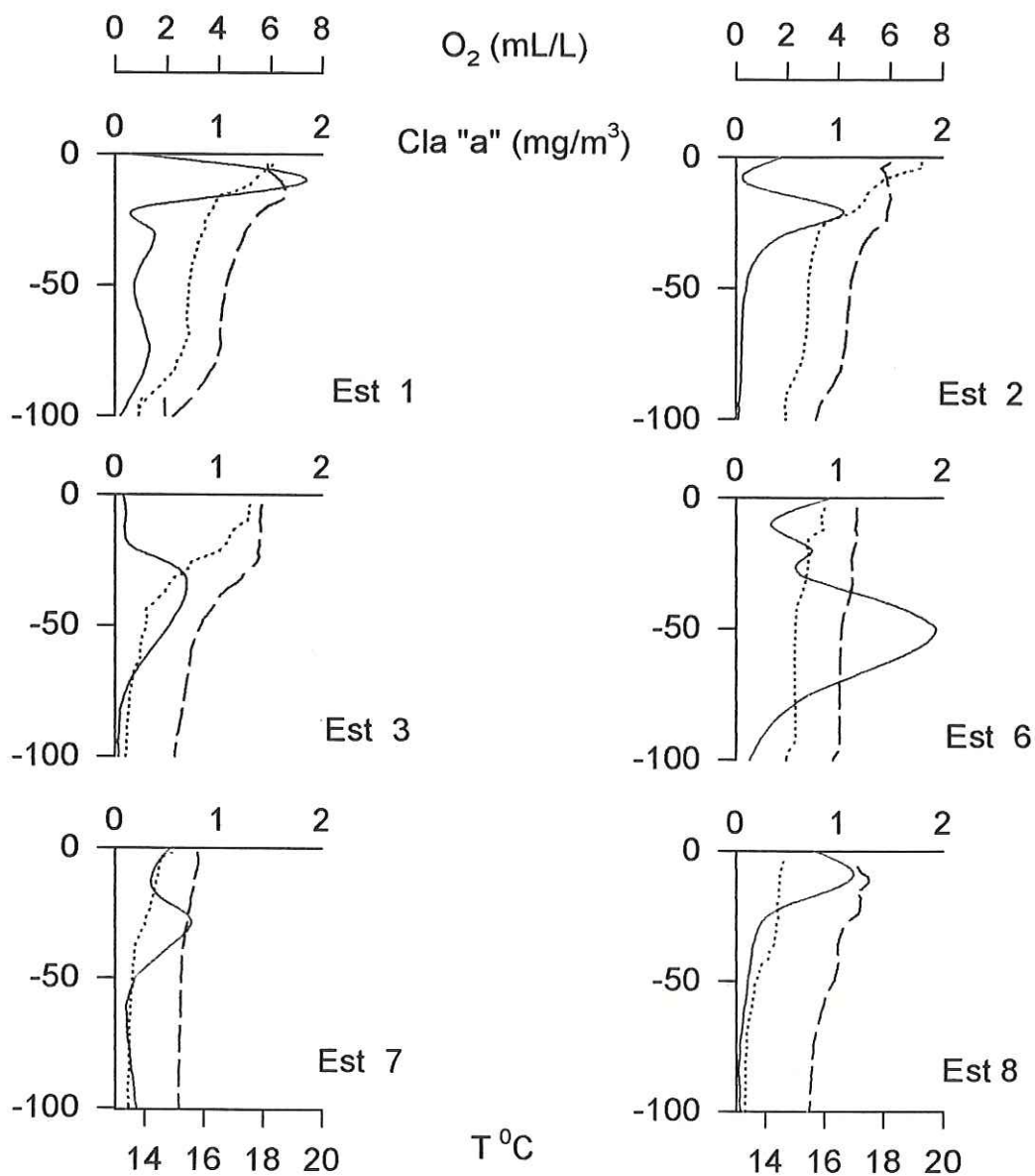


Figura 11.- Perfiles verticales de temperatura (rojo, línea punteada), oxígeno (azul, línea discontinua) y clorofila a (verde, línea continua) para la época de invierno en el Golfo de California.

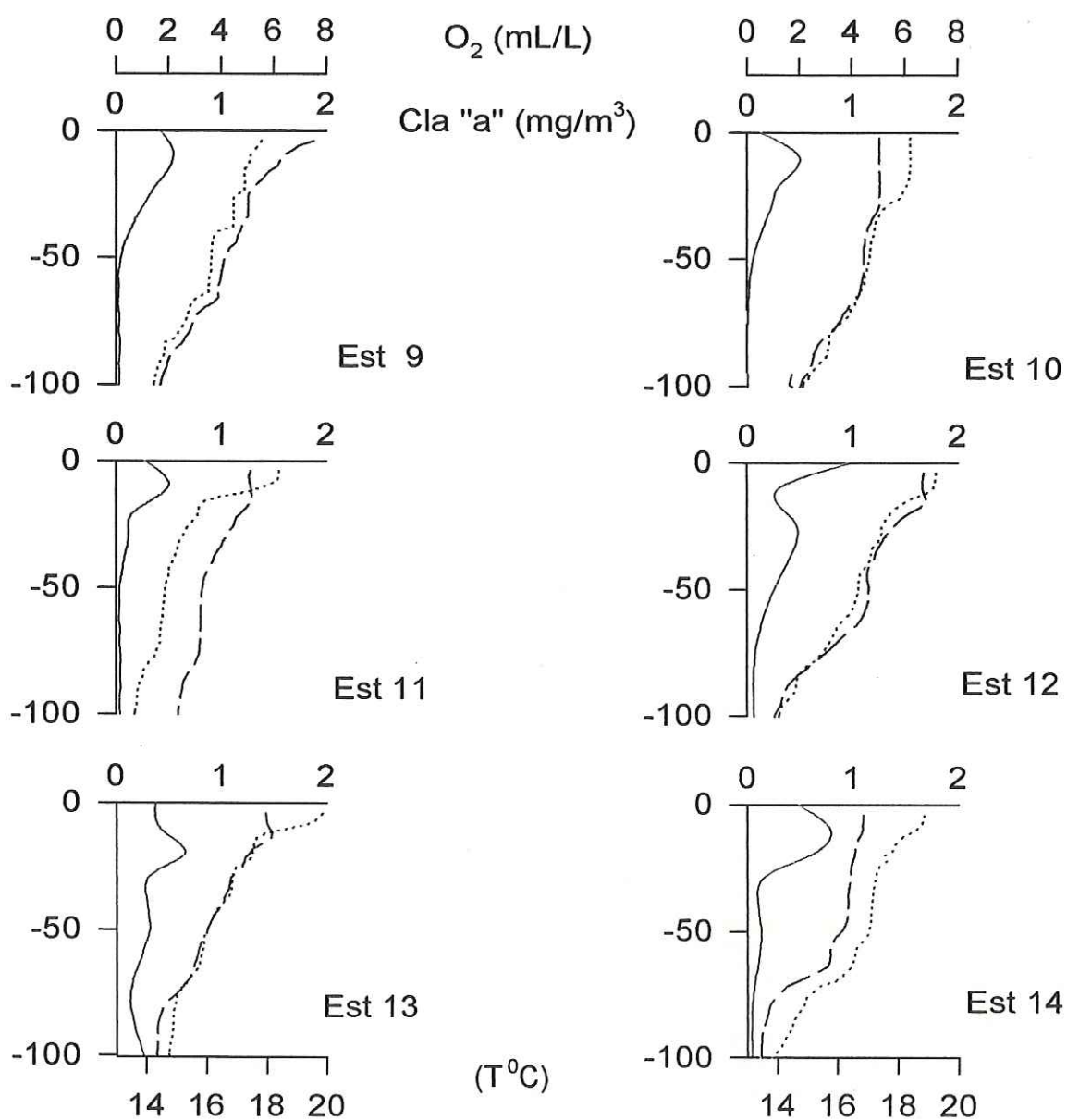


Figura 11.- Perfiles verticales de temperatura (rojo, línea punteada), oxígeno (azul, línea discontinua) y clorofila a (verde, línea continua) para la época de invierno en el Golfo de California.

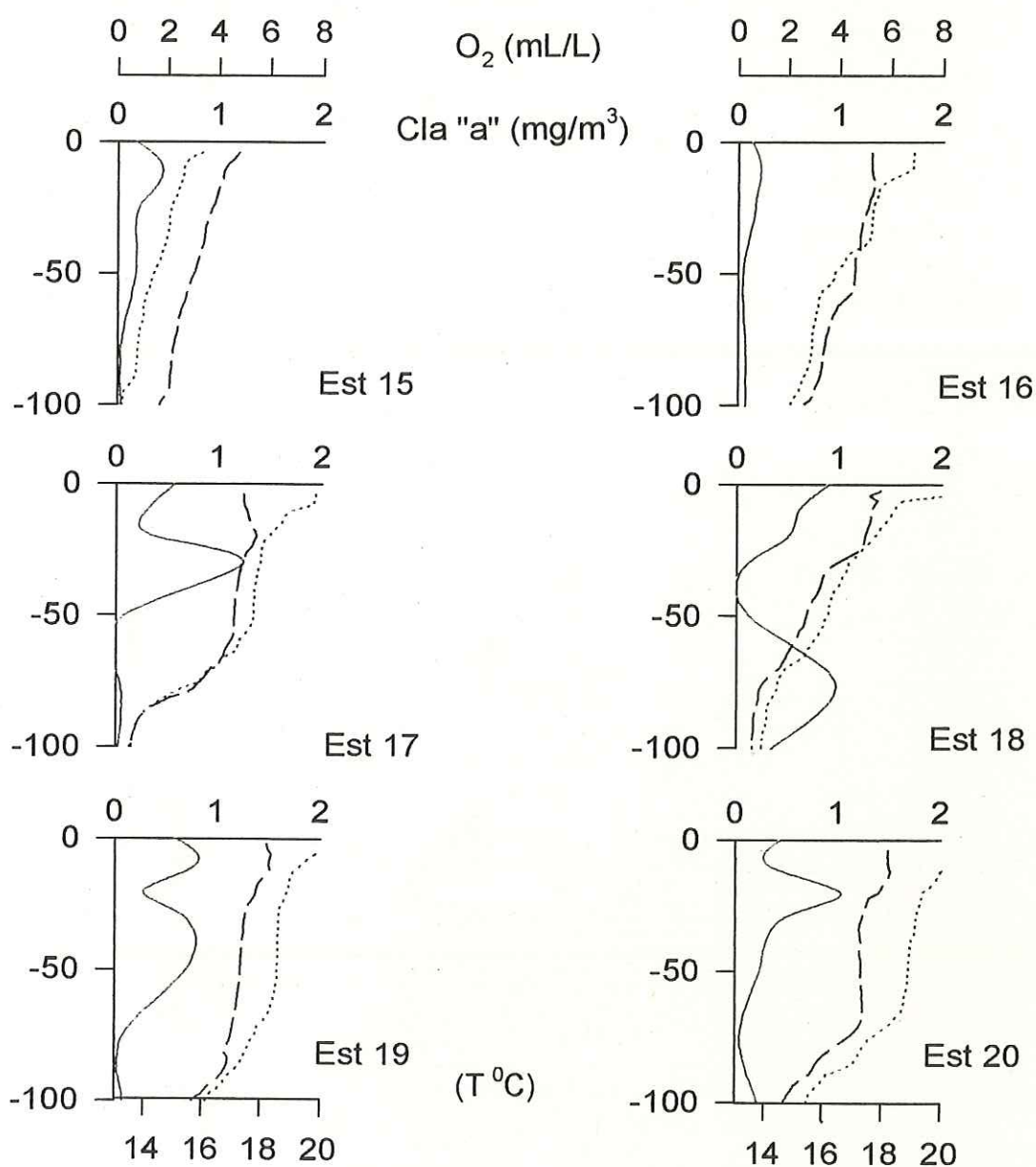


Figura 11.- Perfiles verticales de temperatura (rojo, línea punteada), oxígeno (azul, línea discontinua) y clorofila a (verde, línea continua) para la época de invierno en el Golfo de California.

