

# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA



## FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS

**“TASAS DE RESPIRACIÓN DE COMUNIDADES MICROBIANAS DOMINADAS POR DINOFLAGELADOS FORMADORES DE FLORECIMIENTOS ALGALES NOCIVOS (*LINGULODINIUM POLYEDRA* Y *NOCTILUCA SCINTILLANS*) EN MUESTRAS NATURALES DE LA BAHÍA DE TODOS SANTOS”**



**TESIS**

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

**PRESENTA:  
VICTOR HUGO MATHOS RODRÍGUEZ**

ENSENADA, BAJA CALIFORNIA, AGOSTO DE 2022

**“TASAS DE RESPIRACIÓN DE COMUNIDADES MICROBIANAS DOMINADAS POR  
DINOFLAGELADOS FORMADORES DE FLORECIMIENTOS ALGALES NOCIVOS  
(LINGULODINIUM POLYEDRA Y NOCTILUCA SCINTILLANS) EN MUESTRAS  
NATURALES DE LA BAHÍA DE TODOS SANTOS”**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE OCEANÓLOGO**

**PRESENTA:**

**VICTOR HUGO MATHOS RODRÍGUEZ**

**APROBADA POR:**



---

Dra. Mary Camen Ruiz de la Torre  
DIRECTORA



---

Dr. Josué Rodolfo Villegas Mendoza  
SINODAL



---

Dra. Beatriz Martin Atienza  
SINODAL



---

Dra. Lorena María Durán Riveroll  
SINODAL

## **Dedicatoria**

*“Por llenarme de su espíritu y compartir su fuerza en cada paso que me sentía perdido, por nunca hacer que me sintiera solo, por haber sido esa luz que me guió al final del camino, esto va para mi nana y tata. Carlos Alfonso Mathos y Gloria Delgado”.*

## **Agradecimientos**

Al CONACyT por los recursos que financiaron esta tesis a través del proyecto CB2016283790.

A la Dra. Lus López Acuña, directora de la facultad de Ciencias Marinas por su apoyo y autorización durante la contingencia COVID-19 para poder salir al campo y continuar con el trabajo en laboratorio.

Al M.C. Raúl Herrera por su apoyo y disponibilidad para salir a muestrear.

A la M.C Rosario Jara Montañez y Dr. Mario Galaviz por el espacio del laboratorio Cultivo de apoyo.

A la Secretaría de Mariana Armando de México (SEMAR). Segunda región naval. Estación de investigaciones oceanográficas (EIO) de Ensenada. A la Cap. Frag. SMAM. L. Ocean. Nidia Teresa Angulo Larios, jefa de la estación oceanográfica. Al Tte. Nav. SMAM. L. Ocean. José Antonio Jiménez Quiñónez por su apoyo en el trabajo de campo, al Ocean. Gabriel López Castillo por su apoyo en la colecta de muestras.

A mi comité, al Dr. Josué Villegas y a la Dra. Lorena Riveroll por su paciencia, tiempo y por sus comentarios que ayudaron a mejorar mi trabajo.

A las Dras. Mary Carmen Ruiz de la Torre y Beatriz Martín Atienza, las dos me ayudaron en diferentes magnitudes, pero ambas tuvieron el mismo impacto en mí. Ustedes me ayudaron tanto académica como personalmente y me hicieron ver las cosas desde otro ángulo, paso a paso, en estos últimos 6 años para poder evolucionar como ser humano. Eso que siempre les estaré eternamente agradecido. Gracias por su apoyo.

A la Dra. Natalie Millán, M.C. Thayde Sánchez, Dra. Karina Lugo y a la Dra. Sorayda Tanahara. Todas son la viva imagen del poder de las mujeres en las ciencias, sigan esparciendo su pasión y dedicación por su trabajo. Cada una me ayudó a sacar mi potencial a través de su paciencia y exigencia, contribuyendo gran parte a mi formación como científico.

A las integrantes del laboratorio Micmar y EcoFAN, a la M.C. Judith León, Oc. Selene Andrade, Oc. Diana Rodríguez y la M.C. Isabel Cordero, gracias por todo su apoyo chicas. En especial a nuestro verano Delfín 2021 Mariana Itzel y Fernanda López quienes, de manera inesperada, tuvimos una conexión muy orgánica y me hicieron pasar un bonito verano.

A mis tres personas especiales Karely Estrada, y a mis Anas: Ana Paola Gallo y Ana Karen Lemus. Las tres han sido un gran apoyo desde el día que nos conocimos y vieron en mí lo que yo no. Karely y Paola, han sido mi fortaleza, mi fuerza, mis guías y mi inspiración para ser una mejor versión de mí mismo. A pesar de la distancia sé que siempre están conmigo. Gracias.

A mis compañeros Safia Yacini, Rodrigo Castro, Bella Barrymore, Luis Inurreta, Grecia Moncayo, Daniela Manzo, Abraham Amador, y Vianey Juárez por haber evolucionado juntos en estos últimos años. Se ganaron un lugar muy especial en mi ser, los quiero y gracias por siempre estar ahí.

A todos los docentes y administrativos que forman parte de la Facultad de Ciencias Marinas.

## Resumen

La cuantificación de variables propias del metabolismo microbiano en los sistemas acuáticos provee información sobre el estado de la bomba biológica del carbono y su regulación a través de la red trófica. El aumento en la concentración de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) y la estratificación térmica en el océano, han mostrado tener papel importante en la composición taxonómica de las comunidades microbianas y el estado metabólico del sistema. El objetivo de este trabajo es evaluar el estado metabólico de la comunidad microbiana marina mediante el consumo y la producción de oxígeno ( $\text{O}_2$ ) ante la proliferación de especies de dinoflagelados formadores de florecimientos algales nocivos (FAN) y la participación de especies mixotróficas pelágicas. Se cuantificaron las tasas respiratorias de la comunidad microbiana ( $R_{\text{com}}$ ) y de los procariontes ( $R_{\text{pro}}$ ), así como las tasas de producción primaria bruta (PPB) y neta de la comunidad (PNC) a través de incubaciones en luz y oscuridad de muestras naturales tomadas durante tres eventos FAN ocurridos en 2020 y 2021 en la Bahía de Todos Santos, Baja California. El cambio en la concentración de  $\text{O}_2$  se determinó con óptodos sensibles al oxígeno y un sistema Fibox 4 (PreSens). En mayo de 2020 se presentaron altas tasas respiratorias de la  $R_{\text{com}}$  y de los  $R_{\text{pro}}$  ( $318 \pm 13$  y  $63 \pm 2 \mu\text{mol O}_2 \text{ L}^{-1} \text{ día}^{-1}$ , respectivamente) en la estación frente a Punta Morro asociadas a la mayor concentración de células del dinoflagelado heterótrofo *Noctiluca scintillans* en comparación con las estaciones Las Rosas y El Mosquito. En mayo de 2021 se registraron altas tasas de  $R_{\text{com}}$  y PNC ( $661 \pm 25$  y  $649 \pm 1 \mu\text{mol O}_2 \text{ L}^{-1} \text{ día}^{-1}$ , respectivamente) ante una alta concentración celular del dinoflagelado mixotrófico *Lingulodinium polyedra* en la estación “El Gallo”. El estado del metabolismo de la comunidad microbiana en el muestreo realizado en julio de 2021 presentó un balance metabólico ( $\text{PNC} = \text{PPB}$ ) dentro de una comunidad constituida por diversas especies de dinoflagelados y con una baja concentración celular de fitoplancton en comparación con los eventos FAN descritos en este trabajo. La importancia en el estudio del metabolismo del dinoflagelado mixotrófico *L. polyedra* surge a partir de ser una especie recurrente en los FAN que ocurren dentro de la BTS y en la región de Baja California. La cuantificación de las tasas respiratorias en un cultivo no axénico de *L. polyedra* determinaron una tasa promedio de  $518 \pm 51 \mu\text{mol O}_2 \text{ L}^{-1} \text{ día}^{-1}$  ( $n=9$ ) durante su fase exponencial con una tasa de crecimiento de  $0.54 \text{ div d}^{-1}$ . Además, se efectuaron experimentos para evaluar las respuestas de las comunidades microbianas mediante las tasas respiratorias en muestras naturales colectadas en los eventos FAN para futuros experimentos.

### Palabras clave:

Mixotrofia, estado metabólico, producción primaria bruta y neta, respiración, heterotrofia

## Índice

Dedicatoria.....	3
Agradecimientos .....	4
Resumen .....	5
Lista de figuras .....	8
2. Antecedentes .....	12
2.1. Reacciones redox en los procesos de fotosíntesis y respiración en el metabolismo microbiano .....	12
2.2. Metabolismo mixotrófico.....	13
2.3. Influencia del límite sureño del Sistema de la Corriente de California en los procesos biológicos regionales.....	14
2.4. Los florecimientos algales como mecanismos de regulación del <b>CO2</b> .....	15
2.5. El impacto del cambio climático en los procesos ecológicos en Baja California .....	15
2.5. Impactos socioeconómicos y ecológicos en el aumento en la frecuencia de eventos FAN en la Bahía de Todos Santos .....	17
3. Hipótesis .....	18
4. Objetivos .....	18
4.1. Objetivo General .....	18
4.2. Objetivos Particulares .....	18
5. Metodología.....	19
5.1 Descripción general del área de estudio y sitio de muestreo, recolección y procesamiento de muestras. ....	19
5.2.1. Abundancia fitoplanctónica .....	20
5.2.2. Abundancia procariota.....	21
5.2.3. Diseño experimental y la determinación de las tasas de consumo de oxígeno (respiración) .....	22
5.3. Cultivos no axénicos del dinoflagelado <i>Lingulodinium polyedra</i> .....	23
5.3.1. Preparación del medio de cultivo .....	23
5.3.2. Tasa de crecimiento ( $\mu$ ).....	25
5.4. Análisis estadístico .....	26
6. Resultados.....	27
6.1. Estado metabólico de la comunidad microbiana en el FAN de mayo del 2020 dentro de la BTS .....	27
6.1.1. Tasas de respiración de la comunidad microbiana .....	29

6.1.2. Abundancia celular e identificación taxonómica de la comunidad fitoplanctónica.....	31
6.2. Estado metabólico de comunidades microbianas en muestras naturales colectadas en presencia de FAN ocurridos en 2020 y 2021 en la BTS .....	34
6.2.1. Tasas de respiración y cuantificación de células (eucariotas y procariontas) .....	34
6.2.2. Identificación taxonómica de especies fitoplanctónicas y las tasas de producción primaria bruta y neta de comunidades microbianas en los eventos FAN de 2020 y 2021.....	38
6.3. Tasas de respiración y producción primaria en cultivos no axénicos del dinoflagelado mixotrófico <i>Lingulodinium polyedra</i> .....	42
6.3.1. Tasas de crecimiento de <i>Lingulodinium polyedra</i> .....	42
6.3.2. Tasas de respiración, producción primaria bruta y neta del cultivo no axénico de <i>Lingulodinium polyedra</i> .....	44
6.4. Descripción de la manipulación experimental con muestras naturales de las comunidades microbianas y procariontas provenientes de un FAN .....	45
6.4.1. Efecto de la adición de la vitamina <b>B12</b> en la tasa de producción primaria en muestras dominadas por dinoflagelados mixotróficos provenientes del FAN de mayo 2020 .....	45
6.4.2. Tasas de respiración de diferentes grupos planctónicos entre el florecimiento algal de primavera y verano de 2021 frente al arroyo “El Gallo” en el área de la playa municipal de Ensenada, B.C.....	47
6.4.3. Metabolismo bacteriano durante incubaciones prolongadas .....	49
7. Discusión .....	52
7.1. Estado metabólico de la comunidad microbiana en presencia de dos especies de dinoflagelados formadores de FAN.....	52
7.2. Estado metabólico de comunidades microbianas asociadas a FAN en la Bahía de Todos Santos.....	55
7.3. Cultivos no axénicos de <i>Lingulodinium polyedra</i> .....	57
7.4. Manipulación experimental para la determinación de las tasas metabólicas para futuras investigaciones.....	58
8. Conclusiones .....	60
Se debe considerar para futuras investigaciones la manipulación experimental para la determinación de las tasas metabólicas de organismos fitoplanctónicos mixotróficos.....	60
9. Bibliografía .....	61
Anexos.....	68

## Lista de figuras

Figura 1. Mapa batimétrico de la Bahía de Todos Santos. Los asteriscos indican los sitios de recolección de muestras de agua de mar en mayo de 2020 (amarillo) y en mayo y julio de 2021 (rojo). La barra lateral (derecha) de colores indica la profundidad en metros. Fuente: Rubén Castro. ....20

Figura 2. Imágenes del FAN de mayo de 2020 dominado por las especies de dinoflagelados *L. polyedra* y *N. scintillans* en la BTS. Muestra observada al microscopio de *N. scintillans* (a) (compartida por A. Amador, 2020); Mancha naranja asociada a las altas concentraciones de *N. scintillans* cerca de los corrales de Lobina rayada de la empresa Pacific Aquaculture (b) (Amador, 2020); Imagen aérea del FAN20 cerca del puerto de Ensenada (imagen capturada por Rivera-Huerta, 2020). .....28

Figura 3. Tasas de respiración [ $\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$ ] de la comunidad microbiana ( $R_{\text{com}}$ ) y los procariontes heterótrofos ( $R_{\text{pro}}$ ) del FAN de mayo de 2020 de muestras naturales de la estación Las Rosas (LR), Punta Morro (PM) y El Mosquito (EM) incubadas durante 12 horas en oscuridad. Barras de error indican la desviación estándar ( $\pm$ ). .....30

Figura 4. Abundancia relativa (%) de la comunidad fitoplanctónica en muestras de agua del FAN de mayo de 2020. Especies de dinoflagelados y diatomeas: *Noctiluca scintillans* (naranja), *Lingulodinium polyedra* (rojo), *Prorocentrum gracile* (verde), *Prorocentrum micans* (verde opaco), *Tripos furca* (azul cielo), *Nitzschia longissima* (morado), *Pseudo-Nitzschia* sp. (azul claro). Otras especies <1% (gris). .....32

Figura 5. Tasas de respiración [ $\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$ ] de la comunidad microbiana ( $R_{\text{com}}$ ) y procariontes heterótrofos ( $R_{\text{pro}}$ ) en el FAN de mayo de 2020, mayo de 2021, y julio de 2021 en distintos sitios dentro de la BTS. Barras de error indican la desviación estándar ( $\pm$ ). .....36

Figura 6. Concentración de células ( $\text{cel} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) de fitoplancton (barra blanca) y procariontes (puntos azules) en las botellas oscuras durante los experimentos de respiración con muestras del FAN de mayo de 2020, mayo y julio de 2021. Barras de error indican la desviación estándar ( $\pm$ ). .....37

Figura 7. Abundancia relativa (%) de la comunidad fitoplanctónica en muestras de agua del FAN de mayo de 2020, mayo y julio de 2021 en la BTS. Especies de dinoflagelados y diatomeas: *Noctiluca scintillans* (naranja), *Lingulodinium polyedra* (rojo), *Prorocentrum micans* (azul pálido), *Prorocentrum gracile* (beige), *Tripos furca* (verde pálido), *Tripos seta* (azul cielo), *Tripos divaricatus* (verde limón), *Nitzschia longissima* (morado), *Dinophysis acuminata* (amarillo), *Dinophysis* sp. (gris oscuro), *Protoceratium* sp. (café), *Pseudo-Nitzschia* sp. (gris/azul pálido). Otras especies <1% (gris claro). .....39

Figura 8. Tasa de producción primaria bruta (barra azul) y la producción neta de la comunidad (barra blanca) mediante la determinación de la producción de oxígeno disuelto en las botellas incubadas con muestras de agua del FAN de mayo de 2020, mayo de 2021, y julio de 2021, expuestas a la luz durante los experimentos de respiración. .....41

Figura 9. Concentración promedio de células ( $\text{cel} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) del dinoflagelado mixotrófico <i>Lingulodinium polyedra</i> en el cultivo no axénico inicial (a), intermedio (b) y final (c). La línea negra representa el ajuste exponencial. La ecuación de regresión viene dada por medio de la ecuación 6 descrita en la metodología. ....	43
Figura 10. Promedio de la concentración de oxígeno disuelto [ $\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ ] en las botellas oscuras de los cultivos no axénicos del dinoflagelado mixotrófico <i>Lingulodinium polyedra</i> . Barras de error indican la desviación estándar. Línea punteada indica el ajuste lineal.....	44
Figura 11. Tasa de producción primaria bruta (PPB) y producción neta de la comunidad (PNC) [ $\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$ ] mediante el establecimiento de un Control y tres tratamientos: adición de vitamina B <sub>12</sub> (Tratamiento 1), adición de nutrientes inorgánicos (N y P) (Tratamiento 2) y la combinación de nutrientes y vitamina B <sub>12</sub> (Tratamiento 3) en muestras de agua provenientes de la estación El Mosquito durante el FAN de mayo de 2020.....	46
Figura 12. Tasas de consumo de oxígeno disuelto [ $\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ] de los grupos planctónicos asociados a muestras de agua del evento FAN de mayo de 2021. Entre los grupos se representa a la comunidad microbiana (C; puntos amarillos), las bacterias (B; puntos azules), el fitoplancton (F; puntos rojos), y el zooplancton (Z; puntos verdes) en la estación “El Gallo” en la BTS.....	48
Figura 13. Tasas de consumo de oxígeno disuelto [ $\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ] de los grupos planctónicos asociados a muestras de agua del evento FAN de julio de 2021. Entre los grupos se representa a la comunidad microbiana (C; puntos amarillos), las bacterias (B; puntos azules), el fitoplancton (F; puntos rojos), y el zooplancton (Z; puntos verdes) en la estación “El Gallo” en la BTS.....	48
Figura 14. Tasas de consumo de oxígeno disuelto [ $\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ] de las réplicas (n=3) de muestras de agua con la comunidad procariota del evento FAN de mayo de 2020. ....	49
Figura 15. Tasas de consumo de oxígeno disuelto [ $\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ] de las réplicas (n=3) de muestras de agua con la comunidad procariota del evento FAN de mayo de 2021. ....	50
Figura 16. Tasas de consumo de oxígeno disuelto [ $\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ] de las réplicas (n=3) de muestras de agua con la comunidad procariota del evento FAN de julio de 2021.....	50

## 1. Introducción

El estado metabólico de los ecosistemas marinos ha sido modificado en los últimos años debido al impacto que ha generado el calentamiento global en las propiedades fisicoquímicas del agua y los procesos biológicos que interfieren en la bomba biológica (Falkowski et al., 2008). El aumento en la concentración de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) y la estratificación térmica en el océano han mostrado un cambio importante en la composición taxonómica de las comunidades microbianas y el estado metabólico del sistema (Aranguren, 2011; García-Mendoza et al., 2014). La medición del oxígeno disuelto ( $\text{O}_2$ ) ha sido un indicador clave para identificar indirectamente los flujos del carbono orgánico e inorgánico a través de la cuantificación del metabolismo microbiano (Robinson, 2019). La fotosíntesis oxigénica y la respiración aeróbica son procesos importantes que nos permiten observar la capacidad funcional y el potencial que tienen los grupos microbianos para modular el flujo de  $\text{CO}_2$  (Kirchman, 2012). Por otro lado, el rendimiento del metabolismo depende estrictamente de la variabilidad estacional, interanual y decadal de las condiciones ambientales que determinan la composición taxonómica de los grupos microbianos (Aranguren-Gassis, 2011; García-Martín et al., 2019).

En la última década, en las costas mexicanas y en otras regiones del océano, se ha registrado un aumento en la frecuencia, duración e intensidad de florecimientos algales nocivos (FAN) en la relación con el aumento de la temperatura superficial del mar y el enriquecimiento de nutrientes por la descarga de aguas residuales (Durán-Riveroll et al., 2020). En la Península de Baja California (B.C.), se ha registrado 38 FAN entre B.C. norte y sur, de lado del Océano Pacífico y dentro del Golfo de California (Zumaya-Basurto, 2017). Estos eventos biológicos han sido implicados en la alteración de la calidad de agua (producción de ficotoxinas, disminución del  $\text{O}_2$  y el pH), el riesgo a la salud pública (intoxicaciones por consumo de mariscos) e impactos negativos en las actividades costeras de importancia económica (acuicultura, pesca y turismo) (García-Mendoza et al., 2016; Gárate-Lizárraga et al., 2008). En la Bahía de Todos Santos (BTS), Ensenada, B.C., se ha registrado la ocurrencia de florecimientos algales nocivos (FAN) de diatomeas y

dinoflagelados (entre otros grupos) que han causado la muerte masiva de peces y moluscos de importancia económica, los cuales han sido asociados con el aumento en la temperatura superficial del mar (García-Mendoza et al., 2014; García-Mendoza et al., 2018; Paredes-Banda et al., 2018; Sánchez-Bravo, 2016).

