

# **Universidad Autónoma de Baja California**

## **Facultad de Ciencias Marinas**



### **Maestría en Oceanografía Costera**

“Variabilidad espacio-temporal de diatomeas con potencial nocivo y su relación con la distribución de vitamina B<sub>12</sub> (particulada y disuelta) en la Bahía Todos Santos, Baja California”.

Tesis

para cubrir los requisitos necesarios para obtener el grado de  
Maestro en Ciencias

Presenta:

**Ruth Ludwinka Méndez González**

Ensenada, Baja California, México  
2021

TESIS DEFENDIDA POR  
**Ruth Ludwinka Méndez González**  
Y APROBADA POR EL SIGUIENTE COMITÉ



---

**Dra. Mary Carmen Ruíz de la Torre**

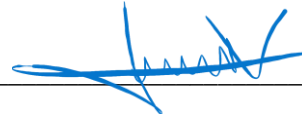
Directora del Comité



---

Dr. Aramis Olivos Ortiz

Miembro del Comité



---

Dr. Josué Rodolfo Villegas Mendoza

Miembro del Comité

Resumen de la tesis que presenta **Ruth Ludwinka Méndez González** como requisito parcial para la obtención del grado de Maestro en Ciencias en Oceanografía Costera.

“Variabilidad espacio-temporal de diatomeas con potencial nocivo y su relación con la distribución de vitamina B<sub>12</sub> (particulada y disuelta) en la Bahía Todos Santos, Baja California”.

Resumen aprobado por:

Dra. Mary Carmen Ruiz de la Torre  
**Director de tesis**

## RESUMEN

Algunos grupos auxótrofos del fitoplancton dependen de la vitamina B<sub>12</sub> (B<sub>12</sub>) para su crecimiento y subsistencia en el medio acuático. Para comprender la relación entre la presencia de la B<sub>12</sub> con la variabilidad espacio-temporal de especies de diatomeas con potencial nocivo y/o tóxicos presentes en la Bahía Todos Santos, Baja California, se llevó a cabo un monitoreo mensual durante ocho meses entre junio de 2020 y marzo de 2021 en superficie (2 m) y profundidad de la termoclina (20 m). Considerando los géneros *Pseudo-nitzschia* spp, potencialmente productora de ácido domoico (DA) y *Chaetoceros* spp, potencialmente nocivo para la biota marina. *Pseudo-nitzschia* spp, potencialmente productora de ácido domoico (DA) y *Chaetoceros* spp, potencialmente nocivo para la biota marina. *Pseudo-nitzschia* fue representativo en verano y otoño con las mayores abundancias que llegaron a ser de  $37 \times 10^4$  en las estaciones situadas en la entrada de la Bahía donde está influenciada por aguas más frías que oscilan entre 17 ° C y 19 ° C. Ambos géneros fueron más abundantes a 20m. La concentración de B<sub>12</sub> disuelta y de B<sub>12</sub> particulada fue de 2.4 pM, 2.8 pM respectivamente, lo que coincide con la presencia de *Pseudo-nitzschia* en dos estaciones oceánicas. Nuestros resultados sugieren que la distribución de B<sub>12</sub> particulada está relacionada con la presencia de spp. de diatomeas con potencial nocivo en la zona de estudio y su dinámica antes y después de una densa floración de algas. Este trabajo aporta información sobre la relación entre la distribución de B<sub>12</sub> particulada y la presencia de especies de diatomeas con potenciales nocivos en la Bahía Todos Santos.

**Palabras clave:** *Pseudo-nitzschia*, *Chaetoceros*, B<sub>12</sub> disuelta, B<sub>12</sub> particulada.

## *Dedicada*

*A mi abuelo Matozas, sé que donde quiera que este,  
estará orgulloso de este pequeño logro.*

*A mis hermosas mujeres, mi madre Maura y mi abue  
Maya, por haberme apoyado en todas las decisiones de mi  
vida y más lejos de casa. Por cuidar de mí, por ser mis  
guías, por su paciencia, por siempre escucharme. Han sido  
mi motivo para lograr esto.*

*A mi hermano Giovanni y mi padre Genaro, quienes  
me han ayudado a tener los pies en la tierra y a mantener  
la templanza ante los momentos adversos.*

*A mis chiquitos, Xime, Ame y Nicolás.*

## Agradecimientos

A la Universidad Autónoma de Baja California.

Al Posgrado en Oceanografía Costera, de la Facultad de Ciencias Marinas.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico otorgado para la realización de mis estudios de Maestría.

Al proyecto "Respuestas biológicas de la comunidad fitoplanctónica a la presencia de hierro disuelto y B<sub>12</sub> y sus implicaciones para la formación y persistencia de florecimientos algales nocivos en aguas costeras mexicanas" de la convocatoria Ciencia Básica del CONACyT.

A mi directora, la Dra. Mary Carmen Ruiz de la Torre, por creer en mí y en este trabajo. Por haberme incluido en su equipo de trabajo desde el primer día que llegue, por su buen trato y por siempre haber estado al pendiente de mi tanto en lo académico como en lo personal.

Al M. en C. Erick José Ponce Manjarrez, por su apoyo y ayuda incondicional, en el análisis estadístico de los resultados, por todas sus sugerencias, por haberme ayudado a ver desde otro panorama el proyectar mis resultados.

A mis sinodales: el Dr. Aramis Olivos por sus sabias palabras de aliento y motivación en los pequeños momentos de flaqueza, por sus ánimos, por su confianza en mí y en este trabajo, por darme una perspectiva diferente sobre este trabajo. Al Dr. Josué Villegas por su paciencia y sus enseñanzas sobre las vitaminas. A ambos por sus correcciones y observaciones al escrito.

Al equipo de campo Humberto, Mauricio y Ricardo, por el apoyo en las salidas de campo y por hacer de esta experiencia un trayecto muy ameno y divertido.

A mi familia chilanga en Ensenada, mis hermanitos Alexis, Erik, Jona e Ibrahim, sin su compañía, sus consejos y las tardes tan divertidas con ustedes la estancia lejos de casa no hubiera sido la misma sin ustedes. Gracias por haberme dado una nueva familia.

A mi ser de luz, Sebas, por llenar mi vida de buena vibra y enseñarme la vida desde otra perspectiva.

En especial a mi solecito, Josh, por el lazo tan cercano que formamos, aún en la distancia, por estar 24/7 para mí, por sus sabios consejos, por siempre escucharme, apoyarme y por toda la paciencia que me has tenido.

A todos los que me acompañaron durante el proceso de este trabajo ¡GRACIAS!

# Contenido

I. INTRODUCCIÓN.....	10
II. ANTECEDENTES .....	12
III. HIPÓTESIS.....	19
IV. OBJETIVOS .....	19
<b>2.1 Objetivo general .....</b>	<b>19</b>
<b>2.2 Objetivos particulares .....</b>	<b>19</b>
IV. METODOLOGÍA.....	20
<b>5.1 Área de estudio.....</b>	<b>20</b>
<b>5.2 Identificación y cuantificación celular de diatomeas dominantes con énfasis en especies o géneros con potencial nocivo.....</b>	<b>22</b>
<b>5.2.1 Índice de Shannon .....</b>	<b>24</b>
<b>5.2.2 Índice de Simpson.....</b>	<b>25</b>
<b>5.3. Determinación de vitamina B<sub>12</sub> disuelta y particulada.....</b>	<b>25</b>
<b>5.3.1 Extracción de vitamina B<sub>12</sub> particulada .....</b>	<b>25</b>
<b>5.3.2 Extracción de vitamina B<sub>12</sub> disuelta.....</b>	<b>26</b>
<b>5.3.3. Cuantificación de la concentración de vitamina B<sub>12</sub> (particulada y disuelta) en la BTS.....</b>	<b>27</b>
<b>5.4 Descripción de la variabilidad espacio-temporal de variables físico-químicas presentes en la zona .....</b>	<b>28</b>
<b>5.5 Procesamiento de datos y análisis estadístico.....</b>	<b>28</b>
V. RESULTADOS.....	29
<b>6.1 Identificación de diatomeas dominantes en la BTS .....</b>	<b>29</b>
<b>6.1.1 El género <i>Pseudo-nitzschia</i> H. Peragallo.....</b>	<b>30</b>
<b>6.1.2 El género <i>Chaetoceros</i> Ehrenberg.....</b>	<b>33</b>
<b>6.2 Cuantificación de diatomeas dominantes en la Bahía Todos Santos .....</b>	<b>39</b>
<b>6.3 Concentración de la vitamina B<sub>12</sub> particulada y disuelta en la Bahía de Todos Santos a 20m.....</b>	<b>41</b>
<b>6.3.1 Variabilidad espacio-temporal de las concentraciones de vitaminaB<sub>12</sub> particulada y disuelta.....</b>	<b>42</b>
<b>6.4 Variabilidad espacio-temporal de variables físico-químicas.....</b>	<b>44</b>
<b>6.5 Relación entre la abundancia de diatomeas con los parámetros ambientales.....</b>	<b>49</b>
<b>6.5.1 Relación entre la abundancia de <i>Pseudo-nitzschia</i> spp. y <i>Chaetoceros</i> spp con los parámetros ambientales .....</b>	<b>51</b>

VI. DISCUSIÓN .....	54
<b>7.1 Diatomeas dominantes en la Bahía Todos Santos y los géneros o especies con potencial nocivo.....</b>	<b>54</b>
<b>7.2 Vitamina B<sub>12</sub> (particulada y disuelta) en la Bahía de Todos Santos.....</b>	<b>57</b>
<b>7.3 Variabilidad espacio-temporal de variables físico-químicas presentes en la zona de estudio en las fechas de muestreo.....</b>	<b>60</b>
VII. CONCLUSIONES.....	61
VIII. REFERENCIAS.....	62
V. ANEXOS .....	68

## Índice de figuras

<b>Figura 1</b> Estructura de la vitamina B <sub>12</sub> . Tomada de Lazarowski, 2015.....	14
<b>Figura 3</b> Mapa batimétrico de la Bahía Todos Santos. Fuente: R. Castro.....	21
<b>Figura 4</b> Mapa de los transectos I (E01, E05, E10 y E12,) y transecto II (E04, E07, E08, E09) en los muestreos realizados en la BTS durante los meses de junio a noviembre 2020 y febrero-marzo 2021.....	21
<b>Figura 5</b> A) Características de la frústula del género <i>Pseudo-nitzschia</i> en tres vistas diferentes. Tomada de Lelong et al, 2012. B) Características morfológicas de las células del género <i>Chaetoceros</i> .....	23
<b>Figura 6</b> A. <i>Pseudo-nitzschia</i> c.f. <i>australis</i> I) Eje apical, II) nódulo central, III) Eje transapical cadenas en vista valvar (visto a 40x). B. <i>Pseudo-nitzschia</i> c.f. <i>delicatissima</i> (Cleve) Heiden C. <i>Pseudo-nitzschia</i> c.f. <i>calliantha</i> Lundholm (visto a 40x), Moestrup & Hasle. D-E. <i>Pseudo-nitzschia</i> c.f. <i>pungens</i> (Grunow ex Cleve) Hasle. F. <i>Pseudo-nitzschia</i> c.f. <i>fraudulenta</i> (Cleve) Hasle G. <i>Pseudo-nitzschia</i> c.f. <i>australis</i> Frenguelli (visto a 100x). Barra de escala 20 µm A-D, 50 µm.....	32
<b>Figura 7</b> Taxones del género <i>Chaetoceros</i> Ehrenberg. Escala 20µm, A. <i>Chaetoceros</i> cf. <i>densus</i> (Cleve) Cleve, B. <i>Chaetoceros</i> cf. <i>costatus</i> Pavillard, C. <i>Chaetoceros</i> cf. <i>debilis</i> Cleve, D. <i>Chaetoceros</i> cf. <i>curvisetus</i> Cleve, E. <i>Chaetoceros</i> cf. <i>didymus</i> Ehrenberg.....	35
<b>Figura 8</b> Abundancia total (cel L-1) de diatomeas en verano 2020 (julio-agosto 2020) y primavera 2021 (marzo 2021) a 20m se observaron los valores más altos de abundancias en la temporada de verano 2020 y primavera 2021.....	39
<b>Figura 9</b> Distribución de las abundancias de <i>Pseudo-nitzschia</i> spp. (cel L-1) y <i>Chaetoceros</i> spp. (cel L-1) durante las temporadas verano, otoño 2020 e invierno y primavera 2021, en las ocho estaciones muestreadas a dos profundidades 2 y 20m. Las mayores abundancias se presentaron en las estaciones 9, 10 y 12 señalados con flechas.....	40
<b>Figura 10</b> Concentración de B <sub>12</sub> (pM), particulada y total, durante los meses de muestreo en la BTS, en todas las estaciones.....	42
<b>Figura 11</b> Distribución de la concentración de vitB <sub>12</sub> (pM) en la fase disuelta y particulada de B <sub>12</sub> , durante todo el periodo de muestreo dentro de la Bahía Todos Santos (BTS).....	43
<b>Figura 12</b> Perfil de temperatura (°C) de los transectos I y II de la Bahía Todos Santos, en los meses de julio (A) y marzo (B) de 2020, con datos obtenidos con el CTD Cambiar el pie de figura e indicar que fueron datos de CTD.....	46
<b>Figura 13</b> Perfil de Oxígeno disuelto (OD) de los transectos I y II de la Bahía Todos Santos, en los meses de julio 2020 (A) y marzo 2021 (B), con datos obtenidos con el CTD.....	46
<b>Figura 14</b> Perfil de Clorofila a (µg/l) (sensor de fluorescencia, utilizado como proxy de biomasa fitoplanctónica) de los transectos I y II de la Bahía Todos Santos, en los meses de julio (A) 2020 y marzo (B) de 2021.....	47
<b>Figura 15</b> Abundancia del género <i>Pseudo-nitzschia</i> a 2 y 20m, en la BTS durante los muestreos de junio a noviembre 2020 y febrero, marzo 2021.....	47
<b>Figura 16</b> Temperatura (°C) (A), Oxígeno disuelto (µm) (B), clorofila (µg/l) (C), PAR (D). La caja representa la mediana de los datos, los bigotes son el límite de las cotas internas, los casos extraordinarios están representados con un punto y los casos extremos.....	49
<b>Figura 17</b> Análisis de Componentes Principales (ACP), de variables ambientales: temperatura (°C) y clorofila a (µg/l), oxígeno disuelto (OD), B <sub>12</sub> disuelta, particulada y total (pM) las temporadas de verano, otoño 2020 y primavera, invierno 2021 en la Bahía Todos Santos.....	50
<b>Figura 18</b> Análisis de componentes principales con las abundancias de <i>Pseudo-nitzschia</i> y <i>Chaetoceros</i> , presentes durante la campaña de muestreo. Se observa una relación entre las especies y las variables de clorofila a, temperatura, OD, PAR, B <sub>12</sub> disuelta, particulada y total.....	51

**Figura 19** Análisis de componentes principales de las abundancias del género *Pseudo-nitzschia* y las variables ambientales: clorofila a, temperatura, OD, PAR, B<sub>12</sub> disuelta, particulada y tota durante todos los meses de muestreo en la BTS..... 52

**Figura 20** Análisis de componentes principales de las abundancias del género *Chaetoceros* y las variables ambientales: clorofila a, temperatura, OD, PAR, B<sub>12</sub> disuelta, particulada y tota durante todos los meses de muestreo en la BTS..... 53

### Índice de tablas

**Tabla 1** Listado de diatomeas presentes en la Bahía Todos Santos, de junio-noviembre 2020 y febrero-marzo 2021. .... 36

**Tabla II** Características de las comunidades de diatomeas en la Bahía Todos Santos. H = Índice de diversidad de Shannon-Wiener. S = índice de dominancia..... 41

### Índice de anexos

**Anexo I** Resumen de la prueba de homocedasticidad (Leven's) de las variables ambientales en la Bahía Todos Santos.....69

**Anexo II** Resumen de la prueba de homocedasticidad (Leven's) de las variables biológicas en la Bahía Todos Santos.....69

**Anexo III** Resumen de la prueba de normalidad de las variables biológicas y ambientales.....70

**Anexo IV** Resumen del análisis de varianza (ANOVA) de las variables fisicoquímicas en la Bahía Todos Santos.....70

**Anexo V** Resultado de las pruebas del pos-hoc de Tukey durante toda la campaña de muestreo.71

## I. INTRODUCCIÓN

---

Las diatomeas son algas unicelulares ornamentada compuestas principalmente por sílice, la mayoría de ellas son autotróficas fotosintéticas, constituyen casi el 50% de la biomasa fitoplanctónica y representan el 25% de la producción primaria a nivel mundial (Field *et al*, 1998; Vilchis *et al*, 2020). Su composición, crecimiento, distribución y abundancia se asocia a la combinación de factores físicos, químicos y biológicos donde destacan: la luz, la temperatura, la disponibilidad de nutrientes orgánicos e inorgánicos (nitrógeno, fósforo, silicato, metales traza) relativamente altos, y vitaminas exógenas, como la B<sub>12</sub> (cobalamina) (Smayda, 1990; Gobler *et al*, 2007). Las diatomeas del género *Pseudo-nitzschia* bajo condiciones óptimas pueden formar biomasa y generar Florecimientos Algales Nocivos (FAN) debido a producen toxinas de tipo amnésico como el ácido domoico (AD). Por otro lado, el género *Chaetoceros* al generar altos niveles de biomasa pueden dañar a otros organismos como peces debido a su morfología o puede alterar la cantidad de luz que penetra a través de la columna de agua y con esto alterar el desarrollo de otras especies fitoplanctónicas y afectar distintos niveles superiores de la red trófica (Cullen *et al*, 2002; García-Mendoza *et al*, 2016).