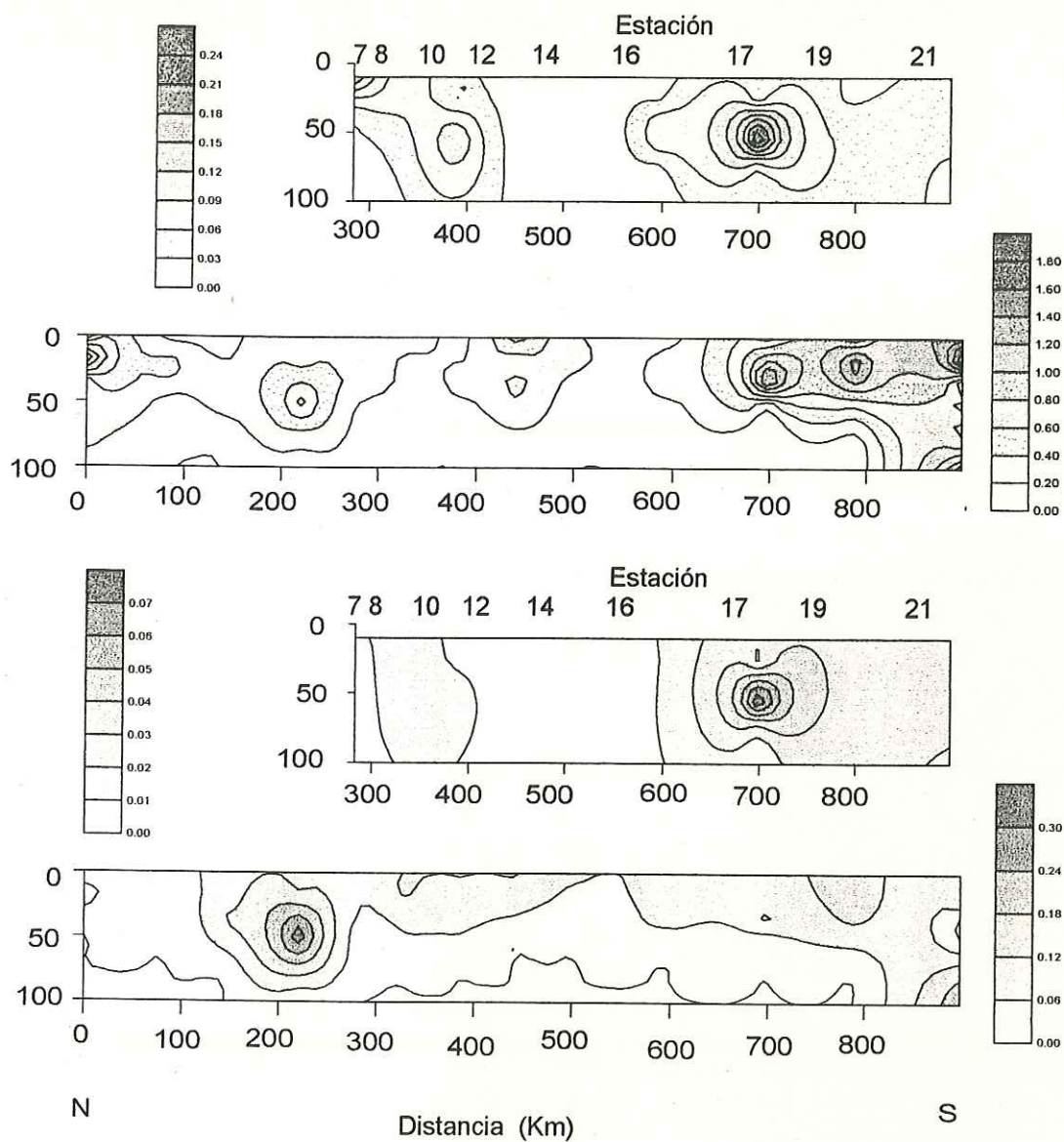


Figura 12.- Variación de Fucoxantina (mg/m^3 y profundidad en metros) para verano (arriba color verde) e invierno (abajo color verde) y peridin (mg/m^3 y profundidad en metros) para verano (arriba color gris) e invierno (abajo color gris) en un transecto central de la cabeza (N) hacia la boca (S).

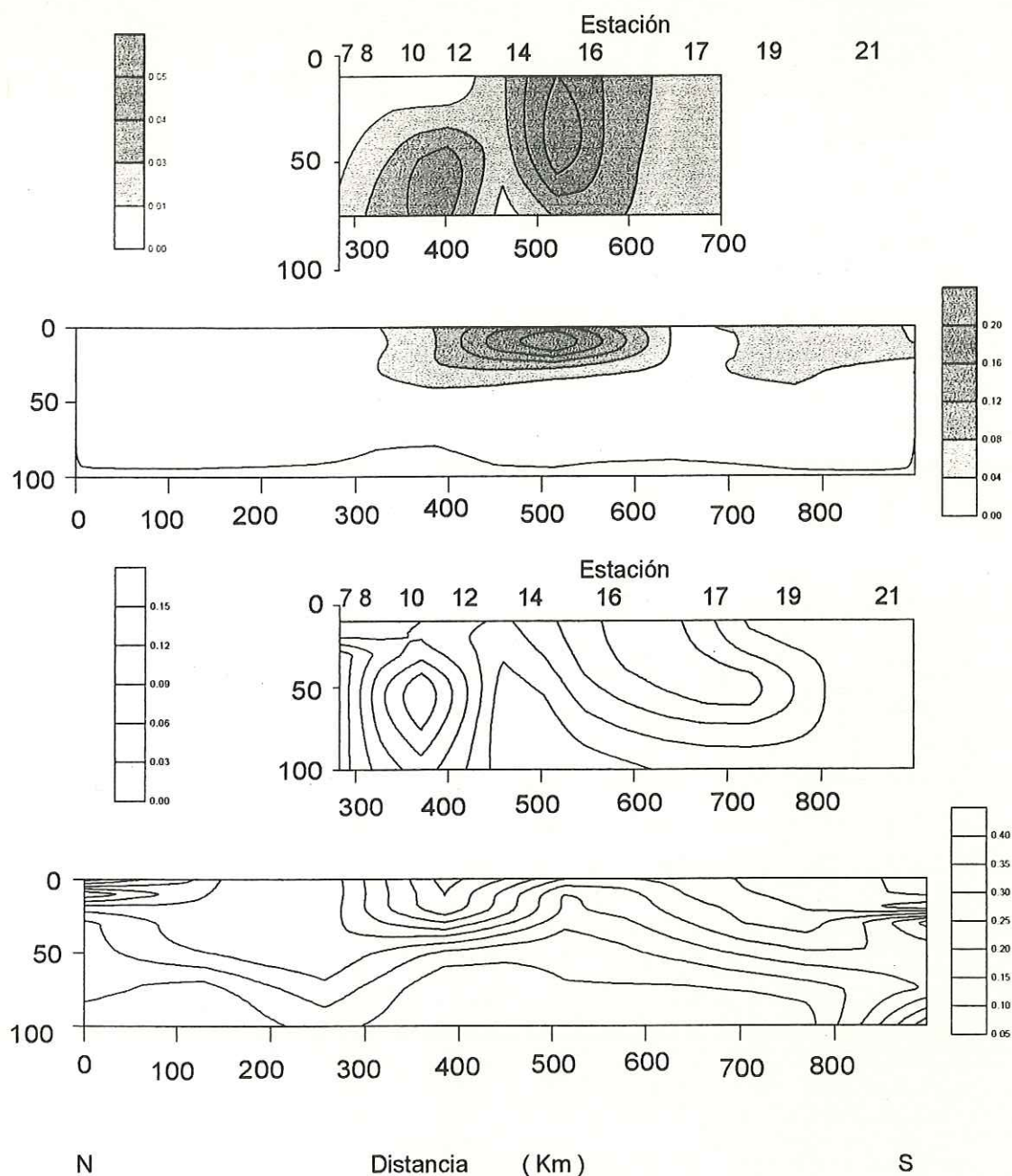


Figura 13.- Variación de 19'butanoiloxifucoxantina (mg/m³ y profundidad en metros) para verano (arriba color naranja) e invierno (abajo color naranja) y 19'hexanoiloxifucoxantina (mg/m³ y profundidad en metros) para verano (arriba color amarillo) e invierno (abajo color amarillo) en un transecto central de la cabeza (N) hacia la boca (S).

un máximo que se observa en la región de las islas (estaciones 6 y 7) con valores de 0.32 mg peridinina m^{-3} y una distribución superficial en el resto del golfo con valores promedio de 0.16 mg peridinina m^{-3} .

La figura 13 muestra los cortes de 19-butanoiloxifucoxantina, la cual presenta para verano e invierno máximos de 0.05 y 0.20 respectivamente en el área de las estaciones 7 a la 16. Mientras que la 19-heanoiloxifucoxantina presenta dos máximos, uno entre las estaciones 7, 8 y 10 y el otro en forma de lengua que se dirige hacia el norte partiendo de la estación 16 con valores de 0.15 y 0.40 mg peridinina m^{-3} para cada una de las estaciones respectivamente.

En las figuras 14 y 15 se muestran las razones pigmento /clorofila a, para los 4 pigmentos característicos para verano e invierno respectivamente. Se observa una tendencia general de aumentar con la profundidad para todas las razones en verano. Esto no se presenta de igual manera en invierno ya que aunque esta tendencia se presenta en las estaciones 6, 7, 8, 9, 10, 12, 13 y 14, en el resto de las estaciones, los valores mas altos se presentaron por arriba de los 50 m. En ambas épocas, los valores mas altos corresponden a la relación fucoxantina / clorofila a, seguida de la 19-hexanoiloxifucoxantina/clorofila a y en menores concentraciones peridinina / clorofila a y 19-butanoiloxifucoxantina/clorofila a. Estos dos últimos siempre se mantuvieron limitados arriba de los 50 m. El peridinina en verano no se presentó de manera significativa, de hecho, solo se encontró en las estaciones 18, 19 y 20.

La figura 16 establece la relación de los pigmentos fotoprotectores en las diferentes épocas. Comparando la suma los pigmentos fotoprotectores y el normalizado por la clorofila a. Cabe mencionar que en verano el pigmento que presenta las más altas concentraciones es la zeaxantina, mientras que en invierno la aloxantina y la diadinoxantina son los que predominan.

La distribución de la temperatura y del oxígeno de manera longitudinal y vertical hasta una profundidad de 100 m se presenta en la figura 17, representando para las dos épocas del año una disminución de la temperatura hacia la región de las islas. Por su parte el oxígeno se comporta de igual manera.

La correlación lineal entre la temperatura, el oxígeno y los pigmentos no presenta una concordancia aceptable (figuras 18 y 19) en ambas estaciones. Por otra

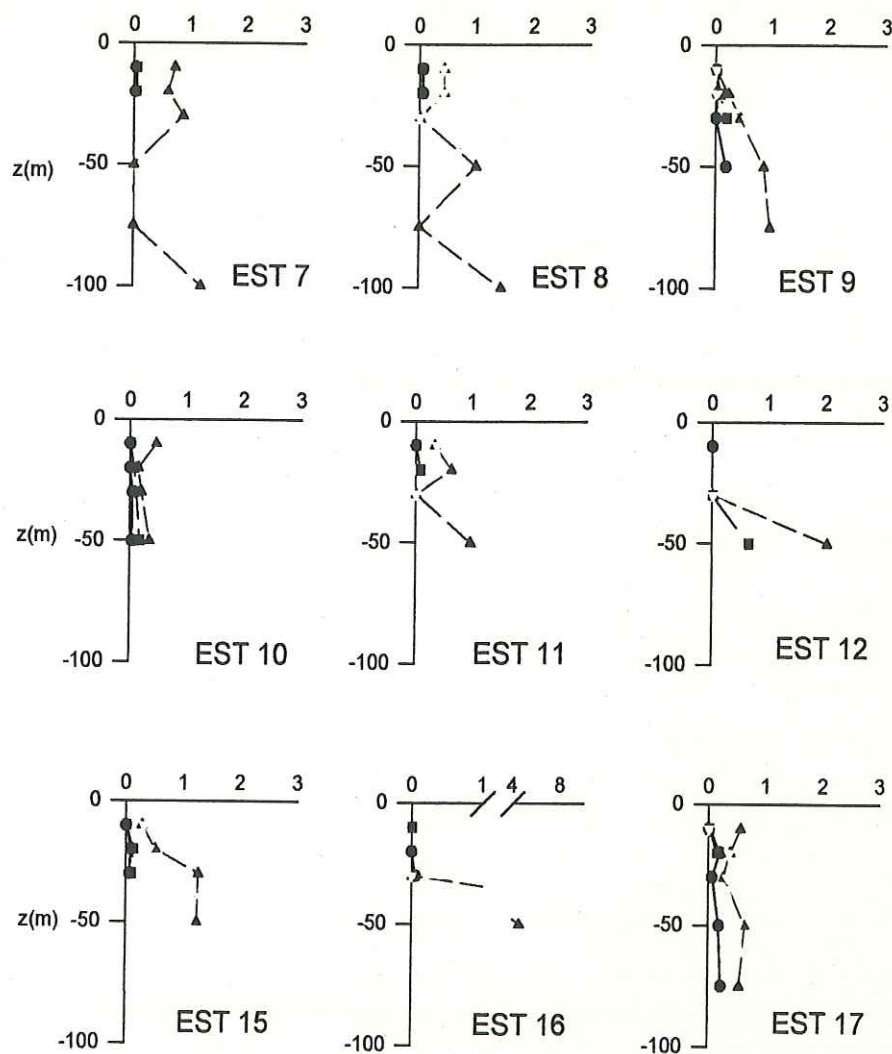


Figura 14.- Razones pigmentarias (pig/clo a) para cuatro pigmentos marcadores en la época de verano (19'butanoiloxifucoxantina, cuadros; 19'hexanoiloxifucoxantina, triangulo invertido; fucoxantina, triangulo y peridin, circulo).