El éxito que ha caracterizado a los dinoflagelados radica en diversas estrategias funcionales y ecológicas, como la producción de toxinas y otros metabolitos secundarios, flexibilidad nutricional (especies mixotróficas) y la capacidad de formar relaciones simbióticas con otros organismos (Jeong et al., 2005; Murray et al., 2016). El dinoflagelado mixotrófico *Lingulodinium polyedra* y el dinoflagelado heterótrofo *Noctiluca scintillans* son especies de dinoflagelados formadoras de FAN que han tenido un impacto significativo en los sistemas costeros en la región de Baja California y el sur de California, en los Estados Unidos, así como en otras partes del océano (Almazán-Becerril et al., 2016; Harrison et al., 2011; Lewis y Hallet, 1997). Estas especies poseen diversos mecanismos (migración vertical, bioluminiscencia, regulación fotosintética y la división celular, entre otros) que les permiten optimizar su desarrollo y permanecer activos en la columna de agua, así como la formación de FAN de gran magnitud en ambientes productivos (Lewis y Hallet, 1997; Peña-Manjarrez, 2008; Prevet et al., 2019; Ruiz-de la Torre, 2013). Este trabajo se enfoca en el estudio del estado metabólico de distintas comunidades microbianas ante la ocurrencia de FAN por especies de dinoflagelados en aguas superficiales de la BTS para comprender acerca de las interacciones que determinan el metabolismo del sistema.

## **2. Antecedentes**

Los florecimientos algales nocivos (FAN) son fenómenos complejos que consisten en la acumulación de biomasa algal, sin embargo, su carácter o potencial nocivo se le atribuye principalmente a la producción de biotoxinas y a la mortalidad masiva de organismos acuáticos (García-Mendoza et al., 2018). En algunas ocasiones, el aumento en la concentración microalgal puede ser muy elevada ( $\geq 10^6 \text{ cel} \cdot \text{L}^{-1}$ ), lo cual puede resultar en el agotamiento de  $\text{O}_2$  disuelto por altas tasas de degradación de materia orgánica y también, pueden cambiar la coloración de la superficie del agua debido a la producción de pigmentos accesorios que les permiten regular su maquinaria fotosintética. Las diatomeas y los dinoflagelados, son grupos fitoplanctónicos que se caracterizan por proliferar en los sistemas de surgencias debido a su alta capacidad fisiológica para desarrollarse en estos sistemas dinámicos, por lo tanto, contribuyen con más biomasa y productividad que otros grupos fitoplanctónicos en el océano (Smayda y Trainer, 2010). El éxito que caracteriza a los dinoflagelados, se deriva de un conjunto de estrategias funcionales y ecológicas, incluida la producción de metabolitos secundarios (biotoxinas) con impactos antidepredadores o alelopáticos, flexibilidad nutricional (especies mixotróficas) y la capacidad de formar relaciones simbióticas (Murray et al., 2016).

### **2.1. Reacciones redox en los procesos de fotosíntesis y respiración en el metabolismo microbiano**

Las reacciones Redox ocurren a través de un transporte activo de electrones por medio de una vía oxidativa (donador de electrones) y una vía reductora (aceptor de electrones), las cuales son utilizadas para atrapar energía química a través de la síntesis de moléculas pequeñas de trifosfato de adenosina (ATP), que suministran energía a la célula, estas moléculas son las que intervienen en una compleja red de rutas metabólicas para formar materia celular (Falkowski et al., 2008; Munn, 2020). La mayoría de los organismos autótrofos (productores primarios), absorben la energía solar como fuente principal para producir ATP y  $\text{NADPH}^+$  para la fijación del carbono mediante el proceso de fotosíntesis (Kirchman, 2012).

El cloroplasto, es el componente más importante dentro de la organización celular de los productores primarios, en él se lleva a cabo la fotosíntesis; durante este proceso se transforma la energía del sol en ATP mediante complejos proteicos específicos (fotosistemas I y II) impulsados por medio del flujo de un flujo de electrones (Briggs, 1989). Dentro de esta estructura, la fotosíntesis se deriva en dos fases: una dependiente de la luz (fase lumínica) y otra independiente de la luz (fase oscura) que, en conjunto, resultan en la síntesis de moléculas orgánicas que serán utilizadas para el crecimiento, desarrollo y el mantenimiento de la célula. En la fotosíntesis oxigénica, la molécula del agua aporta electrones y  $O_2$  como subproducto su fotólisis durante la fase luminosa. Posteriormente, la fijación de  $CO_2$  en carbono orgánico ocurre a partir de una serie de reacciones redox (ciclo de Calvin-Benson) durante la fase oscura (Kirchman, 2012; Libes, 2009; Munn, 2020).

La mitocondria es el orgánulo encargado de oxidar las formas reducidas de carbono orgánico, provenientes del citoplasma (glicólisis), en donde serán oxidadas por completo a través de una serie de reacciones redox (ciclo de Krebs) y con ello, producir  $CO_2$ , ATP y poder reductor (NADPH y FADH<sub>2</sub>) (Buchanan et al., 2000). La respiración se lleva a cabo en tres partes: glicólisis, ciclo de Krebs o ciclo del ácido cítrico, y la cadena transportadora de electrones o cadena respiratoria. En este último, el NADPH y FADH<sub>2</sub> suministran de electrones al complejo de proteínas transportadoras que, por medio de la reducción del  $O_2$  y la translocación de protones, producen  $H_2O$  y energía (ATP) (Munn, 2020). En general, la capacidad de cada metabolismo les confiere a los grupos microbianos su función en el sistema y con ello, el potencial que tiene cada nivel trófico para favorecer a la biodiversidad del ecosistema y su intervención en los ciclos biogeoquímicos (Kirchman, 2012).

## **2.2. Metabolismo mixotrófico**

El término “mixotrofia” es utilizado para describir organismos capaces de combinar la autotrofia y la heterotrofia como un mecanismo eficaz para obtener diversas fuentes de energía (Munn, 2020). Esta habilidad, destaca a organismos

fotosintéticos capaces de consumir carbono orgánico disuelto (COD) por medio de la osmotrofía (absorción) o la fagotrofía (depredación) para consumir moléculas más complejas; también representa a organismos heterótrofos pueden utilizar la fotosíntesis para facilitar la degradación de la materia orgánica (fotoheterótrofos) y algunos forman vínculos simbióticos para satisfacer sus requerimientos de carbono (Mansour y Anestis, 2021). Existe una amplia diversidad funcional en los organismos mixótrofos, los cuales han cambiado nuestra percepción sobre la dinámica microbiana en el ecosistema marino (Goncalves et al., 2018).

### **2.3. Influencia del límite sureño del Sistema de la Corriente de California en los procesos biológicos regionales**

Frente a la península de Baja California, el límite sur del Sistema de la Corriente de California (SCC) forma una zona de transición entre frentes oceánicos, en donde una corriente con un flujo predominante hacia el ecuador, trae consigo agua subártica (ASA), mientras que, una contracorriente subsuperficial con un flujo hacia el polo, transporta aguas tropicales y subtropicales superficiales (ATS y AStS) (Durazo et al., 2010). Las características estacionales de los flujos en la región, muestran a un sistema con agua de relativamente baja temperatura y salinidad en invierno y primavera con carácter subártico, mientras que, en verano y otoño, el debilitamiento de los vientos permite la advección de aguas superficiales tropicales con un flujo hacia el polo (Durazo, 2015). El cambio estacional en la posición de los frentes oceánicos, influye en la formación de estructuras de mesoescala (remolinos ciclónicos y anticiclónicos), que resultan en un sistema de surgencias costeras a lo largo del año y, además, se comportan como una barrera física para la distribución de especies marinas lo que influye en las pesquerías y en la ecología marina (Durazo et al., 2010; Mauzole et al., 2020). Las surgencias costeras, consisten en pulsos de agua profunda de baja temperatura y ricos en nutrientes inorgánicos que permiten la ventilación de las aguas superficiales y establece condiciones ideales para el rápido crecimiento del fitoplancton. Los florecimientos algales, son un fenómeno natural de corta duración que ocurren por medio de un conjunto específico de condiciones ambientales (temperatura, irradiancia, pH, salinidad) que favorecen el crecimiento de una o más especies de fitoplancton, por lo que, los

mecanismos que inducen surgencias costeras juegan un papel muy importante en la dinámica microbiana y con ello, a la ecología del ecosistema marino (Assmy y Smetacek, 2009).

#### **2.4. Los florecimientos algales como mecanismos de regulación del CO<sub>2</sub>**

Los florecimientos algales son eventos biológicos que representan un sistema autotrófico y forma parte del mecanismo principal para la remoción de CO<sub>2</sub> de la atmósfera y su secuestro en el fondo del océano, además, deriva una gran cantidad de materia orgánica (detritus) que impulsa a una compleja red microbiana que, en conjunto, forman la bomba biológica del carbono (Honjo et al., 2014; Kirchman, 2012). El crecimiento del fitoplancton es un buen indicador para identificar cuando la zona costera actúa como fuente o sumidero de CO<sub>2</sub> durante los periodos de surgencia (De La Cruz-Orozco et al., 2010). El sistema exporta el exceso de CO<sub>2</sub> hacia la atmósfera cuando la surgencia es reciente y el fitoplancton aún no comienza su crecimiento exponencial (De La Cruz-Orozco et al., 2010), por otro lado, el sistema actúa como sumidero cuando el agua de surgencia es más estable (periodo de relajación) y, un desarrollo intenso del fitoplancton, consume el alto nivel de CO<sub>2</sub> que caracterizan las aguas profundas vía fotosíntesis y convierte temporalmente la zona de surgencia en un sumidero de carbono, el cual es regulado por los procesos biológicos (bomba biológica) (De La Cruz-Orozco et al., 2010). El aumento en la temperatura de la superficie del océano favorece la estratificación vertical de la columna de agua, provocando un mayor tiempo de retención de las aguas superficiales (Calva-Chávez, 2014), esto como consecuencia, tiene un efecto en el balance entre el O<sub>2</sub> y el carbono inorgánico disuelto (CID), en donde, la desoxigenación (Robinson, 2019) y la acidificación del océano están impactando a los componentes taxonómicos de las comunidades microbianas y su intervención en los ciclos biogeoquímicos (Bozzato et al., 2019; Yang et al., 2018).

#### **2.5. El impacto del cambio climático en los procesos ecológicos en Baja California**

El cambio climático y el calentamiento global, han modificado significativamente la dinámica oceánica, alterando los flujos de CO<sub>2</sub> entre el océano y la atmósfera, así

como el funcionamiento de la productividad primaria en los ecosistemas marinos (Bozzato et al., 2019; García-Martín et al., 2019; McKinnon et al., 2017). El SCC ha sido un foco en el estudio de los efectos que los eventos interanuales como El Niño-La Niña tienen sobre los patrones de circulación y, como estos están afectando la funcionalidad del ecosistema. Por una parte, se ha observado que los eventos El Niño han implicado varios mecanismos importantes que modificaron el patrón del SCC, los cuales han ocasionado el hundimiento de la termoclina/nutriclina, la disminución en la fuerza del sistema de surgencias e indujo la advección de aguas cálidas hacia el norte (Jacox et al., 2016). Estos cambios en la oceanografía regional han afectado la dinámica estructural de las comunidades fitoplanctónicas, al tener que aclimatarse a la combinación de cambios en la temperatura del agua, salinidad, pH, y el suministro de nutrientes (Bozzato et al., 2019; Gaxiola-Castro et al., 2010; Jacox et al., 2016; Nannavecchia, 2016).

En 2013-2014, en el noreste del Pacífico norte, se formó una gran anomalía de agua cálida ("El Blob"), el cual migró hacia el noroeste hasta alcanzar las costas del Pacífico occidental. Este fenómeno persistió hasta el periodo 2015-2016, causando una fuerte anomalía positiva en la temperatura superficial del océano, lo cual alteró el SCC y desencadenó un cambio generalizado en el ecosistema de las costas de California (USA) y Baja California (México), principalmente (Jacox et al., 2016; Jiménez-Herrera, 2017; Yang et al., 2018). La topografía de la plataforma continental frente a Baja California interviene en el desplazamiento del núcleo de la CC hacia la costa, alternando la hidrografía de las localidades de la región. Esta ramificación de la Corriente de California (CC), ha sido descrita anteriormente en relación con una bifurcación por el Frente Ensenada (Durazo et al., 2010). La configuración batimétrica, la variabilidad estacional de los vientos y la circulación superficial dentro de la Bahía de Todos Santos en Ensenada (B.C), facilitan la intrusión y retención del agua transportada hacia la bahía por procesos advectivos que ocurren en el océano abierto por la influencia del SCC (Calva-Chávez, 2014; Larrañaga-Fu, 2013; Navarro-Olache et al., 2021; Villas-Téllez, 2015).

## **2.5. Impactos socioeconómicos y ecológicos en el aumento en la frecuencia de eventos FAN en la Bahía de Todos Santos**

El cambio climático y el calentamiento global han tenido un impacto significativo en el cambio de la estructura de los productores primarios y en el ciclo del carbono. El aumento en la temperatura superficial del mar y la estratificación térmica de la columna de agua han permitido que especies con una gran capacidad fisiológica como gran mayoría de los dinoflagelados proliferen en estos ambientes. Los eventos cálidos ocurridos en el periodo de 2015-2016 tuvieron repercusiones importantes en las comunidades microbianas en la región de Baja California. García-Mendoza y colaboradores (2018) reportaron un periodo de mortalidad masiva en 2016 que afectaron a los ranchos atuneros ubicados dentro de la BTS, en la bahía de Salsipuedes, y en las Islas Coronado, en relación con la proliferación de la microalga ictiotóxica *Chatonella spp.*, la cual no había sido anteriormente reportada como parte de la comunidad fitoplanctónica en la BTS. Estos autores asocian la aparición de esta microalga debido a las anormales anomalías de temperatura que se presentaron durante ese año. Jiménez-Herrera (2017) observó un cambio importante en los componentes fitoplanctónicos en la BTS asociados con las anomalías de temperaturas en el periodo 2014-2014, en el cual determinó que, en la región intermedia e interior de la bahía, las diatomeas y los dinoflagelados gobernaron la comunidad fitoplanctónica. López-Sandoval y colaboradores (2014) describieron que los dinoflagelados tienen mayores tasas de respiración en comparación que otros grupos fitoplanctónicos, lo cual refleja la importancia en el estudio del metabolismo de estos organismos ante los cambios en la temperatura global. Por otro lado, Robinson (2019) atribuye el término “Desoxigenación del océano” como parte de los impactos del cambio climático en los océanos, en donde la respiración microbiana es un factor clave que determina el balance entre el secuestro y la liberación de carbono entre el océano-atmósfera, en donde el aumento en la frecuencia de FAN dominados por especies mixotróficas podría contribuir a la proliferación de especies heterótrofas que, en conjunto, alteren el estado metabólico del sistema y con ello, los flujos de carbono y oxígeno.

### **3. Hipótesis**

El estado metabólico de la comunidad microbiana varía en relación con el metabolismo mixotrófico de especies fitoplanctónicas formadoras de florecimientos algales nocivos.

### **4. Objetivos**

#### **4.1. Objetivo General**

- Estimación de las tasas de respiración, producción primaria bruta y neta, la abundancia e identificación de las especies fitoplanctónicas de la comunidad microbiana durante eventos FAN y el estudio de las tasas respiratorias en cultivos no axénicos del dinoflagelado mixotrófico formador de FAN *Lingulodinium polyedra*.

#### **4.2. Objetivos Particulares**

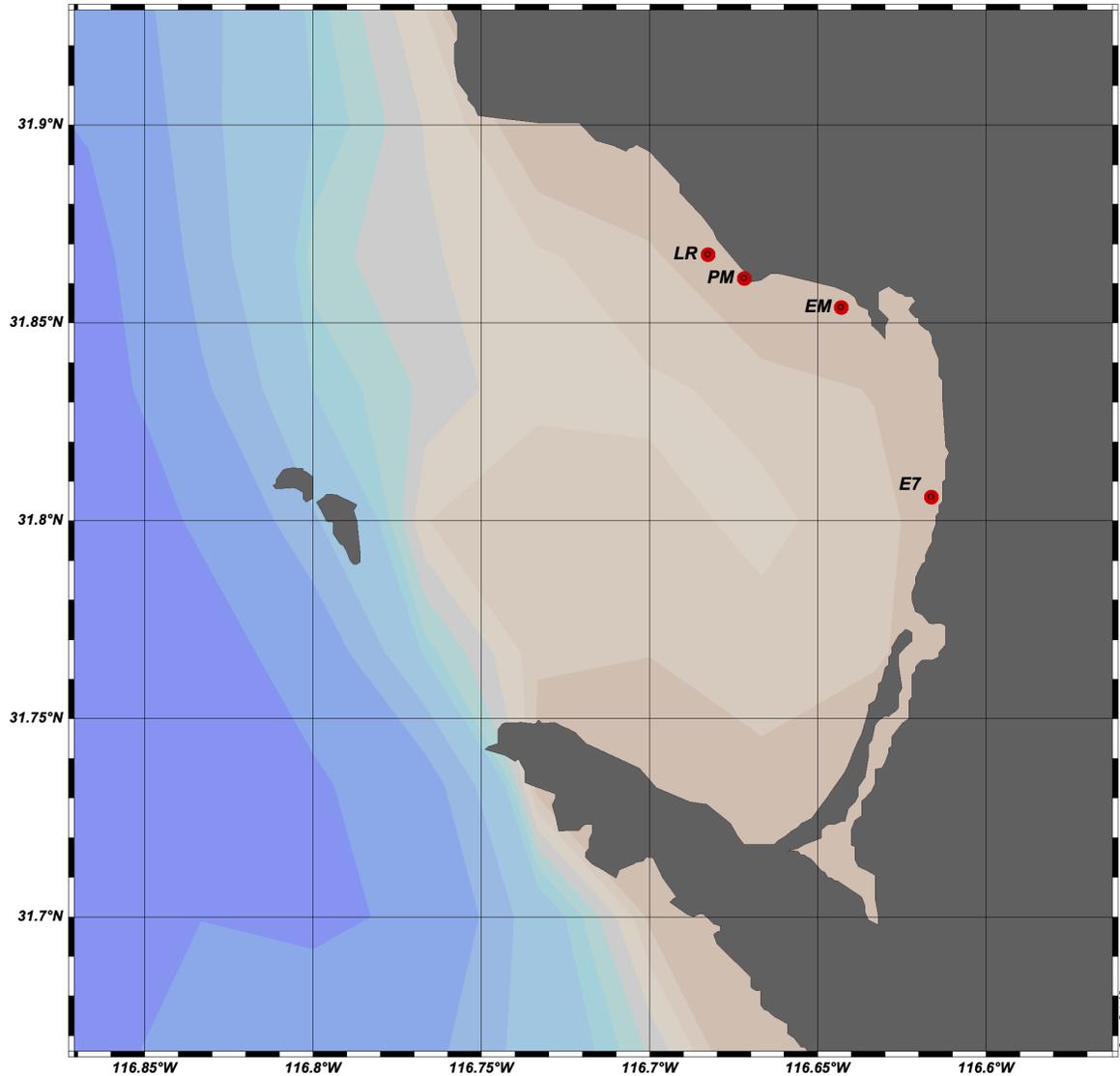
- Estimar las tasas de respiración, producción primaria bruta y neta de la comunidad microbiana (eucariotas y procariotas) durante un FAN en mayo de 2020.
- Comparar las tasas de respiración, producción primaria bruta y neta de la comunidad microbiana durante un FAN en mayo y julio de 2021.
- Estimar las tasas de respiración en cultivos no axénicos de cepas asiladas en el FAN de mayo de 2020 del dinoflagelado mixotrófico *Lingulodinium polyedra*.
- Evaluar los principales aspectos sobre la manipulación experimental de muestras naturales para la realización de futuros experimentos de respiración de comunidades microbianas marinas.

## 5. Metodología

### 5.1 Descripción general del área de estudio y sitio de muestreo, recolección y procesamiento de muestras.

La Bahía de Todos Santos (BTS) se localiza en la región noroccidental de la Península de Baja California. Se encuentra entre las latitudes 31°42' y 31°52' N y las longitudes 116°48' y 116°36' W. Es considerada una bahía semicerrada con un área de ~250 km<sup>2</sup>, la cual se encuentra limitada al noroeste (NW) por Punta San Miguel, al sureste (SE) por la Península de Punta Banda y al oeste (W) por las Islas de Todos Santos (ITS). Entre estas dos últimas se encuentra un cañón submarino de ~400 m de profundidad (Fig. 1). La hidrografía dentro de la bahía es muy variada puesto que cuenta con la influencia de la variabilidad estacional del Sistema de la Corriente de California y los vientos locales que implican cambios importantes en la circulación interna (Calva-Chávez, 2014; Durazo et al 2010; Larragaña-Fu, 2013). Generalmente, la bahía presenta una circulación ciclónica en la superficie del mar como resultados de la advección de agua del SCC, el cual transporta aguas de relativamente baja salinidad y temperatura, y un alto contenido de oxígeno (Durazo, 2015). Además, cuenta con un sistema de brisas bien definido estacionalmente, lo que genera una época seca (primavera-verano de abril a septiembre) con vientos del NW que inducen surgencias costeras, y una época húmeda (otoño-invierno de octubre a marzo) con una mayor variabilidad en el patrón del viento. Entre estas, suceden eventos esporádicos de vientos secos y cálidos del este y noreste, conocidos como "Santa Ana" (Larrañaga-Fu, 2013; Navarro-Olache et al., 2021).