La vitamina B<sub>12</sub> (B<sub>12</sub>), también llamada cobalamina está formada por un conjunto de compuestos organometálicos, cobalaminas, requeridos por la mayoría especies de fitoplancton para la producción primaria, existen diferentes formas principales de la B<sub>12</sub>, de las cuales los análogos frecuentes en aguas marinas son cianocobalamina (CyB<sub>12</sub>) e hidroxocobalamina (HyB<sub>12</sub>), otra variante es pseudocobalamina producida por cianobacterias (Barber-Lluch *et al*, 2021). Las vitaminas juegan un papel integral en la bioquímica celular del fitoplancton para su crecimiento, ya que requiere y dependen de la B<sub>12</sub>, la cual se adquiere de manera extracelular, debido a que carecen de una ruta metabólica funcional para producirla, la B<sub>12</sub> se encuentra en bajas concentraciones en el océano (pM), por lo que su disponibilidad puede ser un factor limitante (Gobler *et al*, 2007; Gutiérrez-Rosas, 2013) para el crecimiento de los auxótrofos. El fitoplancton es auxótrofo de B<sub>12</sub> (Gobler *et al*, 2007), la

distribución, el transporte y los factores que controlan los patrones de la B<sub>12</sub>. La síntesis de B<sub>12</sub> es exclusiva de ciertos grupos de procariotas (Bertrand *et al*, 2012, Villegas-Mendoza *et al*, 2019).

Dentro del grupo de diatomeas, el género *Pseudo-nitzschia* H. Peragallo, es considerado un género cosmopolita debido a su amplia distribución geográfica (Trainer *et al*, 2012); sin embargo, ciertas especies tienden a dominar en diferentes regiones del mundo (Bates *et al*, 1998). A nivel mundial, se han descrito 49 especies de *Pseudo-nitzschia*, de las cuales 25 producen ácido domoico (AD) como respuesta al estrés causado por la limitación de macro y micronutrientes entre otros factores (Trainer *et al*, 2008; García-Mendoza *et al*, 2009). En México se han registrado 21 especies de *Pseudo-nitzschia* de las cuales 10 tienen potencial tóxico (García-Mendoza *et al*, 2016), seis han sido reportadas como potencialmente productoras de AD en las costas del Pacífico (Quijano-Scheggia *et al*, 2020), ocho en el golfo de México y cuatro en el Golfo de California (Trainer *et al*, 2012), por esto el estudio de los factores bióticos y abióticos que puedan favorecer su crecimiento y afectar la dinámica de los FAN de diatomeas es importante.

Los FAN en Baja California, específicamente en la Bahía Todos Santos, han tenido efectos negativos no cuantificados a la economía de las empresas dedicadas al maricultivo de peces y moluscos bivalvos (García-Mendoza *et al*, 2016). En el 2007 se detectó por primera vez AD en un FAN dominado por la especie *Pseudo-nitzschia australis* (García-Mendoza *et al*, 2009; Santiago-Morales, 2011) y se han reportado la mortalidad de mamíferos asociado a la producción de AD (Durán-Flores, 2017). En Baja California Sur, FAN causados por diatomeas del género *Chaetoceros* han dado como resultado la muerte de los peces por asfixia (Garate-Lizarraga *et al*, 2016). Existen pocos estudios que presenten series de tiempo del comportamiento de los florecimientos y de la sucesión de la comunidad fitoplanctónica en relación con variables del ambiente como metales traza y vitaminas. En el presente trabajo se analizará la relación entre la concentración de B<sub>12</sub> y presencia de especies de diatomeas con potencial nocivo en la Bahía Todos Santos consumidoras de B<sub>12</sub>, con

la finalidad de contribuir al conocimiento sobre los factores que pueden favorecer la presencia de especies tóxicas de fitoplancton en la región.

## II. ANTECEDENTES

---

### **2.1 Características de la Corriente de California y dinámica fitoplanctónica**

El área de Baja California tiene influencia de la Corriente de California (CC), que fluye de norte a sur, aportando agua de baja salinidad y temperatura, con marcada estacionalidad entre los meses de julio 2020 y marzo 2021. Debido a la posición de la costa respecto a vientos predominantes desde el noroeste, las surgencias se presentan en todo el año, aunque con mayor intensidad y frecuencia durante primavera-verano, lo que le confiere al área características de alta productividad biológica. Los eventos de surgencias se han detectado en distintos puntos a lo largo de las costas de Baja California (García-Reyes *et al*, 2015), acarrear agua de profundidades mayores de 100 m mismas que introducen agua subsuperficial fría y rica en nutrientes, lo que resulta en una disminución de la temperatura superficial del mar (TSM) (Cruz-Rico, 2015).

En el caso del Sistema de la Corriente de California (SCC), en Baja California, México, transporta agua de baja salinidad, temperatura y con alto contenido de oxígeno, el aporte fluvial es escaso, por lo que probablemente la principal entrada de hierro (Fe) y nutrientes al sistema son las surgencias costeras como ha sido reportado para las costas del centro de California (Biller y Bruland, 2013; Cruz-Rico, 2015). La mezcla vertical inducida por el viento (durante la primavera y el verano) y por la advección de agua de surgencias en áreas cercanas a la Bahía Todos Santos (BTS), el aporte de aguas residuales de la ciudad (con altos contenidos de fosfatos y formas nitrogenadas reducidas) y la variabilidad en las concentraciones de los nutrientes inorgánicos disueltos en la BTS está influenciada principalmente por el transporte de agua con carga de materia soluble y particulada (proveniente de los lixiviados del material terrígeno durante la época de lluvias (Peña-Manjarrez, 2008).

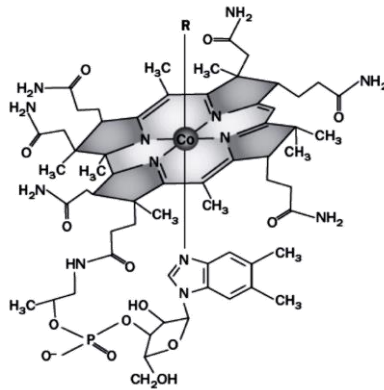
En la BTS se han reportado valores de clorofila a de  $55 \text{ mg m}^3$ , asociados a florecimientos algales nocivos de primavera de acuerdo con Peña-Manjarrez (2008), para género *Pseudo-nitzschia* se han registrado abundancias de  $3.02 \times 10^5 \text{ cel L}^{-1}$  (García-Mendoza *et al*, 2009; Horta-García, 2020)

### 2.3 Interacciones microbianas y la B<sub>12</sub>

En el océano más del 50% de las especies de microalgas dependen de la cobalamina (B<sub>12</sub>) para su crecimiento y en menores proporciones de tiamina (B<sub>1</sub>) y biotina (B<sub>7</sub>), dicho porcentaje varía de acuerdo con los grupos algales (Croft *et al*, 2006). Las diatomeas, requieren de una incorporación externa de B<sub>12</sub> para su crecimiento la cual proviene (biosíntesis bacteriana y fuentes alóctonas como afluencias de ríos y arroyos) (Gobler *et al*, 2007). En aguas costeras, la B<sub>12</sub> estimula el crecimiento del fitoplancton de mayor tamaño (2 a 10  $\mu\text{m}$ ) y en contraste con la fracción pequeña (< 2 $\mu\text{m}$ , picofitoplancton), se hunden más rápido aumentando la exportación de carbono a las aguas profundas. En ecosistemas costeros y de mar abierto se han observado concentraciones bajas de vitamina B<sub>12</sub> oscilando entre <0.1-40 pmol L<sup>-1</sup> (Gobler *et al*. 2007; Panzeca *et al*. 2009; Koch *et al*. 2011). La distribución limitada de B<sub>12</sub> disuelta, indica que estas importantes coenzimas están presentes a niveles picomolares, que podrían ser demasiado bajos para soportar el crecimiento máximo de fitoplancton y depende de factores biológicos, así como fisicoquímicos para su presencia y distribución (Gutiérrez-Rosas, 2013; Suffridge *et al*, 2018).

La B<sub>12</sub> contiene un cobalto en el centro del anillo tetrapirrol llamado corrina. El átomo de cobalto es coordinado por dos ligandos perpendicular al plano del anillo tetrapirrol. Uno de estos ligandos es un nucleótido vinculado a un grupo propionilo del anillo tetrapirrol por un grupo aminopropanol. Todos los corrinoideos que contienen 5,6- dimetilbencimidazol, como el ligando de nucleótidos, son conocidos como cobalaminas (Bertrand *et al*, 2012). Destacan cuatro formas principales de la vitamina B<sub>12</sub>, de las cuales los análogos frecuentes en aguas marinas son cianocobalamina (CyB<sub>12</sub>) e hidroxocobalamina (HyB<sub>12</sub>), otra variante es pseudocobalamina, producida por cianobacterias (Barber Lluçh *et al*. 2021). Siendo

un representante de múltiples compuestos organometálicos traza, esenciales para el crecimiento y funcionamiento biológicos (Figura 1).



**Figura 1** Estructura de la vitamina B<sub>12</sub>. Tomada de Lazarowski, 2015.

Todas las formas de vitaminas están biodisponibles para organismos marinos, en el caso de la B<sub>12</sub> los análogos pueden asimilarse y convertirse en coenzimas de listas para poder ser utilizadas, actuando como reservorios de cobalamina dentro de las células (Isegawa *et al*, 1984; Barber Lluich *et al*, 2021). Existe una dependencia enzimática de la B<sub>12</sub> y especies de fitoplancton, además que las eucariotas no pueden sintetizar la B<sub>12</sub>, es decir, requiere de una fuente exógena para la adquisición de la vitamina, por lo tanto, su síntesis depende de organismos procariontes (Koch *et al*, 2011). Algunos datos genómicos indican que también existe auxotrofia en algunos grupos de bacterias, lo que implica una competencia eventual entre el fitoplancton y las bacterias por la adquisición de la vitamina (Koch *et al*, 2011) lo cual es una desventaja para el fitoplancton ya que adquiere la B<sub>12</sub> del medio ambiente o a través de interacciones bióticas (Droop, 2007; Grant *et al*, 2014; Kazamia *et al*, 2012).

La B<sub>12</sub> es una vitamina soluble en agua involucrada en el crecimiento y la división celular del fitoplancton, actuando como cofactor de tres enzimas en eucariotas (metionina sintetasa, metilmalonil-coA mutasa y ribonucleótido reductasa tipo II) (Bertrand *et al*, 2012) así como en una serie de procesos celulares como la síntesis de aminoácidos, la biosíntesis de metionina, la descarboxilación de ácido pirúvico

(B<sub>1</sub>) y la síntesis de ácidos grasos (B<sub>7</sub>) (Droop, 1968; Provasoli y Carlucci, 1974). En la actualidad ha sido reconocido como única fuente de producción de vitaminas al grupo de procariotas, poniendo en disponibilidad mediante diversas vías: simbiosis fitoplancton-bacteria, depredación, exudados y lisis viral (Droop, 1968), sin embargo, Gutiérrez-Rosas (2013), sugiere una cuarta hipótesis que involucra a los virus, lisis viral. La B<sub>12</sub> regula el crecimiento de especies de fitoplancton actuando como cofactor de enzimas involucradas en procesos metabólicos, ya que su crecimiento puede estar limitado por la biodisponibilidad de este compuesto en conjunto con algunos nutrientes primarios como nitrógeno o hierro, siendo escasa la concentración de B<sub>12</sub> en el ambiente marino, pero suficiente para sustentar el crecimiento del fitoplancton (Bertrand *et al*, 2012; Koch *et al*, 2011; Sañudo-Wilhelmy *et al*, 2014). La disponibilidad de vitaminas también puede moldear la estructura de la comunidad de fitoplancton costera. Carlucci y Bowes (1970) y Swift (1980) han argumentado que las concentraciones de B<sub>12</sub> podrían influir en la dinámica y composición de los FAN de primavera, ya que la mayoría de las especies de diatomeas céntricas son auxótrofas de vitamina (Droop, 1968).

Las concentraciones de la B<sub>12</sub> juegan un papel importante en la dinámica de las comunidades de fitoplancton como la sucesión de especies (Koch *et al*, 2011). A pesar de este renovado interés en las vitaminas B, se sabe poco sobre cómo el estado trófico de los ecosistemas costeros influye en su ciclo de las vitaminas por ejemplo en estudios en zonas productivas se ha observado que este es consistente con la hipótesis de las bacterias y las arqueas. La abundancia bacteriana inicial fue significativamente menor ya que mostraron una estimulación del fitoplancton tras la adición de B<sub>12</sub> y hierro en relación con el experimento que no mostró esta estimulación. Esto es coherente con la hipótesis de que las bacterias y arqueas de la columna de agua superior son una fuente importante de B<sub>12</sub> (Bertrand *et al*, 2007).

## 2.4 La Cuantificación de la B<sub>12</sub> particulada y disuelta.

El ensayo ELISA (Inmuno-Absorbente Ligado a Enzimas), es un procedimiento que utiliza anticuerpos como reactivos enlazantes “específicos”, se basa en el reconocimiento de moléculas diana como antígenos por anticuerpos específicos (Gutierrez-Rosas, 2013). Este método puede reconocer todas las formas de B<sub>12</sub> con una reactividad del 100% sin distinguir los distintos componentes de la B<sub>12</sub> (cobalamina, metilcobalamina e hidroxicobalamina). Por tanto, el ensayo ELISA puede cuantificar la cantidad total de B<sub>12</sub> (Zhu *et al*, 2011). Estos métodos a menudo se caracterizan por operación rápida y fácil, alta selectividad y sensibilidad, alta confiabilidad. La intensidad del color se mide espectrofotométricamente a 450 nm en un lector de microplacas. La intensidad del color es inversamente proporcional a la concentración de B<sub>12</sub>. Se traza una curva estándar relacionando la densidad óptica (DO) a la concentración de estándares. De acuerdo con Zhu *et al*, (2011), la salinidad no interfiere con el ensayo de inmunorreacción.

## 3.4 Características morfológicas de especies nocivas en la Bahía Todos Santos, Baja California

El género *Pseudo-nitzschia* fue atribuido por Peragallo en el año 1900 (Peragallo y Peragallo, 1897-1908). Hustedt (1958) consideró al género *Pseudo-nitzschia* como un grupo del género *Nitzschia*. Hasle (1965), delimitó dentro de la sección *Pseudo-nitzschia* dos complejos a los que denominó «complejo *Nitzschia seriata*» y «complejo *Nitzschia delicatissima*». El primer grupo está caracterizado por reunir las formas más robustas y anchas, con un eje transapical mayor de 3 µm y el segundo grupo por reunir las formas más delicadas y estrechas, con un eje transapical menor de 3 µm. Hasle (1993), restableció el género *Pseudo-nitzschia*, enmendó su descripción y transfirió a él 15 especies y 2 formas del género *Nitzschia*. De acuerdo con la descripción de Hasle (1993), las especies de *Pseudo-nitzschia* forman colonias en cadena caracterizadas por células superpuestas. Cada célula contiene dos cloroplastos, cada uno ubicado más cerca de las extremidades, y un núcleo central. El cíngulo consta de una serie de bandas lineales. Para su

identificación, las células deben examinarse a la vista de la valva. Las frústulas suelen ser lineales o lanceoladas tanto en la vista valvar como en la de la cintura, pero algunas especies son asimétricas a lo largo del eje apical en la vista de la valva. El rafe es excéntrico y no se eleva por encima de la superficie valvar, y la pared del rafe carece de poroides. Algunas especies tienen un nódulo central (= interespacio central). Usando el microscopio óptico, se puede observar como un espacio más grande entre los peronés centrales.

El género *Pseudo-nitzschia* H. Peragallo está dividido en cuatro grupos: el “complejo *seriata*” (eje transapical  $>3\mu\text{m}$ ), “complejo *delicatissima*” (eje transapical  $<3\mu\text{m}$ ), “complejo americano” (extremos redondeados, eje apical  $<65\mu\text{m}$ ), “complejo *pseudodelicatissima*” (se distingue por las bandas de la cintura).

De acuerdo con Ferrario *et al*, (2002), todas estas especies comparten caracteres, algunos de los cuales son difícilmente observables al microscopio óptico (MO). El análisis al MO de material fresco y/o tratado sólo permite realizar una identificación aproximada de las especies. Las características morfológicas en MO, que permiten diferenciar las especies del género *Pseudo-nitzschia*:

- ✚ Grado de superposición de los extremos de las células contiguas.
- ✚ Localización del rafe a nivel de la superficie valvar.
- ✚ Ancho valvar.
- ✚ Forma de la frústula en vista cingular y valvar.
- ✚ Simetría del contorno valvar.
- ✚ Forma de los extremos en vista valvar y cingular.

*Chaetoceros* Ehrenberg es un género de diatomeas planctónicas, común y posiblemente el más grande en ambientes marinos de todo el mundo, distribuido en todas las latitudes en áreas neríticas y plataformas continentales (Li *et al*, 2016).

Los florecimientos han sido registrados de especies co-ocurrentes, mismos que llegan a causar la muerte de peces, es por ello la importancia del estudio de este género (Rines y Theriot, 2003). La información sobre la evolución de *Chaetoceros* es limitada, las colonias o células vegetativas están débilmente silificadas y pocas veces dejan un registro fósil.

Morfológicamente están compuestas por valvas bipolares y setas de estructura diferente a las valvas, muy a menudo forman cadenas y muy pocas *spp.* son solitarias. Las conexiones de las cadenas son de formas variadas como: fusión de las setas, fusión de las valvas de borde y setas, retención de las setas, paredes silíceas y fusión de espinas. La identificación de especies se ha basado en las características morfológicas observadas en microscopía óptica: morfología de las colonias, forma y dimensiones de las células, grosor y dirección de las setas, número y forma de los cloroplastos, presencia y morfología de las esporas en reposo, sin embargo, como en el caso del género de *Pseudo-nitzschia* H. Peragallo, existen características que sólo son observables en microscopía electrónica, como su estructura fina de las valvas y las setas, la ubicación y el número de rimoportulas (Sunesen *et al*, 2008). Por la alta diversidad morfológica del género, se ha clasificado en tres subgéneros: *Phaeoceros* Gran, *Hyalochaete* Gran, *Bacteriastroidea* Hernández-Becerril (Rines y Theriot, 2003).