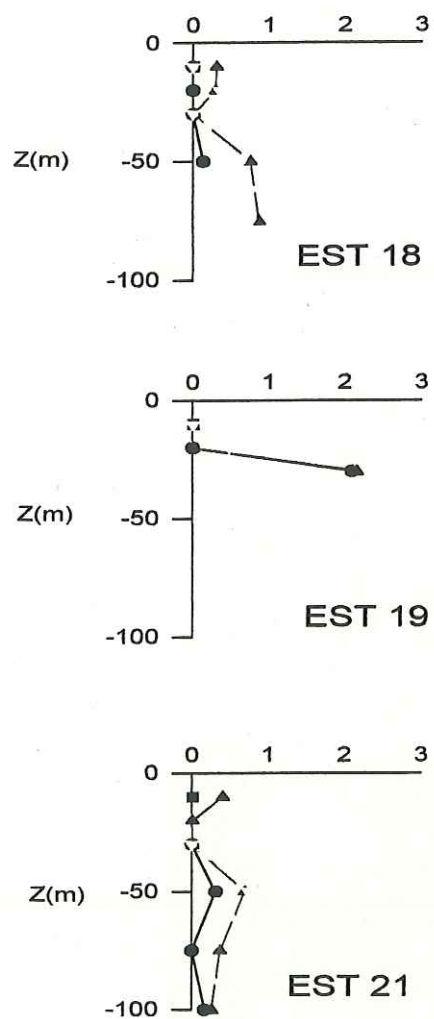


Figura 14.- Razones pigmentarias (pig/clo a) para cuatro pigmentos marcadores en la época de verano (19'butanoiloxifucoxantina, cuadros; 19'hexanoiloxifucoxantina, triangulo invertido; fucoxantina, triangulo y peridin, circulo).

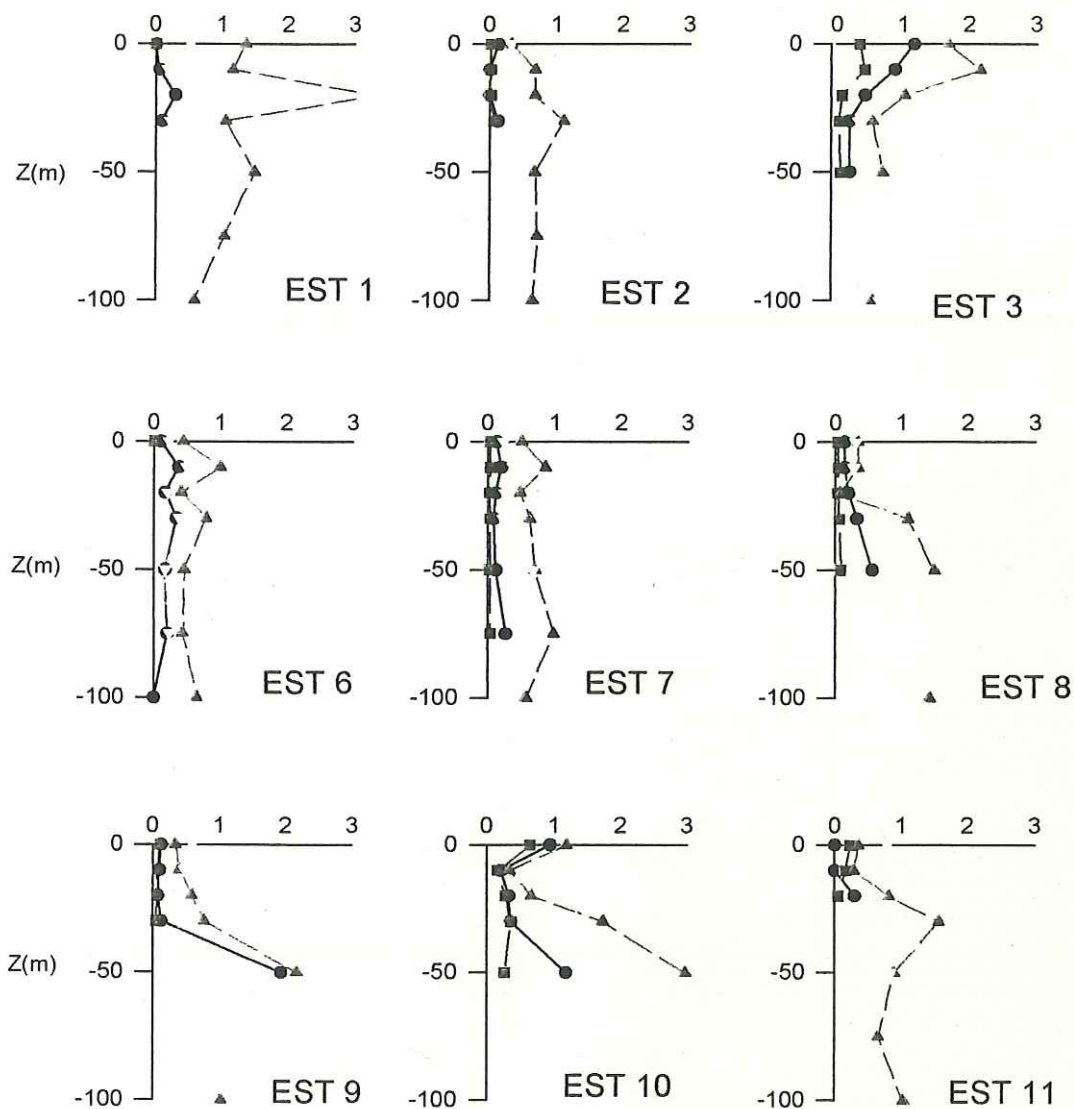


Figura 15.- Razones pigmentarias (pig/clo a) para cuatro pigmentos marcadores en la época de invierno (19'butainoioxfucoxantina, cuadros; 19'hexainoioxfucoxantina, triangulo invrtido; fucoxantina, triangulo y peridina, circulo).

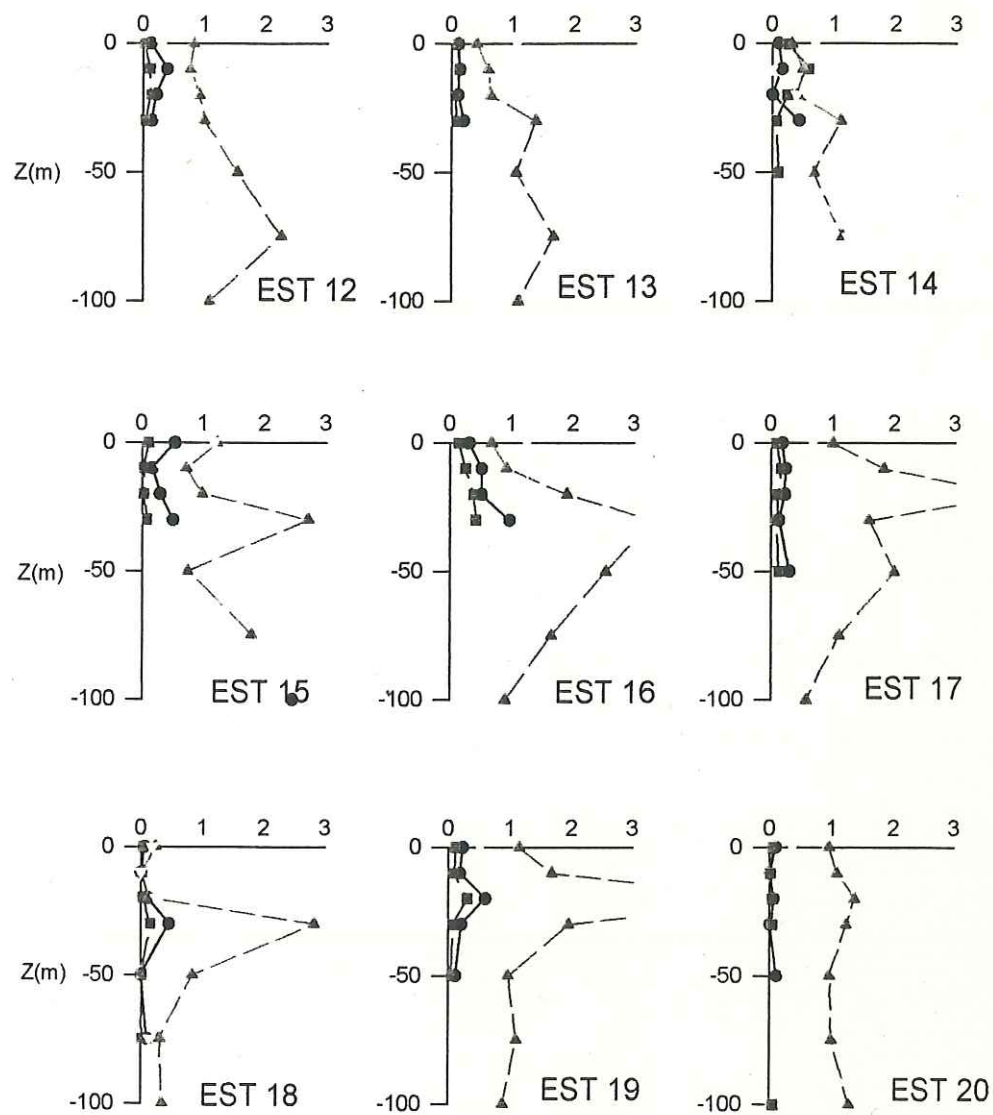
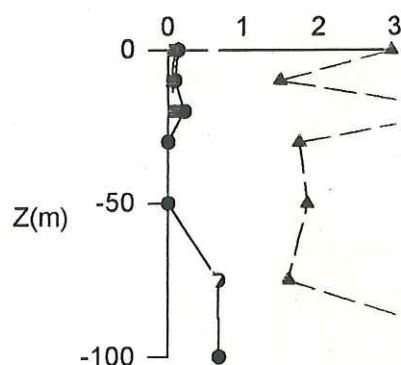


Figura 15.- Razones pigmentarias (pig/clo a) para cuatro pigmentos marcadores en la época de invierno (19'butainoilofoxifucosantina, cuadros; 19'hexainoilofoxifucosantina, triangulo invrtido; fucoxantina, triangulo y peridin, circulo).



EST 21

Figura 15.- Razones pigmentarias (pig/clo a) para cuatro pigmentos marcadores en la época de invierno (19'butainoiloxifucoxantina, cuadros; 19'hexainoiloxifucoxantina, triángulo invrtido; fucoxantina, triángulo y peridina, círculo).