El agua que se utilizó para los experimentos de respiración, se colectó de la capa superficial para representar a toda la comunidad microbiana con una cubeta de plástico. Durante cada muestreo, se hizo un arrastre vertical utilizando una red de luz de malla de 20 µm hasta una profundidad de 15 m para la colecta de muestras de fitoplancton. Cada muestra se colocó en botellas de plástico de 625 mL. Todas las botellas fueron almacenadas en una hielera con bolsas de hielo y se mantuvieron en oscuridad hasta proceder al laboratorio.



**Figura 1.** Mapa de la Bahía de Todos Santos con las estaciones de muestreo en el 2020 La Rosas (LR), Punta Morro (PM), El Mosquito (EM) y la estación 7 del cual se tomó agua para los experimentos 2021.

## 5.2. Trabajo en el laboratorio

### 5.2.1. Abundancia fitoplanctónica

Las muestras de red de fitoplancton se fijaron con 3 a 4 gotas de solución Lugol. Posteriormente, se tomó 1 mL por triplicado de cada muestra previamente homogenizada y se colocaron en una cámara de conteo Sedgwick-Rafter. Los conteos se llevaron a cabo en un microscopio de luz compuesto Zeiss Primo Star utilizando el objetivo 10x. Por otro lado, la identificación de los organismos

fitoplanctónicos se llevó a cabo mediante la consulta de bibliografía especializada del área de estudio (Almazán-Becerril et al., 2016). La abundancia relativa (%) de la comunidad fitoplanctónica se calculó a partir de la ecuación 1.

$$Ab = \left( \frac{n}{T} \right) * 100 \quad (1)$$

Donde Ar es la abundancia relativa (%), n es el número de individuos de cada especie, y T es el número total de individuos en una muestra.

### **5.2.2. Abundancia procariota**

Para separar a la comunidad microbiana, se filtró una fracción del agua de las muestras superficiales a través de filtros GF/F (Whatman) para cuantificar la abundancia de células procariotas por medio de microscopía epifluorescente utilizando la solución DAPI (4', 6-diamino-2-fenilindol). La muestra se llevó a cabo mediante un sistema de filtrado utilizando un matraz Kitasato de 1000 mL, un embudo de plástico y una bomba de presión. En la interfase entre el matraz y el embudo, se colocó un filtro de fibra de vidrio GF/F y, por encima, un filtro de policarbonato negro de 0.2 µm de tamaño de poro y 25 mm de diámetro. Para el monitoreo de 2020, se utilizó 0.3 mL de muestra a la cual se le añadió 0.8 µL de DAPI; mientras que, en el monitoreo de 2021, se utilizó 1 mL de muestra y 20 µL de DAPI. Una vez añadida la solución, se homogenizó ligeramente y se cubrió con un manto negro durante 10 minutos. Cabe destacar que este proceso se llevó a cabo en oscuridad para evitar la degradación de los reactivos. Al cumplirse el lapso de los diez minutos, se recuperó el filtro negro de policarbonato y se montó en un portaobjetos con una gota de aceite de inmersión por ambos lados del filtro. Por último, se le colocó un cubreobjetos y se procedió al conteo de células. El conteo se realizó en un microscopio invertido acoplado a una lámpara de mercurio utilizando el objetivo 100x. La abundancia de procariotas ( $A_{pro}$ ) se calculó a partir de la ecuación 2.

$$A_{\text{pro}} = \frac{(\text{PCM} \cdot F)}{V} \quad (2)$$

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

### **5.2.3. Diseño experimental y la determinación de las tasas de consumo de oxígeno (respiración)**

El método utilizado para el experimento de respiración se llevó a cabo mediante la incubación de muestras de agua de mar en botellas claras y oscuras para medir la concentración de O<sub>2</sub> disuelto de grupos microbianos (Villegas-Mendoza et al., 2019). El principio básico de este método consiste en la incubación de botellas expuestas a la luz (botellas claras) y en oscuridad (botellas oscuras) para el rendimiento de los procesos fotosintéticos y respiratorios de las comunidades microbianas en los sistemas acuáticos. Existen diversos métodos electroquímicos para efectuar la cuantificación de estas tasas metabólicas, sin embargo, en este trabajo nos enfocamos exclusivamente en la medición del consumo y la producción de oxígeno mediante óptodos.

Para determinar el consumo de oxígeno se utilizaron botellas de cristal Winkler de 125 mL, las cuales fueron previamente lavadas con peróxido de hidrógeno (2 mL) y agua destilada (volumen restante) por 24 horas. Estas botellas se mantuvieron en una caja negra cubierta por un manto negro para evitar la exposición a la luz y se establecieron dos series de botellas oscuras (n=3) para cuantificar la actividad respiratoria de la comunidad microbiana (R<sub>com</sub>) y de procariotas (R<sub>pro</sub>). La R<sub>pro</sub> se obtuvo a partir de la filtración de agua de las muestras superficiales por filtros GF/F. En las botellas oscuras se dejaron rebasar los 125 mL al introducir el agua mediante un flujo constante para evitar la contaminación por el oxígeno atmosférico. Posteriormente, fueron selladas y se mantuvieron cerradas durante todo el experimento. En el caso de las botellas claras se utilizaron botellas de policarbonato de 1 L (n=3), las cuales estuvieron expuestas a una irradiancia de 17 μE · m<sup>-2</sup> · s<sup>-1</sup>

(medida con un irradiómetro Biospherical) para obtener la producción primaria bruta (PPB). La medición de la concentración de oxígeno en botellas claras y oscuras se realizó por medio de sensores ópticos sensibles al oxígeno (SP-PSt3-NAU-YOP) adheridos al interior de las botellas y un sistema Fibox 4 (PreSens, Resenbourg, Alemania). El área en donde se llevó a cabo el experimento se mantuvo a una temperatura controlada de 18°C durante 12 horas.

Las tasas de respiración ( $R_{com}$ ,  $\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ) se obtuvieron a partir del ajuste lineal de los datos recabados por medio del cambio en la concentración del  $\text{O}_2$  disuelto durante cada hora en las botellas oscuras utilizando del programa Excel. Para resaltar la respiración como el proceso metabólico representativo durante este experimento, las tasas de consumo se multiplicaron por la duración de un día (24 horas) para estimar las tasas de respiración ( $R$ ) ( $\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$ ). Por otro lado, las tasas de producción primaria bruta (PPB) se obtuvieron de forma similar al procedimiento anterior con los datos recabados en las botellas claras. Con la determinación de la PPB y la  $R_{com}$ , se calculó la producción neta de la comunidad (PCN) utilizando la ecuación 3 para evaluar el estado metabólico del sistema.

$$\text{PNC} = \text{PPB} - R_{com} \quad (3)$$

### **5.3. Cultivos no axénicos del dinoflagelado *Lingulodinium polyedra***

En el monitoreo durante el FAN de mayo de 2020, se aisló la cepa del dinoflagelado *Lingulodinium polyedra* la cual fue definida como LiBTS207 por Durán-Riveroll (2020) quien realizó el aislamiento de esta cepa, con la que establecieron cultivos no axénicos que iniciaron en microplacas de 96 pozos y se escalaron hasta matraces Fernbach de 2 L, utilizando el medio L1 (Guillard y Hangraves, 1993) (Tabla I). Se realizaron experimentos de respiración con el cultivo para estudiar la fisiología de una cepa originaria de la Bahía de Todos Santos, y se evaluaron las tasas de crecimiento ( $\mu$ ) en los diferentes volúmenes del cultivo.

#### **5.3.1. Preparación del medio de cultivo**

El agua de mar utilizada para la preparación del medio L1 fue filtrada por filtros GF/F, a la cual se le adicionó CO<sub>2</sub>. Sin embargo, se realizó una modificación en el medio L1 descrito por Guillard y Hangraves (1993) al descartar la adición de silicato al medio (Tabla I). El flujo del gas no fue medido, sin embargo, se estimó en 2 L min<sup>-1</sup>. Finalmente, se esterilizó en autoclave a una temperatura de 121°C y 15 psi durante 15 minutos. La siembra del cultivo se llevó a cabo en un cuarto cerrado, sin circulación de aire, donde se creó un campo estéril al rociar el espacio de trabajo con etanol al 70% y fue flameado con mecheros. Estos últimos se mantuvieron encendidos durante todo el proceso, para asegurar la esterilidad del proceso. La incubación se mantuvo en condiciones controladas a una temperatura de 20°C, irradiancia de 300 μE m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> (medida con un irradiómetro Biospherical Instrument) y se expuso a un fotoperiodo de luz: oscuridad de 12:12 horas. Cada 24 horas durante 30 días, se tomó 1 mL por triplicado de cada muestra, previamente homogenizada y fijándose con Lugol, después se colocó en una cámara de conteo de Sedgwick-Rafter. Los conteos se llevaron a cabo en un microscopio óptico Zeiss Primo Star utilizando el objetivo 10x. A partir de los datos de conteo, se graficaron curvas de crecimiento de los cultivos en un volumen de 300 mL, 1 L, y 2 L.

**Tabla I. Proporción correspondiente de macronutrientes, metales traza y vitaminas en los stocks utilizados para la preparación del medio L1 (Guillard y Hangraves, 1993) utilizado en los cultivos no axénicos de *Lingulodinium polyedra*.**

Componentes	Solución stock	Cantidad	Concentración Molar
<i>NaNO<sub>3</sub></i>	75.00 g L-1 dH <sub>2</sub> O	1 mL	8.82x10 <sup>-4</sup> M
<i>NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O</i>	5.00 g L-1 dH <sub>2</sub> O	1 mL	3.62x10 <sup>-5</sup> M
<i>Na<sub>2</sub>SiO<sub>3</sub> · 9H<sub>2</sub>O</i>	30.00 g L-1 dH <sub>2</sub> O	1 mL	1.06x10 <sup>-4</sup> M
Solución de metales traza	---	1 mL	---
Solución de vitaminas	---	0.5 mL	---

$Na_2EDTA \cdot 2H_2O$	---	4.36 g	$1.17 \times 10^{-5} M$
$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	---	3.15 g	$1.17 \times 10^{-5} M$
$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	178.10 g L-1 dH2O	1 mL	$9.09 \times 10^{-7} M$
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	23.00 g L-1 dH2O	1 mL	$8.00 \times 10^{-8} M$
$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	11.90 g L-1 dH2O	1 mL	$5.00 \times 10^{-8} M$
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	2.50 g L-1 dH2O	1 mL	$1.00 \times 10^{-8} M$
$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	19.9 g L-1 dH2O	1 mL	$8.22 \times 10^{-8} M$
$H_2SeO_3$	1.29 g L-1 dH2O	1 mL	$1.00 \times 10^{-8} M$
$NiSO_4 \cdot 6H_2O$	2.63 g L-1 dH2O	1 mL	$1.00 \times 10^{-8} M$
$Na_3VO_4$	1.84 g L-1 dH2O	1 mL	$1.00 \times 10^{-8} M$
$K_2CrO_4$	1.94 g L-1 dH2O	1 mL	$1.00 \times 10^{-8} M$
Tiamina HCl (vit. B1)	---	200 g	$2.96 \times 10^{-7} M$
Biotina (vit. B7)	0.1 g/L dH2O	1 mL	$2.05 \times 10^{-9} M$
Cianocobalamina (vit. B12)	1.0 g/L dH2O	1 mL	$3.69 \times 10^{-10} M$

### 5.3.2. Tasa de crecimiento ( $\mu$ )

Se aplicó el modelo de crecimiento poblacional de Malthus para interpretar las tasas de crecimiento de los cultivos de *L. polyedra* en los diferentes volúmenes establecidos (300 mL, 1 L, y 2 L). El modelo sugiere que entre mayor es el número de individuos de una población N, mayor es la variación que puede sufrir la población en un tiempo. Por lo tanto, podemos atribuir este principio a una especie de fitoplancton formador de FAN, dado que el aumento en la concentración celular durante un florecimiento puede variar en función de diversos factores ambientales en un instante. Por ello, se ha utilizado el modelo de Malthus dado por la ecuación 4.

$$\frac{dN}{dt} = N \cdot \mu \quad (4)$$

Donde  $\frac{dN}{dt}$  es la razón de cambio del número de individuos en el cultivo (N) en un intervalo de tiempo y “ $\mu$ ” es el parámetro malthusiano que representa el crecimiento exponencial de la población. Para ver el cambio en función de la población, se separaron las variables con lo cual se separaron las variables, se integraron y se obtuvo la ecuación 5.

$$\int \frac{1}{N} dN = \int \mu dt$$

$$\ln|N| = \mu t + C \quad (5)$$

Dado que el modelo representa el ajuste exponencial de los datos, se aplica la función inversa al logaritmo natural hacia ambos lados de la ecuación, con lo cual obtenemos:

$$e^{\ln N} = e^{\mu t + C}$$

$$e^{\ln N} = e^{\mu t} \cdot e^C$$

$$N(t) = N_0 \cdot e^{\mu t} \quad (6)$$

Donde  $N_0$  es el tamaño de la población al inicio en un intervalo de tiempo cuando  $t=0$ ,  $\mu$  es la tasa proporcional de cambio del número de individuos en el tiempo ( $t$ ). Al aplicar la ecuación 6, los datos fueron ajustados con una línea de tendencia exponencial utilizando el programa Excel, con el cual se obtuvieron los valores de  $\mu$ .

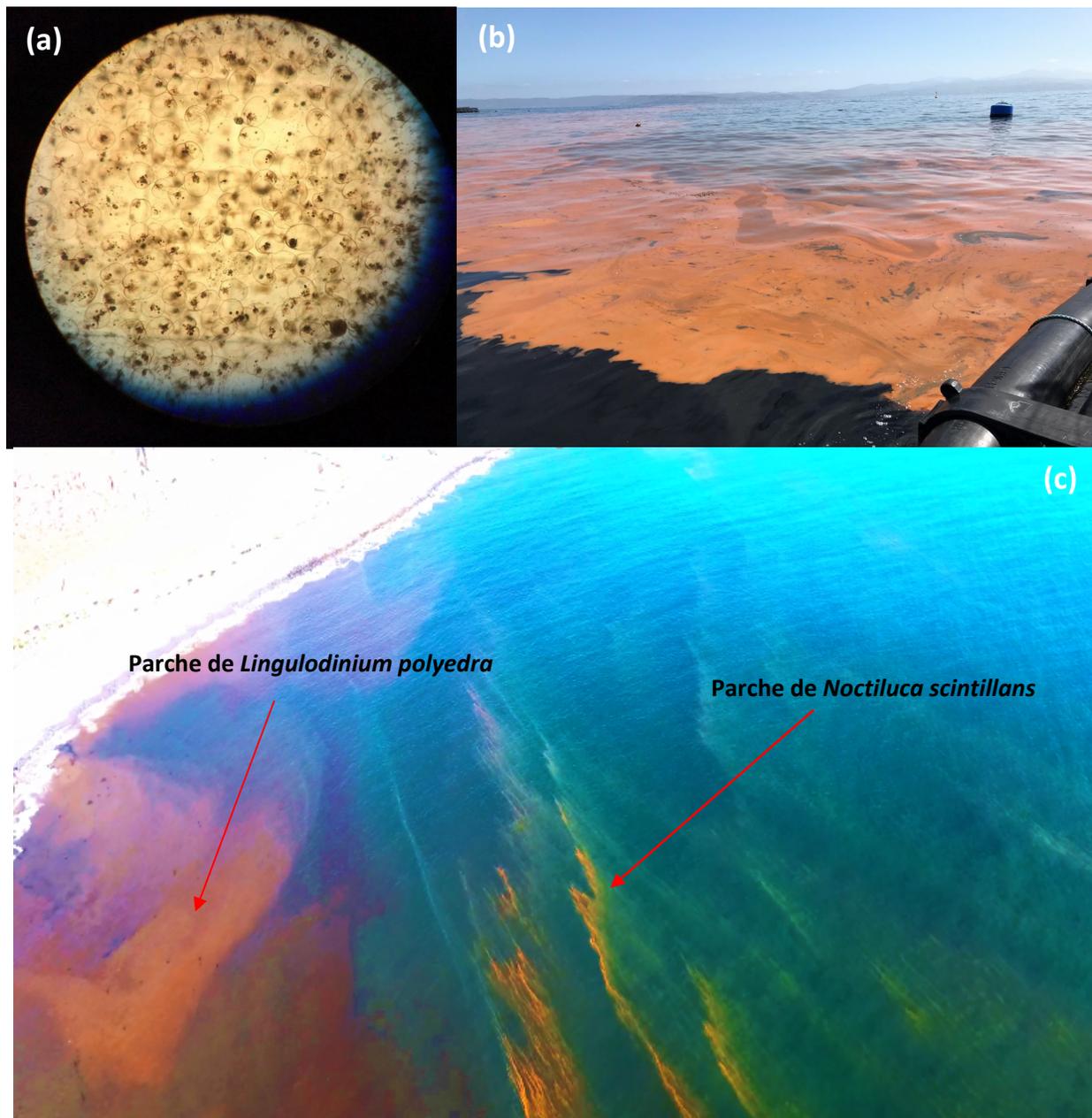
#### 5.4. Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de un solo factor para determinar la diferencia entre las medias obtenidas de las  $R_{com}$  en los eventos FAN de 2020 y 2021. Se utilizó un nivel de significancia del 95% ( $p=0.05$ ) entre las tasas metabólicas para diferenciar si las tendencias metabólicas de las comunidades microbianas eran influenciadas por factores externos. Los resultados de los análisis ANOVA fueron calculados a través del programa Excel Microsoft Office 2019.

## **6. Resultados**

### **6.1. Estado metabólico de la comunidad microbiana en el FAN de mayo del 2020 dentro de la BTS**

A finales de marzo de 2020 se observaron indicios de la formación de un FAN que abarcó toda la zona costera y el interior de la BTS. Durante los meses de abril y mayo, el aumento en la intensidad de florecimientos destacó a partir del cambio en la coloración de la superficie del agua (café-rojizo), como consecuencia del incremento en la concentración de organismos fitoplanctónicos. Asimismo, se observaron destellos bioluminiscentes por las noches alrededor de la zona costera. A mediados de mayo, se observó el desarrollo de un segundo FAN ante la aparición de parches de color naranja en la superficie del océano (Fig. 2). Ante este particular evento surgió la pregunta, ¿Cómo responde la comunidad microbiana en términos metabólicos con el desarrollo de florecimientos algales? En esta sección se evaluó el estado metabólico de las comunidades microbianas en diferentes parcelas de agua a través del flujo de  $O_2$  en presencia de dos especies de dinoflagelados formadores de FAN.



**Figura 2. Imágenes del FAN de mayo de 2020 dominado por las especies de dinoflagelados *L. polyedra* y *N. scintillans* en la BTS. Muestra observada al microscopio de *N. scintillans* (a) (compartida por A. Amador, 2020); Mancha naranja asociada a las altas concentraciones de *N. scintillans* cerca de los corrales de Lobina rayada de la empresa Pacific Aquaculture (b) (Amador, 2020); Imagen aérea del FAN20 cerca del puerto de Ensenada (imagen capturada por Rivera-Huerta, 2020).**

### 6.1.1. Tasas de respiración de la comunidad microbiana

El promedio de la concentración de oxígeno en las botellas que contenían a la comunidad microbiana en la estación PM presentó un valor inicial de  $180.5 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ , el cual disminuyó 15.9 unidades de oxígeno por hora hasta obtener una concentración final de  $2.6 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$  en las primeras 12 horas. Asimismo, los procariontes heterótrofos consumieron más oxígeno en esta estación, dado que, se obtuvo una concentración inicial de  $188.5 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$  la cual disminuyó 2.6 unidades de oxígeno por hora hasta terminar en una concentración final de  $147.1 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$  en 12 horas. En comparación con la tendencia respiratoria de las comunidades microbianas entre la estación LR, PM y EM, en PM se obtuvieron las mayores tasas de respiración (Fig. 3).

Por otro lado, las comunidades microbianas en las muestras obtenidas de las estaciones LR y EM obtuvieron una menor tasa de respiración en comparación con PM (Tabla II). La menor actividad en el consumo de oxígeno fue dada por la comunidad microbiana en la estación LR con una concentración inicial de  $228.2 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$  la cual disminuyó 3.4 unidades de oxígeno por hora hasta obtener una concentración final de  $188.4 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$  a las 12 horas del experimento. Por otro lado, la tasa de consumo en las muestras que contenían a los procariontes heterótrofos fue mayor en la estación LR ( $1.5 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ) que para la comunidad bacteriana en la estación EM ( $0.9 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ).