Algunas de las especies de este género como: *Ch. convolutus* Castracane, *Ch. concavicornis* Manguin y *Ch. danicus* Cleve, han sido reportadas como productoras de florecimientos algales nocivos, dañando mecánicamente las branquias de los peces (Fryxell y Hasle, 2004; Smayda, 2006), otras especies del subgénero *Hyalochaete*: *Ch. socialis* H.S. Lauder, *Ch. wighamii* Brightwell, *Ch. debilis* Cleve, pueden ocluir las branquias de los peces mediante la formación de colonias mucilaginosas o causar letargo y finalmente la muerte de estos (Smayda, 2006).

### III. HIPÓTESIS

---

La distribución espacial de los géneros *Pseudo-nitzschia spp* y *Chaetoceros spp* con potencial nocivo estará asociada a las mayores concentraciones de vitamina B<sub>12</sub> particulada.

### IV. OBJETIVOS

---

#### **2.1 Objetivo general**

Relacionar la variación espacio-temporal de la vitamina B<sub>12</sub> con la presencia de diatomeas con potencial nocivo en la Bahía Todos Santos.

#### **2.2 Objetivos particulares**

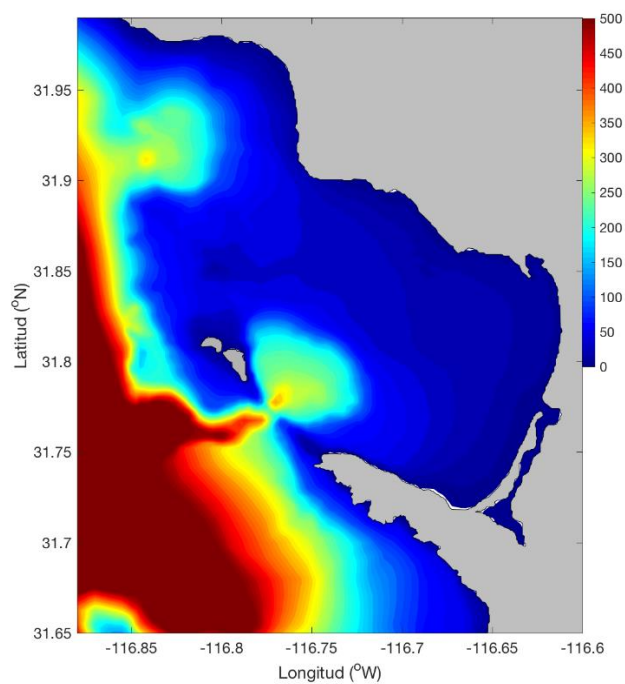
En la Bahía de Todos Santos, Baja California, entre los meses de junio de 2020 y marzo 2021 se procedió a:

- I. Identificar y cuantificar el grupo, géneros y especies de diatomeas dominantes con potencial nocivo.
- II. Cuantificar la concentración de la vitamina B<sub>12</sub> (particulada y disuelta).
- III. Describir la variabilidad espacio-temporal de variables físico-químicas presentes en la zona de estudio y su influencia en la presencia de B<sub>12</sub> y organismos de estudio.

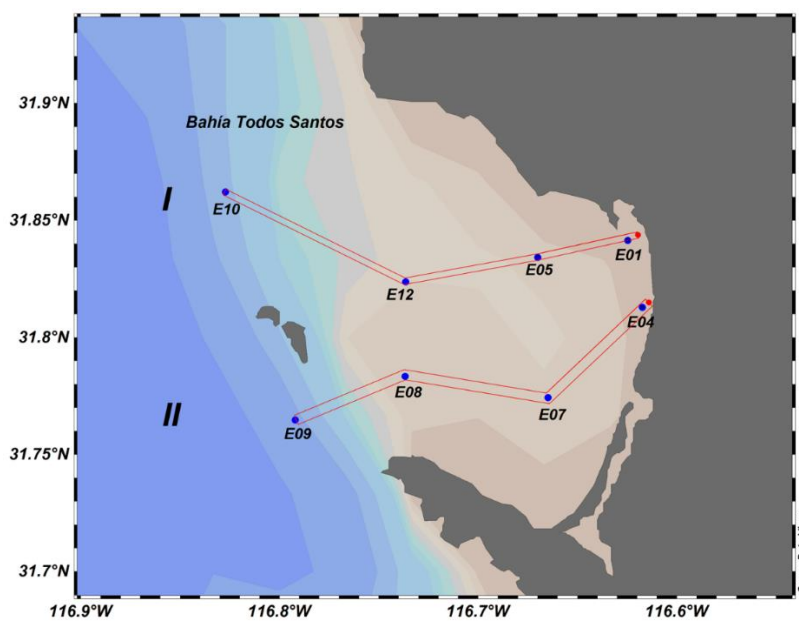
### 5.1 Área de estudio

Las muestras tomadas para la identificación taxonómica y la extracción de B<sub>12</sub> (particulada y disuelta) se colectaron en la Bahía de Todos Santos (BTS), la cual se localiza en la costa noroeste de Baja California (31°42'-31°55' N, 116°36''-116°48' O), aproximadamente a 100 km del sur de la línea fronteriza entre México Estados Unidos de Norte América, con un área aproximada de 330 km<sup>2</sup>. Tiene una profundidad aproximada de 50m, que abarca alrededor del 80% de la superficie, el resto corresponde a un cañón submarino ubicado entre Punta Banda (PB) y la Isla de Todos Santos (ITS) en el suroeste de la Bahía, el cual tiene una profundidad de 400m (Figura 2) (Argote y Gavidia 1991; Gutiérrez-Galindo *et al*, 2010).

Entre los meses de junio 2020 y marzo 2021 se realizó un monitoreo de ocho muestreos, uno mensual en el periodo de junio a noviembre 2020 y febrero-marzo 2021, dentro de la Bahía Todos Santos, Baja California, a bordo de una embarcación menor con un motor fuera de borda con la cual se obtuvieron muestras de agua para la determinación de B<sub>12</sub> y para la comunidad fitoplanctónica en ocho estaciones a dos profundidades (superficial 2m y termoclina 20m) (Figura 3). Las colectas de muestras se obtuvieron con botellas Niskin de 5L (General Oceanics), que se activaron con mensajeros a dos diferentes profundidades (2m-20m), mismas muestras fueron preservadas cubriéndolas de la luz y en frío, hasta su llegada al laboratorio.



**Figura 2** Mapa batimétrico de la Bahía Todos Santos. Fuente: R. Castro.

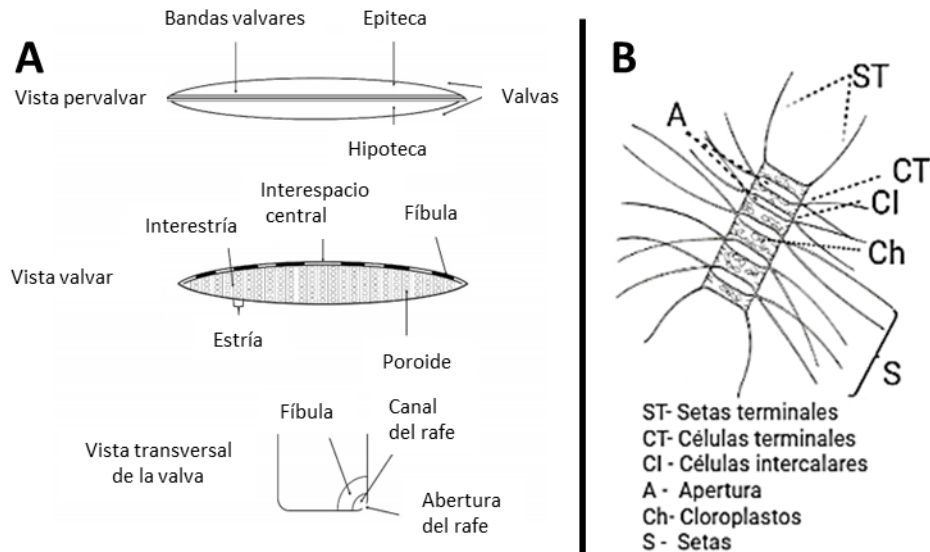


**Figura 3** Mapa de los transectos I (E01, E05, E10 y E12,) y transecto II (E04, E07, E08, E09) en los muestreos realizados en la BTS durante los meses de junio a noviembre 2020 y febrero-marzo 2021.

## 5.2 Identificación y cuantificación celular de diatomeas dominantes con énfasis en especies o géneros con potencial nocivo

Para la cuantificación de diatomeas presentes en las muestras, se empleó la metodología de Utermöhl (Lund *et al*, 1958), de cada muestra previamente homogenizada se tomaron alícuotas de 50mL que se depositaron en cámaras de sedimentación por un tiempo de 12-24 horas. Posteriormente, fueron observadas bajo microscopio óptico invertido (Leica Microsystems Wetzlar, DM IRB) con diferentes objetivos (10x, 40x, 63x, 100x), realizando la identificación y el conteo del grupo de interés mediante barrido total del fondo de la cámara. A partir de los conteos, se determinó el número de células presentes en el volumen de muestra analizado y se extrapola al volumen total para establecer la concentración de células por litro (cel L-1), teniendo en cuenta la metodología para la cuantificación del fitoplancton presentada por Villafañe y Reid (2005).

La identificación taxonómica se basó en las características morfológicas de su estructura, para el caso *Pseudo-nitzschia sp.*, la identificación a nivel de especie por microscopía óptica es sumamente difícil, no obstante, la forma, la longitud y el ancho de las células pueden determinarse mediante microscopía óptica, ya que estas especies son células elongadas, rectangulares o fusiformes en vista singular. Las características específicas (observadas microscopias electrónicas de barrido EB o SEM por sus siglas en inglés) lo cual define la especie son: la longitud y amplitud de la valva, así como el traslape de las valvas, densidad lineal interestría y fíbulas (Figura 4A).



**Figura 4** A) Características de la frústula del género *Pseudo-nitzschia* en tres vistas diferentes. Tomada de Lelong et al, 2012. B) Características morfológicas de las células del género *Chaetoceros*.

El género *Chaetoceros* Ehrenberg, son células céntricas bipolares coloniales, de forma cilíndrica con una base ovalada a circular que contiene de uno a más cloroplastos, estos parecen ser cuadrangulares en vista cingular y elíptica en vista valvar. El manto es vertical y el cingulo es más o menos desarrollado, de cada vértice emergen procesos, llamados setas (S), que son de espesor variable. En las especies coloniales se distinguen por las setas terminales (ST), es decir, las que emergen de la mitad de la última valva de la colonia, las de las valvas internas que se cruzan y/o se fusionan en algún punto, permitiendo la formación de colonias de diferentes longitudes (Figura 4B). La identificación a nivel de especie a menudo no es una tarea fácil y se basa principalmente en la morfología de las colonias, la forma, dimensiones de la célula, grosor, dirección y forma de las setas, con el uso de microscopía óptica (LM). Aunque algunos caracteres sólo se pueden distinguir utilizando microscopía electrónica (Shevchenko *et al*, 2008; Hellenen, 2016). La identificación taxonómica se realizó con la ayuda de diferentes guías de identificación taxonómica como Tomas (1997), Cupp (1943), Hernández-Becerril (1998), Parsons *et al*, (2012), Hasle (1993).

### 5.2.1 Índice de Shannon

Uno de los índices más utilizados para cuantificar la biodiversidad específica es el de Shannon y Weaver. El índice refleja la heterogeneidad de una comunidad sobre la base de dos factores: el número de especies presentes y su abundancia relativa. Conceptualmente es una medida del grado de incertidumbre asociada a la selección aleatoria de un individuo en la comunidad (Shannon y Weaver, 1949).

La fórmula del índice de Shannon:

$$H' = - \sum_{i=1}^S p_i \ln p_i$$

Donde:

S= número de especies (riqueza de especies)

$p_i$ = proporción de individuos de la especie  $i$  respecto al total de individuos (abundancia relativa de la especie  $i$ )  $n_i/N$

$n_i$ = número de individuos de la especie  $i$

$N$ = número de todos los individuos de todas las especies

La abundancia relativa (%) para cada género fue calculado mediante la siguiente fórmula:

$$Ni = \frac{ni}{N} * 100$$

Donde:

$Ni$ = es el porcentaje de la abundancia relativa de la especie

$ni$ = es el número de individuos de la especie

$N$ = es el número total de los individuos de todas las especies de fitoplancton

Este índice evidencia la importancia porcentual de cada especie y los cambios que presenta la comunidad con respecto al tiempo.

### 5.2.2 Índice de Simpson

El índice de Simpson es un índice de dominancia más que de diversidad y representa la probabilidad de que dos individuos escogidos al azar pertenezcan a la misma especie, entendidos estos como conjuntos de especies que muestran respuestas similares al ambiente y efectos análogos en el funcionamiento de los ecosistemas, sin realizar análisis de la diversidad funcional (Moreno 2001). En ecología, a menudo se utiliza este índice para cuantificar la biodiversidad de un hábitat, éste toma en cuenta la cantidad de especies presentes en el hábitat, así como la abundancia de cada especie (Simpson *et al*, 1949).

$$S = \frac{\sum n(n-1)}{N(N-1)}$$

Donde:

n= número total de organismos de una especie

N= número total de organismos de todas las especies

### 5.3. Determinación de vitamina B<sub>12</sub> disuelta y particulada

#### 5.3.1 Extracción de vitamina B<sub>12</sub> particulada

Para cuantificar la B<sub>12</sub> intracelular tanto del fitoplancton, como de las bacterias, la muestra es pasada por un sistema de filtrado secuencial (1mL<sup>-min</sup>), pasando primero por filtros calcinados (a 360°C durante media hora) de fibra de vidrio (GF/F) (Whatman 25mm de diámetro), donde se retendrá la fracción fitoplanctónica. El filtro es protegido de la luz manteniéndolo en congelación durante al menos 12 horas, para la lisis celular, siguiendo la metodología reportada por Villegas-Mendoza *et al*, (2019), para su posterior cuantificación a través del ensayo ELISA.

### 5.3.2 Extracción de vitamina B<sub>12</sub> disuelta

El método de concentración de vitamina disuelta consiste en pasar un volumen de muestra conocido a través de una columna de fase sólida de acuerdo con Okbamichael y Sañudo-Wilhelmy 2004., previo a la concentración, la muestra pasada por filtros GF/F (Whatman 25mm de diámetro) para separar la fracción particulada de la disuelta. La fracción disuelta es ajustada a un pH de 6.3 a 6.7 con HCl (1N). Siguiendo el principio de polaridad, la B<sub>12</sub> (con propiedades polares) se absorbe de forma selectiva en partículas sólidas, cuyo núcleo de sílice está cubierto por 18 cadenas de carbono (C-18) (con propiedades no polares) (Gutierrez-Rosas, 2013). Concentrando una muestra de 500 a 1000 mL en una columna que contiene 3 g de resina C-18 (HF-Bondensil-C18) (pre-acondicionado con metanol, para evitar contaminación por la B<sub>12</sub>), a un caudal de muestra aproximado de 1 ml min<sup>-1</sup>.

La muestra concentrada en la columna es eluida con 3 mL de metanol (MeOH), y es colocada en tubos CORNING donde fue recuperado el eluyente de metanol. Para concentrar la elución, se evapora el metanol a un baño maría a 65°C aproximadamente durante una hora. Esta temperatura es suficiente para evaporar el metanol y concentrar la muestra sin modificar la molécula de B<sub>12</sub>, preservado en frío y cubriéndose de la luz (Gutierrez-Rosas, 2013). Para la cuantificación de la concentración de la B<sub>12</sub>, ver el apartado 5.3.3

Para determinar la concentración de B<sub>12</sub> en las muestras concentradas se siguió el método de Villegas-Mendoza, (2019), donde se utiliza el ensayo ELISA

Las extracciones de B<sub>12</sub> particulada y disuelta, únicamente se realizaron para las temporadas de verano (julio, agosto 2020) y otoño (septiembre, octubre y noviembre 2020), con las muestras de 20m.

### **5.3.3. Cuantificación de la concentración de vitamina B<sub>12</sub> (particulada y disuelta) en la BTS**

Se utilizó un kit ELISA específico de MyBiosource (San Diego, CA) para determinar la B<sub>12</sub>. De acuerdo con el manual del kit ELISA (MyBiosource), se aplicó la técnica de inmunoensayo enzimático competitivo utilizando un anticuerpo policlonal anti- VB<sub>12</sub> y un conjugado VB<sub>12</sub> -HRP. La muestra de ensayo y el tampón se incubó junto con VB<sub>12</sub> -HRP en la placa pre revestida durante una hora. Después del período de incubación, los pozos se decantaron y lavaron cinco veces. Luego se incuban los pocillos con un sustrato para la enzima HRP. La reacción forma un complejo de color azul. Finalmente, se agrega una solución de parada a detenga la reacción, que luego hará que la solución se vuelva amarilla.

La concentración de B<sub>12</sub> en cada muestra se interpoló a partir de una curva estándar de calibración con una concentración de 0 a 2500 pg/ml. Las muestras previamente concentradas son colocadas en los pocillos de la placa de microtitulación para el inmunoensayo competitivo indirecto. La lectura cuantitativa fue realizada mediante un lector de placas multifuncional para la absorbancia ELISA (Thermo Scientific Multiskan FC) con una longitud de onda de referencia de 450 nm.