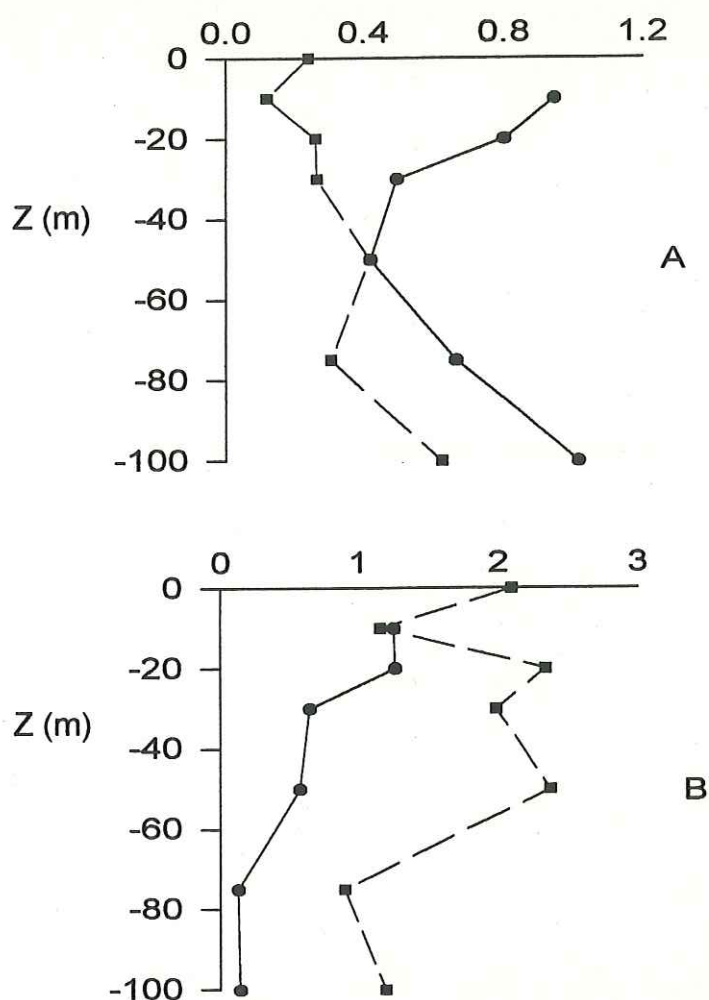


Figura 16.- Perfiles de la suma de pigmentos fotoprotectores (a) y de las razones del totpig/cl a (b), para verano (circulos) e invierno (cuadros).

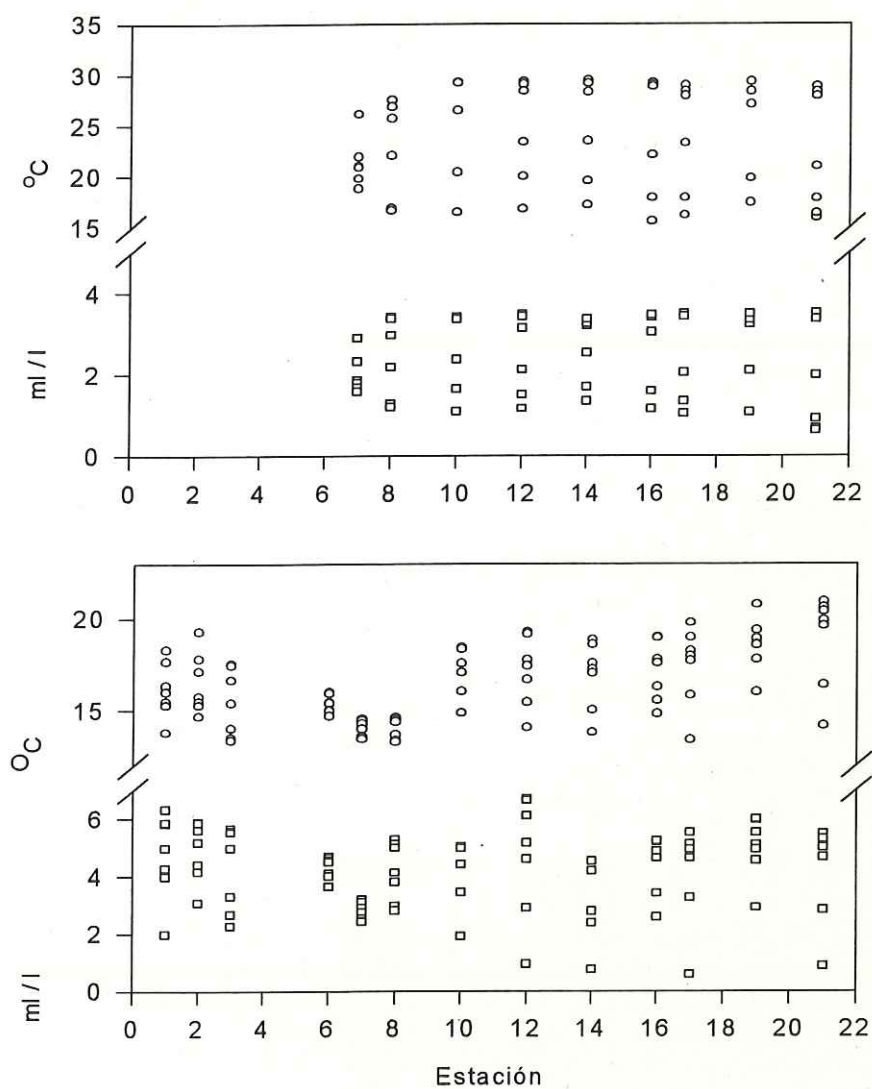


Figura 17.- Temperatura (círculos) y concentración de oxígeno (cuadros) para verano (arriba) e invierno (abajo).

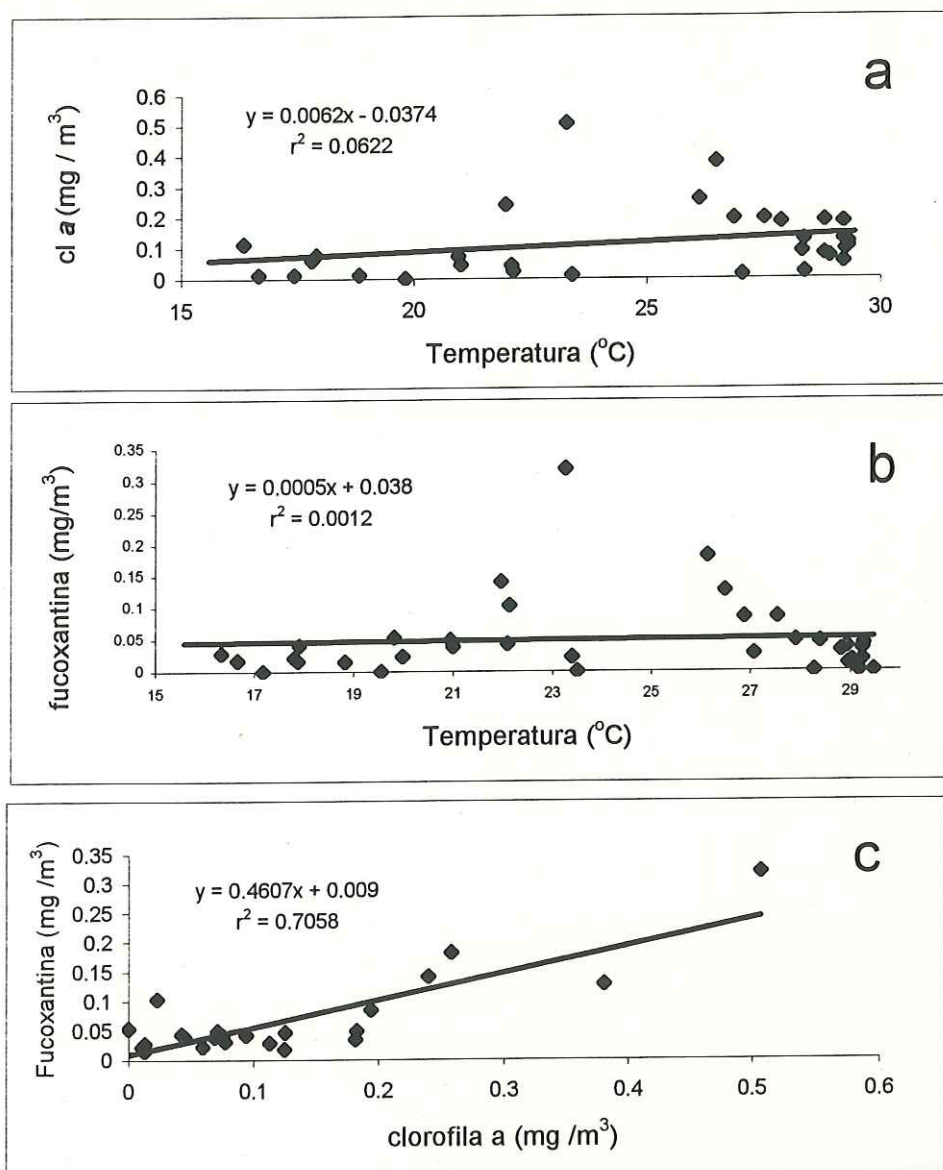


Figura 18.- Asociación entre la temperatura y clorofila *a* (a), Fucoxantina (b) y clorofila *a* vs Fucoxantina (c) para verano

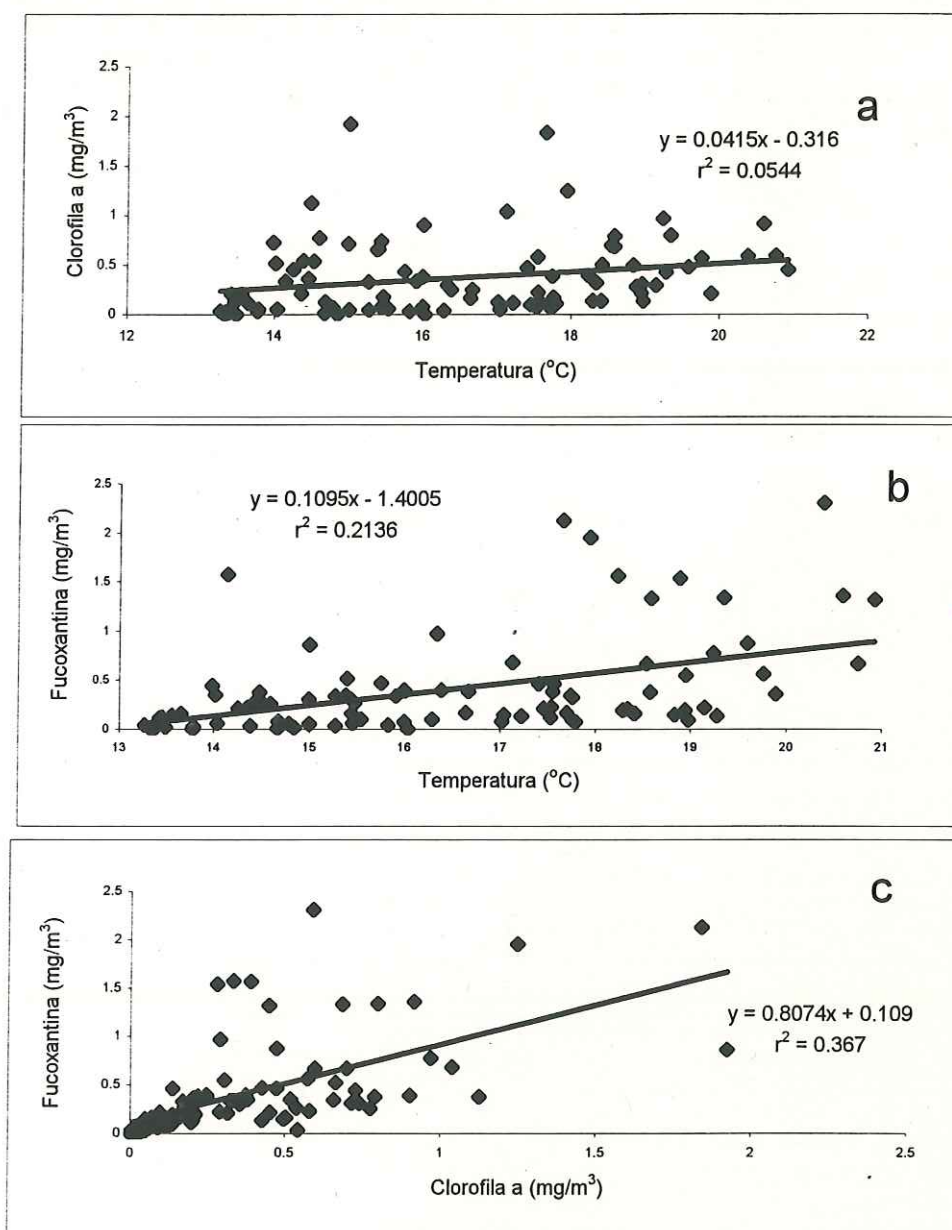


Figura 19.- Asociación entre la temperatura y clorofila *a* (a), fucoxantina (b) y clorofila *a* vs fucoxantina (c) para invierno.

parte la relación es mucho mejor en cuanto a la concentración de pigmentos y la de clorofila *a* siendo esta positiva, es decir que la concentración de los pigmentos aumenta con la concentración de la clorofila *a*. Sin embargo la relación se mantiene muy baja para todos los pigmentos (no se presentan todas las gráficas, solo las mas representativas).