**Tabla II. Tasas de respiración [ $\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$ ] de la comunidad microbiana durante 12 h de incubación en oscuridad de muestras de agua del FAN de mayo 2020 en las estaciones Las Rosas (LR), Punta Morro (PM), y El Mosquito (EM) (promedio  $\pm$  desviación estándar).**

Tasas metabólicas	Microorganismos marinos	LR	PM	EM
Tasa de Respiración [ $\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$ ]	Comunidad microbiana	$81 \pm 10$	$381 \pm 13$	$134 \pm 21$
	Procariontes heterótrofos	$36 \pm 1$	$63 \pm 2$	$21 \pm 4$

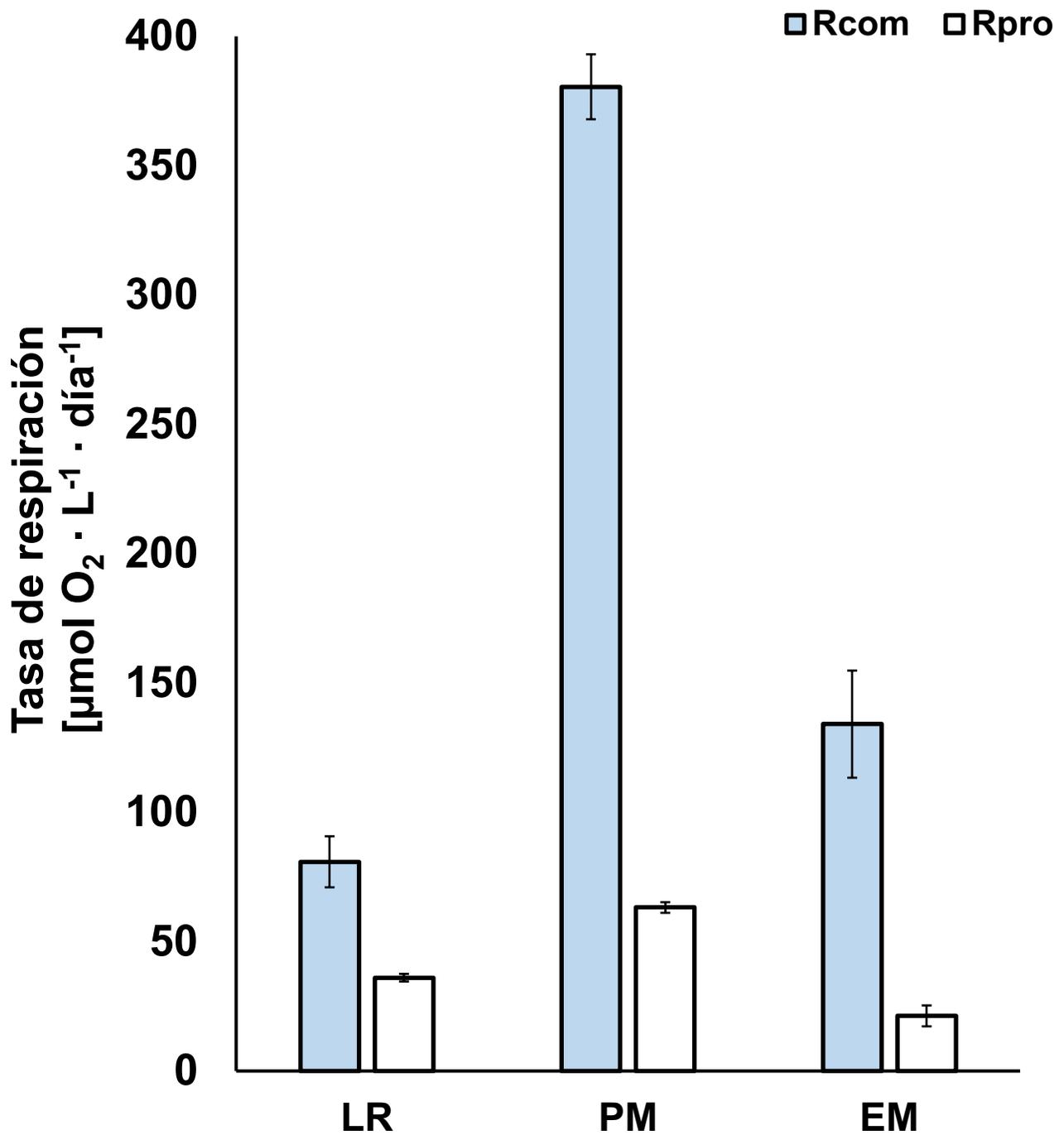


Figura 3. Tasas de respiración [ $\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$ ] de la comunidad microbiana ( $R_{\text{com}}$ ) y los procariontes heterótrofos ( $R_{\text{pro}}$ ) del FAN de mayo de 2020 de muestras naturales de la estación Las Rosas (LR), Punta Morro (PM) y El Mosquito (EM) incubadas durante 12 horas en oscuridad. Barras de error indican la desviación estándar ( $\pm$ ).

### 6.1.2. Abundancia celular e identificación taxonómica de la comunidad fitoplanctónica

La cualificación de la abundancia relativa de las especies de fitoplancton confirmó la aparición del dinoflagelado mixotrófico *L. polyedra* como el formador principal del FAN de primavera. Sin embargo, esta especie fue desplazada por la presencia del dinoflagelado heterótrofo *Noctiluca scintillans*, quien formó el segundo FAN al reducir la población de *L. polyedra* por medio de su ingestión. La abundancia relativa de ambos dinoflagelados varió entre estaciones (LR, PM y EM), siendo *N. scintillans* la especie con mayor frecuencia (Fig. 4). La comunidad fitoplanctónica en PM se caracterizó por una comunidad constituida principalmente por *N. scintillans* (46%), *Nitzschia longissima* (30%) y *L. polyedra* (13%) al ser las especies más abundantes del total de toda la muestra (Tabla III). En el medio natural se observó una acumulación de materia orgánica particulada (MOP) con un aspecto viscoso que se distribuía verticalmente en la columna de agua en los sitios asociados con las altas abundancias de *N. scintillans*.

En la estación LR la comunidad fitoplanctónica fue representada principalmente por el dinoflagelado *L. polyedra* (43%) del total de la muestra, además, los dinoflagelados heterótrofos *Prorocentrum gracile* y *Tripos furca* tuvieron mayor abundancia en esta estación, representando el 26% y 12%, respectivamente (Tabla III). Por otro lado, en la estación EM la variación entre la abundancia relativa de *L. polyedra* y *N. scintillans* fue menor que en las estaciones descritas anteriormente (Fig. 4). En términos de la cuantificación de células fitoplanctónicas y procariotas la magnitud en la concentración de células resultó en el orden de PM > EM > LR (Tabla III). Las tasas de producción primaria bruta y neta de este experimento obtenidas en la estación EM serán descritas más adelante en las secciones 6.2.2 y 6.4.1 de este trabajo.

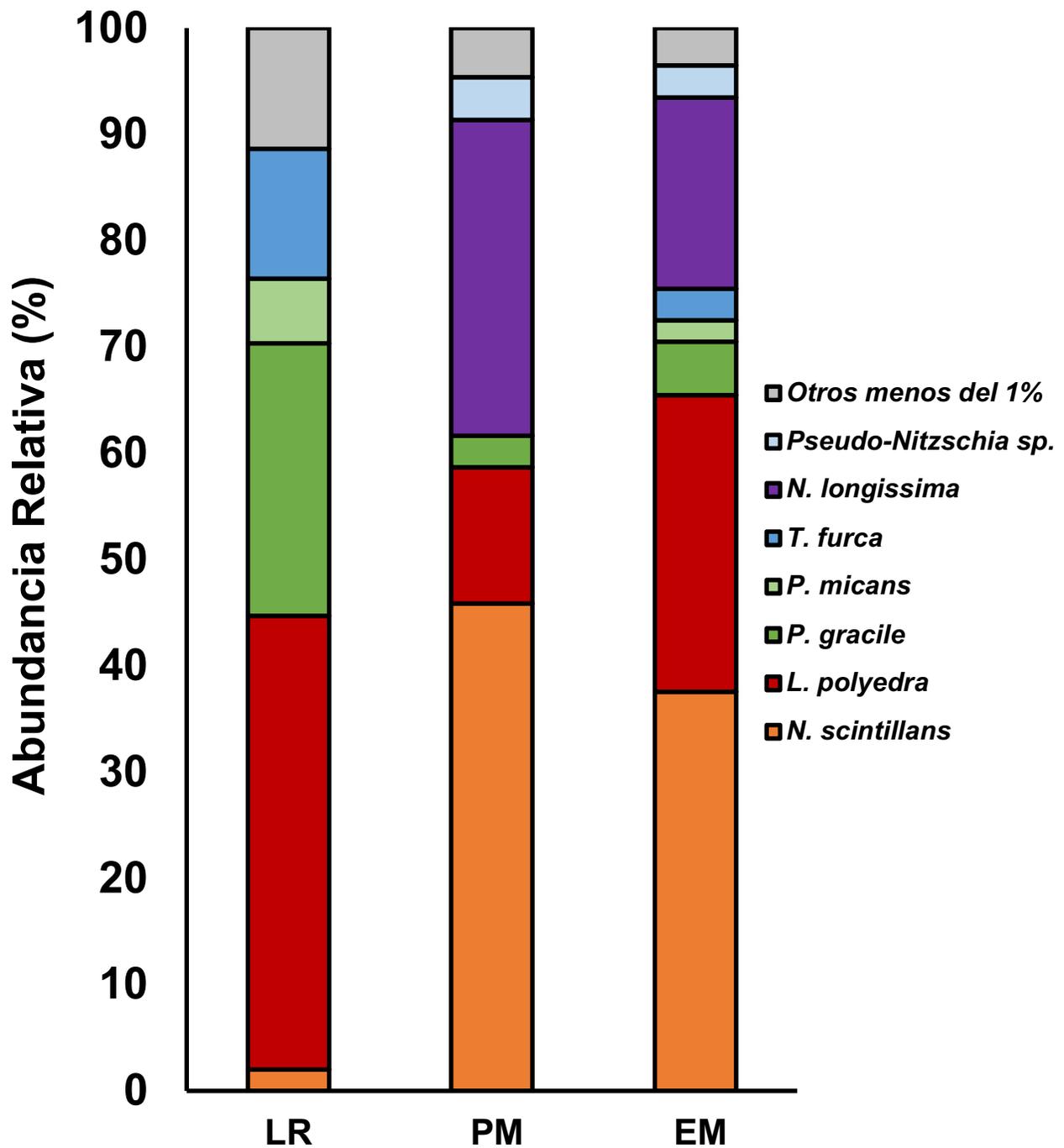


Figura 4. Abundancia relativa (%) de la comunidad fitoplanctónica en muestras de agua del FAN de mayo de 2020. Especies de dinoflagelados y diatomeas: *Noctiluca scintillans* (naranja), *Lingulodinium polyedra* (rojo), *Prorocentrum gracile* (verde), *Prorocentrum micans* (verde opaco), *Tripos furca* (azul cielo), *Nitzschia longissima* (morado), *Pseudo-Nitzschia* sp. (azul claro). Otras especies <1% (gris).

Tabla III. Abundancia relativa (%) de la comunidad fitoplanctónica, abundancia absoluta de células de fitoplancton y procariotas en los experimentos de respiración del FAN de mayo de 2020 en Las Rosas (LR), Punta Morro (PM), y El Mosquito (EM).

Abundancias	Comunidad fitoplanctónica	LR	PM	EM
Abundancia relativa (%)	<i>Lingulodinium polyedra</i>	43	13	28
	<i>Noctiluca scintillans</i>	2	46	38
	<i>Prorocentrum micans</i>	6	0	2
	<i>Prorocentrum gracile</i>	26	3	5
	<i>Tripos furca</i>	12	0	3
	<i>Nitzschia longissima</i>	0	30	18
	<i>Pseudo-Nitzschia sp.</i>	0	4	3
	Otros menos de 1%	11	5	4
Abundancia absoluta (cel · mL <sup>-1</sup> )	Fitoplancton	469	1,669	849
	Procariotas	473,472	1,136,334	864,087

## **6.2. Estado metabólico de comunidades microbianas en muestras naturales colectadas en presencia de FAN ocurridos en 2020 y 2021 en la BTS**

Con la finalidad de evaluar y comparar el estado metabólico de las diferentes comunidades microbianas en esta sección se describen las tasas de respiración, producción primaria bruta y neta, abundancia celular e identificación taxonómica de la comunidad fitoplanctónica en las muestras colectadas en los FAN de mayo y julio de 2021.

### **6.2.1. Tasas de respiración y cuantificación de células (eucariotas y procariotas)**

La comunidad microbiana presente en el muestreo de mayo de 2021 generó el mayor consumo de oxígeno en comparación con el evento FAN de mayo de 2020 y julio de 2021 (Fig. 5). En las muestras de la comunidad microbiana de mayo de 2021, la concentración promedio del oxígeno disuelto presentó un valor inicial de  $195.7 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$  el cual tuvo un decremento de 27.5 unidades de oxígeno por hora hasta agotar el oxígeno disuelto por el cual se obtuvo una concentración final de  $0.2 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$  en las primeras 9 horas del experimento. En esta ocasión, el estado metabólico de los procariotas heterótrofos se mantuvo constante durante todo el experimento al obtener una tasa de consumo promedio de  $0.2 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  por >10 horas (sección 6.4.3). La concentración de células fitoplanctónicas alcanzó una magnitud  $>10^3 \text{cel} \cdot \text{mL}^{-1}$  lo cual respresentó el evento FAN registrado en este trabajo con la mayor abundancia fitoplanctónica (Fig. 6).

En contraste, la tasa de respiración de la comunidad microbiana en julio del mismo año fue menor comparada con mayo de 2020 y 2021 (Fig. 5). La concentración inicial del oxígeno disuelto en las botellas que contenían a la comunidad microbiana presentó un valor promedio de  $248 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$  con una disminución de 2 unidades de oxígeno por hora por lo cual se obtuvo una concentración final de  $227.9 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$  en las primeras 10 horas del experimento. A diferencia de las tasas de respiración obtenidas para las comunidades microbianas y los procariotas heterótrofos en mayo de 2020 y 2021, en julio el consumo de oxígeno de los procariotas heterótrofos fue mayor que otras comunidades bacterianas (Tabla 4).

Tabla IV. Tasas de respiración [ $\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$ ] de las comunidades microbianas y procariotas incubadas en botellas oscuras durante las primeras 12 horas de muestras de agua del FAN de mayo de 2020, mayo y julio de 2021.

Tasa de Respiración [ $\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$ ]	EVENTOS FAN		
	Mayo 2020	Mayo 2021	Julio 2021
Tasa de respiración de la comunidad microbiana ( $R_{\text{com}}$ )	134±21	661±25	47±6
Tasa de respiración de procariotas heterótrofos ( $R_{\text{pro}}$ )	21±4	4±1	36±6

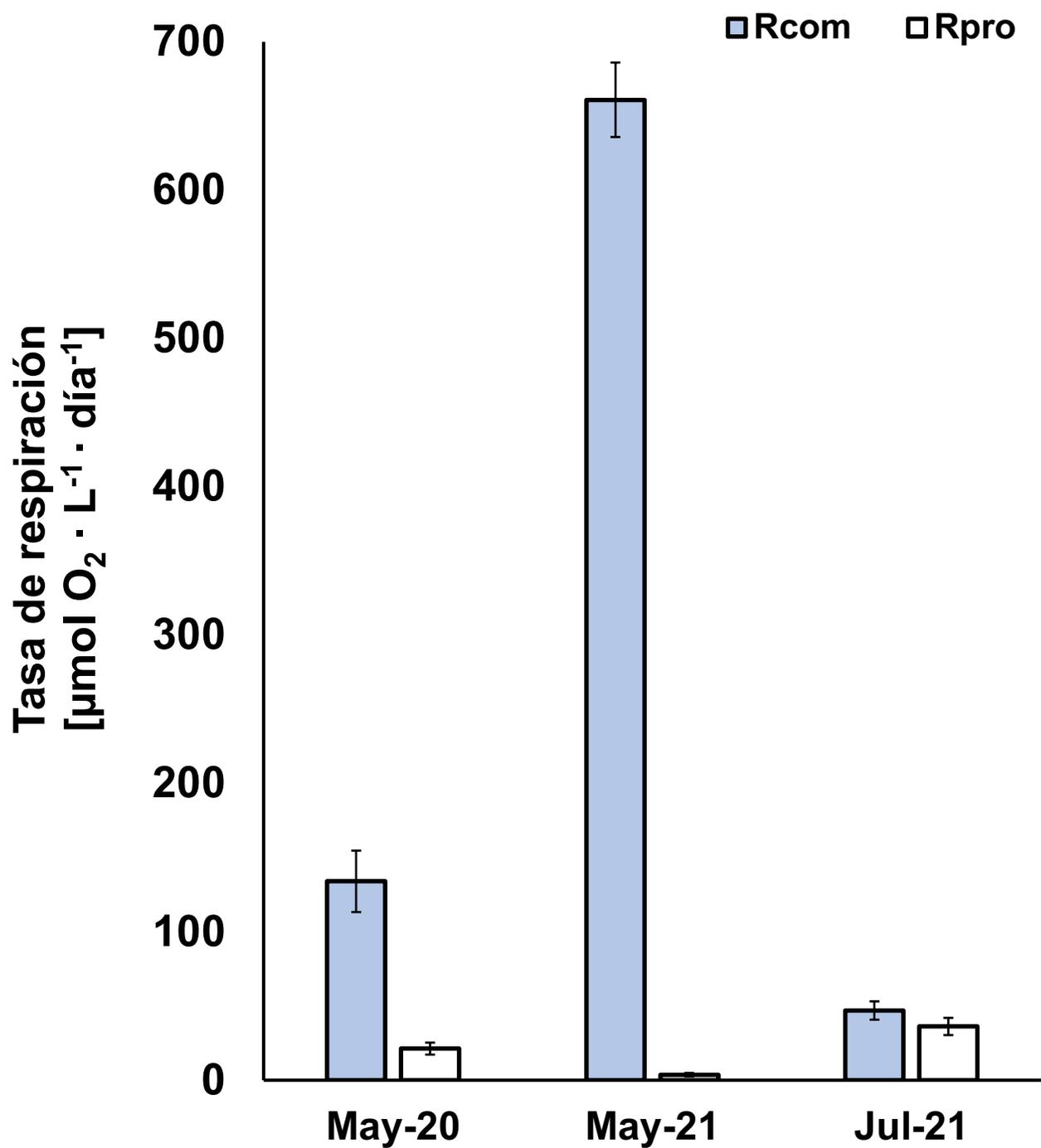


Figura 5. Tasas de respiración [ $\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$ ] de la comunidad microbiana ( $R_{\text{com}}$ ) y procariontes heterótrofos ( $R_{\text{pro}}$ ) en el FAN de mayo de 2020, mayo de 2021, y julio de 2021 en distintos sitios dentro de la BTS. Barras de error indican la desviación estándar ( $\pm$ ).