Se aplicó un inmunoensayo competitivo indirecto al análisis de B<sub>12</sub> en ambas fracciones (disuelta y particulada) de la siguiente manera: se agregaron las muestras de B<sub>12</sub>, así como 100 µL de estándares a los pocillos apropiados de la placa y a su vez 100 µL de PBS en el pozo de control/blanco, luego de esto se incubaron por 1 hora a una temperatura aproximada de 19°C, cubriendo la placa de la luz. Al terminar la incubación se lavó la placa cinco veces. Se añadieron 50 µL de sustrato A y 50 µL de sustrato B a cada pocillo incluido el pozo de control/blanco, posteriormente se cubrió e incubo durante 20 minutos a 19° C (evitando la luz solar). Posteriormente se añaden 50 µL de solución de parada a cada pocillo, incluido el control/blanco. Se determino la densidad óptica (OD) a 450 nm usando el lector de microplacas.

#### **5.4 Descripción de la variabilidad espacio-temporal de variables físico-químicas presentes en la zona**

Se obtuvieron perfiles verticales *in situ* mediante un CTD (RBR Maestro) de 0m hasta 100m, en las estaciones más oceánicas. El CTD estaba equipado con diferentes sensores para cuantificar; irradiancia (PAR Biospherical), clorofila-a fluorescencia (TURNER DESING), oxígeno (Optode, RBR), así como salinidad, temperatura y presión (RBR).

El tratamiento de los datos se realizó para suavizar los datos y eliminar los outliers con el programa de MatLab, para obtener los datos de los perfiles del CTD. En cada estación, se obtuvieron los perfiles y la profundidad se determinó de acuerdo con la batimetría de la Bahía Todos Santos. Y se realizaron los perfiles con las variables del CTD con el programa OceanDataView (ODV) (Schlitzer, 2018).

Para una visualización de las concentraciones de B<sub>12</sub> particulada y disuelta a lo largo de las estaciones de muestreo en cinco de los ocho meses de estudio (julio a noviembre 2020) se realizaron gráficos de dispersión con el programa Statistica (VERSION 7), así como ODV.

#### **5.5 Procesamiento de datos y análisis estadístico**

Se realizó un análisis exploratorio de datos para determinar si cumplían con los supuestos homocedasticidad con dos pruebas, Levene's, que indica, si la probabilidad asociada al estadístico  $>0.05$  suponemos varianzas iguales y si es  $<0.05$ , suponemos varianzas distintas (Anexo II). Así como la prueba de normalidad de Shapiro, con el p valor  $<0.05$ , lo que nos dice datos no se ajustan a la distribución normal y viceversa (Anexo III). Las variables ambientales analizadas fueron: temperatura, fluorescencia (clorofila a), O<sub>2</sub>, PAR, B<sub>12</sub> disuelta, particulada y total; y como variables biológicas: abundancia de *Pseudo-nitzschia sp.*, *Chaetoceros sp.* y abundancia total de diatomeas.

Para determinar si existían diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los meses de muestreo se llevó a cabo un análisis de varianza (ANOVA) (paramétrica) (Anexo IV) o prueba de Kruskal-Wallis (no paramétrica), así como pruebas a posteriori (Tukey-Kramer) (Anexo V), para identificar diferencias específicas.

Se realizó un análisis de componentes principales (ACP) para determinar la relación entre las variables ambientales (temperatura, clorofila, O<sub>2</sub>, PAR) con la presencia de B<sub>12</sub>dis y B<sub>12</sub>part y la abundancia de *Pseudo-nitzschia sp.*, y *Chaetoceros sp.*

Para visualizar el comportamiento espacial de los datos obtenidos para la BTS, se llevó a cabo un ACP, para determinar que variables explican el mayor porcentaje de varianza de datos. Finalmente se elaboraron mapas en los cuales se agruparon las estaciones que conformaron el muestreo en la BTS.

Los análisis se llevaron a cabo utilizando los paquetes estadísticos Statistica 7.0, SigmaPlot 11.0, Primer 6 & Permanova+.

## V. RESULTADOS

---

### 6.1 Identificación de diatomeas dominantes en la BTS

A partir de la revisión de 122 muestras de botella, en el análisis de la composición taxonómica de la comunidad de diatomeas se reconocieron 92 taxa de diatomeas céntricas y pennadas (Tabla I), durante el monitoreo de ocho meses en la BTS, mismas que fueron verificadas por Guiry-Guiry 2021 (Algaebase.org), Los géneros de diatomeas con potencial nocivo identificadas fueron *Pseudo-nitzschia* H. Peragallo. y *Chaetoceros* Ehrenberg presentes en los meses de junio a noviembre y febrero-marzo.

### 6.1.1 El género *Pseudo-nitzschia* H. Peragallo

Se identificaron al menos 19 morfotipos de *Pseudo-nitzschia* y de acuerdo con sus características se clasificaron como: *P. cf. americana*, *P. cf. australia*, *P. cf. calliantha*, *P. cf. cuspidata*, *P. cf. roundii*, *P. cf. sabit*, *P. cf. delicatissima*, *P. cf. fraudulenta*, *P. cf. multistriata*, *P. cf. multiseriata*, *P. cf. pseudodelicatissima*, *P. cf. pungens*, *P. cf. seriata*, *P. cf. subcurvata*, *P. cf. subfraudulenta*, *P. sp.*, *P. sp.2*, *P. sp.3*. La abundancia y distribución de estas especies fue variable respecto al tiempo. En las temporadas de verano y otoño (junio - septiembre) se registraron nueve morfotipos del género *Pseudo-nitzschia* H. Peragallo. La mayor diversidad se observó en agosto tanto en la superficie como en la base de la termoclina. En este periodo, *Pseudo-nitzschia cf. americana* y *P. cf. delicatissima* presentaron la mayor contribución a la abundancia total del género *Pseudo-nitzschia* y se registraron en todas las estaciones en ambas profundidades.

#### ***Pseudo-nitzschia cf. australis* Frenguelli (Figura 5A, G).**

Las colonias están en forma de escalera, conformadas por la superposición de los extremos valvares, las células tienen forma linear-lanceolada tanto en la cintura en vista valvar. Presenta los extremos valvares redondeados. Las valvas presentan lados paralelos en su parte media (Figura 5A y G). Las medidas morfométricas fueron realizadas con LM. El eje transapical varió de 6.5 a 10  $\mu\text{m}$  (Figura 5A, III) y el eje apical de 70 a 110  $\mu\text{m}$  (Figura 5A, I). El nódulo central estaba presente (Figura 5A, II).

#### ***Pseudo-nitzschia cf. delicatissima* (Cleve) Heiden (Figura 5B).**

En vista de la cintura se observa la superposición extremadamente corta (a un noveno de la longitud de la célula), son ligeramente sigmoideas, estrechas y truncadas en sus extremos. Eje apical de 48-75  $\mu\text{m}$ , eje transapical 2  $\mu\text{m}$ . Las células son estrechas y lineales tanto en faja como en vista valvar; en vista de la valvar, son ligeramente más anchas en el medio y se estrechan hacia los extremos redondeados de la célula, el interespacio central es grande.

***Pseudo-nitzschia cf. calliantha*** Lundholm, Moestrup & Hasle (**Figura 5C**).

Las células son estrechas, lineales. Las células se superponen para formar colonias, en vista valvar, las células son lineales con márgenes paralelos en la mayor parte de la longitud de la valva, disminuyendo rápidamente hacia los extremos puntiagudos. Los ejes apical y transapical de las válvulas varían de 40-85  $\mu\text{m}$  y de 11.4-1.6  $\mu\text{m}$ , respectivamente. El interespacio central está presente.

***Pseudo-nitzschia cf. pungens*** (Grunow ex Cleve) Hasle (**Figura 5D-E**).

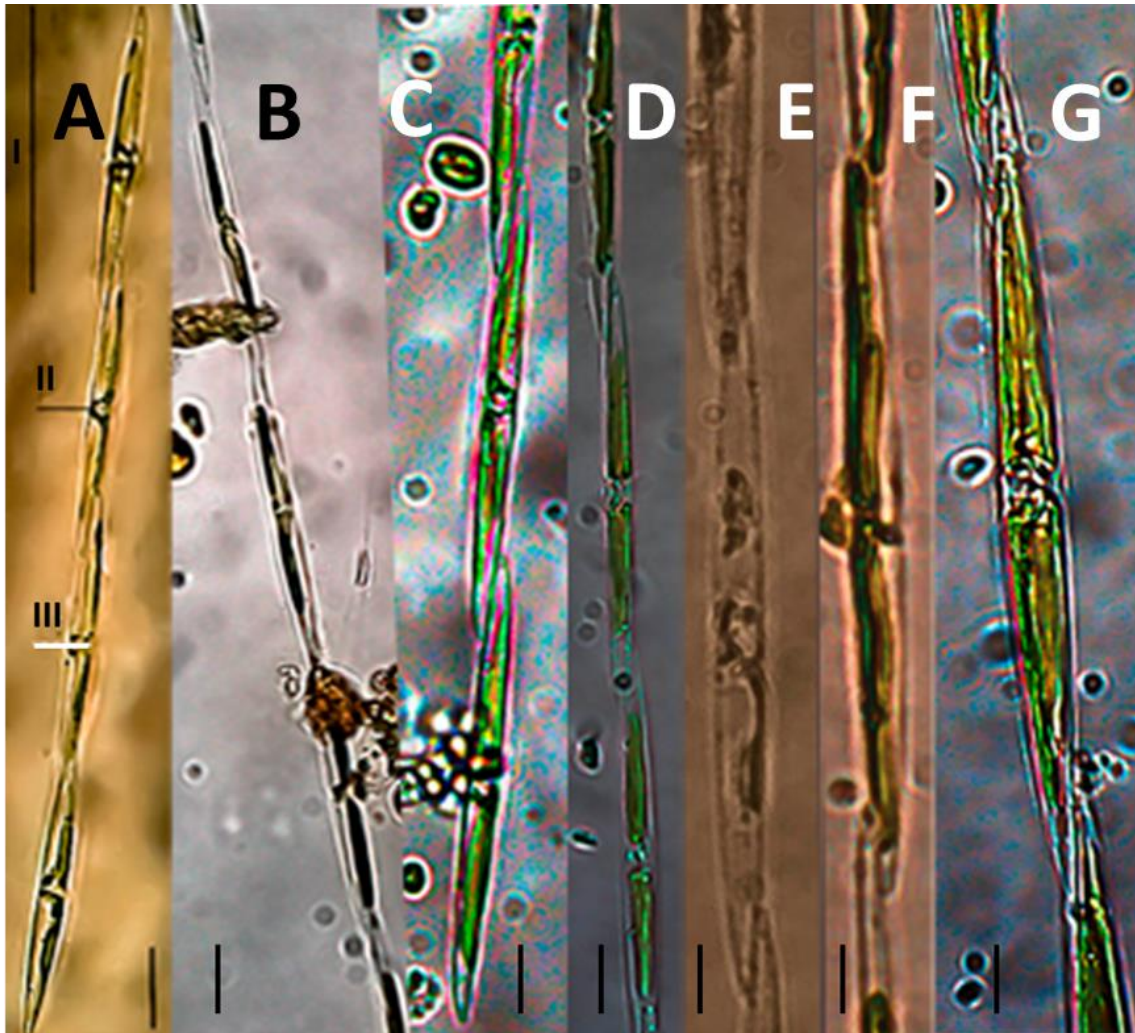
Complejo "*Nitzschia seriata*", de forma fusiforme, eje apical 74-142  $\mu\text{m}$ , eje transapical 3-4.5  $\mu\text{m}$ , eje pervalvar hasta 8  $\mu\text{m}$ . La superposición de los extremos de las células en las colonias es aproximadamente un tercio de la longitud de la célula. Vista valvar, células más grandes lineales con extremos claramente puntiagudos. Los márgenes de la valva están curvados y los extremos de la valva son puntiagudos. Falta un espacio intermedio central más grande.

***Pseudo-nitzschia cf. fraudulenta*** (Cleve) Hasle (**Figura 5F**).

Las células en la vista de la cintura son lineales a lanceoladas, con extremos puntiagudos, y en la vista valvar son lanceoladas, los márgenes de la valva se curvan y se estrechan gradualmente hacia los extremos puntiagudos, eje apical 73-117  $\mu\text{m}$ , eje transapical 5-6  $\mu\text{m}$ . La superposición de los extremos de las células en las colonias es de un sexto a aproximadamente un octavo de la longitud de la célula, es bastante corta, con un nódulo central. Eje apical 70-110  $\mu\text{m}$ , eje transapical 4.5-6.5  $\mu\text{m}$ .

***Pseudo-nitzschia cf. pseudodelicatissima*** (Hasle) Hasle

Las células son lineales a casi lineales, estrechándose hacia los extremos puntiagudos en la cintura y en la vista valvar. Con un eje apical de 60-135  $\mu\text{m}$ , eje transapical 1.5-2.5  $\mu\text{m}$ . La superposición de las células en las cadenas es aproximadamente de un octavo a un noveno de la longitud de la célula. Con un espacio intermedio central más grande con un nódulo central.



**Figura 5** **A.** *Pseudo-nitzschia c.f. australis* I) Eje apical, II) nódulo central, III) Eje transapical cadenas en vista valvar (visto a 40x). **B.** *Pseudo-nitzschia c.f. delicatissima* (Cleve) Heiden **C.** *Pseudo-nitzschia c.f. calliantha* Lundholm (visto a 40x), Moestrup & Hasle. **D-E.** *Pseudo-nitzschia c.f. pungens* (Grunow ex Cleve) Hasle. **F.** *Pseudo-nitzschia c.f. fraudulenta* (Cleve) Hasle **G.** *Pseudo-nitzschia c.f. australis* Frenguelli (visto a 100x). Barra de escala 20  $\mu\text{m}$  A-D, 50  $\mu\text{m}$ .

### 6.1.2 El género *Chaetoceros* Ehrenberg

#### ***Chaetoceros cf. densus* (Cleve) Cleve (Figura 6A).**

Células muy juntas en cadenas, el eje apical de las células fue de 12 a 38µm. Las valvas son de forma elíptica a circular, con una cara plana y una rimoportula en el centro. Setas se separaron en dos tipos: setas terminales (ST) y setas intercalares (CI). Las setas intercalares se originaron y fusionaron dentro del borde de la cadena y se dirigieron casi perpendicularmente al eje de la cadena o hacia los extremos de la cadena, divergiendo fuertemente de plano apical, en vista cingular. Su distribución es cosmopolita, probablemente más común en aguas templadas.

#### ***Chaetoceros cf. costatus* Pavillard (Figura 6B).**

Cadenas rectas, las valvas adyacentes se tocan por dos valvas simétricas, protuberancias a corta distancia dentro del borde de la cadena (P). Aberturas pequeñas (A), de forma elíptica. Setas finas y casi a la derecha ángulos al eje de la cadena, valva secundaria más pequeña, centralizada y lisa; setas terminales son suavemente curvas hacia el eje de la cadena, cada célula tiene un cloroplasto. Su distribución es común en aguas templadas.

#### ***Chaetoceros cf. debilis* Cleve (Figura 6C).**

Las cadenas son largas, delgadas, con una parte basal corta, con forma curvada. Las células son rectangulares en vista cingular y contienen un cloroplasto. Las setas son delicadas y delgadas, que surge de las esquinas de la célula. Las setas intercalares (SI) se fusionan con las setas hermanas por un puente silíceo, lejos de la cadena. Este puente es un poco más delgado que la seta propiamente dicha. Su distribución es de aguas cálidas a regiones templadas.

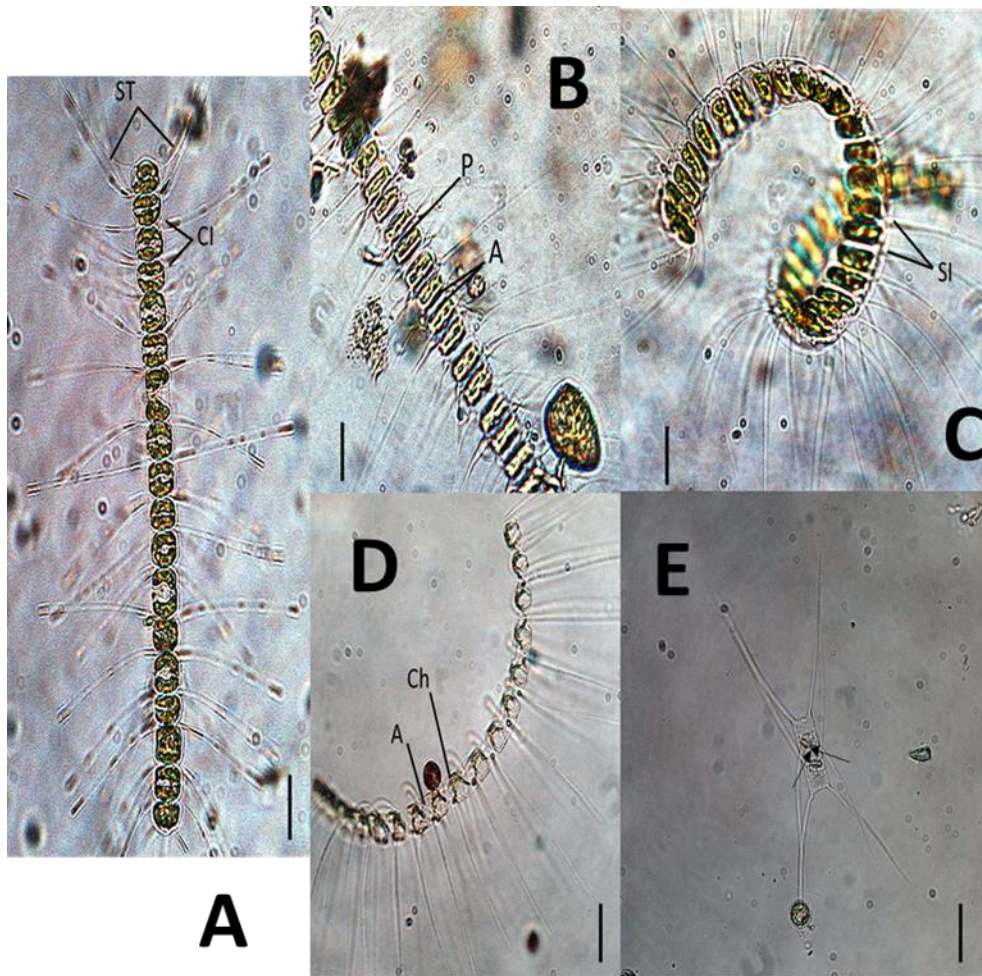
#### ***Chaetoceros cf. curvisetus* Cleve (Figura 6D).**

Las células son rectangulares en vista cingular y contienen un cloroplasto (Ch), las cadenas son curvas y relativamente largas (10-18 células por cadena). Las setas terminales son largas y delgadas, todas las setas están dirigidas hacia fuera

de la cadena. Las aberturas son anchas, elípticas o casi circular /lanceoladas, valva primaria uniformemente redondeada y valva secundaria menos redondeada. Su distribución es cosmopolita, principalmente en aguas templadas-cálidas.