DISCUSION

Los beneficios actuales del análisis de pigmentos por HPLC son entre otros: la estimación cualitativa de comunidades de fitoplancton; estimación del desarrollo histórico del fitoplancton en análisis de sedimentos, es decir que con el análisis de pigmentos en núcleos de sedimento se puede inferir las clases de fitoplancton que dominaron en alguna época; distinción de masas de agua a partir de los pigmentos marcadores de algas; interpretación del estatus fisiológico del fitoplancton o procesos de sedimentación del fitoplancton (Schmid *et al*, 1998). La metodología empleada en este trabajo presenta numerosas ventajas sobre otras metodologías antes publicadas. Con ella se pueden separar aproximadamente 50 pigmentos (Wright *et al*, 1991) con un sencillo sistema ternario por gradiente de solventes. En este trabajo comparado con otras metodologías que han usado el mismo ion-par, no se presentó una adecuada resolución de las clorofilas *c*. Como se observa en la figura 3, el pico con un tiempo de retención de 7.3 min representan a la clorofila *c*, y comprende la suma de clorofila *c*₁ y clorofila *c*₂. Esto se pudo deber a que el gradiente del solvente A, el cual contiene el ion par no fue el mas adecuado o no tenia la concentración suficiente. Mientras que las modificaciones que se realizaron tanto en la extracción (el uso de acetona: metanol 9:1) como en la metodología (chaqueta de enfriamiento), procuraron una eficiente extracción y una muy buena separación de los pigmentos.

En general, las diferencias a través del golfo entre las dos estaciones del año, son extremas. La temperatura superficial presenta una variación de los máximos de 20°C en invierno contra 29°C en verano (figura 5). La concentración superficial del oxígeno disuelto, al igual que la temperatura, presenta una distribución irregular con valores menores en el área de las islas para ambas estaciones. La baja concentración del oxígeno superficial (3.4 ml l⁻¹) es resultado de la mezcla vertical originada por el levantamiento de las capas mas profundas de agua con concentraciones bajas en oxígeno; sin embargo las bajas concentraciones que se presentan en otras zonas, principalmente en verano están relacionadas con las altas temperaturas y la correspondiente disminución de la solubilidad del oxígeno en el agua (figura 5 y 6), así

como a la disminución de la fotosíntesis.

Los valores de saturación de oxígeno calculados (Broecker y Peng 1982) para las estaciones centrales del Golfo para el crucero de verano, se presentan con un promedio de 78 % en la superficie y de 65 % en los máximos de clorofila *a*, esto indica que no existe una mezcla de la columna de agua reforzando la idea de una columna de agua estratificada, es decir, se esperarían valores de saturación mas elevados y homogéneos en la vertical, como ocurre en la época de invierno. Sin embargo en invierno los porcentajes de saturación indican sobresaturación de O₂ en la superficie (de 120 a 140 %), en este caso el esfuerzo del viento aumenta la turbulencia y el gas es forzado dentro de la superficie del mar por acción del burbujeo (Broecker y Peng 1982). Mientras que en la zona de las islas, los porcentajes de saturación para las estaciones 6, 7 y 8 son en promedio de 68 %, que esta dado principalmente por el aporte de las aguas profundas con menor cantidad de O₂ disuelto. En general los valores de saturación son muy parecidos en la superficie y en el máximo, ya que éste se encuentra muy cercano a la superficie (Libes, 1992).

Valores similares fueron reportados por Nájera-Martínez *et al.* (1994) durante otoño, donde se observan concentraciones de 3.7 ml / l en la superficie y a 100 m concentraciones de 1.3 ml / l. Otra característica importante es que se observa un pequeño domo que se levanta hacia la superficie en ambas épocas con un desfase aproximado de 40 km. Souza (1991) sugiere la presencia de saltos hidráulicos en los umbrales de la cuenca San Esteban con manifestaciones de aguas profundas en aguas superficiales del canal, así como en sus alrededores. Lavín *et al.* (1995), presentan evidencias de un frente profundo similar (las isolíneas de temperatura y oxígeno se observan como un domo) para la misma zona en este trabajo (cuenca Delfín y cuenca Wagner).

El oxígeno en la columna de agua es gobernado por cambios en la actividad biológica y por las propiedades físicas, de tal manera que puede ser usado para medir la actividad biológica por medio de la respiración y la actividad fotosintética, mientras que la variabilidad temporal está regulada por los procesos físicos, principalmente por la temperatura (Boyer *et al.*, 1999) y la mezcla vertical.

El Golfo de California se caracteriza por presentar concentraciones de oxígeno

mayores a 1 ml l^{-1} arriba de los 100 m y a profundidades mayores de 150 m este decrece por debajo de los 0.5 ml l^{-1} , mientras que a profundidades entre los 400 y 800 m llega a ser casi indetectable (Alvarez-Borrego y Lara-Lara, 1991). Un comportamiento similar se encontró en este trabajo (figuras 10 y 11); sin embargo, solo se incluyen los perfiles hasta 100 m que representan a la zona eufótica.

En la figura 10 se muestran los perfiles verticales de la temperatura, oxígeno y clorofila *a* para la época de verano. En la mayoría de estos perfiles se observa que los máximos de clorofila corresponden con la termoclina que aparece de manera clara. La termoclina es un rasgo que afecta también al comportamiento del oxígeno disuelto. El comportamiento en la distribución vertical del fitoplancton en mares estratificados se caracteriza por el máximo de clorofila que se encuentra por lo general dentro de la zona eufótica y cercano a la termoclina (Lorenzen, 1967). Esto corresponde también con una disminución en la concentración de los nutrientes, y a concentraciones de biomasa de uno a dos ordenes de magnitud más bajas que en las áreas con una mezcla vertical fuerte (Falkowsky and Raven, 1997).

De forma muy similar a los valores promedio de 30 m de profundidad en la capa de mezcla presentados por Lavín *et al.* (1997) estamos representando lo que sucede en verano, donde la capa de mezcla tuvo un promedio general de 50 m de profundidad. Por arriba de la termoclina las concentraciones de oxígeno se enriquecen debido a la turbulencia superficial y la producción de fitoplancton. Por el contrario las estaciones 18, 19 y 21 que se localizan a la entrada del Golfo presentan valores de oxígeno superficial por arriba de los 4 ml l^{-1} de O_2 , siendo estos valores típicos en estas aguas para esta época del año. Por el contrario, al inicio de la termoclina el reabastecimiento de este gas es inhibido por la falta de una mezcla vertical, de tal forma que dentro de la termoclina se presentan valores muy bajos de O_2 y el mínimo de O_2 usualmente coincide con las concentraciones más altas de nutrientes. Esto implica además que la termoclina detiene el paso de la materia orgánica a zonas mas profundas, concentrándola y permitiendo su oxidación (respiración), ocasionando en consecuencia, una disminución en el O_2 , aumento de los nutrientes por remineralización y disminución de la fotosíntesis (Libes, 1992). La estación 17 (figura 8 y 10) muestra un máximo en la parte sur del golfo que pudiera ser explicado por la

presencia de un giro ciclónico para la época de verano (Emilsson y Alatorre, 1997), este giro podría contribuir con el transporte de nutrientes a la superficie y a su vez concentra al fitoplancton en el centro de este (Mann y Lazier, 1996).

A diferencia de lo anterior, en la figura 11, el crecimiento de la capa de mezcla se inicia a principios de invierno cuando los vientos se incrementan y la radiación solar disminuye. En algunos lugares del norte del Golfo, la mezcla superficial llega hasta el fondo de la zona fótica (90 m) destruyendo totalmente la estratificación (Lavín *et al.*, 1997). Las estaciones 1, 2 y 3 son las representantes de la parte norte, la cual se caracteriza por altas velocidades de corriente (0.5 cm s^{-1}) y donde el promedio de profundidad es de 200 m (Marinone y Lavín, 1997). La mezcla es muy fuerte y turbulenta; sin embargo las condiciones de temperatura y oxígeno no muestran de manera evidente estas condiciones. La clorofila *a* presenta un máximo superficial en la estación 1, lo que se explica por la alta turbidez que se presenta en esta zona, evitando la entrada de luz solar y obligando al fitoplancton a mantenerse en la superficie para efectuar la fotosíntesis, sin embargo, este comportamiento se puede presentar por una fotosíntesis activa en las primeras etapas del florecimiento (Gendrop-Funes *et al.*, 1978). Por otra parte las estaciones 2 y 3 presentan máximos más profundos y una termoclina aunque pequeña, evidente. Esto es posible si en el momento del muestreo se presentaron características de estabilidad particularmente propicias, como lo son; la falta de viento, el calentamiento diurno y la disminución de corrientes.

En la zona de las islas comprendida por las estaciones 6, 7 y 8 se observa de manera muy clara que la zona de mezcla rebasa los 100 m de profundidad ya que no se pudo observar la termoclina, esto se debe principalmente a una intensa mezcla causada por la corriente de marea y el intercambio de agua de la parte norte y sur del golfo en el Umbral de San Lorenzo (Lavín *et al.*, 1997) y los máximos de clorofila *a* se distribuyen por arriba de los 50 metros, siendo muy cercano a lo reportado por Lavín y Badán (1997) donde presentan un promedio de 60m para la capa de mezcla durante la época de invierno en la región de las islas, este comportamiento característico se presenta debido a los patrones de vientos estacionales. Por otra parte, para el sur del golfo (estaciones 9 – 21) la capa de mezcla se observa con un grosor promedio de los

70 m ya que los procesos de mezcla se presentan con menor intensidad. Los máximos de clorofila que se forman en la parte sur del golfo en esta época se pueden deber a condiciones locales que pueden ser explicados de varias maneras: decremento en la tasa de hundimiento de las células cuando llegan a un nivel de obscuridad y abundancia de nutrientes, disminución en la presión de pastoreo, por acumulación de material de las capas superiores o por el aumento de la concentración de la clorofila celular (Hernández-Becerril, 1983).

Las figuras 9, 10 y 11 representan condiciones extremas a lo largo del golfo de California, esto es durante verano e invierno. En invierno se observan las concentraciones más altas de pigmentos en el golfo. Santamaria-del-Angel *et al.* (1994) observan que el efecto de las surgencias son evidentes en las costas de Sonora y Sinaloa, y valores máximos de pigmentos son también evidentes en el norte del golfo con valores de $3 \text{ mg chl a m}^{-3}$ en invierno.

Este valor se encuentra muy cerca de nuestros resultados (figura 7) donde de obtienen valores de hasta de 2 mg m^{-3} en la región de las islas. Siendo esto posible ya que las aguas superficiales son empujadas en la dirección del viento predominantemente, por lo que aguas más profundas, frías y ricas en nutrientes pueden presentar advección hacia la superficie, resultando en un continuo mecanismo de fertilización (Gaxiola-Castro, *et al* 1995). Otro proceso es llamado por Lavín *et al.* (1997) como abordamiento y se presenta cuando la capa de mezcla se engrosa y agua rica en nutrientes se incorpora a la capa de mezcla.

En invierno, el parámetro de estratificación (Φ) presenta los valores mas bajos en las estaciones 6, 7 y 8 con valores de 55, 61 y 22 Jm^{-3} , que de acuerdo con la clasificación hecha por Gaxiola-Castro, *et al.* (1995) menciona que estos valores son para una columna de agua estratificada en la parte sur del golfo, ya que los valores que se presentan para la región de las es de 5 a 10 Jm^{-3} , lo que representa que la columna de agua esta parcialmente mezclada. Mientras la parte central y sur del golfo, presenta valores de 103 a 144 Jm^{-3} respectivamente, indicando que la columna esta estratificada.

La temperatura superficial que va de 14°C en la zona de las islas aumenta hasta 20°C en la boca del golfo, esta presenta un coeficiente de determinación alta con

el Φ ($r^2 = 0.88$). Sin embargo la relación con la clorofila no se presenta de manera evidente ($r^2 = 0.1$), pero si con una tendencia inversa, es decir, concentraciones mas altas de clorofila para valores de Φ pequeños. Esto se debe principalmente al rezago que existe entre el aporte de nutrientes a la capa eufótica y el aumento de la biomasa del fitoplancton, en respuesta a este aporte.