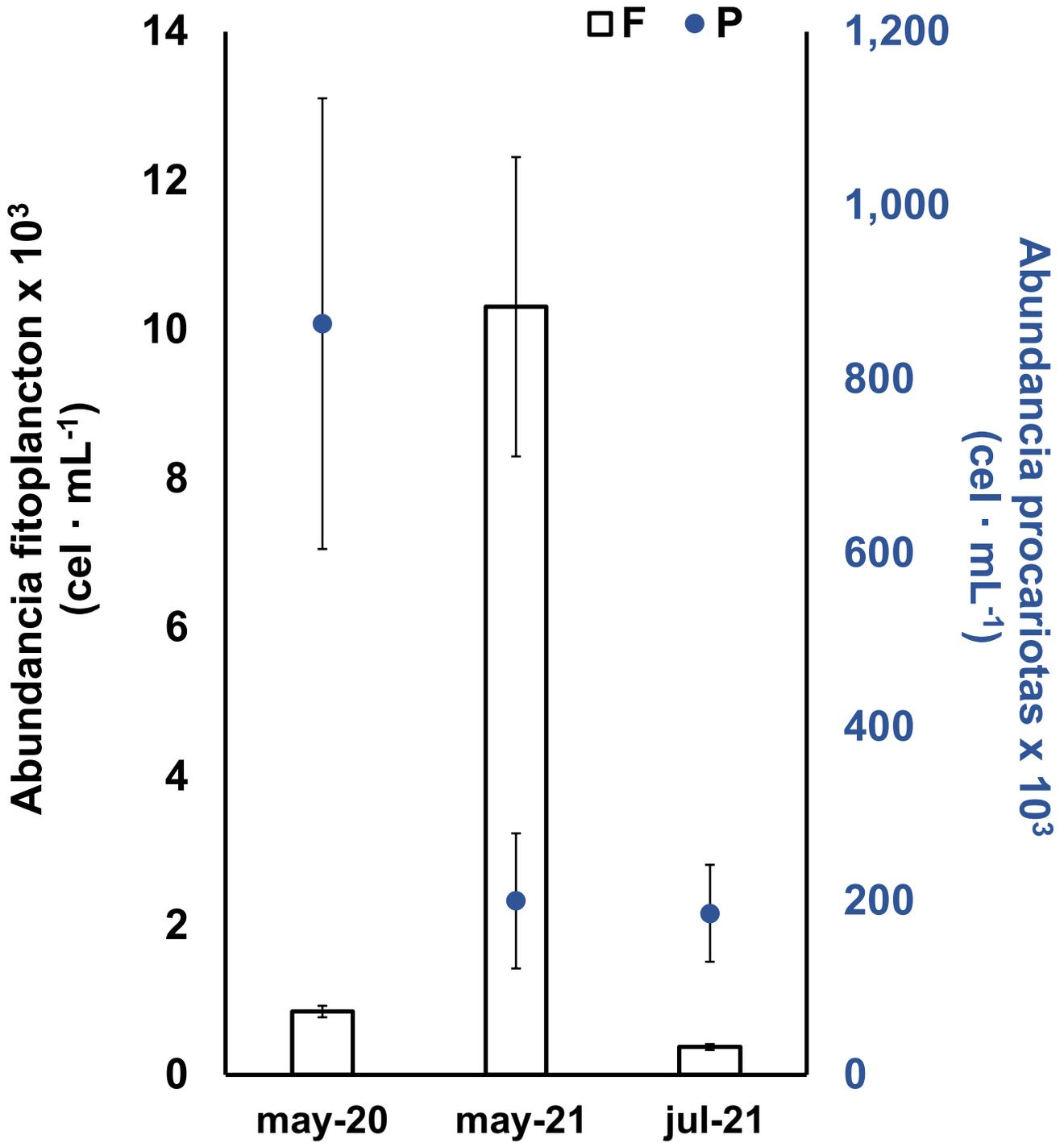


Figura 6. Concentración de células ( $\text{cel} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) de fitoplancton (barra blanca) y procariotas (puntos azules) en las botellas oscuras durante los experimentos de respiración con muestras del FAN de mayo de 2020, mayo y julio de 2021. Barras de error indican la desviación estándar ( $\pm$ ).

### 6.2.2. Identificación taxonómica de especies fitoplanctónicas y las tasas de producción primaria bruta y neta de comunidades microbianas en los eventos FAN de 2020 y 2021

Las comunidades fitoplanctónicas mostraron diferencias taxonómicas en los constituyentes mayores que determinaron el carácter metabólico de la comunidad microbiana (Fig. 5). Entre las especies de fitoplancton, el dinoflagelado mixotrófico *L. polyedra* fue la especie que se caracterizó principalmente por aparecer en los tres eventos FAN, sin embargo, su concentración celular se presentó en distintas proporciones (Tabla VI, Anexos).

En la sección 6.1 se describió que el evento FAN de mayo de 2020 fue representado por los dinoflagelados *N. scintillans* y *L. polyedra*. Considerando que gran mayoría de la comunidad fitoplanctónica fue dominada por dinoflagelados, la capacidad mixotrófica de *L. polyedra* le atribuyó el carácter autotrófico a la comunidad microbiana presente durante el florecimiento (PNC>PPB) (Tabla V). La concentración inicial en las botellas claras presentó un valor promedio de  $204.8 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$  en el cual hubo una disminución de 2.4 unidades de oxígeno por hora alcanzando una concentración final de  $184.4 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$  durante 8 horas. El consumo de oxígeno que se presentó en estas muestras pudo ser debido a la presencia de *N. scintillans* y su metabolismo heterotrófico. En mayo de 2021 el FAN fue dominado principalmente por *L. polyedra* y el dinoflagelado heterótrofo *P. micans* representando el 56% y 35% del total de la muestra (Fig. 7). La concentración inicial en las botellas claras presentó un valor promedio de  $259.6 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$  con una disminución de 0.5 unidades de oxígeno por hora de la cual se obtuvo una concentración final de  $253.9 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$  en 10 horas. En este florecimiento la tasa de PNC>PPB la cual representó la mayor tasa de producción primaria neta entre los eventos FAN (Fig. 8).

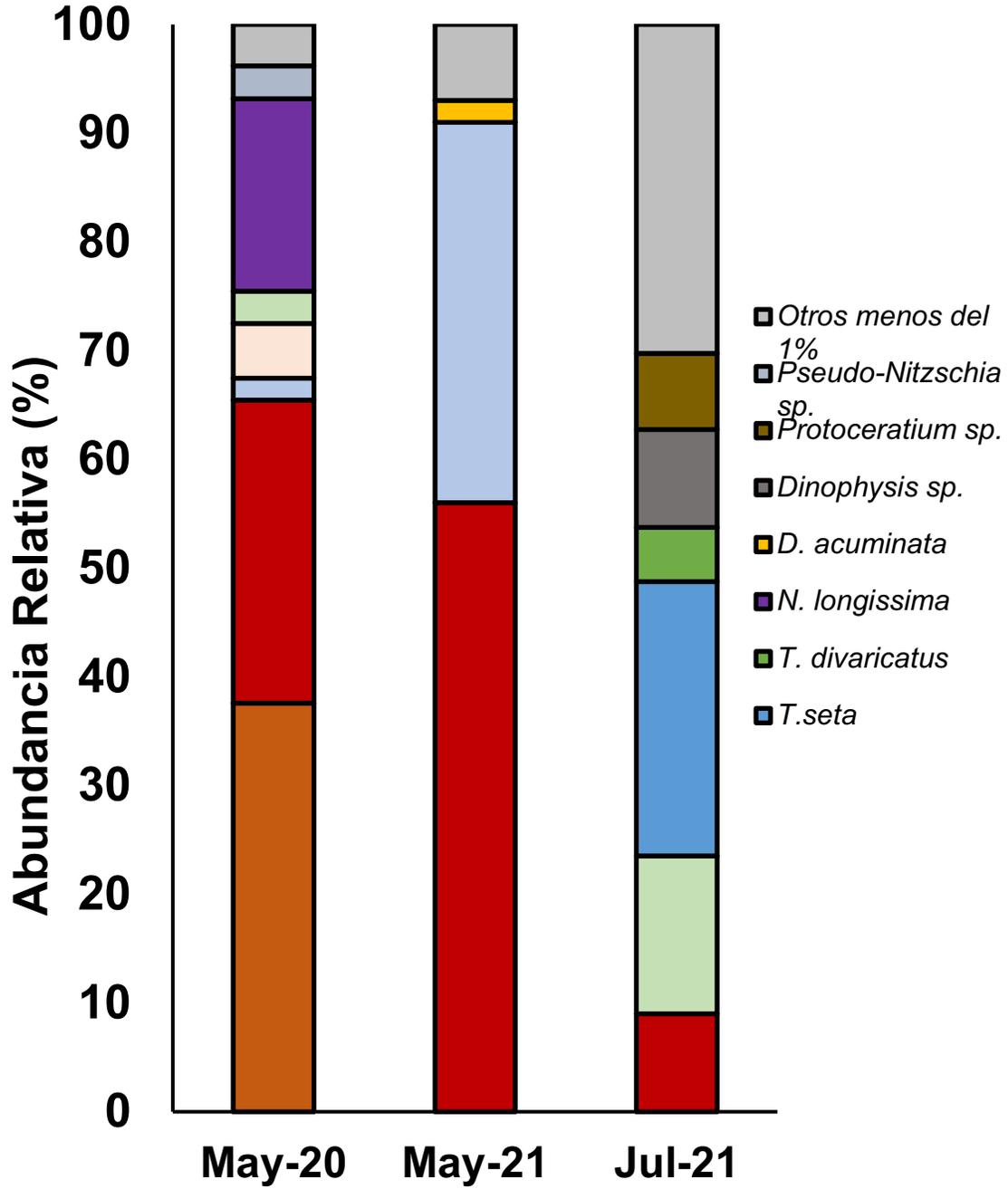


Figura 7. Abundancia relativa (%) de la comunidad fitoplanctónica en muestras de agua del FAN de mayo de 2020, mayo y julio de 2021 en la BTS. Especies de dinoflagelados y diatomeas: *Noctiluca scintillans* (naranja), *Lingulodinium polyedra* (rojo), *Prorocentrum micans* (azul pálido), *Prorocentrum gracile* (beige), *Tripos furca* (verde pálido), *Tripos seta* (azul cielo), *Tripos divaricatus* (verde limón), *Nitzschia longissima* (morado), *Dinophysis acuminata* (amarillo), *Dinophysis sp.* (gris oscuro), *Protoceratium sp.* (café), *Pseudo-Nitzschia sp.* (gris/azul pálido). Otras especies <1% (gris claro).

En cambio, en el FAN de julio de 2021 la comunidad fitoplanctónica presentó un grupo diverso de especies de dinoflagelados, entre los cuales destacaron especies formadoras de FAN tales como *Tripos furca*, *Dinophysis* sp., *Protoceratium* sp., *Prorocentrum micans*, *L. polyedra*, entre otros) (Tabla VI, Anexos). La concentración de fitoplancton en las muestras obtenidas en este muestreo representó la menor abundancia celular (Fig. 6), cabe destacar que en el medio natural se pudo observar una alta concentración de partículas orgánicas en la columna de agua. En este florecimiento, la composición fitoplanctónica permitió que el estado metabólico de la comunidad microbiana mantuviera un balance entre la producción y consumo del oxígeno en las muestras (PNC=PPB) (Tabla V). La concentración inicial en las botellas claras presentó un valor promedio de  $236.9 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$  con una disminución de una unidad de oxígeno por hora resultando en una concentración final de  $226.8 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$  en 10 horas expuestas a la luz. En comparación con los eventos FAN de mayo de 2020 y 2021, en julio de 2021 se obtuvo un metabolismo netamente en equilibrio (Fig. 8).

**Tabla V. Tasa de producción primaria [ $\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$ ] (promedio  $\pm$  desviación estándar) bruta (PPB) y neta (PNC) de la comunidad microbiana en muestras de agua en presencia del FAN de mayo de 2020, mayo de 2021, y julio de 2021 en la BTS.**

Tasa de producción primaria [ $\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$ ]	EVENTOS FAN		
	Mayo-20	Mayo-21	Julio-21
<b>Producción primaria bruta (PPB)</b>	58 $\pm$ 3	12 $\pm$ 1	23 $\pm$ 6
<b>Producción neta de la comunidad (PNC)</b>	76 $\pm$ 3	649 $\pm$ 1	24 $\pm$ 6

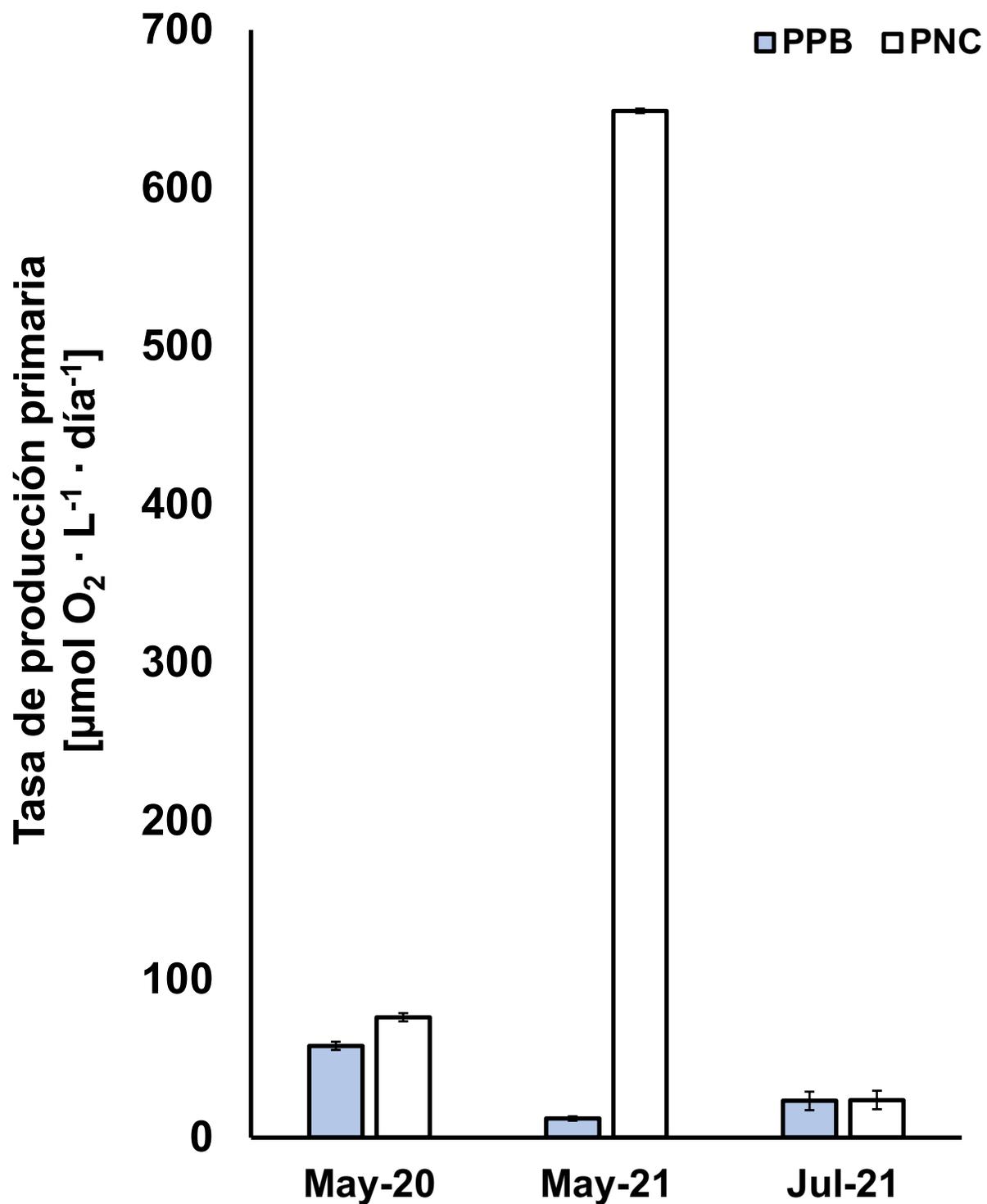


Figura 8. Tasa de producción primaria bruta (barra azul) y la producción neta de la comunidad (barra blanca) mediante la determinación de la producción de oxígeno disuelto en las botellas incubadas con muestras de agua del FAN de mayo de 2020, mayo de 2021, y julio de 2021, expuestas a la luz durante los experimentos de respiración.

### **6.3. Tasas de respiración y producción primaria en cultivos no axénicos del dinoflagelado mixotrófico *Lingulodinium polyedra***

El estudio de las respuestas metabólicas del dinoflagelado mixotrófico *L. polyedra* en la región de Baja California destaca su importancia al ser parte importante de la flora de dinoflagelados que habitan en las aguas de la BTS. Como se ha descrito a lo largo de este trabajo, esta especie ha sido parte de los FAN ocurridos en la bahía, sea como especie predominante o simplemente formando parte de la comunidad fitoplanctónica (Sección 6.1 y 6.2). En esta sección se presentan los datos obtenidos de los experimentos de respiración utilizando la cepa LiBTS207.

#### **6.3.1. Tasas de crecimiento de *Lingulodinium polyedra***

En el cultivo inicial, el crecimiento exponencial del cultivo comenzó a partir del séptimo día, generando una tasa de crecimiento ( $\mu$ ) de  $0.06 \text{ div} \cdot \text{d}^{-1}$  alcanzando una concentración  $> 10^3 \text{ cel} \cdot \text{mL}^{-1}$  en el día 22 (Fig. 9a). Progresivamente, en el cultivo intermedio la población de *L. polyedra* obtuvo  $>10^3 \text{ cel} \cdot \text{mL}^{-1}$  en la mitad del tiempo al cultivo anterior, el cual tuvo una  $\mu$  de  $0.44 \text{ div} \cdot \text{d}^{-1}$  (Fig. 9b). Por último, el cultivo final de *L. polyedra* comenzó su crecimiento exponencial a partir del segundo día del cultivo alcanzando  $>10^3 \text{ cel} \cdot \text{mL}^{-1}$  al cuarto día (Fig. 9c). La  $\mu$  de resultante para el cultivo final fue de  $0.54 \text{ div} \cdot \text{d}^{-1}$ . Al octavo día, se cosecharon cultivos con una concentración promedio de  $41,367 \text{ cel} \cdot \text{mL}^{-1}$  para llevar a cabo los experimentos de consumo y producción de oxígeno disuelto.

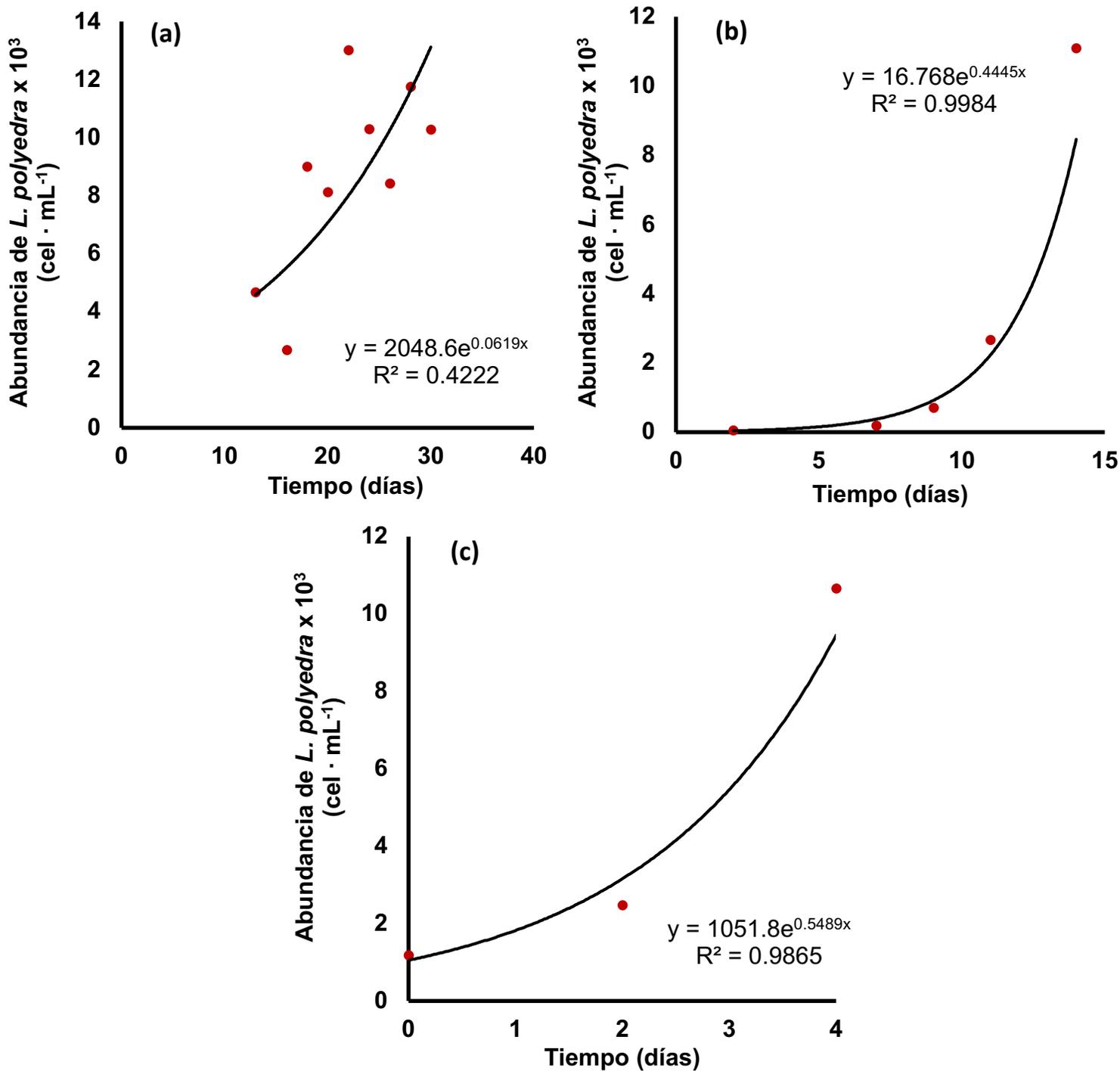


Figura 9. Concentración promedio de células ( $\text{cel} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) del dinoflagelado mixotrófico *Lingulodinium polyedra* en el cultivo no axénico inicial (a), intermedio (b) y final (c). La línea negra representa el ajuste exponencial. La ecuación de regresión viene dada por medio de la ecuación 6 descrita en la metodología.