***Chaetoceros cf. didymus* Ehrenberg (Figura 6E).**

Esporas en reposo apareadas que muestran dos ondulaciones en la válvula primaria (flechas). Las células se encuentran en cadenas rectas y largas. Hay un cloroplasto presente y las aberturas son amplias, las valvas tienen una protuberancia. Las setas terminales suelen ser más gruesas que las intercalares. Colonia recta, generalmente larga. Células rectangulares con esquinas elevadas, valva con una protuberancia en el centro, setas similares: largas, toscas, rectas, con parte basal corta, setas terminales casi paralelas al eje de la colonia. Las setas se cruzan en el margen de la colonia.



**Figura 6** Taxones del género *Chaetoceros* Ehrenberg. Escala 20µm, **A.** *Chaetoceros cf. densus* (Cleve) Cleve, **B.** *Chaetoceros cf. costatus* Pavillard, **C.** *Chaetoceros cf. debilis* Cleve, **D.** *Chaetoceros cf. curvisetus* Cleve, **E.** *Chaetoceros cf. didymus* Ehrenberg.

En la Tabla I se enlistan los nombres de las distintas especies encontradas durante el periodo de esta investigación que en total fueron 92 spp, 19 especies del género *Pseudo-nitzschia* spp (20%) y 16 especies del género *Chaetoceros* spp (17%).

**Tabla I** Listado de diatomeas presentes en la Bahía Todos Santos, de junio-noviembre 2020 y febrero-marzo 2021.

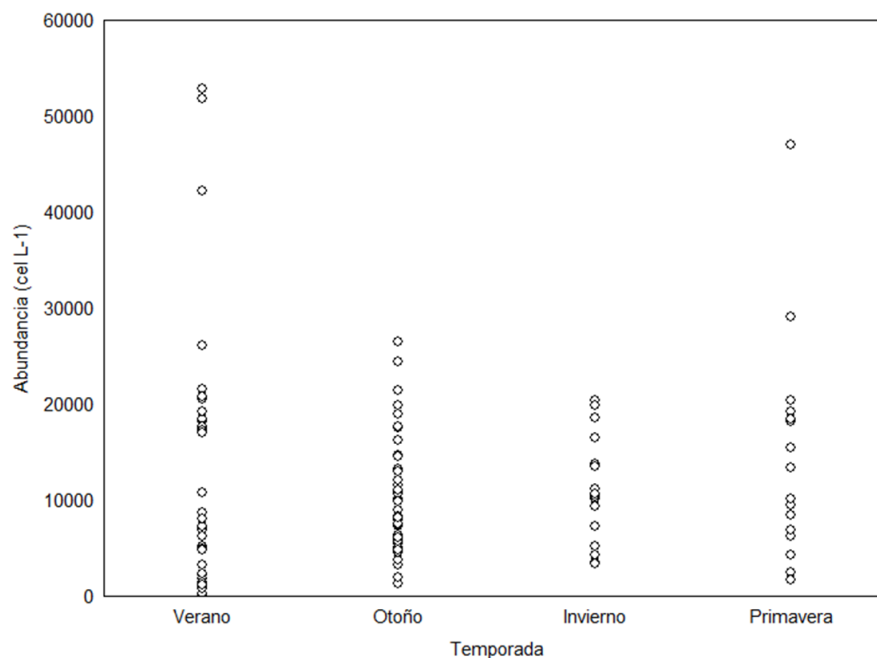
Especie	Fecha							
	jun-20	jul-20	ago-20	sep-20	oct-20	nov-20	feb-21	mar-21
<i>Actinoptychus</i> sp					x			
<i>Amphora</i> sp	x		x	x	x	x	x	x
<i>Asterionellopsis glacilis</i>		x		x				
<i>Asterionellopsis</i> sp		x	x				x	
<i>Asteromphalus hyalinus</i>	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Bacteriastrium delicatulum</i>		x				x	x	x
<i>Bacteriastrium elongatum</i>							x	x
<i>Bacteriastrium furcatum</i>							x	
<i>Bacteriastrium hyalinum</i>		x						
<i>Bacteriastrium</i> sp		x	x		x		x	x
<i>Ceratulina pelagica</i>			x			x	x	
<i>Ceratulina</i> sp	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Chaetoceros alcheton</i>						x		
<i>Chaetoceros affinis</i>				x		x		x
<i>Chaetoceros cf densus</i>								x
<i>Chaetoceros costatus</i>		x	x		x	x	x	x
<i>Chaetoceros curvisetus</i>	x	x	x			x	x	x
<i>Chaetoceros debilis</i>						x	x	x
<i>Chaetoceros decipiens</i>		x	x			x	x	x
<i>Chaetoceros decipiens f. singularis</i>		x				x	x	
<i>Chaetoceros delicatulus</i>		x						
<i>Chaetoceros dydimus</i>		x			x	x	x	x
<i>Chaetoceros lorenzianus</i>		x	x	x	x	x	x	x
<i>Chaetoceros paradoxus</i>		x			x	x	x	x
<i>Chaetoceros peruvianus</i>	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Chaetoceros radicans</i>		x					x	x
<i>Chaetoceros socialis</i>	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Chaetoceros</i> sp						x	x	x
<i>Coscinodiscus granii</i>			x	x		x		
<i>Coscinodiscus</i> sp	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Cylindrotheca closterium</i>	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Cymbella</i> sp			x	x	x	x		

<i>Dactyliosolen mediterraneus</i>		X	X	X		X	X	X
<i>Ditylum sp</i>		X				X	X	X
<i>Entomoneis sp</i>	X	X	X	X			X	X
<i>Eucampia cornuta</i>		X	X				X	X
<i>Eucampia zodiacus</i>		X						X
<i>Guinardia flaccida</i>				X	X	X	X	X
<i>Guinardia sp</i>		X	X					X
<i>Guinardia striata</i>	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Halamphora sp</i>	X					X	X	X
<i>Haslea sp</i>	X	X	X	X	X	X	X	
<i>Haslea wawrikan</i>		X	X	X	X	X	X	X
<i>Hemiaulus hauckii</i>	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Hemiaulus membranaceus</i>		X				X		
<i>Hemiaulus chinensis</i>			X			X		
<i>Hemiaulus sp</i>	X			X	X			
<i>Lauderia sp</i>	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Leptocylindrus danicus</i>			X		X			
<i>Leptocylindrus sp</i>	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Licmophora abbreviata</i>	X		X	X		X	X	
<i>Lioloma sp</i>	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Lithodesmium undulatum</i>		X					X	X
<i>Membraneis sp</i>						X		
<i>Navicula sp</i>	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Nitzschia longissima</i>	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Nitzschia sp</i>	X			X		X	X	X
<i>Hobaniella longicruris</i>								
<i>Odontella sp</i>		X						X
<i>Pleurosigma sp</i>	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Proboscia alata</i>					X			
<i>Proboscia sp</i>	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Pseudo-nitzschia cf. americana</i>	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Pseudo-nitzschia cf. australis</i>	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Pseudo-nitzschia cf. brasiliana</i>								X
<i>Pseudo-nitzschia cf. callianta</i>					X	X	X	X
<i>Pseudo-nitzschia cf. cuspidata</i>								X
<i>Pseudo-nitzschia cf. roundii</i>								X
<i>Pseudo-nitzschia cf. sabit</i>	X					X		X
<i>Pseudo-nitzschia cf. delicatissima</i>	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Pseudo-nitzschia cf. fraudulenta</i>							X	
<i>Pseudo-nitzschia cf. multistriata</i>								X
<i>Pseudo-nitzschia cf. multiseriata</i>								X
<i>Pseudo-nitzschia cf. pseudodelicatissima</i>	X						X	X
<i>Pseudo-nitzschia cf. pungens</i>				X	X	X	X	X

<i>Pseudo-nitzschia cf. seriata</i>						x	x	x
<i>Pseudo-nitzschia cf. subcurvata</i>								x
<i>Pseudo-nitzschia cf. subfraudulenta</i>								x
<i>Pseudo-nitzschia sp</i>	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Pseudo-nitzschia sp 2</i>	x	x			x	x		x
<i>Pseudo-nitzschia sp 3</i>	x	x			x	x		x
<i>Pseudosolenia sp</i>	x			x				x
<i>Rhabdonema adriaticum</i>						x		
<i>Pseudosolenia calcar-avis</i>	x	x			x	x		x
<i>Rhizosolenia hebetata</i>	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Stephanopyxis sp</i>								x
<i>Skeletonema costatum</i>					x	x		
<i>Skeletonema sp</i>	x			x	x	x	x	x
<i>Thalassionema nitzschioides</i>								
<i>Thalassionema sp</i>	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Thalassiosira sp</i>	x	x	x	x	x	x	x	x

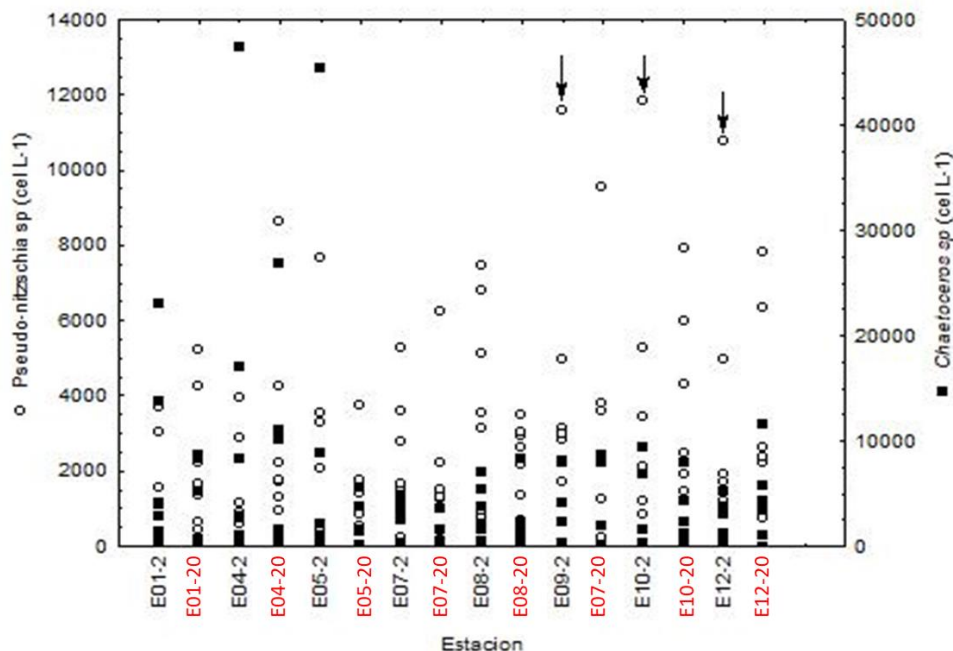
## 6.2 Cuantificación de diatomeas dominantes en la Bahía Todos Santos

Dentro del grupo de diatomeas varió en un amplio intervalo de  $37 \times 10^4$  a  $21 \times 10^3$  cel.  $L^{-1}$  (Figura 7), primavera y verano (julio 2020 y marzo 2021) se caracterizaron por presentar mayores valores de abundancias de los géneros de *Pseudo-nitzschia* a 2 y 20m, con abundancias de  $10 \times 10^4$ –a  $48 \times 10^3$  cel  $L^{-1}$ , respectivamente y *Chaetoceros* (a 2 y 20m)  $11 \times 10^4$ –  $15 \times 10^4$  cel  $L^{-1}$ , mismos que destacaron por estar presentes en todos los meses del monitoreo.



**Figura 7** Abundancia total (cel L<sup>-1</sup>) de diatomeas en verano 2020 (julio-agosto 2020) y primavera 2021 (marzo 2021) a 20m se observaron los valores más altos de abundancias en la temporada de verano 2020 y primavera 2021.

Los valores más altos de abundancias se presentaron en las estaciones 9, 10 y 12 (Figura 8). La riqueza de especies varió de 31 *spp.* en junio a 67 *spp.* en el mes de marzo 2021, por lo que marzo fue uno de los meses de mayor riqueza de especies con potencial nocivo (Tabla II).



**Figura 8** Distribución de las abundancias de *Pseudo-nitzschia* spp. (cel L-1) y *Chaetoceros* spp. (cel L-1) durante las temporadas verano, otoño 2020 e invierno y primavera 2021, en las ocho estaciones muestreadas a dos profundidades 2 y 20m. Las mayores abundancias se presentaron en las estaciones 9, 10 y 12 señalados con flechas.

Los valores más altos de diversidad para los géneros de interés se observaron en otoño y verano (2.45 – 2.50,) siendo *Pseudo-nitzschia* representativa en el verano (Tabla II). La riqueza de especies varió entre 31 (junio 2020) y 67 especies (marzo 2021). Los valores de dominancia fueron más altos en los meses de febrero y marzo 2021 (0.33 – 0.30) para el caso de *Chaetoceros*, y para el género *Pseudo-nitzschia* agosto y septiembre (0.11 – 0.17).

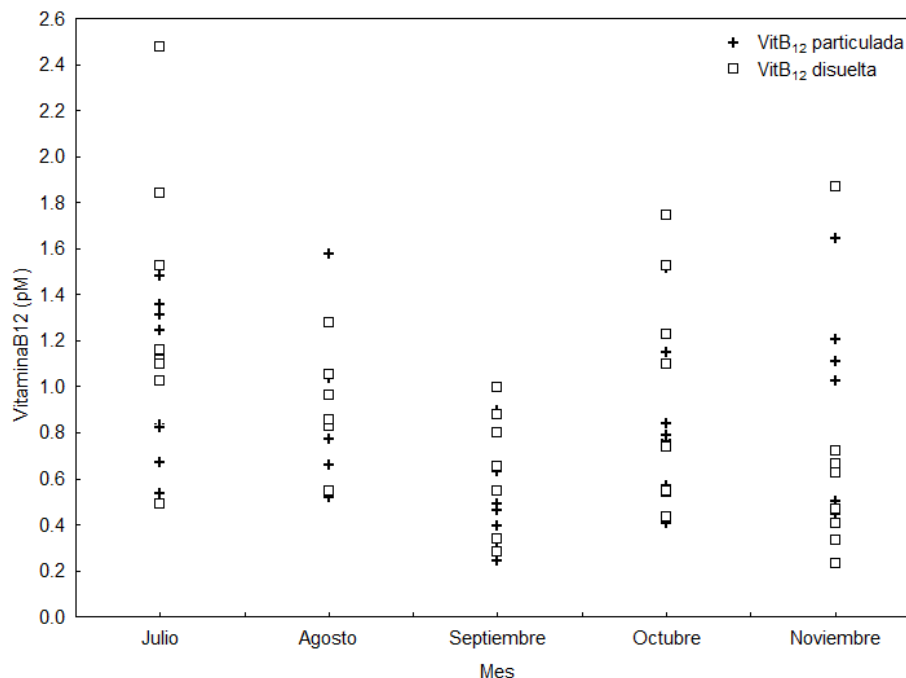
**Tabla I** Características de las comunidades de diatomeas en la Bahía Todos Santos. H = Índice de diversidad de Shannon-Wiener. S = índice de dominancia

Mes	Número total de especies	Abundancia Relativa	Género dominante	H'	S
Junio	31	24	<i>Leptocylindrus sp</i>	1.78	0.30
Julio	51	29	<i>Chaetoceros sp</i>	1.80	0.27
Agosto	44	29	<i>Pseudo-nitzschia sp</i>	2.50	0.11
Septiembre	39	29	<i>Pseudo-nitzschia sp</i>	2.19	0.17
Octubre	43	26	<i>Leptocylindrus sp</i>	2.45	0.12
Noviembre	59	30	<i>Pseudo-nitzschia sp</i>	2.28	0.15
Febrero	56	31	<i>Chaetoceros sp</i>	1.67	0.33
Marzo	67	32	<i>Chaetoceros sp</i>	1.80	0.30

### 6.3 Concentración de la vitamina B<sub>12</sub> particulada y disuelta en la Bahía de Todos Santos a 20m

La cuantificación de las dos fases de B<sub>12</sub> (disuelta y particulada) se realizó en cinco de los ocho meses de muestreo (julio, agosto, septiembre, octubre, noviembre 2020), a 20m, abarcando las temporadas de verano y otoño.

Las mayores concentraciones tanto de la forma particulada como disuelta se presentaron en verano (julio) (1.03-1.34 pM, respectivamente), en otoño (noviembre) se observaron las mayores concentraciones de B<sub>12</sub> particulada (0.94 pM) y en caso contrario y en septiembre hubo las menores concentraciones (0.49 pM), para el caso de la B<sub>12</sub> disuelta la mayor concentración se presentó en otoño (octubre) (0.981 pM), la menor concentración fue en el mes de otoño (noviembre) (0.66 pM) (Figura 10).