Las diferencias entre nuestros resultados y los presentados en otros trabajos, se deben posiblemente a las diferentes metodologías empleadas y a que los muestreos son puntuales y por lo tanto sujetos a las variabilidades intrínsecas del fitoplancton. La mayoría de las determinaciones de clorofila *a* en el golfo se han realizado por fluorimetría, la cual presenta variaciones en intercalibraciones con diferentes laboratorios. Esto es debido principalmente a la preparación de los estándares y a los diferentes coeficientes de extinción que se encuentran disponibles en la literatura y que son usados para calcular las concentraciones de estos mismos (Latasa *et al*, 1996), sobre estimando hasta en un 10 % la concentración de clorofila *a* (Welschmeyer, 1994).

Por otra parte, las diferencias se pueden presentar al momento de tomar la muestra, realizar la extracción de los pigmentos o simplemente, a la diferencia en los parches de fitoplancton. Esto se puede observar con los datos obtenidos por Zaneveld *et al* (1995) en otoño de 1995. Ellos determinaron pigmentos por HPLC y encontraron que, en la región de las islas los valores máximos eran de 2.41 mg m^{-3} de cl *a*, mientras que el promedio era de 1.3 mg m^{-3} . El promedio para este trabajo en la misma zona y época fué de 1.1 mg m^{-3} .

Las concentraciones mas bajas en esta temporada se encuentran en la zona que comprenden las estaciones 14 y 16 (figura 1). A diferencia de la región de las islas, la biomasa de fitoplancton del Golfo en esta zona es sustentada por las surgencias que se presentan a lo largo de las costas de Sonora, por lo que los nutrientes aportados a las capas superficiales son consumidos en las costas y no logran eutroficar de forma importante la zona central (Alvarez-Borrego y Lara-Lara 1991). En la figura 9 la distribución de la clorofila *a* esta bien representada por la clorofila integrada (0-100m) donde a pesar de no obtener valores cercanos a los que presentan Gaxiola-Castro *et al*. (1995) de $150 \text{ mg cl a m}^{-2}$, se localizan un máximo en

la región de las islas de 75 mg cl *a*. Este valor se compara favorablemente con estudios en el mar Mediterráneo donde se han reportado valores de 45 mg m⁻², los que se presentan en periodos donde la columna de agua se encuentra semi mezclada (Bustillos-Guzman *et al*, 1995). Por lo tanto la concentración de clorofila depende del factor biológico y que como se sabe presenta una variabilidad muy grande a lo largo del tiempo.

Es importante mencionar que Gaxiola-Castro *et al*. (1995) reportan una relación entre la estratificación de la columna de agua y la composición del fitoplancton, donde las diatomeas dominan en ambientes turbulentos y ricos en nutrientes, mientras que los dinoflagelados se presentan en aguas mas estratificadas y pobres en nutrientes. Es posible, por lo tanto que un cambio en las poblaciones pudiera explicar la causa de la diferencia tan marcada, aunque pudiera deberse en un segundo plano a la diferencia en el método de análisis.

Por otra parte una distribución promedio para el resto del Golfo es de 25 mg cl *a* m⁻² (Bazan-Guzman, 1990), esto concuerda con los resultados obtenidos en este trabajo, reportando valores de clorofila *a* integrada de 43.9 mg m⁻² en la región cercana a las islas y con un promedio de 24.4 mg m⁻² global, sugiriendo que este es un comportamiento normal de la distribución y concentración en el golfo, explicado por el sustento de las surgencias que se presentan en invierno en la costa este del Golfo donde se presentan valores mas altos que para la costa oeste (figura 9).

Durante el verano, la mayoría del golfo presenta valores muy bajos de clorofila *a* (0.3 mg m⁻³), lo que se debe a la culminación de los vientos del noroeste y el inicio de los vientos del sudeste, las aguas superficiales inician un calentamiento por la elevación de la temperatura y con esto, la estratificación de la columna de agua, reduciendo la capa de mezcla (Alvarez-Borrego y Lara-Lara, 1991). Esto se suma con otros dos eventos que concurren en esta estación del año, primero, a que mas agua del Océano Pacífico penetran en el Golfo. Esta agua se caracteriza por relativamente mayores temperaturas y menores concentraciones de nutrientes (Santamaria del Angel *et al*, 1994). En segundo lugar, las pocas surgencias en las costas de Baja California no provocan la mezcla importante de la columna de agua, produciendo solo bajas concentración de biomasa (Alvarez-Borrego y Lara-Lara, 1991). Sin embargo

Millán-Núñez *et al.* (1998) en verano (agosto de 1994) llegó a observar concentraciones de hasta 1.25 mg m^{-3} en una estación muy cercana a la estación 8 de nuestro trabajo. Este valor es alto con respecto a los que se obtuvieron en este trabajo, lo cual se puede explicar al haber tomado muestras del mismo punto o muy cercano pero con diferentes características en las comunidades fitoplanctónicas o características químicas que promovieron un diferente comportamiento.

Sin embargo, en estudios paralelos de la hidrología (no se presentan) de las estaciones que marcan secciones transversales no se encontró evidencia de un levantamiento de las isolineas que nos haga suponer la existencia de un evento de surgencia para alguna de las dos épocas. Podemos sugerir sin embargo, que un evento de surgencia se presentó poco tiempo antes, ya que en el centro del golfo se presentan las mayores concentraciones de clorofila *a* con una tendencia hacia a la costa oeste tanto en verano como en invierno.

Millán-Núñez *et al.* (1998) presentan valores relativamente altos ($1 \text{ a } 2 \text{ mg m}^{-3}$) que son característicos de las zonas con alta mezcla. Datos de clorofilas en la cabeza del Golfo medidos por fluorescencia para el mes de agosto muestran valores de $0.1 \text{ a } 0.4 \text{ mg m}^{-3}$ (Cervantes-Duarte *et al.*, 1996).

En verano, el parámetro de estratificación (Φ) presenta los valores muy altos para todo el golfo con valores promedio de 292 Jm^{-3} lo que representa una columna de agua bien estratificada. Por otra parte valores menores al resto de los datos se presentan en la zona de las islas con valores entre $110 \text{ y } 175 \text{ Jm}^{-3}$, que de acuerdo con los resultados que presenta Argote *et al.* (1995) para septiembre de 1986 en la región norte y de las islas son mucho mas bajo, ya que ellos presenta valores de Φ de 200 hasta 500. Esto se debe principalmente al calentamiento de la superficie y la disminución de los vientos, lo que permite la estratificación de la columna.

En este caso, la relación entre la temperatura superficial, la clorofila *a* y el Φ es muy pobre ($r^2 = 0.3 \text{ y } 0.1$). De acuerdo con lo anterior el aporte de nutrientes que provienen de aguas mas profundas se suspende y por lo tanto se presenta una disminución de la biomasa reflejado por supuesto en la concentración de clorofila, característica que representa la época de verano.

Los análisis de pigmentos fotosintéticos han sido usados ampliamente para

determinar la biomasa del fitoplancton e identificar la presencia de diferentes grupos particulares de algas (Latasa *et al.* 1996). En el Golfo de California se reportan 4 grupos principales de microalgas (Round 1967 y Hernandez-Becerril, 1983), siendo el mas abundante las diatomeas, que posee como pigmento característico, a la fucoxantina y la diatoxantina (Jeffrey *et al.*, 1997). Seguido de las diatomeas, los dinoflagelados, que contienen a la peridina y sus derivados. Por ultimo, los silicoflagelados, que contienen a la 19'butanoiloxifucoxantina y los cocolitoforidos cuyo pigmento típico es 19'hexanoiloxifucoxantina (Jeffrey *et al.* 1997, Lewellin and Mantoura, 1996, Bustillos-Guzman, 1995, Barlow *et al.*, 1995 y Williams and Claustre, 1991).

Las razones de pigmentos que se presentan en las figuras 14 y 15 fueron normalizados para clorofila *a* con el fin de encontrar un patrón en las variaciones con respecto a la profundidad.

La fucoxantina (diatomeas) y la 19'hexanoiloxifucoxantina (primnesiofitas), se comportan de manera parecida en su distribución vertical, presentando una contribución similar con la biomasa. En la figura 14 se observa un incremento de la razón con la profundidad característica para ambos pigmentos, sin embargo la razón fucoxantina se incrementa en menor proporción que la clorofila *a* en las diatomeas con la profundidad (Mackey *et al.*, 1998), donde lo que pudiera estar representando es una combinación entre la que aportan las crisofitas y haptofitas con la de las diatomeas. La distribución espacial (figura 12) de la fucoxantina, en las estaciones 10 y 17 muestra un máximo que es coincidente con una disminución en la razón, representando probablemente la presencia de diatomeas en esta zona. Millan-Núñez *et al.*, (1998) reportan valores promedio de fucoxantina de 0.4 mg m^{-3} y 19'hexanoilfucoxantina (0.11 mg m^{-3}) que son similares a los que encontramos en este trabajo para la zona al sur de las islas (estación 7 y 8).

Los análisis de pigmentos carotenoides que se han realizado en otras partes del mundo, como por ejemplo estudios en el Mar Mediterráneo (Bianchi *et al.*, 1996) presentan valores de $0.12 \text{ mg cl a m}^{-3}$, $0.02 \text{ mg fucoxantina m}^{-3}$ y de la misma manera 5 pigmentos mas, mientras que otros estudios en el Pacífico medio (Williams y Claustre 1991) presentan valores de $0.015 \text{ mg cl a m}^{-3}$, $0.011 \text{ mg fucoxantina m}^{-3}$. Lo

que es consistente con los valores de clorofila *a* y fucoxantina para la que se encontró en invierno.

La distribución de las diatomeas en verano, se han reportado con mayor concentración en la zona de las islas que en la parte sur del golfo (Hernandez-Becerril 1983), mientras que Round en 1962, presenta una distribución de diatomeas abundante en el sur, relacionadas con surgencias, ya que las diatomeas se caracterizan por ser un grupo de algas oportunistas (se adaptan a las condiciones del medio con mucha rapidez). Podría ser esta la causa del máximo de concentración de fucoxantina en la parte central (estación 17) o como se había mencionado anteriormente por la presencia un giro en esta zona.

En la época de verano, el comportamiento de las razones de 19'hexanoiloxifucoxantina (figura 14) presenta un aumento con la profundidad en todas la estaciones, con concentraciones relativamente bajas, por lo que los cocolitoforidos (primnesiofitas) parecen contribuir en menor porcentaje a la biomasa que las diatomeas. Por el contrario, Hernández-Becerril (1983), reporta que los cocolitoforidos son un grupo abundante que habitan en aguas mas profundas, tal vez esta es la razón de haber encontrado una escasa concentración del pigmento ya que sólo se muestreó hasta los 100 m (figura 13). Sin embargo la distribución es muy amplia y relativamente homogénea a lo largo del golfo.

Por otra parte, se pudo observar que la presencia de 19'hexanoiloxifucoxantina aumenta cuando se presentan los derivados de la clorofila *c* y disminuye con la presencia de la fucoxantina (Jeffrey *et al.*, 1997), lo que sugiere que la fucoxantina es derivada de las diatomeas ya que los valores de fucoxantina y 19'hexanoiloxifucoxantina son muy parecidos.

La fucoxantina (diatomeas) y la 19'hexanoiloxifucoxantina (primnesiofitas), presentan una distribución a lo largo del golfo en las que se observan concentraciones muy elevadas de fucoxantina en la parte sur (estaciones 17, 19 y 21), muestras que en el resto del golfo presenta un promedio de 0.5 mg m^{-3} . Este comportamiento puede ser explicado por una introducción de agua del Pacífico cercano a la costa de Baja California (Lavín *et al.*, 1997). Esta región también esta caracterizada por especies de diatomeas oceánicas (Round, 1962) sustentando la entrada de agua del Pacífico y

promoviendo la abundancia de los pigmentos en las estaciones adyacentes a la costa y parte central sur del golfo (estaciones 17 a la 21, figura 8). La distribución en la parte norte del golfo también presenta valores altos de fucoxantina, pero las razones que se presentan en la figura 15 disminuyen fuertemente sin variar con la profundidad. Esto puede indicar un incremento de la clorofila *a* mayor a la fucoxantina a causa de la turbulencia y la falta de luz para la fotosíntesis.

Experimentos realizados por Mackey *et al.* (1998) demuestran que existe un aumento de la fucoxantina con la disminución de la intensidad de luz, sin embargo el aumento de la clorofila *a* es cuatro veces mayor. Al mismo tiempo, este pigmento también posee una función fotoprotectora, es decir que la concentración de fucoxantina puede ser en ocasiones, incluso superior a la clorofila *a*. Sin embargo hay que considerar que el pastoreo realizado por el zooplancton degrada la clorofila *a* y esto produce que las razones sean > 1 , mientras que los carotenos presentan una resistencia mucho mayor y su degradación es muy baja.