### 6.3.2. Tasas de respiración, producción primaria bruta y neta del cultivo no axénico de *Lingulodinium polyedra*

En las botellas oscuras se obtuvo una concentración inicial con un valor promedio de  $465 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$  el cual tuvo un decremento de 21.6 unidades de oxígeno por hora resultando en una concentración final de  $206.7 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$  en 12 horas (Fig. 10). La tasa de respiración derivada de este experimento obtuvo un valor de  $518 \pm 51 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$  representando un estado heterótrofo del cultivo. Sin embargo, la  $\text{PNC} > \text{PPB}$  y el cultivo mantuvo un estado autotrófico en las botellas claras.

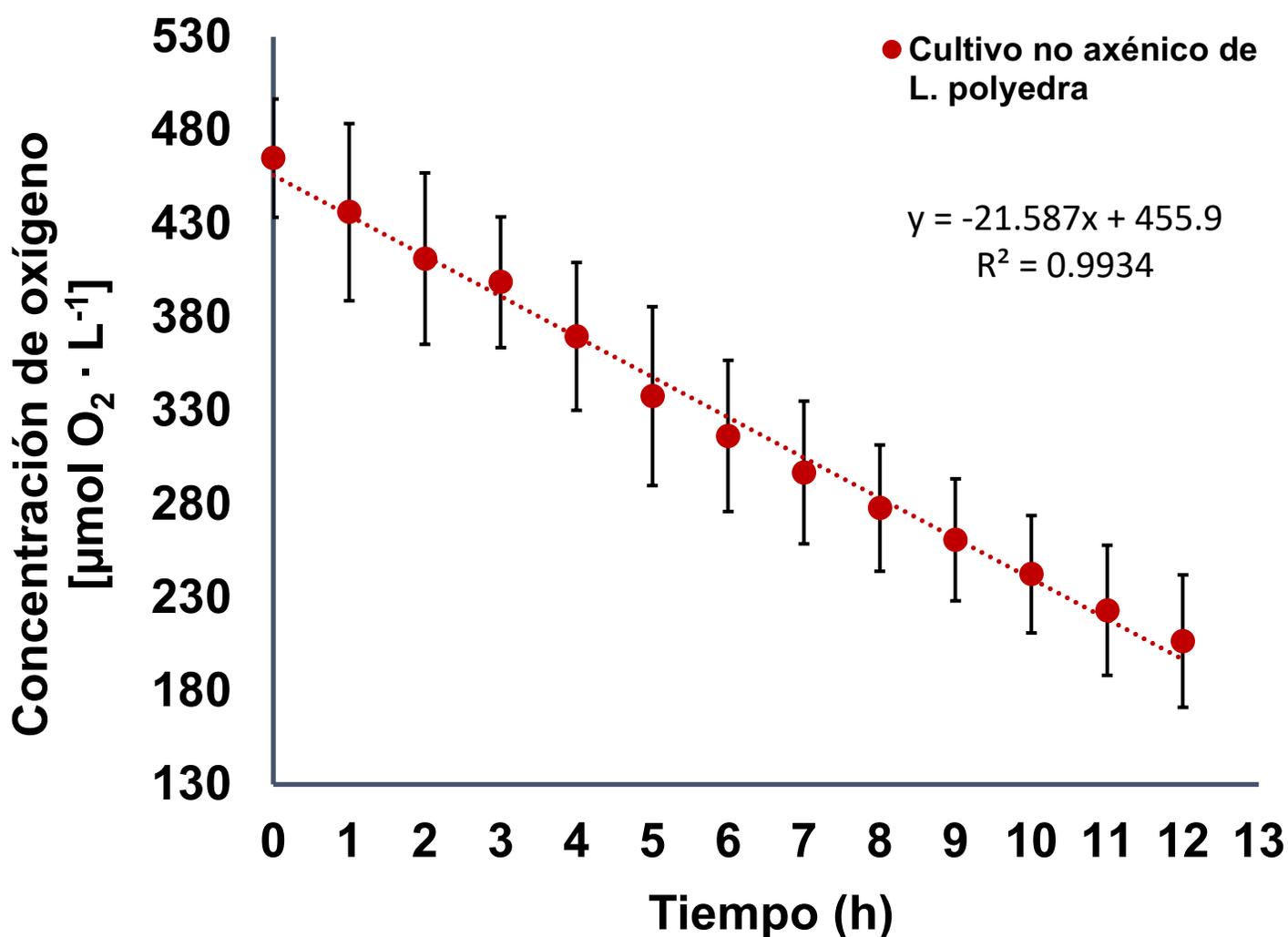


Figura 10. Promedio de la concentración de oxígeno disuelto [ $\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ ] en las botellas oscuras de los cultivos no axénicos del dinoflagelado mixotrófico *Lingulodinium polyedra*. Barras de error indican la desviación estándar. Línea punteada indica el ajuste lineal.

#### **6.4. Descripción de la manipulación experimental con muestras naturales de las comunidades microbianas y procariotas provenientes de un FAN**

En esta sección se describen las observaciones obtenidas mediante la exploración experimental con muestras de agua de mar de los florecimientos utilizadas en este trabajo, las cuales nos permitieron abordar diferentes perspectivas hacia la manipulación de las tasas metabólicas de la comunidad microbiana.

##### **6.4.1. Efecto de la adición de la vitamina B<sub>12</sub> en la tasa de producción primaria en muestras dominadas por dinoflagelados mixotróficos provenientes del FAN de mayo 2020**

En el tratamiento 1, la concentración inicial en las botellas claras fue de 201.6  $\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$  la cual disminuyó dos unidades de oxígeno por hora alcanzando una concentración final de 185.1  $\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$  en 8 horas. En comparación con el control (PNC= 76.1  $\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$ ), la adición de B<sub>12</sub> aumentó la PNC en un 12% en una comunidad autotrófica presente en las muestras (PNC>PPB) (Fig. 11). Por otro lado, la concentración inicial de oxígeno en el segundo tratamiento presentó un valor de 213.1  $\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$  el cual presentó un decremento de 2.9 unidades de oxígeno por hora resultando en una concentración final de 185.6  $\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ . En esta ocasión al adicionar solamente nutrientes inorgánicos resulta en el aumento en el consumo de oxígeno (PNC<PPB). La concentración inicial de oxígeno en las botellas claras mediante el tercer tratamiento fue de 201.3  $\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$  el cual disminuyó 2.7 unidades de oxígeno por hora dejando una concentración final de 175  $\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ . En esta ocasión, la adición combinada de vitamina y nutrientes disminuyeron en un 9% la PNC, al comparar con el control, sin embargo, la comunidad mantuvo su estado autotrófico (PNC>PPB) (Fig. 11).

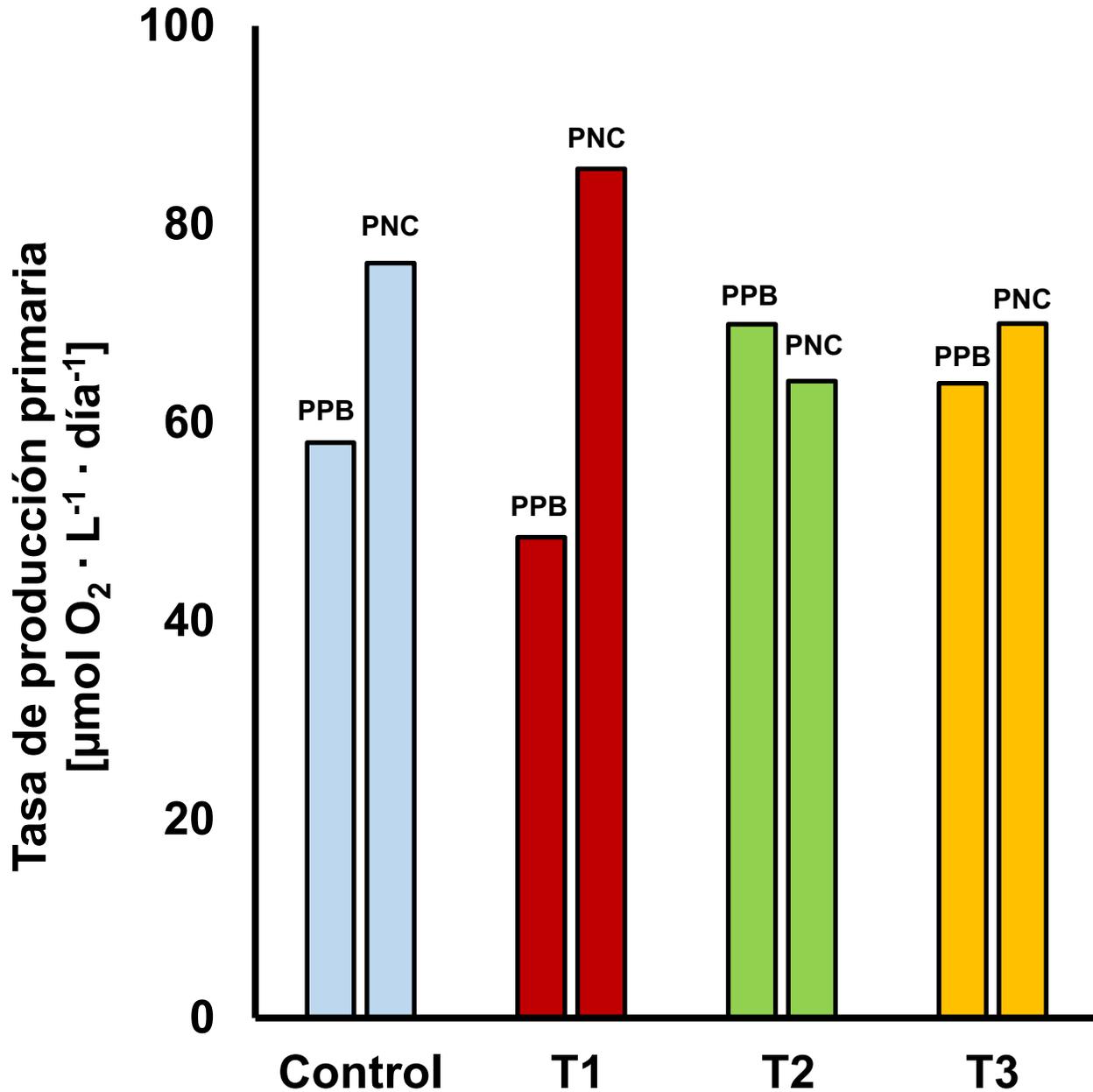


Figura 11. Tasa de producción primaria bruta (PPB) y producción neta de la comunidad (PNC) [ $\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$ ] mediante el establecimiento de un Control y tres tratamientos: adición de vitamina B<sub>12</sub> (Tratamiento 1), adición de nutrientes inorgánicos (N y P) (Tratamiento 2) y la combinación de nutrientes y vitamina B<sub>12</sub> (Tratamiento 3) en muestras de agua provenientes de la estación El Mosquito durante el FAN de mayo de 2020.

#### **6.4.2. Tasas de respiración de diferentes grupos planctónicos entre el florecimiento algal de primavera y verano de 2021 frente al arroyo “El Gallo” en el área de la playa municipal de Ensenada, B.C.**

El zooplancton presente en las muestras del FAN de mayo de 2021 agotaron el oxígeno disuelto en las primeras 4 horas del experimento. La concentración inicial de oxígeno presentó un valor promedio de  $93 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$  el cual mostró un decremento de 26.5 unidades de oxígeno por hora agotando el oxígeno a una concentración final de  $>0 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$  (Fig. 12). Por otro lado, la comunidad fitoplanctónica presentó una concentración inicial de  $189.3 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$  en donde el consumo de oxígeno fue de  $20.5 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  hasta agotar el oxígeno a las 10 horas.

En julio de 2021, el zooplancton presentaron un consumo moderado por más tiempo en comparación con mayo del mismo año (Fig. 13). La conceontración inicial fue de  $145.1 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$  el cual disminuyó 18.6 unidades de oxígeno por hora hasta obtener una concentración final de  $12.2 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$  en 10 horas. Asimismo, la tasa de consumo de oxígeno de la comunidad fitoplanctónica fue de  $7.4 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  iniciando con una concentración de  $138.9 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$  y una concentración final de  $63.2 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$  en 10 horas (Fig. 13).

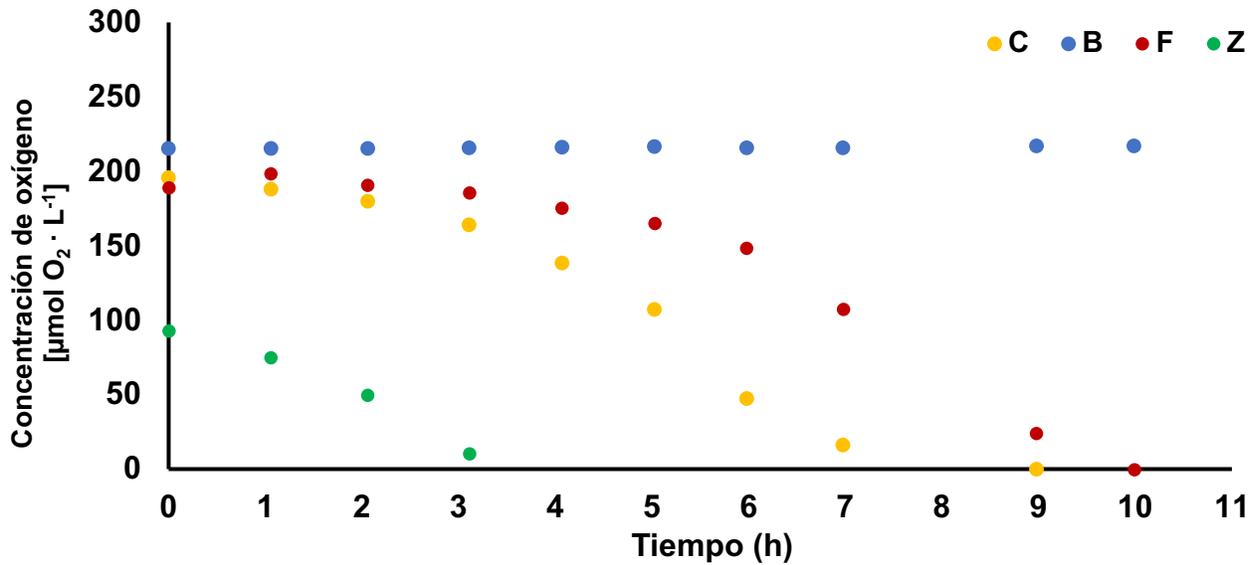


Figura 12. Tasas de consumo de oxígeno disuelto [ $\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ] de los grupos planctónicos asociados a muestras de agua del evento FAN de mayo de 2021. Entre los grupos se representa a la comunidad microbiana (C; puntos amarillos), las bacterias (B; puntos azules), el fitoplancton (F; puntos rojos), y el zooplancton (Z; puntos verdes) en la estación “El Gallo” en la BTS.

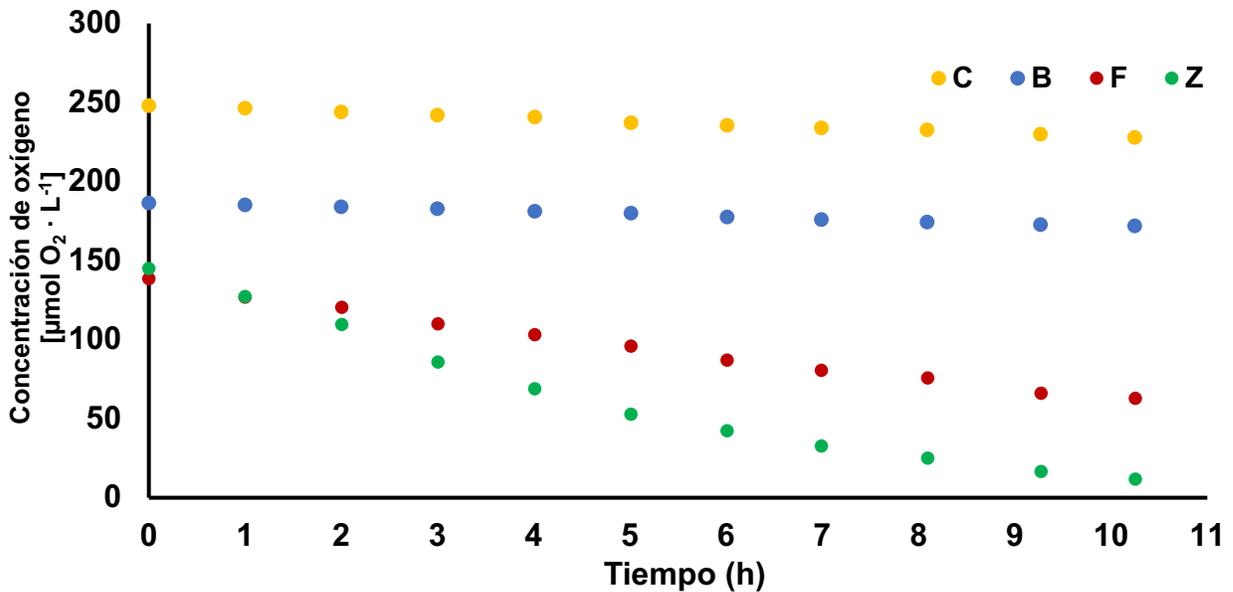


Figura 13. Tasas de consumo de oxígeno disuelto [ $\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ] de los grupos planctónicos asociados a muestras de agua del evento FAN de julio de 2021. Entre los grupos se representa a la comunidad microbiana (C; puntos amarillos), las bacterias (B; puntos azules), el fitoplancton (F; puntos rojos), y el zooplancton (Z; puntos verdes) en la estación “El Gallo” en la BTS.

### 6.4.3. Metabolismo bacteriano durante incubaciones prolongadas

Algunas de las observaciones particulares en los experimentos fueron los cambios inusuales en la concentración de oxígeno disuelto en las muestras que contenían a las comunidades bacterianas al prolongar el tiempo de medición. En 2020, la tasa de consumo de oxígeno fue de  $2.6 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  durante 12 horas, en un intervalo de 60 minutos la concentración pasó de  $150.5$  a  $120.4 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$  (Fig. 14).

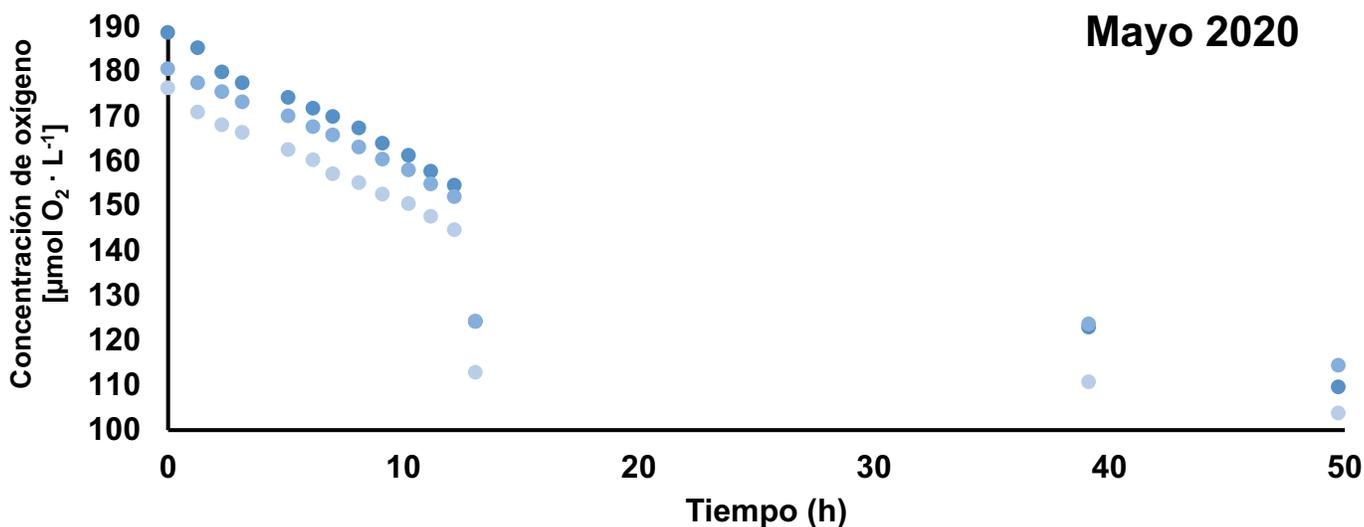


Figura 14. Tasas de consumo de oxígeno disuelto [ $\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ] de las réplicas (n=3) de muestras de agua con la comunidad procariota del evento FAN de mayo de 2020.

En cambio, la comunidad bacteriana en el FAN de mayo de 2021 mantuvo un consumo constante de  $0.2 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  durante 30 horas en donde la concentración de oxígeno se encontraba en  $215.6 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$  y a partir de este tiempo, la tasa de consumo aumentó a  $2.7 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  en las últimas 11 horas de medición, finalizando con una concentración de  $187 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$  (Fig. 15).