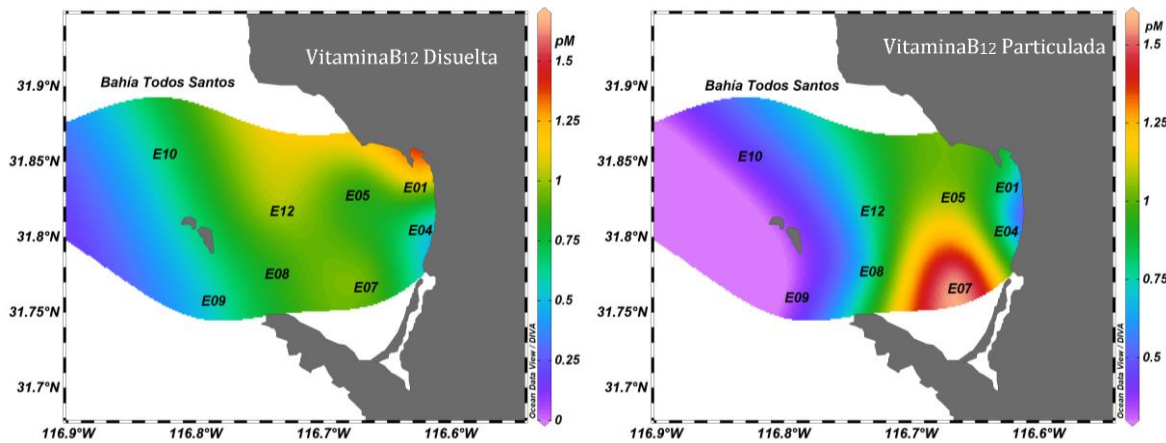
**Figura 9** Concentración de B<sub>12</sub> (pM), particulada y total, durante los meses de muestreo en la BTS, en todas las estaciones.

### 6.3.1 Variabilidad espacio-temporal de las concentraciones de vitamina B<sub>12</sub> particulada y disuelta

La prueba de homocedasticidad de Levene's (Anexo I y II), evidenció que las variables antes mencionadas tienen varianzas significativas, es decir, tienen un valor  $<0.05$ . La prueba de comparaciones múltiples Tukey-kramer, para los meses de julio y septiembre con respecto a la B<sub>12</sub> disuelta, particulada y total demostró que existe una diferencia específica, con los otros meses de muestreo. La B<sub>12</sub> disuelta y particulada más altas fueron registradas en el mes de julio y las más bajas en el mes de septiembre. La B<sub>12</sub> disuelta (ANOVA  $F_{4, 32} = 2.93$   $p < 0.05$ ), presentó diferencias significativas en todos los meses que fueron analizados (julio, agosto, septiembre, octubre y noviembre) (Tukey-Kramer), la mayor concentración fue en el mes de julio (1.34 pM) y la menor concentración en el mes de septiembre (0.64 pM). La B<sub>12</sub> particulada (ANOVA  $F_{4, 30} = 2.42$   $p > 0.05$ ) registró las mayores concentraciones en el mes de julio (1.03 pM) y la menor concentración en el mes de septiembre (0.49

pM). La vitB<sub>12</sub> total (ANOVA  $F_{4, 32} = 2.69$   $p < 0.05$ ), presentó diferencias significativas los meses de julio y septiembre (Tukey-kramer), en el mes de julio se registraron las mayores concentraciones (2.37 pM) y las menores concentraciones se registraron en el mes de septiembre (1.13 pM).

De forma general durante todo el periodo de muestreo la estación 12 fue donde se observaron mayores concentraciones de B<sub>12</sub> particulada y disuelta (0.825-0.8921, respectivamente), las concentraciones mínimas para ambas fases fueron de 0.549-0.651 pM respectivamente en la estación 1. Las mayores concentraciones para la fase particulada se cuantificaron en la estación 7 y las menores en la estación 9, en la fase disuelta en la estación 1 presento los valores más altos y los más bajos se observaron en la estación 4 (Figura 11).



**Figura 10** Distribución de la concentración de vitB<sub>12</sub> (pM) en la fase disuelta y particulada de B<sub>12</sub>, durante todo el periodo de muestreo dentro de la Bahía Todos Santos (BTS).

En caso particular, julio presentó las mayores concentraciones de ambas fases de B<sub>12</sub>, por lo que se hará más énfasis en él. Los puntos de muestreo más oceánicos presentaron las mayores concentraciones de B<sub>12</sub> particulada, en medio de la Bahía con influencia oceánica se observaron las mayores concentraciones de B<sub>12</sub> en su fase disuelta. Los puntos más próximos a la costa presentaron las menores concentraciones de B<sub>12</sub> en sus dos fases, disuelta y particulada.

#### 6.4 Variabilidad espacio-temporal de variables físico-químicas

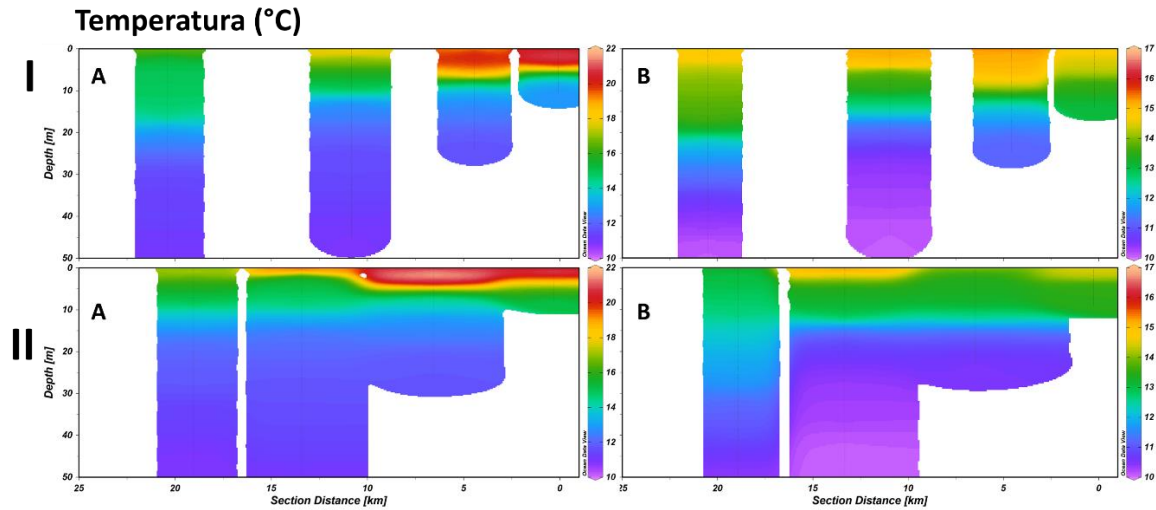
Para una mejor apreciación de su variabilidad a través de la columna de agua en el área de estudio, se realizaron perfiles horizontales (I y II) (Figura 4) de las distintas estaciones según su ubicación en los dos transectos perpendiculares a la costa dentro de la Bahía de Todos Santos según se aprecia en el recuadro; así mismo, se presenta la gráfica con datos de la abundancia del género *Pseudo-nitzschia* a 2 y 20m pues se consideró una valor de referencia importante al momento de describir los valores de oxígeno disuelto ( $O_2$ ). De manera general, la temperatura y la salinidad mostraron diferencias en su distribución durante los meses de estudio, se apreció una columna de agua completamente mezclada durante invierno (2021) y con más estratificada en el resto de los meses.

En verano (julio 2020), se observó una termoclina definida, con temperaturas hasta  $22^{\circ}C$  (Figura 12A), en contraste, en marzo la temperatura más alta fue de  $16^{\circ}C$  (Figura 12B). En el perfil de temperatura correspondiente al mes de julio, se observa que la columna de agua se estratifica en tres capas, la primera desde la superficie hasta los 5-7m de profundidad, con un intervalo de  $20^{\circ}C$  a  $22^{\circ}C$ , en las estaciones más cercanas a la costa. En primavera (marzo 2021), el estrato más cálido es en superficie hasta los 2m con intervalo de  $15^{\circ}C$ - $16^{\circ}C$  en las estaciones que se encuentran en la parte central de la bahía, es decir, prácticamente no existe estratificación.

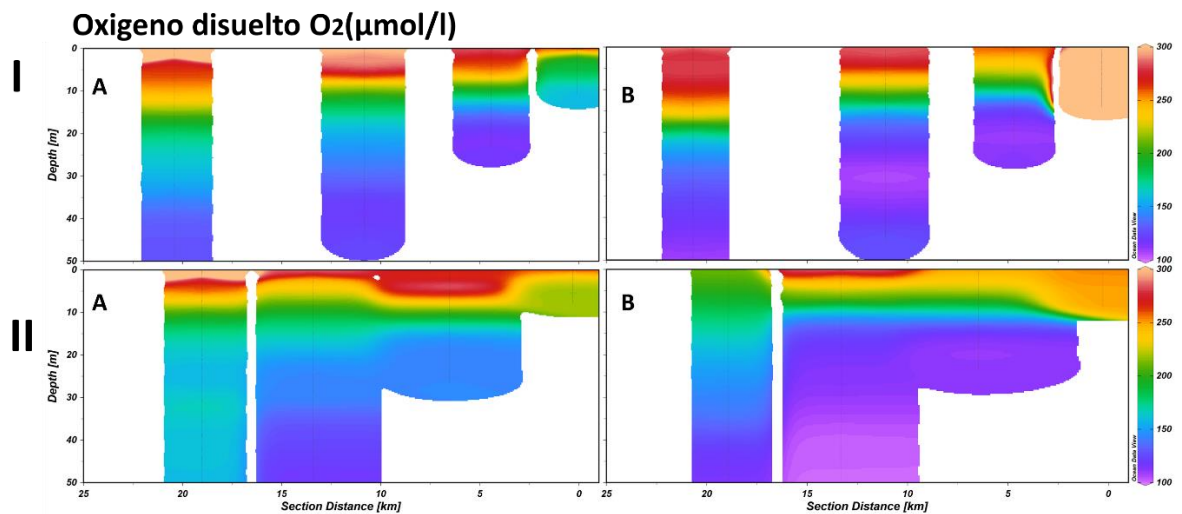
La segunda capa o intermedia durante primavera corresponde a la termoclina, definida con gradientes de temperatura entre los  $16^{\circ}C$  a  $14^{\circ}C$  hasta los 10m de profundidad; en invierno, se presenta a en el intervalo de  $13^{\circ}C$  a  $14^{\circ}C$  desde superficie hasta los 20m. La tercera capa se presenta a profundidades mayores de 10m en ambas temporadas y se caracterizó por presentar una disminución de la temperatura entre los  $12^{\circ}C$  a  $10^{\circ}C$ , en invierno alcanzó las menores temperaturas a mayor profundidad.

En los perfiles de O<sub>2</sub> de primavera e invierno (Figura 13 A y B, respectivamente), de manera general se observan valores alrededor de 34.5 mg/L (300 µmol/L) en todos los puntos de muestreo desde la superficie hasta los 10m. En los puntos más costeros, se observa de 23 mg/L a 28 mg/L (PAR 200-250 µmol/L), en la segunda capa que va de los 2m a 10m. Las condiciones de subsaturación (valores bajos de oxígeno) se observan a partir de los 15m en primavera y en invierno desde los 10m, en los puntos más alejados de la costa.

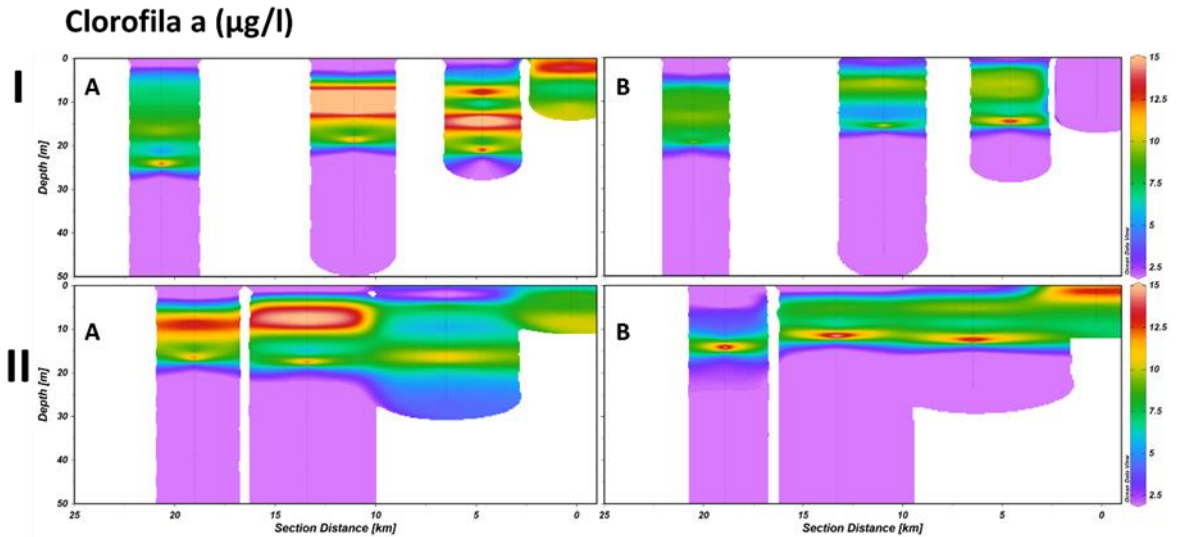
En la distribución vertical de clorofila a (fluorescencia) del transecto I de primavera (Figura 14A) se observaron las mayores concentraciones (12.5-15 µg/L) entre 8m y 15m de profundidad en los puntos costeros, por su parte, para invierno se perciben valores altos a menores profundidades y un máximo de superficie a 12m. Las menores concentraciones se perciben en superficie de los 0 a 2m, así como a profundidades mayores a los 20m con mínimos de hasta de 2.5 µg/L. En el transecto II, las mayores concentraciones en primavera se presentan entre los 5m y 10m en los puntos más oceánicos (Figura 14A). Durante el invierno, en el punto costero se presenta un máximo de clorofila a en superficie y conforme se va alejando de la costa este está presente entre los 10m y 15m (Figura 14B). En superficie (0-2m) y en profundidad a partir de los 20m se presentan los valores mínimos (2.5 µg/L). Estos resultados coinciden con las mayores abundancias de *Pseudo-nitzschia sp.* a 20 m en áreas más oceánicas y en superficie con *Chaetoceros sp.* (Figura 15).



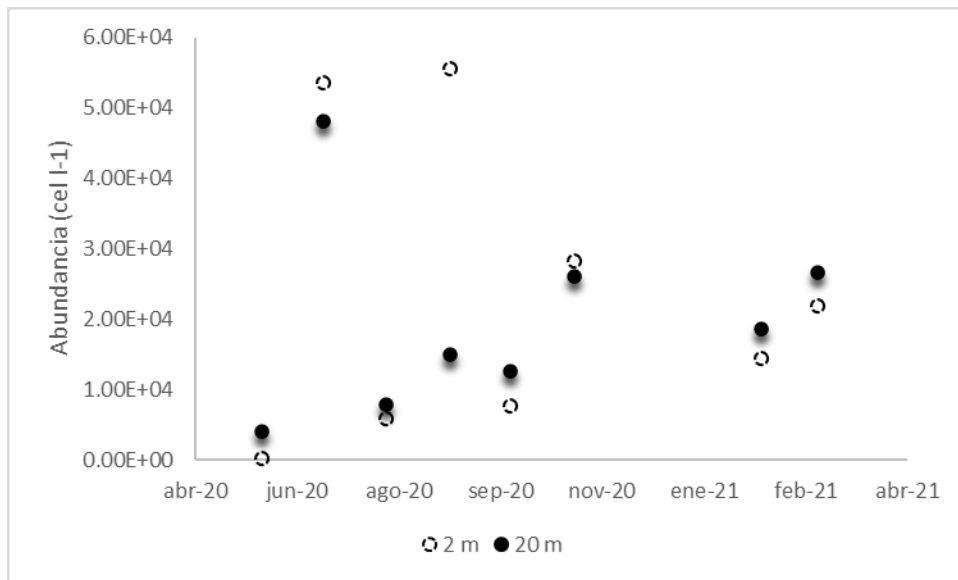
**Figura 11** Perfil de temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) de los transectos I y II de la Bahía Todos Santos, en los meses de julio (A) y marzo (B) de 2020, con datos obtenidos con el CTD Cambiar el pie de figura e indicar que fueron datos de CTD.



**Figura 12** Perfil de Oxígeno disuelto (OD) de los transectos I y II de la Bahía Todos Santos, en los meses de julio 2020 (A) y marzo 2021 (B), con datos obtenidos con el CTD.



**Figura 13** Perfil de Clorofila a ( $\mu\text{g/l}$ ) (sensor de fluorescencia, utilizado como proxy de biomasa fitoplanctónica) de los transectos I y II de la Bahía Todos Santos, en los meses de julio (A) 2020 y marzo (B) de 2021.