Las concentraciones de 19'-hexanoiloxifucoxantina (figuras 15 y 20), presentan una mayor abundancia de las estaciones 1 a la 3, 10 a la 16 y 21. Por lo general las concentraciones son altas y contribuyen con el 98 % de la densidad celular (Hernández-Becerril, 1983). Las concentraciones altas se observan en la parte norte ($> 1.0 \text{ mg m}^{-3}$) disminuyendo hacia el centro sur (0.5 mg m^{-3}) y aumentando en la boca (1.5 mg m^{-3}). Las contribuciones de fucoxantina a esta clase de algas, pueden estar presentes cuando la razón de 19'-hexanoiloxifucoxantina disminuye fuertemente con respecto a la razón de fucoxantina (Jeffrey *et al.*, 1997), como es el caso de las estaciones 17, 19, 20 y 21 o por otra parte este efecto pudiera estar obscurecido por una alta abundancia de diatomeas.

El peridinina (dinoflagelados) se presenta en verano solamente al sur del golfo (estación 17) y con concentraciones muy bajas (Round, 1962), lo que sugiere una presencia casi nula de dinoflagelados; sin embargo el comportamiento de la razón peridinina/cl *a* se comporta de manera característica, esto es, aumentando con la profundidad (Mackey *et al.*, 1998). La distribución vertical del peridinina se comportó de manera similar a la del resto de los pigmentos y como se reporta por Hernandez-Becerril (1983) y los máximos generalmente se encuentran alrededor de los 50 m y

con una relación con los máximos de clorofila *a* (Cullen *et al*, 1982 en Hernandez-Becerril 1983).

En invierno el peridinina se presenta con la mayor concentración en la región de las islas (estación 6 y 7 figura 12), contrario a la época de verano en que las concentraciones, aunque muy bajas, se presentan en la parte sur. El resto del Golfo se mantiene con niveles de 0.18 mg m^{-3} en la superficie principalmente. Al igual que la concentración de peridinina, las razones no cambian con la profundidad, proponiendo que las concentraciones varían en igual proporción. Esto puede sugerir que se trata de un grupo de especies con un comportamiento muy parecido. La distribución concuerda con la reportada por Round (1962) quien menciona que la región central, que inicia a la altura de La Paz B.C.S. con altas concentraciones de dinoflagelados, continua hacia Isla Tiburón, aumentando fuertemente en concentración hacia el delta del Río Colorado. Las características de esta distribución se mantienen, pero en el norte no se encuentran en concentraciones abundantes, debido probablemente a que no existían las condiciones adecuadas para su florecimiento ya que estas se pueden mantener en estado vegetativo hasta encontrar las condiciones adecuadas (Jeffrey *et al*, 1997).

La figura 13 presenta la distribución de la 19'butanoiloxifucoxantina, que representa a las crisofitas (silicoflagelados) en un área muy limitada entre las estaciones 10, 12 y 15, con concentraciones de 0.06 mg m^{-3} como máximo. El resto de las estaciones no presentan concentraciones significativas de este pigmento ya que el desarrollo de esta clase de algas se da en aguas cercanas a los 15°C y en esta época se alcanzan temperaturas de hasta 30°C (figura 5). Debe observarse que la distribución de la figura 13 esta representada por solo dos estaciones, por lo que no se puede argumentar que esta sea una distribución general, aunque Round, (1962), encontró que la distribución de los silicoflagelados se presenta en la parte central y sur del golfo, nunca encontró una distribución marcada, si no una distribución muy dispersa.

La época de invierno, marca cambios muy dramáticos en el comportamiento de los pigmentos, en principio como ya se mencionó para la clorofila, la columna de agua presenta una intensa mezcla que es mas marcada en la región de las islas, una disminución de la temperatura y un aporte de nutrientes a las aguas superficiales,

promoviendo el abundante florecimiento de fitoplancton.

La figura 13 presenta la distribución de la 19'butanoiloxifucoxantina para la época de invierno representando a las crisofitas (silicoflagelados) en un área muy limitada entre las estaciones 14, 15 y 16 con concentraciones de 0.16 mg m^{-3} como máximo, el resto de las estaciones no presentan concentraciones significantes. A diferencia de verano, la representación en la distribución de las crisofitas está dada por todas las estaciones centrales, solo se encontró un cambio en la concentración ya que las aguas templadas le proporcionan las condiciones propicias para su desarrollo, encontrándose principalmente en las regiones centrales del golfo (Round, 1962 y Jeffrey *et al*, 1997).

Los carotenoides representan un grupo extremadamente grande de cromóforos biológicos que, dependiendo de sus cambios estructurales, presentan marcadas características espectrales. Los carotenoides mas importantes incluyen a la fucoxantina, peridina, luteína, violaxantina, zeaxantina, diatoxantina y diadinoxantina. Espectralmente todos estos pigmentos muestran bandas de absorción en el área del azul y azul-verde que se superponen a las bandas de la clorofila y dependiendo de la naturaleza del solapamiento algunos facilitan la transferencia de energía de excitación o remueven la energía de la clorofila. En adición, para promover la energía de transferencia para la clorofila, o desde esta los carotenoides juegan un papel importante en la protección fotosintética de los organismos, del daño potencial que resulta de la generación de radicales oxígeno (Falkowski y Raven, 1997). En lo general, la distribución de los pigmentos característicos en el golfo representan las distribuciones características descritas por Round (1967) y Thunell *et al*, (1996).

Los carotenoides que son fotosintéticamente activos comprenden a la fucoxantina, 19'butanoiloxifucoxantina, 19'hexanoiloxifucoxantina y praxinosantina. Por el contrario los que cuentan con un carácter protector incluyen a la diadinoxantina, alloxantina zeaxantina y luteína (Millan-Núñez *et al*, 1998).

En la figura 16 podemos observar que la suma de los 3 pigmentos fotoprotectores (zeaxantina, diadinoxantina y alloxantina) que se presentaron tanto para verano e invierno y a pesar de que la irradiancia es muy parecida para ambas épocas (Delgadillo-Hinojosa, 1992) muestran una elevada concentración en la superficie como

podiera esperarse ya que la delgada capa de mezcla que se presenta en verano, mantiene al fitoplancton cercano a la superficie y la cantidad de luz que incide promueve en los organismos un aumento en la producción de estos disminuyendo con la profundidad; sin embargo, las concentraciones absolutas más altas se encontraron en invierno. Una posible explicación es que existe una mayor biomasa en invierno, pero no es importante la necesidad de protección.

Cuando se normalizan estos pigmentos protectores con relación a la concentración de clorofila *a* (suma de carotenos/clorofila *a*) se obtiene una distribución (figura 16) que sugiere en una producción de pigmentos protectores en la superficie para verano e invierno, pero con mayor proporción en verano ya que la termoclina obliga al fitoplancton a estar cerca de la superficie. Los perfiles disminuyen hacia los 50 m e iniciando un incremento hacia los 100m. Esto se puede explicar al menos, de dos posibles maneras: la primera podría ser la presencia de cianobacterias en verano en la superficie, ya que la zeaxantina resulto el pigmento mas abundante y este es indicativo de las cianofitas. La segunda sería la presencia de fotoprotectores en la superficie, aumentando en el fondo por un efecto de acumulamiento en la parte final de la termoclina.

El oxígeno y la temperatura son las dos variables hidrográficas que se presentan en este trabajo y con la cuales se buscó determinar algún tipo de relación con la distribución y concentración de los pigmentos. En la figura 17 se presenta el comportamiento del oxígeno y la temperatura a lo largo del golfo, así como en la vertical (100 m). Para el verano observamos una distribución homogénea de la temperatura y presenta una fuerte disminución al acercarse a las islas, esto es indicativo de los procesos de mezcla en esta zona (Alvarez-Borrego y Lara-Lara 1991). El oxígeno comporta de manera similar a la temperatura, ya que esta controlada por los mismos procesos y a su vez por la temperatura, comparando este comportamiento con las distribuciones de clorofila *a* y fucoxantina (figura 18) se observa que no existe una relación directa entre estas variables.

Para invierno el comportamiento de la temperatura y el oxígeno presentó una disminución de sus concentraciones desde la boca del golfo hasta la zona de las islas, en la cual se sugiere una mezcla muy intensa, ya que los valores de se encuentran

muy juntos y paulatinamente aumentan hacia la parte norte del golfo. De la misma manera que en el verano, la relación de la clorofila *a* y de la fucoxantina no presenta una relación directa con estas dos variables (figura 17 y 19).

Cabe mencionar que este análisis se realizó para todos los pigmentos y profundidades tratando de encontrar alguna relación, sin embargo no se presentó una relación que se pudiera considerar como causa-efecto. Basados en el análisis anterior, se sugiere que las altas concentraciones de fitoplacton están reguladas por la concentración de los nutrientes y estos, por los procesos físicos (surgencias, mezcla vertical, vientos, etc.) (Alvarez-Borrego y Lara-Lara 1991). En general la concentración superficial de nutrientes tiende a incrementarse de la entrada hacia el interior del golfo. Previamente se ha reportado que las concentraciones mas altas de nitratos y sílice se han encontrado en la zona de las islas (canal de ballenas) (Alvarez-Borrego *et al.* 1978 y Bray, 1988).

La asociación entre la clorofila *a* y la fucoxantina (figuras 18 y 19), es la única que se presenta por ser la mas representativa. Esta misma asociación y con otros pigmentos han sido reportadas y presentan (r^2) mayores de 0.5, es específico para la fucoxantina de 0.9 (Schlüter y Havskum 1997). La diferencia se encuentra en la época de invierno ($r^2 = 0.3$) ya que se obtuvieron concentraciones de fucoxantina mayores que de clorofila *a*. Una causa posible de este fenómeno es de que la concentración de clorofila se deba únicamente a la clorofila *a* y no a la suma de esta y todos sus productos de degradación como se encuentra reportada en la mayoría de los trabajos revisados (Schlüter y Havskum 1997 y Williams y Claustre, 1991). Esto ocasiona que, en proporción, disminuye la cantidad de clorofila. En conjunto con lo anterior y como ya se mencionó, un intenso pastoreo aumenta aún mas la degradación de la clorofila *a*, mientras que la resistencia de la fucoxantina a la degradación rompe la proporción que se esperaba (Schlüter y Havskum 1997).

CONCLUSIONES

- Durante el invierno, las concentraciones de clorofila *a*, fucoxantina y 19 hexanoiloxifucoxantina fueron hasta 2 veces mas altos que en el verano, mientras que la 19 butanoiloxifucoxantina fue 4 veces mas alta en invierno que en verano.
- En base a las concentración de los pigmentos (principalmente clorofila *a*) se sugiere que el Golfo de California presenta algunas zonas geográficas características: la zona de las islas donde se presentan las mayores concentraciones. Las zonas desde el sur de las islas (o región central) y la boca del golfo, que presenta valores promedio de 25 mg/m² (en invierno) y de 10 mg/m³ (en verano).
- La fucoxantina presentó la mayor concentración después de la clorofila *a* durante el verano y la misma proporción durante el invierno, sugiriendo una presencia importante de las diatomeas como la mayor contribuyente a la biomasa.
- El peridininina (dinoflagelados), la fucoxantina (diatomeas), y la 19'hexanoiloxifucoxantina (primnesofitas), que representan la distribución de los grupos mas importantes de fitoplancton, mostraron una comportamiento similar al de la distribución de la clorofila *a*.
- La temperatura y el oxígeno, como era de esperarse, no presentaron una evidente relación con la concentración de los pigmentos. Se sugiere que una combinación que otros factores físicos, químicos y biológicos, determinan de manera conjunta la distribución de la biomasa.

- De acuerdo a los pigmentos marcadores medidos y usando la razón pigmento clorofila a, se infiere que las clase predominante de fitoplancton de manera general para invierno fueron diatomeas y para verano fueron las primneiofitas y un análisis mas detallado se efectuará mediante el uso del programa CHEMTAX.