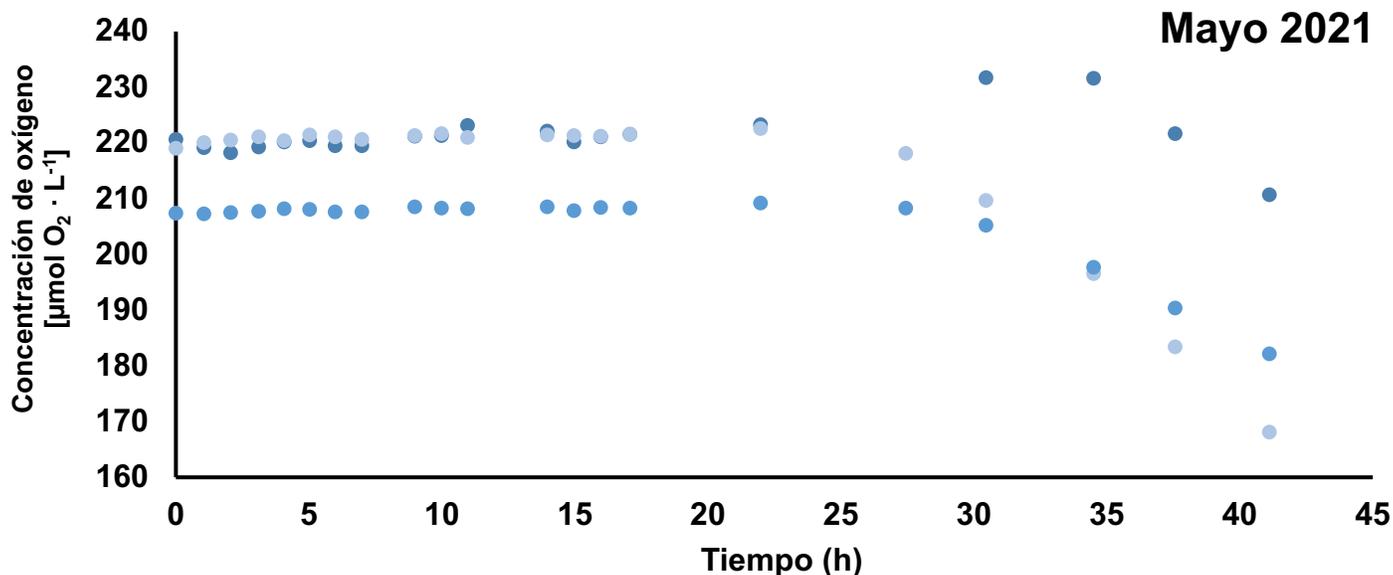


Figura 15. Tasas de consumo de oxígeno disuelto [ $\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ] de las réplicas (n=3) de muestras de agua con la comunidad procariota del evento FAN de mayo de 2021.

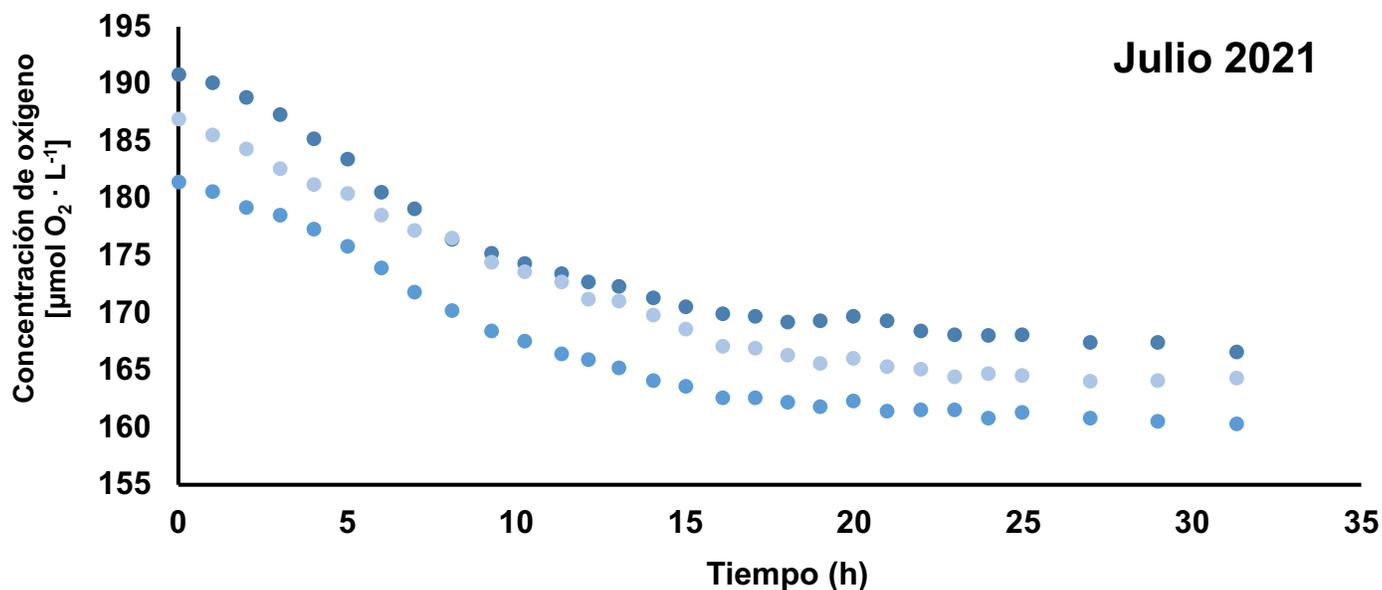


Figura 16. Tasas de consumo de oxígeno disuelto [ $\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ] de las réplicas (n=3) de muestras de agua con la comunidad procariota del evento FAN de julio de 2021.

En contraste con las comunidades bacterianas descritas anteriormente en julio de 2021, los procariotas heterótrofos presentes en las muestras tuvieron un consumo de oxígeno constante durante todo el experimento sin cambios inusuales como en

los eventos pasados. La concentración inicial fue de  $186.4 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$  y terminó el experimento con una concentración de  $163.7 \mu\text{mol O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$  durante 31 horas (Fig. 16).

## 7. Discusión

La formación de florecimientos algales tiene implicaciones importantes en la red microbiana y en los ciclos biogeoquímicos que se derivan por las interacciones entre estos grupos. La composición taxonómica de la comunidad fitoplanctónica juega un papel fundamental en la calidad y cantidad de sustrato orgánico, el cual determina el estado metabólico de la comunidad microbiana y con ello su función en el ecosistema marino. En este trabajo, se estudiaron los diferentes estados en el metabolismo que representaron las comunidades microbianas en función del flujo de oxígeno en eventos FAN ocurridos entre 2020 y 2021 para poder comprender más acerca sobre estos procesos microbianos.

### 7.1. Estado metabólico de la comunidad microbiana en presencia de dos especies de dinoflagelados formadores de FAN.

Los datos recabados en el experimento con las muestras del FAN de mayo de 2020 son muy importantes debido a que el inicio de la pandemia no nos permitió darle un seguimiento más exhaustivo al florecimiento de ese año. Las características ópticas descritas sobre la coloración de la superficie del océano durante este mes sugirieron un importante periodo de transición en la dominancia de los componentes principales de la comunidad fitoplanctónica. Este acontecimiento abre la incógnita de ¿Cómo responderán los grupos microbianos ante la presencia del metabolismo heterótrofo de *N. scintillans* y el metabolismo mixotrófico de *L. polyedra*?

El incremento en el consumo de oxígeno disuelto fue atribuido principalmente a los sitios en donde la concentración celular de *N. scintillans* fue mayor al resto de sitios de muestreo. El alto requerimiento de oxígeno en el metabolismo heterótrofo de *N. scintillans* destaca su eficaz estrategia fagotrófica al engullir múltiples presas. Saito y colaboradores (2006) demostraron que las tasas de respiración de *N. scintillans* aumentan significativamente cuando existe un suministro continuo de alimento en comparación de cepas en ausencia de alimento. La habilidad para engullir diversas presas ha sido reportada previamente por Bustillos-Guzmán y colaboradores (2013), estos autores observaron que en el medio natural durante un FAN del dinoflagelado productor de saxitoxina *Gymnodinium catenatum* en la bahía de La

Paz, encontraron que en una célula de *N. scintillans* aparecían hasta 40 células de *G. catenatum*. Esto sugiere el potencial heterótrofo en el estado metabólico que se presentó en el FAN de mayo de 2020 ante el desarrollo del FAN de *N. scintillans*. A pesar de su alta tasa de ingestión esta especie no presenta una saciedad excesiva en sus hábitos alimenticios, sin embargo, la calidad del sustrato orgánico producido por *N. scintillans* dependerá de su selectividad al momento de alimentarse (Bustillos- Guzmán et al., 2013; Zhang et al., 2017).

La mayor  $R_{pro}$  obtenida en PM (Fig. 3) podría estar asociada con la calidad de la materia orgánica producida por *N. scintillans*. El acumulamiento de  $NH_4^+$  y  $PO_4^{3-}$  en el interior de las vacuolas de *N. scintillans* le confiere a esta especie una importante participación en los procesos microbianos al ser una potencial fuente alterna de nutrientes regenerados (Zhang et al., 2017). En general *N. scintillans* engulle directamente a sus presas, pero en otras ocasiones puede formar una red de mucosa o exopolímeros transparentes (TEPs) que le permiten atrapar las partículas suspendidas en el agua en donde bacterias se aprovechan de los agregados brindándoles suficiente sustrato orgánico (Dirt et al., 2013; Zhang et al., 2017). Estas estructuras viscosas de color naranja fueron observadas en el campo en mayo de 2020 (Fig. 2), por lo que la composición y la calidad de las partículas adheridas a los TEPs exudados por *N. scintillans* sugieren que los procariontes heterótrofos en PM lograron satisfacer sus requerimientos metabólicos de C orgánico, lo que les permitió un mayor consumo de oxígeno en comparación con los otros sitios de muestro.

La formación de florecimientos algales por especies de fitoplancton con carácter heterótrofo puede contribuir a la formación de zonas de hipoxia debido al continuo suministro de MOD y MOP que será aprovechado por otros grupos microbianos que, en conjunto, inducen a una comunidad microbiana heterótrofa además de la liberación de  $CO_2$  al sistema como producto de la respiración aeróbica. En esta ocasión se ha descrito anteriormente el papel multifacético que tienen los FAN de *N. scintillans* en el ecosistema marino, uno de ellos resalta su potencial como “biocontrol” en la formación de FAN de otras especies de fitoplancton (control top-

down). Rodríguez y colaboradores (2005) observaron la gran capacidad de pastoreo de *N. scintillans* al contribuir en el decaimiento de un FAN de *G. catenatum* en la bahía de Mazatlán. Por otro lado, Bustillos-Guzmán y colaboradores sugieren que la dieta de *G. catenatum* podría no cumplir con los requerimientos nutricionales para mantener el crecimiento de *N. scintillans* ya que, además podría requerirse un mayor gasto energético para procesar las toxinas derivadas de *G. catenatum* lo que podría dañar el tejido celular de *N. scintillans* al igual como algunas cepas que encontraron estos autores durante el evento FAN.

La amplia aceptación de diversas especies de dinoflagelados y diatomeas en los hábitos alimenticios de *N. scintillans* ha sido registrada en varias ocasiones por diferentes autores (Harrison et al., 2011; Hernández-Becerril, 2014). Los distintos productos químicos que son sintetizados por estos grupos fitoplanctónicos, le brindan a *N. scintillans* un importante control bottom up como fuente de regeneración de nutrientes como amonio y fosfato (Zhang et al., 2017). Zhang y colaboradores (2017) detectaron una variación en el contenido de  $PO_4^{3-}$  acumulado en las vacuolas digestivas de *N. scintillans* después de ser alimentado con la diatomea *Thalassiosira weissflogii*, lo cual podría sugerir que el fosfato estaba siendo utilizado para la degradación de la presa en la última etapa de la respiración (fosforilación oxidativa) para el transporte y almacenamiento de energía. La importancia en el contenido de  $NH_4^+$  y  $PO_4^{3-}$  en el interior de *N. scintillans* es debido a la liberación de estos compuestos orgánicos al sistema cuando los florecimientos de esta especie esta en su fase de decaimiento.

Las tasas de respiración de las comunidades microbianas en mayo de 2020 presentaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en el consumo de oxígeno disuelto, esto sugiere que las subpoblaciones de comunidades microbianas no siguen un comportamiento generalizado, por lo que la dinámica del florecimiento depende de los procesos locales que influyen en cada sitio de estudio. En la BTS existe un sistema activo de brisas en donde durante el día se genera un transporte activo del viento de mar hacia la costa, Ruíz-de la Torre y colaboradores (2013) señalaron la importancia del transporte del viento y la estratificación térmica en los primeros

metros (1-3 m) de la columna de agua que permiten que los parches de FAN se mantengan cercanos a la costa. Por otro lado, las características topográficas de la bahía la han catalogado como un semillero de quistes de reposo de especies de dinoflagelados formadores de FAN, entre ellas *L. polyedra* la cual es una especie recurrente en los FAN de la región (Peña-Manjarrez et al., 2001). Los aspectos geológicos, físicos y químicos son los que se encargan de modular el rendimiento metabólico de las comunidades microbianas, esto sugiere una posibilidad por la cual las tasas de respiración en mayo de 2020 no mostraron un patrón similar entre ellas.

## **7.2. Estado metabólico de comunidades microbianas asociadas a FAN en la Bahía de Todos Santos**

En comparación con lo sucedió en el evento FAN de 2020, la participación del metabolismo mixotrófico de *L. polyedra* fue evidente en mayo de 2021 en donde mantuvo una alta tasa de consumo y producción de oxígeno (Fig. 5 y 8). En 2005, Jeong y colaboradores reportaron por primera vez la capacidad mixotrófica de *L. polyedra* al determinar su capacidad fagotrófica mediante la ingesta de una variedad de especies de fitoplancton. El uso parcial de la fagotrofia en esta especie no es muy clara dada a su naturaleza autotrófica y otros mecanismos que le han conferido a *L. polyedra* ser una especie modelo. Se ha inferido que la mixotrofia es muy flexible y que puede variar de acuerdo a las necesidades metabólicas del organismo ante los cambios en las condiciones ambientales (irradiancia, temperatura y nutrientes) (Mansour y Anestis, 2021). La tasa de consumo y producción de oxígeno de *L. polyedra* sugiere la flexibilidad del metabolismo mixotrófico en cuanto a la emisión y ausencia de luz en las muestras del FAN de mayo de 2021.

La temperatura y la disponibilidad de nutrientes también son variables importantes que determinar el rendimiento del metabolismo microbiano. El aumento de la temperatura superficial del mar implica un mayor gasto metabólico y consecuentemente una mayor necesidad por el consumo de energía, *L. polyedra* tiene amplia tolerancia a diferentes temperaturas en donde algunos autores sugieren una ventana térmica de 15 a 25°C (Lewis y Hallett, 1997; Peña-Manjarrez, 2008). Peña-Manjarrez (2008) estudio el crecimiento de *L. polyedra* al combinar la

temperatura y la luz para evaluar las tasas de crecimiento en donde encontró que esta especie crece a una temperatura óptima de 20°C en 100 y 300  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ . Esta adaptabilidad fisiológica de *L. polyedra* le permite migrar verticalmente en la columna de agua y modular la temperatura e irradiancia, así como la asimilación de nutrientes. Bellefeuille y colaboradores (2014) observaron que *L. polyedra* puede mantener su metabolismo autotrófico por 14 días en un medio limitado por N; estos autores sugieren que esta especie degrada las moléculas con bases nitrogenadas como proteínas, aminoácidos libres y clorofila para satisfacer sus requerimientos de nitrógeno. Estas observaciones ponen en evidencia algunos de los mecanismos fisiológicos destacados que le permiten a *L. polyedra* formar y mantener altas concentraciones cuando se desarrolla un FAN.

La competitividad metabólica de los grupos microbianos por los recursos disponibles puede depender del tamaño celular, composición taxonómica y la fase de crecimiento de la población (López-Sandoval et al., 2014). Los procariontes heterótrofos en el FAN de mayo de 2021 mantuvieron un consumo mínimo en comparación con los eventos de mayo de 2020 y julio 2021 (Fig. 5) en donde la concentración de células fitoplanctónicas fue mayor (Tabla VI; Anexos). El bajo consumo de oxígeno por parte de la comunidad bacteriana puede sugerir que el MOD y MOP derivado del FAN de *L. polyedra* no cumplía con los requerimientos de C orgánico necesarios para satisfacer a las especies procariontes presentes durante el florecimiento. Un comportamiento similar fue observado por García-Martín y colaboradores (2019), quienes reportan que la producción de carbono orgánico disuelto producido por el fitoplancton se encontraba en exceso en las muestras de campo, sin embargo, no se encontró una relación entre la disponibilidad de materia orgánica y las tasas de respiración bacteriana.

Por otro lado, la competitividad por nutrientes podría estar asociado con la baja tasa de respiración de los procariontes, dado que, el fitoplancton es el principal competidor en la asimilación de nutrientes inorgánicos con otros grupos microbianos. El estudio realizado por Aranguren (2011) resalta la importante influencia del componente principal entre los productores primarios para determinar el grado metabólico del

sistema, además de los procesos hidrográficos que modulan la actividad biológica. Este autor sugiere que la disponibilidad de nutrientes es un factor importante que modula el rendimiento de las tasas de respiración de la comunidad microbiana.

Los procariontes heterótrofos en el FAN de julio de 2021 tuvieron mayor participación en las tasas de respiración, mientras que, la comunidad fitoplanctónica no se encontraba dominada por una especie en específico si no que estaba compuesta por diversas especies de dinoflagelados mixótrofos y heterótrofos. Esto podría sugerir que la presencia de varias especies de fitoplancton pudiera estar brindando mayor diversidad de sustratos orgánicos lo que beneficia a las especies procariontes en las muestras obtenidas del FAN de julio. García-Martín y colaboradores (2019) determinaron que la comunidad microbiana en las aguas templadas del mar Céltico durante el mes de julio presentó un estado metabólico en equilibrio en donde la concentración de clorofila *a* era menor que la producción bacteriana. Al igual que estos autores, en este trabajo la comunidad microbiana en el FAN de julio de 2021 presentó un estado metabólico en equilibrio (PNC=PPB) en donde la concentración de células procariontes era mayor que las células fitoplanctónicas.

### **7.3. Cultivos no axénicos de *Lingulodinium polyedra***

La rápida adaptabilidad de *L. polyedra* en los cultivos no axénicos sugiere un eficaz rendimiento fisiológico de la especie para desarrollarse en condiciones óptimas. Peña-Manjarrez (2008) determinó una tasa de crecimiento similar a la obtenida en este trabajo quien obtuvo un  $\mu$  de  $0.52 \text{ div} \cdot \text{d}^{-1}$ , mientras que en este trabajo se obtuvo un  $\mu$  de  $0.54 \text{ div} \cdot \text{d}^{-1}$  utilizando las mismas condiciones de irradiancia y temperatura que se utilizaron en este trabajo. Estos resultados muestran la facilidad que le otorga la mixotrofia a *L. polyedra* para mantener un metabolismo eficaz y satisfacer una alta tasa de crecimiento cuando las condiciones ambientales son ideales para su desarrollo.

#### **7.4. Manipulación experimental para la determinación de las tasas metabólicas para futuras investigaciones**

En los tratamientos aplicados en las tasas de producción primaria en muestras del FAN de mayo de 2020, se sugiere que la participación de la vitamina B<sub>12</sub> mejora los procesos fotosintéticos y señala una comunidad microbiana auxotrófica por vitaminas de tipo B. Por otro lado, la adición de N y P podría atribuir a que estos nutrientes fueron utilizados en otras rutas metabólicas que utilizan el oxígeno para llevar a cabo la reacción. Sin embargo, la combinación de nutrientes y vitaminas sugiere que la importancia de la B12 como cofactor para que se lleven a cabo los procesos fotoautótrofos. Cruz-López y colaboradores (2018) reportaron que *L. polyedra* brinda el sustrato orgánico que propicia a la producción de vitaminas B<sub>1</sub> y B<sub>12</sub> por las bacterias *Dinoroseobacter shibae*, que se encuentran adheridas al dinoflagelado o suspendidas en el agua. Por otro lado, Cruz-López (2014) encontró tres grupos diferentes de bacterias adheridas a la superficie de *L. polyedra*, lo que sugiere que la superficie celular de diferentes especies de fitoplancton puede generar nichos bacterianos mediante el intercambio de compuestos orgánicos (simbiosis).