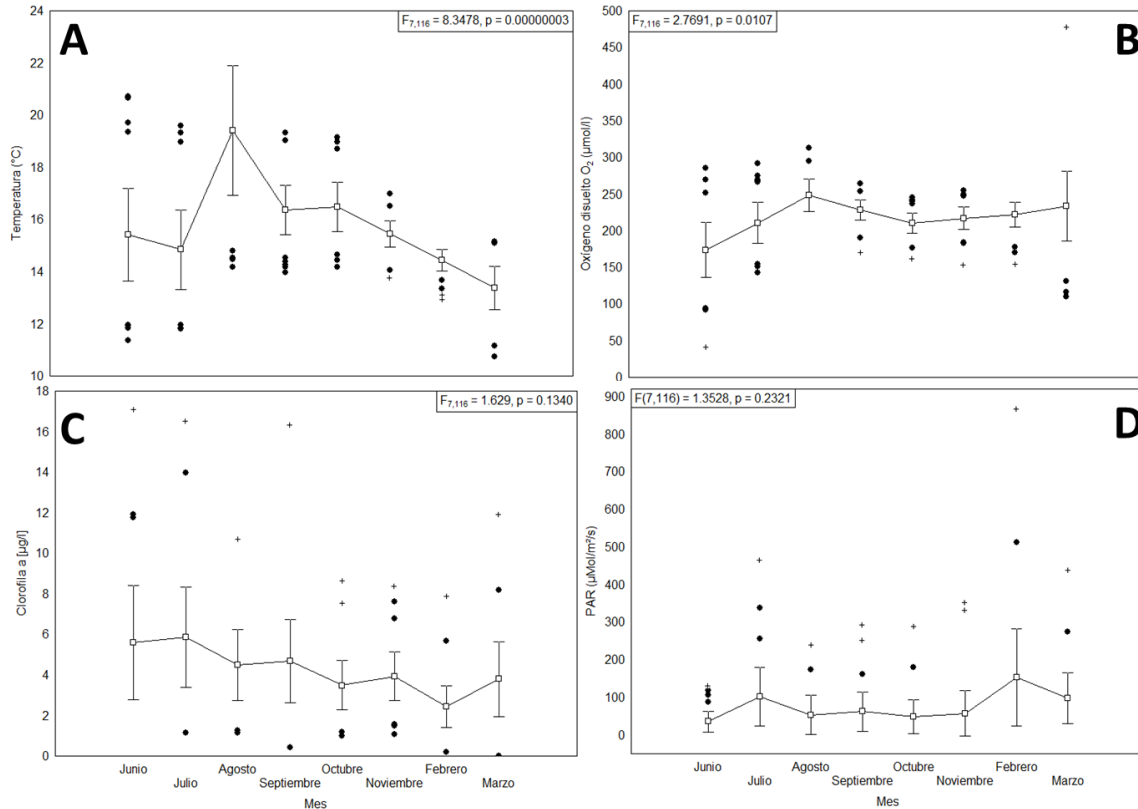


**Figura 14** Abundancia del género *Pseudo-nitzschia* a 2 y 20m, en la BTS durante los muestreos de junio a noviembre 2020 y febrero, marzo 2021.

Dos de las cuatro variables fisicoquímicas evaluadas (temperatura y oxígeno disuelto), presentaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) (ANOVA  $F_{63, 383.46} = 5.4375$   $p < 0.05$ ). De acuerdo con la prueba de comparaciones múltiples Tukey-Kramer, los meses de julio, agosto y marzo fueron distintos por la temperatura. La temperatura (ANOVA  $F_{7, 116} = 8.34$   $p < 0.05$ ), más alta ( $22.9\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) se registró en verano y la más baja ( $10.7\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) en primavera (Figura 16A).

La concentración de oxígeno disuelto (OD) presentó diferencias significativas en verano (junio y agosto 2020) (Tukey-Kramer) (ANOVA  $F_{7, 116} = 2.76$   $p < 0.05$ ), tuvo la concentración más baja en el mes de junio ( $173.9\text{ }\mu\text{m}$ ) y la mayor en agosto ( $248.5\text{ }\mu\text{m}$ ) (Figura 16B).

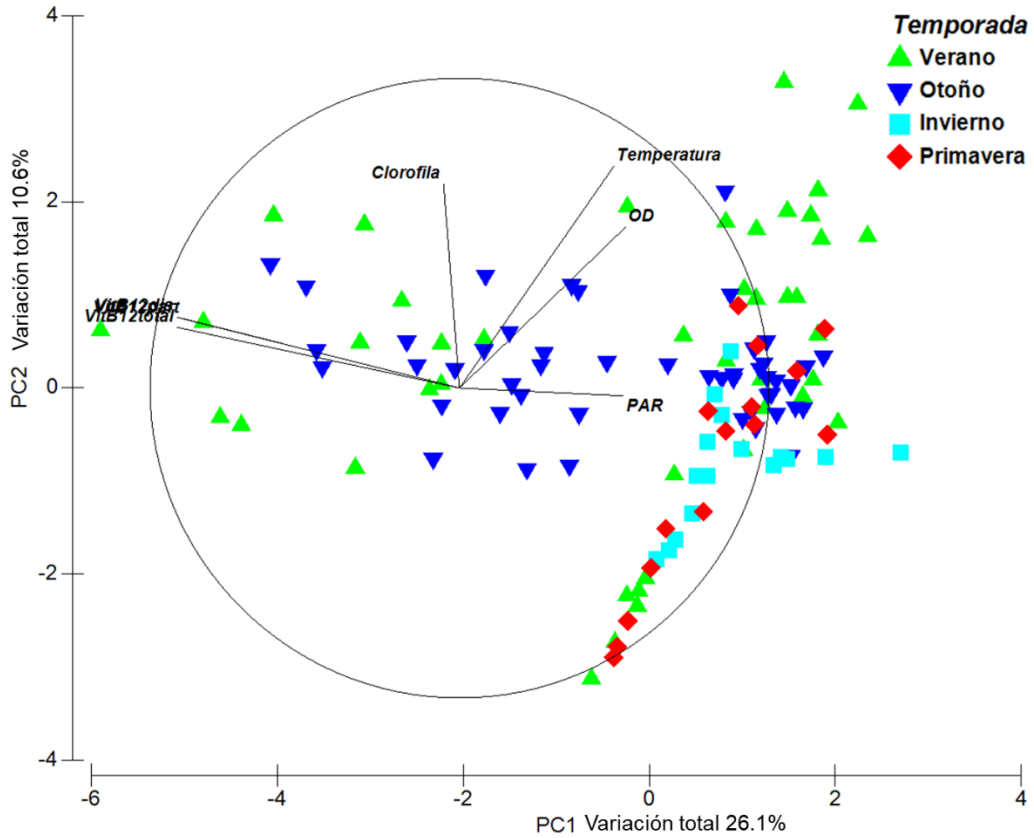
La concentración de clorofila y PAR (ANOVA  $F_{7, 116} = 0.13$   $p > 0.05$ ), fue significativamente más alta en verano (junio 2020) ( $5.5\text{ }\mu\text{g/l}$ ) y la más baja en invierno (febrero 2021) ( $2.45\text{ }\mu\text{g/l}$ ) (Figura 16C). El PAR (ANOVA  $F_{7, 116} = 1.35$   $p > 0.05$ ) presentó su mayor concentración en invierno (febrero 2021) ( $153.1\text{ }\mu\text{Mol/m}^2/\text{s}$ ) y la menor en verano (junio 2020) ( $35.7\text{ }\mu\text{Mol/m}^2/\text{s}$ ) (Figura 16D).



**Figura 15** Temperatura (°C) (A), Oxígeno disuelto (µm) (B), clorofila (µg/l) (C), PAR (D). La caja representa la mediana de los datos, los bigotes son el límite de las cotas internas, los casos extraordinarios están representados con un punto y los casos extremos.

### 6.5 Relación entre la abundancia de diatomeas con los parámetros ambientales

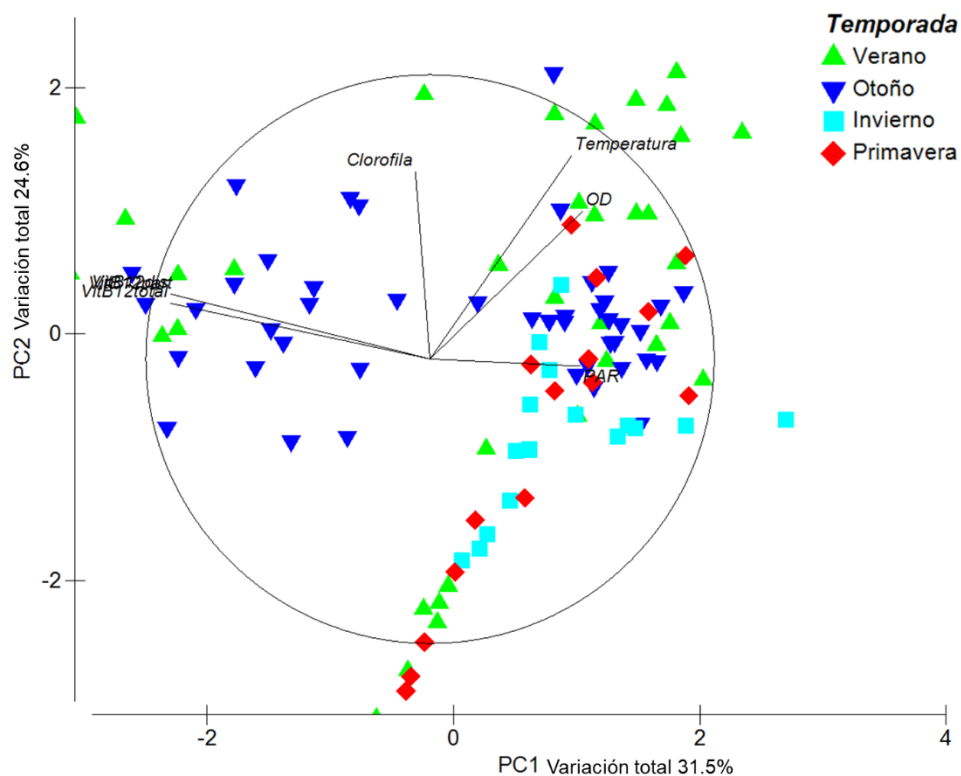
El análisis de componentes principales indica que las abundancias de las diatomeas presentes durante la campaña de muestreo están correlacionadas con las variables ambientales: B<sub>12</sub> particulada y disuelta durante las temporadas de verano y otoño, se infiere que la clorofila está representada por la abundancia de diatomeas en verano y otoño, siendo la temperatura la variable con mayor relación con todas las temporadas, el mes de junio, siendo el más relacionado con las variables de temperatura y clorofila, sin relación con las concentraciones de B<sub>12</sub> (Figura 17).



**Figura 16** Análisis de Componentes Principales (ACP), de variables ambientales: temperatura (°C) y clorofila a (µg/l), oxígeno disuelto (OD), B12 disuelta, particulada y total (pM) las temporadas de verano, otoño 2020 y primavera, invierno 2021 en la Bahía Todos Santos.

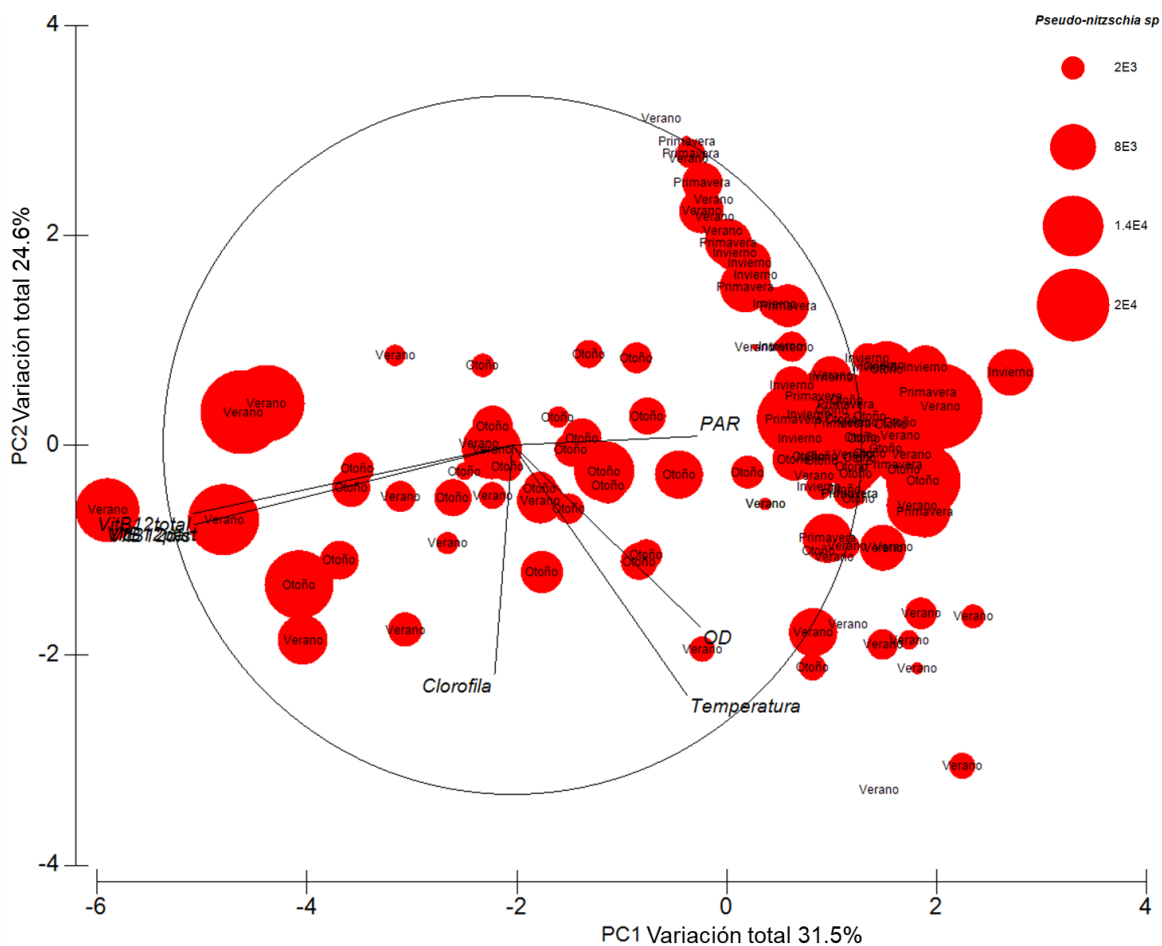
### 6.5.1 Relación entre la abundancia de *Pseudo-nitzschia* spp. y *Chaetoceros* spp con los parámetros ambientales

Los géneros *Pseudo-nitzschia* H. Peragallo y *Chaetoceros* Ehrenberg presentaron una estrecha relación con las variables de B<sub>12</sub> disuelta y particulada en verano y otoño, en invierno y primavera se observó una relación con las variables de temperatura, clorofila a, OD, y PAR. Estos géneros difieren en cuanto a las abundancias, ya que *Pseudo-nitzschia* H. Peragallo, está presente en todos los meses alcanzando las mayores abundancias en el mes de primavera y verano, a diferencia de *Chaetoceros* Ehrenberg, este no estuvo presente en todas las temporadas, sin embargo, alcanzó abundancias mayores en comparación con *Pseudo-nitzschia* (Figura 18).



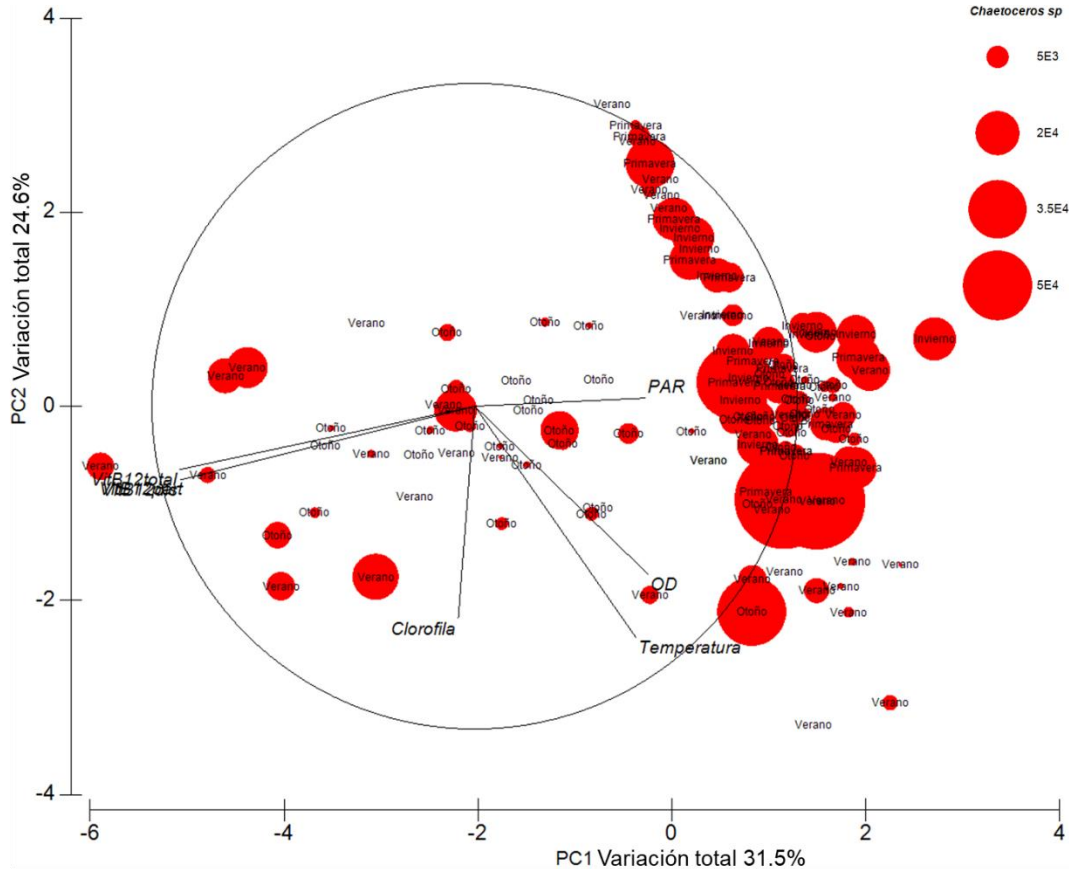
**Figura 17** Análisis de componentes principales con las abundancias de *Pseudo-nitzschia* y *Chaetoceros*, presentes durante la campaña de muestreo. Se observa una relación entre las especies y las variables de clorofila a, temperatura, OD, PAR, B<sub>12</sub> disuelta, particulada y total.

*Pseudo-nitzschia* H. Peragallo presentó una relación con la variable de temperatura y clorofila a durante todas las temporadas (verano, otoño 2020, primavera, invierno 2021), y con la B<sub>12</sub> particulada y disuelta durante el verano y otoño, presentando las mayores abundancias en el mes de primavera y verano, exceptuando el mes de junio del que se hablará en otro apartado (Figura 19). Las estaciones 9, 10 y 12 (20m) fue donde presento mayores abundancias y estas estuvieron relacionadas con las variables de B<sub>12</sub> particulada y disuelta.