LITERATURA CITADA

- Alvarez-Borrego S., Lara-Lara, R. (1991). The physical environment and primary productivity of the Gulf of California. The Gulf and Peninsula province of the Californias. En J. R., Duphin J.P. and Simonet B.R.T. The American Association of Petroleum Geologists,. USA. 834pp.
- Alvarez-Borrego S., J.A. Rivera, G. Gaxiola-Castro, M.J. Acosta-Ruiz, R.A. Schwartzlose, (1978) Nutrientes en el Golfo de California. **Ciencias Marinas**, v.5, 53-71.
- Argote M.L., Amador A. and Lavín M.F. (1995) Tidal dissipation and stratification in the Gulf of California., **Journal of Geophysical Research.**, 100:16,103-16,118.
- Bazán-Guzmán M.C. (1990) Productividad primaria en la parte sur y central del Golfo de California durante noviembre-diciembre de 1984, Tesis de licenciatura, FCM, Universidad Autónoma de Baja California. 65 pp.
- Barlow R. G., Mantoura R. F. C., Peinert R. D. Miller A. E., Fileman T. W. (1995) Distribution, sedimentation and fate of pigment biomarkers following thermal stratification in the western Alboran Sea. **Mar. Ecol. Prog. Ser.** 125; 279-291.
- Bianchi T. S., Demetropoulos A., Hadjichristophorou M., Argyrou M., Baskaran M and Lambert C. (1996) Plant pigments as biomarkers of organic matter sources in sediments and coastal waters of Cyprus (eastern Mediterranean). **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, 42; 103-115.
- Braithwaite A. and Smith F. J. (1985) Chromatographic Methods, Fourth Edition., Chapman and Hall. Great Britain.

- Bray N.A., (1988) Thermohaline circulation in the Gulf of California., *Journal of Geophysical Research*. 93, 4993-5020.
- Broecker W.S. and Peng T.H. (1982) Tracers in the sea., A Publication of the Lamont-Doherty Geological Observatory, Columbia University, USA, 690pp.
- Bustillos-Guzmán J., H Claustre and Marty J.C. (1995). Specific phytoplankton signatures and their relationship to hydrographic conditions in the coastal Northwestern Mediterranean Sea, *Mar Ecol Prog Ser*, 124: 247-248.
- Boyer, T., Conkright M.E. and Levitus S. (1999) Seasonal variability of dissolved oxygen saturation, and apparent oxygen utilization in the Atlantic and Pacific Oceans. *Deep-Sea Research*, 46, 1593-1613.
- Chrétiennot-Dinet M. J., Sournia A., Richard M. and Billard C. (1993) A classification of marine phytoplankton of the world from class to genus. *Phycologia*. 32:3:159-179.
- Cervantes-Duarte R., Helmut-Maske R. y García-Mendoza E. (1996) Datos planctónicos, ópticos e hidrográficos del Golfo de California (1992-1995). Informe técnico, Comunicaciones Académicas, Serie Ecología, CICESE, 290., CTECT9603.
- Davis, C.J. (1986) Statistics and Data Analysis and Geology, second edition, John Willey & Sons, Canada, 646 pp.
- Delgadillo-Hinojosa F., (1992) Productividad orgánica primaria y su relación con las variables ambientales de Bahía de los Angeles, Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias Marinas. UABC., 59pp.

- Ditullio R. G. and Smith W.O. (1995) Relationship between dimethylsulfide and phytoplankton pigment concentrations in the Ross Sea, Antarctica., *Deep-sea Research I*, 42; 6, 873-892.
- Emilsson I. And Alatorre M. A. (1997) Evidencia de un remolino ciclónico de mesoescala en la parte sur del Golfo de California, en: Contribuciones a la Oceanografía Física en México, Monografía No 3, Unión Geofísica Mexicana. pp 173-782.
- Falkowski G.P, and Raven A.J, (1997) Aquatic Photosynthesis, Blackwell Science. USA, pp 375.
- Gaxiola-Castro G., Garcia-Cordova J., Valdez-Holguin J. E. and Botello-Ruvalcaba M. (1995). Spatial distribution of chlorophyll a and primary productivity in relation to winter physical structure in the Gulf of California. *Continental Shelf Research*. 15: 9: 1043-1055.
- Hernandez Becerril, U.D, (1982). Estructura del fitoplancton en la parte central y norte del Golfo de California (junio 1982), Tesis de Maestro en Ciencias., Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. 111pp.
- Head E.J.H. and L.R. Harris (1992). Chlorophyll and carotenoid transformation and destruction by *Calanus* spp. Grazing on diatoms *Marine Ecology Progress Series* 86: 229-238.
- Head E. J. H, and L. R. Harris (1994). Feeding selectivity by copepods grazing on natural mixtures of phytoplankton determined by HPLC analysis of pigments., 110: 75-83.

- Jasprica y Caric and Caric M. (1997) A comparison of phytoplankton biomass estimators and their environmental correlates in the Mali Stone Bay (Southern Adriatic),. *Marine Ecology*, 18: 35-50.
- Jeffrey, S. W., Hallegraeef G. M., (1990) Phytoplankton ecology of Australian waters, in: Clayton M. N., King R.J. (eds), *Biology of marine plants*. Melbourne p 310-348.
- Jeffrey, S.W, Mantoura R.F.C and Wright S.W. (1997) *Phytoplankton pigments in oceanography: guidelines to modern methods*, SCOR and UNESCO. Francia. 660 pp.
- Lara-Osorio J.L. (1985) Productividad y biomasa del fitoplancton por clase de tamaño en la parte central del Golfo de California: Primavera 1985., Tesis de Maestro en Ciencias, CICESE, 65pp.
- Latasa M. and Bidigare R.R. (1998) A comparison of phytoplankton populations of Arabian Sea during the spring intermonsoon and southwest monsoon of 1995 as described by HPLC analysed pigments. *Deep-sea Research* II 45:2133-2170.
- Latasa M, Bidigare R. R., Ondrusek M. E. and Kennicutt M. C. (1996) HPLC analysis of algal pigments: a comparison exercise among laboratories and recommendations for improved analytical performance. *Marine Chemistry* 51: 315-324.
- Lavín M. F., Gaxiola-Castro, G. Roble J. M. and Richester H. (1995) Winter water masses and nutrients in the northern Gulf of California. *Journal of Geophysical Research*, 100:c5:8587-8605.

- Lavín M.F. Beier E. y Badan A. (1997) Estructura hidrográfica y circulación del Golfo de California: Escalas estacional e interanual., en Contribuciones al la Oceanografía Física en México Monografía No 3, Unión Geofísica Mexicana, p 141-171.
- Llewellyn C.A. and Mantoura R. F. C. (1996) Pigment biomarkers and particulate carbon in the upper water column compared to the ocean interior of the northeast Atlantic. *Deep-sea Research* 43: 3: 1165-1184
- Libes M.S. (1992) An introduction to Marine Biogeochemistry. John Wiley & Sons, Inc. USA, pp733.
- Lorenzen C.J. (1967) Vertical distributions of Chlorophyll and phaeopigments: Baja California. *Deep-sea Research*, 14: 735-745.
- Lorenzen C.J., Jeffrey S.W. (1980) Determination of Chlorophyll in sea water: repor of intercalibration test. UNESCO technical papers in marine science 35, 21 pp.
- Malin G., Turner S.M., Liss P.S. (1992) Sulfur: The plankton/climate connection., *Journal of Phycology*. 28: 590-597.
- Mackey M.D., D.J. Mackey., H.W., Higgins and Wright S.W. (1996) CHEMTAX – a program for estimating class abundanse from chemical markers: application to HPLC measurements of phytoplankton. *Marine Ecology Progress Series* : 14: 265-283.
- Mackey D.J., H.W. Higgins, M.D. Mackey and D. Holdsworth (1998) Algal class abundances in western equatorial Pacific: Estimation from HPLCmeasurements of chloroplast pigments using CHEMTAX., *Deep sea research* 45: 1441-1468.

- Mann K.H. and Lazier J.R.N (1996) Dynamics of marine ecosystem, Biological-physical interactions in the oceans., **Blackwell Science**, pp 394.
- Marinone S.G. y Lavín M.F. (1997) Mareas y corrientes residuales en el Golfo de California. Contribuciones a la Oceanografía Física en México Monografía No 3, Unión Geofísica Mexicana, p 113-139.
- Millán-Núñez E, Lara-Lara R.J and Cleveland J.S. (1998) Variations in specific absorption coefficients and total phytoplankton in the Gulf of California, CalCOFI Rep., vol 39, 159-167.
- Moreno J.L , Licea S, H. Santoyo (1996) Diatomeas del Golfo de California. SEP-FOMES. PROMARCO, Universidad Autónoma de Baja California Sur.
- Najera Martínez, S., Gaxiola Castro, G., Alvares Borrego, S. y Zirino, A. (1994) Caracterización Hidrográfica del Golfo de California durante la transición Verano-Invierno. Informe Técnico. Comunicaciones Académicas, Serie Ecología, CICESE. 28 pp
- Otto J. H., Towle A. and Madnick M. E. (1986) Biología Moderna. Ed INTERAMERICANA. México D.F. 685 pp.
- Peeken I. (1997) Photosynthetic pigments fingerprints as indicators of phytoplankton biomass and development in different water masses of the Southern Ocean during austral spring. **Deep-sea Research** II. Vol 4, No 1-2, pp 261-282.
- Roden G. I. (1958) Oceanographic and meteorological aspects of the Gulf of California. **Journal of Marine Research**. 18; 10-35.

- Round F.E. (1967) The phytoplankton of the Gulf of California. Part I: its composition, distribution and contribution to the sediments. ***Journal of Esp. Marine Biology And Ecology***. 1: 76-97.
- Roy S. (1987) High performance liquid chromatographic analysis of chloropigments. ***Journal of Chromatography***. 391: 19-34.
- Santamaria-del-Angel E. and Alvarez-Borrego E. (1994). Gulf of California biogeographic regions based on coastal zone color scanner imagery. ***Journal of Geophysical Research***, 99:4: 7411-7421.
- Schlüter L., Havskum H., (1997) Phytoplankton pigments in relation to carbon content in phytoplankton communities., ***Marine Ecology Progress Series*** , 155: 55-65.
- Schmid H., Bauer F and Stich B.H. (1998) Determination of algal biomass with HPLC pigment analysis from lakes of different trophic state in comparison to microscopically measured biomass. ***Journal of phytoplankton Research***. 20:9. 1651-1661.
- Souza, A.J. (1991). Mixing in the midriff island region of the Gulf of California, México. Tesis de Maestro en Ciencias, University College of North Wales.
- Tilstone. G. H., Figueiras, F. G., Fermín, E. G. y Arbones, B. (1999). Significance of nanophytoplankton photosynthesis and primary production in a coastal upwelling system (Ría de Vigo, NW Spain). ***Marine Ecology Progress Series*** 138: 13-27.
- Thunell R., Pride C., Ziveri P., Muller-Karger F., Sancetta C. and Murray D. (1996) Plankton response to physical forcing in the Gulf of California. ***Journal of Plankton Research*** 18: 11, 2017-2026.

- Valdez-Holguín J.E. (1986). Distribución de la biomasa, productividad del fitoplancton en el Golfo de California durante el evento del niño 82-83., Tesis de Maestría, CICESE. 92pp.
- Welscheeyer A. N. (1994). Fluorimetric analysis of Chlorophyll a in the presence of Chlorophyll b and pheopigments . *Limnology and Oceanography*. 39; 8, 1985-1992.
- Williams R. and Claustre H. (1991) Photosintetic pigments as biomarkers of phytoplankton population and processes involved in the transformation of particulate organic matter at the biotrans site (47° N, 20° W). *Deep-sea Research*, 38:3: 347-355.
- Wright S.W. & S.W Jeffrey (1987) Fucoxanthin pigments markers of marine phytoplankton analysed by HPLC and HPTLC. *Marine Ecology Progress Series* 38: 259-266.
- Wright S.W., S.W Jeffrey., R. F. C. Mantoura, C. A. Llewellyn, T. Bjornland, D. Repeta, N. Welschmeyer (1991) Improved HPLC method for the analysis of Chlorophylls and carotenoids from marine phytoplankton. *Marine Ecology Progress Series* 77:183-196.
- Wright S.W., Thomas D.P., Marchant H.J., H.W., Higgins., M.D. Mackey and D.J. Mackey. (1996) Analysis of phytoplankton of the Australian sector of the Southern Ocean: comparisons of microscopy and size frequency data with interpretations of pigments HPLC data using the CHEMTAX matrix factorization program. *Marine Ecology Progress Series* : 144: 285-298.
- Zaneveld R. datos de crucero oceanográfico en el Golfo de California en 1995 (zaneveld@oce.orst.edu).

Zirino A., Hernández-Ayón M., Fuhrmann R. A., Alvarez-Borrego S., Gaxiola-Castro G., Lara-Lara R. and Bernstein L. R. (1997) Estimaciones superficiales de $p\text{CO}_2$ en el Golfo de California a partir de mediciones continuas de pH y mediciones de clorofila por satélite. *Ciencias Marinas*, 23 :1: 1-22.