La contraparte negativa en las interacciones fitoplancton-bacteria en donde la comunidad bacteriana puede inducir al decaimiento del fitoplancton. Mayali y colaboradores (2007) observaron que la acción alguicida de cepas pertenecientes al grupo Bacteriodetes indujeron la formación de quistes temporales de *L. polyedra*, quien utiliza esta estrategia para remover las bacterias adheridas a la célula cuando estas perjudican al dinoflagelado. La actividad antagónica también ha sido descrita en el caso inverso, en donde algunas especies de fitoplancton producen metabolitos secundarios que tienen un efecto antibacteriano que modula el crecimiento de bacterias con potencial patógeno. Quijano-Scheggia y colaboradores (2016) encontraron un potencial efecto inhibitorio en extractos provenientes de *L. polyedra* en las bacterias *Vibrio vulnificus* y *Staphylococcus aureus*. Lo descrito anteriormente refleja cómo la diversidad metabólica de las comunidades microbianas influye entre sí, además de los factores abióticos, en la estructuración taxonómica de estas comunidades. El fitoplancton compite con las bacterias en el consumo de nutrientes,

por lo que la exclusión del fitoplancton en las incubaciones favorece el crecimiento bacteriano. Por otro lado, el metabolismo mixotrófico aún es un reto para comprender su implicación en la dinámica microbiana.

Por otro lado, el zooplancton consiste en su mayoría de organismos heterótrofos que requieren oxígeno para mantener su metabolismo activo (cita). La alta demanda en el consumo de oxígeno en el FAN de mayo de 2021 sugiere la intervención de la heterotrofia de la comunidad planctónica y la mixotrofia de *L. polyedra*. En mayo de 2020 la comunidad procariota en la estación PM se encontraba influenciada por un metabolismo mixotrófico derivado del fitoplancton en donde la intervención del metabolismo heterótrofo de *N. scintillans* aumento la competitividad por el oxígeno. El cambio abrupto en la concentración de oxígeno en las botellas puede ser producto de la remoción de otros competidores por lo que los procariotas tienen mayor disponibilidad para aprovechar los recursos. En mayo de 2021 el consumo de oxígeno de los procariotas sugiere que el crecimiento óptimo del fitoplancton tiene un importante control sobre otros grupos microbianos.

## 8. Conclusiones

Las tasas de respiración de las comunidades microbianas presentaron diferencias significativas entre los eventos de Florecimiento Algal Nocivo (FAN) del 2020 y 2021 en donde la composición taxonómica de la comunidad fitoplanctónica cambió en cada florecimiento.

En el FAN de 2020, la mayor concentración de células fitoplanctónicas del dinoflagelado heterótrofo *Noctiluca scintillans* promovió una comunidad microbiana (procariotas y eucariotas) heterótrofa al estimular el metabolismo bacteriano debido a la acumulación de partículas orgánicas.

En mayo de 2021, durante un FAN dominado *Lingulodinium polyedra* el metabolismo mixotrófico se adapta a los cambios en la disponibilidad de luz al mantener altas tasas en la producción y consumo de O<sub>2</sub>.

La diversidad taxonómica de especies fitoplanctónicas en el FAN de julio de 2021 pudieron aportar diferentes fuentes de carbono orgánico las cuales permitieron que la comunidad bacteriana mantuviera un metabolismo activo durante las incubaciones en comparación con los eventos FAN de mayo de 2020 y 2021.

Se debe considerar para futuras investigaciones la manipulación experimental para la determinación de las tasas metabólicas de organismos fitoplanctónicos mixotróficos.

## 9. Bibliografía

- Almazán-Becerril, A., Aké-Castillo, J. A., García-Mendoza, E., Sánchez-Bravo, Y. A., Escobar-Morales, S., y Valdez-Cruz, F. (2016). Catálogo de microalgas de Bahía de Todos Santos, Baja California. México: CICESE.
- Assmy, P., & Smetacek, V. (2009). Algal Blooms. In *Encyclopedia of Microbiology* (pp. 27–41). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-012373944-5.00001-8>
- Aranguren-Gassis, N. (2011). Balance metabólico neto de la comunidad de plancton microbiano en el giro oligotrófico subtropical del atlántico norte. Tesis doctoral. Universidad de Vigo. Departamento de Ecología y Biología Animal. España. 241 pp.
- Bellefeuille, S. D., Dorion, S., Rivoal, J., & Morse, D. (2014). The dinoflagellate *Lingulodinium polyedrum* responds to N depletion by a polarized deposition of starch and lipid bodies. *PLoS ONE*, 9(11). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111067>
- Bozzato, D., Jakob, T., & Wilhelm, C. (2019). Effects of temperature and salinity on respiratory losses and the ratio of photosynthesis to respiration in representative Antarctic phytoplankton species. *PLoS ONE*, 14(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0224101>
- Buchanan, B.B., Gruissem, W., y Jones, R. L. (2000). Biochemistry and Molecular Biology of Plants. American Society of Plant Biologist. 1367 p.
- Burkholder, J. A. M., Glibert, P. M., & Skelton, H. M. (2008). Mixotrophy, a major mode of nutrition for harmful algal species in eutrophic waters. *Harmful Algae*, 8(1), 77–93. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2008.08.010>
- Bustillos-Guzmán, J. J., Band-Schmidt, C. J., López-Cortés, D. J., Hernández-Sandoval, F. E., Núñez-Vázquez, E., & Gárate-Lizárraga, I. (2013). Pastoreo del dinoflagelado *Noctiluca scintillans* sobre el dinoflagelado productor de toxinas paralizantes *Gymnodinium catenatum*: ¿Elimina el pastoreo células durante un florecimiento? *Ciencias Marinas*, 39(3), 291–302. <https://doi.org/10.7773/cm.v39i3.2242>
- Calva-Chávez, M. A. (2014). Variación estacional y sinóptica de la trampa de surgencia en la Bahía de Todos Santos, B.C. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. Baja California. 49 pp.

- De La Cruz-Orozco, M. E., Valdéz-Holguín, J. E., Gaxiola-Castro, G., Mariano-Matías, M., y Espinosa-Carreón, T. L., (2010). Flujos de CO<sub>2</sub> océano-atmósfera. En: Gaxiola-Castro, G. y Durazo R. (eds). Dinámica del ecosistema pelágico frente a Baja California 1997-2007. Primera edición. 165-180 pp.
- Drits, A. v., Nikishina, A. B., Sergeeva, V. M., & Solov'ev, K. A. (2013). Feeding, respiration, and excretion of the Black Sea *Noctiluca scintillans* MacCartney in summer. *Oceanology*, 53(4), 442–450. <https://doi.org/10.1134/S0001437013040036>
- Durán-Riveroll, L. M., Band-Schmidt, C. J., Okolodkov, Y., B., y Almazán-Becerril, A. (2020). Mareas rojas en las costas de México: estado actual y perspectivas. Efectos del cambio climático en los litorales. *La Jornada*. 230. <https://www.researchgate.net/publication/341804829>
- Durazo, R., Ramírez-Manguilar, A.M., Miranda, L.E. y Soto-Mardones, L.A. (2010). Climatología de variables hidrográficas. En: Gaxiola-Castro, G. y Durazo R. (eds). Dinámica del ecosistema pelágico frente a Baja California 1997-2007. Primera edición. 25–57 pp.
- Durazo, R. (2015). Seasonality of the transitional region of the California Current System off Baja California. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 120(2), 1173–1196. <https://doi.org/10.1002/2014JC010405>
- Falkowski, P. G., Fenchel, T., y Delong, E. F. (2008). The microbial engines that drive earth's biogeochemical cycles. In *Science* (Vol. 320, Issue 5879, pp. 1034–1039). <https://doi.org/10.1126/science.1153213>
- Gárate-Lizárraga, I., Pérez-Cruz, B., Días-Ortiz, J., y Band-Schmidt, C. J. (2008). Microalgas y biotoxinas marinas en las costas mexicanas. *Conversus*. 9. 22-26 p.
- García-Martín, E. E., Daniels, C. J., Davidson, K., Davis, C. E., Mahaffey, C., Mayers, K. M. J., McNeill, S., Poulton, A. J., Purdie, D. A., Tarran, G. A., & Robinson, C. (2019). Seasonal changes in plankton respiration and bacterial metabolism in a temperate shelf sea. *Progress in Oceanography*, 177. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2017.12.002>
- García-Mendoza, E., Sánchez-Bravo, Y., A., Turner, A., Blanco, J., O'Neil, A., Mancera-Flores, J., Pérez-Brunius, P., Rivas, D., Almazán-Becerril, A., Peña-Manjarrez, J. L. (2014). Lipophilic toxins in cultivated mussels (*Mytilus galloprovincialis*) from Baja California, México. 90. 111-123 pp.

<https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2014.07.017>.

García-Mendoza, E., Cáceres-Martínez, J., Rivas, D., Fimbres-Martínez, M., Sánchez-Bravo, Y., Vásquez-Yeomans, R., & Medina-Elizalde, J. (2018). Mass mortality of cultivated northern bluefin tuna *Thunnus thynnus orientalis* associated with *Chattonella* species in Baja California, Mexico. *Frontiers in Marine Science*, 5(DEC). <https://doi.org/10.3389/fmars.2018.00454>

Gaxiola-Castro, G., Cepeda-Morales, J., Nájera-Martínez, S., Espinosa-Carreón, T. L., De la Cruz-Orozco, M. E., Sosa-Avalos, R., Aguirre-Hernández, E., y Cantú-Ontiveros. (2010). Biomasa y producción del fitoplancton. En: Gaxiola-Castro, G. y Durazo R. (eds). *Dinámica del ecosistema pelágico frente a Baja California 1997-2007*. Primera edición. 59-86 pp.

Gomes, H., Goes, J. I., Matondkar, S. G. P., Buskey, E. J., Basu, S., Parab, S., & Thoppil, P. (2014). Massive outbreaks of *Noctiluca scintillans* blooms in the Arabian Sea due to spread of hypoxia. *Nature Communications*, 5. <https://doi.org/10.1038/ncomms5862>

Gonçalves Leles, S., Polimene, L., Bruggeman, J., Blackford, J., Ciavatta, S., Mitra, A., & Flynn, K. J. (2018). Modelling mixotrophic functional diversity and implications for ecosystem function. *Journal of Plankton Research*, 40(6), 627–642. <https://doi.org/10.1093/plankt/fby044>

Guillard, R.R.L. (1975). Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. En: Smith, W.L. y Chanley, M. H. (eds). *Culture of Marine invertebrate Animals*. Plenum Press, New York, USA. 26-60 pp.

Guillard, R.R.L. y Hangraves, P.E. (1993). *Stichochrysis immobilis* is a diatom, not a chrysophyte. *Phycologia* 32: 234-236 pp.

Harrison, P. J., Furuya, K., Glibert, P. M., Xu, J., Liu, H. B., Yin, K., Lee, J. H. W., Anderson, D. M., Gowen, R., Al-Azri, A. R., & Ho, A. Y. T. (2011). Geographical distribution of red and green *Noctiluca scintillans*. In *Chinese Journal of Oceanology and Limnology* (Vol. 29, Issue 4, pp. 807–831). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s00343-011-0510-z>

Hernández-Becerril, D. U. (2014). Biodiversidad de algas planctónicas marinas (Cyanobacteria, Prasinophyceae, Euglenophyta, Chrysophyceae, Dictyochophyceae, Eustigmatophyceae, Parmophyceae, Raphidophyceae, Bacillariophyta, Cryptophyta, Haptophyta, Dinoflagellata) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. Supl.85. 44–53. <https://doi.org/10.7550/rmb.32037>

Honjo, S., Eglinton, T. I., Taylor, C. D., Ulmer, K. M., Sievert, S. M., Bracher, A.,

- German, C. R., Edgcomb, V., Francois, R., Deboraiglesias-Rodriguez, M., van Mooy, B., & Repeta, D. J. (2014). The role of the biological pump in the global carbon cycle understanding an imperative for ocean science. In *Oceanography* (Vol. 27, Issue 3, pp. 10–16). Oceanography Society. <https://doi.org/10.5670/oceanog.2014.78>
- Jacox, M. G., Hazen, E. L., Zaba, K. D., Rudnick, D. L., Edwards, C. A., Moore, A. M., & Bograd, S. J. (2016). Impacts of the 2015–2016 El Niño on the California Current System: Early assessment and comparison to past events. *Geophysical Research Letters*, *43*(13), 7072–7080. <https://doi.org/10.1002/2016GL069716>
- Jeong, H. J., Yeong, D. Y., Jae, Y. P., Jae, Y. S., Seong, T. K., Seung, H. L., Kwang, Y. K., & Won, H. Y. (2005). Feeding by phototrophic red-tide dinoflagellates: Five species newly revealed and six species previously known to be mixotrophic. *Aquatic Microbial Ecology*, *40*(2), 133–150. <https://doi.org/10.3354/ame040133>
- Kahru, M., Anderson, C., Barton, A. D., Carter, M. L., Catlett, D., Send, U., Sosik, H. M., Weiss, E. L., & Mitchell, B. G. (2021). Satellite detection of dinoflagellate blooms off California by UV reflectance ratios. *Elementa*, *9*(1). <https://doi.org/10.1525/elementa.2020.00157>
- Kirchman, D. L. (2012). *Processes in microbial ecology*. Oxford University Press. New York. 312 pp.
- Kudela, R. M., Lane, J. Q., & Cochlan, W. P. (2008). The potential role of anthropogenically derived nitrogen in the growth of harmful algae in California, USA. *Harmful Algae*, *8*(1), 103–110. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2008.08.019>
- Larrañaga-Fu. M.J. (2013). Variabilidad de la circulación superficial en la bahía Todos Santos, Baja California, México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Marinas. Universidad Autónoma de Baja California. 63 pp.
- Lewis, J., y Hallett, R. (1997). *Lingulodinium polyedrum* (*Gonyaulax polyedra*) a blooming dinoflagellate. Gibson, R., N., y Barnes, M. (1997). *Oceanography and Marine Biology. An Annual Review*. 35. 436 pp.
- López-Sandoval, D. C., Rodríguez-Ramos, T., Cermeño, P., Sobrino, C., & Marañón, E. (2014). Photosynthesis and respiration in marine phytoplankton: Relationship with cell size, taxonomic affiliation, and growth phase. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, *457*, 151–159. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2014.04.013>
- Mansour, J. S., & Anestis, K. (2021). *Eco-Evolutionary Perspectives on*

- Mixoplankton. In *Frontiers in Marine Science* (Vol. 8). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.666160>
- Mauzole, Y. L., Torres, H. S., & Fu, L. L. (2020). Patterns and Dynamics of SST Fronts in the California Current System. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 125(2). <https://doi.org/10.1029/2019JC015499>
- Mayali, X., Franks, P. J. S., & Azam, F. (2007). Bacterial induction of temporary cyst formation by the dinoflagellate *Lingulodinium polyedrum*. *Aquatic Microbial Ecology*, 50(1), 51–62. <https://doi.org/10.3354/ame01143>
- Mckinnon, A. D., Duggan, S., Logan, M., & Linborg, C. (2017). Plankton respiration, production, and trophic state in tropical coastal and shelf waters adjacent to northern Australia. *Frontiers in Marine Science*, 4(OCT). <https://doi.org/10.3389/fmars.2017.00346>
- Méndez-González, R. L. (2021). Variabilidad espacio-temporal de diatomeas con potencial nocivo y su relación con la distribución de vitamina  $B_{12}$  (particulada y disuelta) en la Bahía Todos Santos, Baja California. Tesis de Maestría en Ciencias. Instituto de Investigaciones Oceanológicas. Facultad de Ciencias Marinas. Universidad Autónoma de Baja California. 73 pp.
- Munn, C. B. (2020). *Marine microbiology: ecology and applications*. CRC Press. Third edition. 437 pp.
- Murray, S. A., Suggett, D. J., Doblin, M. A., Kohli, G. S., Seymour, J. R., Fabris, M., & Ralph, P. J. (2016). Unravelling the functional genetics of dinoflagellates: a review of approaches and opportunities. *Perspectives in Phycology*, 3(1), 37–52. <https://doi.org/10.1127/pip/2016/0039>
- Navarro-Olache, L. F., Castro, R., Durazo, R., Hernández-Walls, R., Mejía-Trejo, A., Flores-Vidal, X., & Flores-Morales, A. L. (2021). Influence of Santa Ana winds on the surface circulation of Todos Santos Bay, Baja California, Mexico. *Atmosfera*, 34(1), 97–109. <https://doi.org/10.20937/ATM.52719>
- Paredes-Banda, P., García-Mendoza, E., Ponce-Rivas, E., Blanco, J., Almazán-Becerril, A., Galindo-Sánchez, C., & Cembella, A. (2018). Association of the toxigenic dinoflagellate *Alexandrium ostenfeldii* with spiroside accumulation in cultured mussels (*Mytilus galloprovincialis*) from Northwest Mexico. *Frontiers in Marine Science*, 5(DEC). <https://doi.org/10.3389/fmars.2018.00491>
- Prevett, A., Lindström, J., Xu, J., Karlson, B., & Selander, E. (2019). Current Biology Grazer-induced bioluminescence gives dinoflagellates a competitive edge. *R564 Current Biology*, 29, 551–567. <https://doi.org/10.1016/j>

- Rodríguez, R. A., Ochoa, J. L., & Uribe Alcocer, M. (n.d.). Grazing of heterotrophic dinoflagellate *Noctiluca scintillans* (Mcartney) Kofoid on *Gymnodinium catenatum* Graham. MICROBIOLOGÍA MICROBIOLOGÍA
- Ruiz-de la Torre, M. C, Maske H, Ochoa J, Almeda-Jauregui CO (2013). Maintenance of Coastal Surface Blooms by Surface Temperature Stratification and Wind Drift. PLoS ONE 8(6): <https://doi.org/10.1371/annotation/a2f49bbd-e226-4a15-900a-5946cff07d75>
- Peña-Manjarrez, L., Gaxiola-Castro, G., Helenes-Escamilla, J., & Orellana-Cepeda, E. (2001). TODOS SANTOS (INVIERNO-PRIMAVERA, 2000) CYSTS OF *Lingulodinium polyedrum*, RED TIDE PRODUCING ORGANISM IN THE TODOS SANTOS BAY (WINTER-SPRING, 2000) (Vol. 27, Issue 4).
- Peña Manjarrez, J. L. (2008). Ecología de dinoflagelados productores de florecimientos en la Bahía de Todos Santos, Baja California. Tesis de Doctorado en Ciencias. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California. 196 pp.
- Quijano-Scheggia, C., Lim, C., Leaw, P., & Pérez, B. (2016). Revista de Biología Tropical. *Revista de Biología Tropical*, 64(2), 805–816. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=44945722027>
- Robinson, C. (2019). Microbial respiration, the engine of ocean deoxygenation. In *Frontiers in Marine Science* (Vol. 5, Issue JAN). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmars.2018.00533>
- Saito, H., Furuya, K., y Lirdwitayaprasit, T. (2006). Photoautotrophic growth of *Noctiluca scintillans* with the endosymbiont *Pedinomonas noctilucae*. *Plankton Benthos Res.* 1 (2): 97-101 pp.
- Villegas-Mendoza, J., Cajal-Medrano, R., & Maske, H. (2019). B12 production by marine microbial communities and *Dinoroseobacter shibae* continuous cultures under different growth and respiration rates. *Aquatic Microbial Ecology*, 83(3), 251–262. <https://doi.org/10.3354/ame01921>
- Yang, B., Emerson, S. R., & Angelica Peña, M. (2018). The effect of the 2013-2016 high temperature anomaly in the subarctic Northeast Pacific (the “blob”) on net community production. In *Biogeosciences* (Vol. 15, Issue 21, pp. 6747–6759). Copernicus GmbH. <https://doi.org/10.5194/bg-15-6747-2018>
- Zhang, S., Liu, H., Glibert, P. M., Guo, C., & Ke, Y. (2017a). Effects of prey of different nutrient quality on elemental nutrient budgets in *Noctiluca scintillans*. *Scientific Reports*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-05991-w>

Zumaya-Basurto, L. J. (2017). Estudio sobre el impacto económico de los Florecimientos Algales Nocivos ocurridos en 2015 en la región de San Felipe, B.C. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias Marinas. Universidad Autónoma de Baja California. 60 pp.

## Anexos

Tabla VI. Abundancia relativa (%) de la comunidad fitoplanctónica, abundancia absoluta de células de fitoplancton y procariotas en los experimentos de respiración del FAN de mayo de 2020, mayo y julio de 2021.

Abundancias	Microbios marinos	Mayo-20	Mayo-21	Julio-21
Abundancia relativa (%)	<i>Lingulodinium polyedra</i>	28	56	9
	<i>Noctiluca scintillans</i>	38	0	0
	<i>Prorocentrum micans</i>	2	35	0
	<i>Prorocentrum gracile</i>	5	0	0
	<i>Tripos furca</i>	3	0	15
	<i>Tripos seta</i>	0	0	25
	<i>Tripos divaricatus</i>	0	0	5
	<i>Nitzschia longissima</i>	18	0	0
	<i>Dinophysis acuminata</i>	0	2	0
	<i>Dinophysis sp.</i>	0	0	9
	<i>Protoceratium sp.</i>	0	0	7
	<i>Pseudo-Nitzschia sp.</i>	3	0	0
	Otros menos de 1%	4	7	30
Abundancia absoluta [cel · L <sup>-1</sup> ]	Fitoplancton	849,000	10,307,333	372,333
	Bacterias	864,087,000	200,042,000	185,838,000