**Figura 18** Análisis de componentes principales de las abundancias del género *Pseudo-nitzschia* y las variables ambientales: clorofila a, temperatura, OD, PAR, B<sub>12</sub> disuelta, particulada y tota durante todos los meses de muestreo en la BTS.

*Chaetoceros* Ehrenberg las variables estuvieron relacionadas de igual manera que en el caso de *Pseudo-nitzschia*, con una relación estrecha con la B<sub>12</sub> particulada y disuelta durante el verano y otoño y con una relación con la temperatura y clorofila a, durante todas las temporadas (verano, otoño 2020, primavera, invierno 2021), sin embargo, las abundancias mayores se presentaron en verano, estando ausente en los meses otoño e invierno (Figura 20). Su distribución dentro de la BTS tuvo las mayores abundancias en las estaciones superficiales (2m) y más cercanas a la costa (estaciones 1, 4 y 5). Las estaciones 9 y 10 (2-20m) tuvieron mayor relación con las concentraciones de B<sub>12</sub>, las estaciones en superficie (2m), estuvieron relacionadas con variable de temperatura, igual que en el caso de *Pseudo-nitzschia*, la estación 4 (20m) estuvo relacionada con el OD y la clorofila.



**Figura 19** Análisis de componentes principales de las abundancias del género *Chaetoceros* y las variables ambientales: clorofila a, temperatura, OD, PAR, B<sub>12</sub> disuelta, particulada y tota durante todos los meses de muestreo en la BTS.

Las variables fisicoquímicas, así como las mayores concentraciones de B<sub>12</sub> particulada y disuelta, estuvieron estrechamente relacionadas con las mayores abundancias de los géneros de diatomeas con potencial tóxico en la BTS, durante el periodo de muestreo de junio a noviembre 2020 y febrero-marzo 2021 (Figura 20).

## VI. DISCUSIÓN

---

### 7.1 Diatomeas dominantes en la Bahía Todos Santos y los géneros o especies con potencial nocivo

Los cambios y la dominancia en la estructura de la comunidad del fitoplancton pueden estar relacionados con ligeras variaciones en la temperatura del agua, así como en la respuesta a las condiciones ambientales (Cabrales-Talavera, 2010; Varona-Cordero y Gutiérrez-Mendieta, 2006), o bien por las estrategias empleadas por diferentes grupos de fitoplancton, para la absorción de los nutrientes disponibles en la columna de agua (Moreno-Díaz *et al*, 2015). De esta manera las diatomeas responden más rápidamente al incremento en la concentración de nutrientes disponibles (Örnólfssdóttir *et al*, 2004) por lo que pueden presentar un crecimiento poblacional más rápido, que las poblaciones de dinoflagelados como ocurre durante la temporada de lluvias.

Las especies del género *Pseudo-nitzschia* han sido consideradas como comunes en el Sistema de la Corriente de California (SCC) (Trainer *et al*, 2012), en esta zona sus FAN están fuertemente relacionados con eventos de surgencia (Trainer *et al*, 2008). En la costa Noroeste de Baja California solamente se ha confirmado la presencia de *P. australis* (García-Mendoza *et al*, 2009; Cabrales-Talavera, 2010) y *P. pungens* (Cabrales-Talavera, 2010), en el presente trabajo en la Bahía Todos Santos fueron identificadas taxonómicamente 92 especies de diatomeas, de las cuales se reconocieron 16 especies con forma (cf.) del género *Pseudo-nitzschia*: *P. americana*, *P. australis*, *P. brasiliana*, *P. calliantha*, *P. cuspidata*, *P. delicatissima*, *P. fraudulenta*, *P. multiseriata*, *P. multistriata*, *P. pungens*, *P. pseudodelicatissima*,

*P. roundii*, *P. sabit*, *P. seriata*, *P. subcurvata*, *P. subfraudulenta*, ocho de estas han sido reportadas como potencialmente tóxicas por ser productoras de ácido domoico (García-Mendoza *et al*, 2016; Quijano-Scheggia *et al*, 2020).

La temperatura es un factor importante para el crecimiento de especies del género *Pseudo-nitzschia* (Santiago-Morales, 2011), sin embargo, no se conocen con exactitud los factores que originan y mantienen un FAN del género (Bates *et al*, 1998). Los FA de *P. australis* en aguas del Pacífico se han presentado cuando la temperatura superficial del mar está entre 12.5 y 15.5 °C en la parte central y sur de California (Kudela *et al*, 2003 García-Mendoza *et al*, 2009), lo cual coincide con lo encontrado en este estudio (Fig. 12).

La diversidad de especies se determinó con el índice de Shannon de Shannon-Weaver (H'), este índice se utiliza en ecología para medir la biodiversidad específica, basado en la teoría de la información y es probablemente el más empleado en la ecología de comunidades proporcionando información sobre la cantidad de especies presentes en el área de estudio (riqueza de especies) y la cantidad relativa de individuos de cada una de esas especies (abundancia). En el caso de este estudio, la mayor diversidad se presentó en el mes de agosto (2.50), y la mayor dominancia en el mes de febrero (0.33) (tabla II).

En la BTS se han reportado abundancias máximas de diatomeas de  $3.7 \times 10^4$  cel L<sup>-1</sup> (Cabrales-Talavera, 2010) en el año 2007 y de estas se han registrado que *Pseudo-nitzschia australis* presenta abundancias máximas de  $3.02 \times 10^5$  cel L<sup>-1</sup> en la BTS que en el 2010 alcanzaron las  $1.7 \times 10^6$  cel L<sup>-1</sup> (García-Mendoza *et al*, 2009; Cabrales-Talavera, 2010; Horta-García, 2020). En este trabajo las mayores abundancias de la especie *Pseudo-nitzschia cf. australis* fueron registradas en primavera (marzo 2020) con máximos de  $9.4 \times 10^3$  cel L<sup>-1</sup> (Figura 15), donde se presentaron temperaturas en la columna de agua con intervalos de 12 a 14°C. En este sentido los resultados de esta investigación se pueden relacionar con condiciones óptimas para la acumulación del género *Pseudo-nitzschia sp.* que se asocia están asociadas a eventos de surgencias, que traen agua subsuperficial fría (14°C) a la superficie rica en nutrientes principalmente en primavera y verano (Trainer *et al*, 2008; Smayda y Trainer, 2010; García-Mendoza *et al*, 2009). Aunque

no se conocen con exactitud los factores que generan los FAN en las especies reportadas en este trabajo muchos de estos eventos han sido asociados a eventos de surgencias costeras debido a que las especies de este género se han detectado en las costas de California llegando hasta nuestra región debido a la circulación hacia el sur del Sistema de la Corriente que incluso en verano genera levantamiento de la capa de mezcla (Trainer *et al.* 2000; Cabrales-Talavera, 2010; García-Mendoza, 2009), esto pudo ser el factor que promovió que entre verano y otoño en este trabajo se detectaran altas abundancias de organismos del género *Pseudo-nitzschia* como los valores de hasta  $10.1 \times 10^3$  cel L<sup>-1</sup> como lo reportado por Cabrales-Talavera (2010).

Por otra parte, se debe considerar el hundimiento del fitoplancton que ocurre después de una proliferación que contribuye a una acumulación de material orgánico en la termoclina cerca de la costa y por su proceso de descomposición y posterior degradación libera nutrientes, respiración bacteriana que consume oxígeno, lo que promueve la formación que aumentan la magnitud y duración del florecimiento de fitoplancton (Cruz-Rico, 2015). Con base en el Análisis de Componentes Principales (ACP) los datos sugieren que los géneros de *Pseudo-nitzschia sp.* y *Chaetoceros sp.* presentaron una relación directa con la temperatura y clorofila a, y presento correlación inversa con la presencia de oxígeno disuelto (OD). De acuerdo con la clasificación de Margalef (1979), las diatomeas presentan una mayor biomasa, transitoria y autolimitada, con un crecimiento rápido bajo condiciones de alta turbulencia y disponibilidad de nutrientes (Cullen *et al.*, 2002; Glibert, 2016).

*Chaetoceros* Ehrenberg es un género de diatomeas planctónicas, común y posiblemente el más grande en ambientes marinos de todo el mundo, distribuido en todas las latitudes en áreas neríticas y plataformas continentales (Li *et al.*, 2017). Los patrones de distribución del género *Chaetoceros sp.* han sido igualmente de abundantes en ambos hemisferios (norte y sur), con una escasez de registros en océanos abiertos (De Luca *et al.*, 2019). Sin embargo, en la Bahía Todos Santos los registros para este género son muy limitados, por lo que este trabajo aporta

información nueva de las especies presentes y su distribución, así como de las concentraciones de B<sub>12</sub> en las fracciones disuelta y particulada en la Bahía Todos Santos.

## 7.2 Vitamina B<sub>12</sub> (particulada y disuelta) en la Bahía de Todos Santos

Aunque se ha mencionado que la vitamina B tienen un potencial para influir en la estructura y productividad de las comunidades de fitoplancton (Shelton *et al*, 2019). En este estudio se relacionó la concentración de B<sub>12</sub> en dos fases, particulada y disuelta, para en base establecer posibles con las mayores abundancias de especies nocivas de diatomeas en el sistema acuático (Fig. 19).

El aporte de vitaminas por parte de la comunidad bacteriana probablemente se relacionó con la limitación vitamínica para las diatomeas, lo que es coherente con Bertrand *et al* (2011), quienes concluyeron que las vitaminas limitan las comunidades de fitoplancton. Se comprobó que las bacterias son capaces de sintetizar la B<sub>12</sub> de *in novo*, pues, la tasa de crecimiento bacteriano aumento conforme aumento significativamente la cantidad de B<sub>12</sub> producida por las células bacterianas (Croft *et al*, 2005, Villegas-Mendoza *et al*. 2019). Se ha establecido la fuente de B<sub>12</sub> para las microalgas es a través de una interacción directa con las bacterias (Villegas-Mendoza, 2019), se propone que es por medio de una interacción simbiótica (Croft *et al*, 2005). El ciclo de las vitaminas (absorción y producción) se produce principalmente dentro de la comunidad procariota del picoplancton, un hecho que puede limitar el crecimiento de algunas células eucariotas del fitoplancton como las diatomeas (Koch *et al*, 2011).

Las especies de fitoplancton necesitan un suministro exógeno de B<sub>12</sub> (Croft *et al*, 2005). Las diatomeas son un grupo con una clara dependencia con la B<sub>12</sub> (Pravasoli y Carlucci, 1974; Croft *et al*, 2005). La correlación entre las concentraciones de vitamina y la abundancia de diatomeas ( $r = 0.61$ ;  $p < 0.005$ ), es coherente con el hecho de que la mayor parte del fitoplancton es auxótrofo (Anexo III), lo que sugiere un estrecho acoplamiento entre fotoautótrofos y procariotas productores de B<sub>12</sub> (Croft *et al*. 2005; Koch *et al*, 2011), sin embargo, en este trabajo, no se encontró

una correlación entre la clorofila como proxy a biomasa fitoplanctónica y la B<sub>12</sub> total ( $r = 0.001$ ;  $p = 0.9$ ), la falta de correlación se pudo deber a una subestimación de la vitamina disuelta por la metodología empleada, ya que es posible que las células no se rompieron por completo lo que limitó la liberación de la B<sub>12</sub>. Las concentraciones de B<sub>12</sub> en agua de mar en la literatura varía sobre todo en los reportes de zonas costeras. En general, el contenido de B<sub>12</sub> oceánica es menor que el observado en los sistemas costeros (Panzeca *et al*, 2009) y pueden estar correlacionados con la biomasa microbiana (Gobler *et al*, 2007; Koch *et al*, 2011). Para este trabajo, en la Bahía Todos Santos se presentaron las mayores concentraciones de B<sub>12</sub> total en un intervalo de 0-2.37 pM, lo cual cae dentro de los intervalos registrados para otras latitudes (Okbamiichael y Sañudo-Wilhelmy, 2004, Gobler *et al*, 2007; Zhu *et al*, 2011).

Las concentraciones de B<sub>12</sub> disuelta van desde <0.23 pM hasta 2.37 pM de la BTS, en verano (julio 2020). Las concentraciones de B<sub>12</sub> particulada se presentaron en un intervalo de 0.24 a 1.64 pM en la BTS, en contraste a lo descrito por Gutierrez-Rosas (2013) que reportó valores indetectables a través del método que realizaron (HPLC). Por su parte en Bahía San Quintín, B.C., las concentraciones de la B<sub>12</sub> que se han reportado son mayores para la fracción particulada (hasta 2.3 pM) y las menores concentraciones en la fracción disuelta con valores de 0.77 pM (Cano-Suzan, 2021). Este contraste es posible durante el muestreo realizado se hayan presentado las mayores concentraciones para la fracción disuelta por el evento de FAN que se presentó en junio 2020, debido al decaimiento del FAN trayendo consigo la disponibilidad de B<sub>12</sub> disuelta en el medio.

La producción de B<sub>12</sub> producida por las comunidades bacterianas para la fracción disuelta se encuentra en un intervalo de 0-2.15 pM y para la fracción particulada de 7.73-15.85 pM (Villegas *et al*, 2019) En un trabajo paralelo al realizado durante los muestreos de esta investigación se determinaron valores de abundancias bacterianas máximas en el mes de agosto de 2020 un promedio  $2.89 \times 10^5$  células por ml y para el mes de marzo 2021 de  $9.02 \times 10^5$  células ml<sup>-1</sup> (Andrade-Hernández, en proceso). Lo anterior es importante mencionar ya que en 2020 se presentó un FAN del dinoflagelado *Lingulodinium polyedra*, el cual duró de mayo a junio-julio,

durante el decaimiento de este FAN la presencia de células rotas y degradadas pudieron favorecer la presencia de B<sub>12</sub> disuelta en los meses de agosto de 2020, en donde también observamos la abundancia máxima de bacterias, las cuales estarían aprovechando los productos de lisis y material orgánico presente después del FAN de *L. polyedra*, lo cual también favoreció la sucesión de especies y la aparición de las diatomeas aquí reportadas (Ruiz-De la Torre com. per 2021).

La “cuota celular” en cuanto disponibilidad de vitaminas propuesta por Droop (1968, 1970, 1974, 2007), indica que las concentraciones intracelulares de vitaminas varían dependiendo de las condiciones de crecimiento del fitoplancton, con altas tasas de crecimiento e incorporación a concentraciones mayores de vitaminas. Por tanto, es posible que las concentraciones reportadas para zonas costeras no se refieran sólo a la B<sub>12</sub> libre en el medio, quizá incluya parte de la B<sub>12</sub> presente en las bacterias, liberada por células al momento de procesar las muestras. Como consecuencia del FAN de dinoflagelados que se presentó en la BTS en el mes de junio 2020 que se extendió desde Bahía San Quintín hasta la BTS (Cano-Suzan, 2021; Ruiz-De la Torre com. per 2021), generó que el siguiente mes se presentaran las mayores concentraciones de B<sub>12</sub>, así como una elevada abundancia de diatomeas, posiblemente por la liberación de B<sub>12</sub> intracelular por muerte celular o lisis viral, la cual representa en el océano un aporte constante tanto de nutrientes inorgánicos por remineralización como las vitaminas (Gutierrez-Rosas, 2013).

Con los resultados obtenidos en este trabajo, se sugiere la necesidad que en trabajos posteriores se cuantifiquen las fracciones particuladas como disueltas de la B<sub>12</sub>, así como realizar experimentos para poder determinar la proporción que asimila o liberan los procariotas y eucariotas.

### **7.3 Variabilidad espacio-temporal de variables físico-químicas presentes en la zona de estudio en las fechas de muestreo**

La circulación de en la BTS consiste en la presencia de remolinos ciclónicos y anticiclónicos que evolucionan en una escala temporal de aproximadamente de 2 días, los cuales se ven afectados por las corrientes en el exterior. Estas son más intensas en primavera y verano debido a frentes de densidad generados por las surgencias lo que se relaciona con la temperatura superficial que llega a ser más baja en periodos de primavera y verano debido a la influencia de agua fría originada por surgencias fuera de la BTS (Mancilla y Martínez, 1991; Granados-Guzmán *et al*, 1995).

Las diferencias de temperatura presentes durante el periodo de muestreo correspondieron con las reportadas en la Bahía Todos Santos (Peña Manjarrez, 2008; Granados-Guzmán *et al*, 1995; Lange *et al*, 1994). Las mayores temperaturas alcanzaron hasta los 22°C, que se presentaron en el mes de julio, entrando en el rango de valores reportados para la zona por Peña Manjarrez, 2008; Cruz-Rico, 2015, Cabrales-Talavera, 2010, sin embargo, en marzo se presentaron las menores temperaturas (15°C) en este estudio.

Las temperaturas más bajas se presentaron en los meses correspondientes a la época de invierno, cuando los vientos fríos provenientes del noroeste favoreciendo la mezcla turbulenta provocando una disminución en la temperatura de la columna de agua, promoviendo la circulación a través de la capa de mezcla que posiblemente está asociada a zonas de mayor turbulencia generada por vientos, enfriamiento, o procesos como la evaporación incremento de la salinidad (Peña-Manjarrez, 2008; Cruz-Rico, 2015)) que pudieron favorecer la fertilización de la zona eufótica al resuspender nutrientes desde aguas más profundas.

La concentración de clorofila a como proxy de la biomasa fitoplanctónica presentó una variación 0.4-16.5 µg L<sup>-1</sup>, de acuerdo con Cabrales-Talavera (2010) en primavera 3.08 µg L<sup>-1</sup> y en verano se presentaron las concentraciones más bajas.

La concentración de clorofila relativamente baja ( $0.42 \mu\text{g L}^{-1}$ ) registrada en septiembre puede estar asociada a la circulación presente en este mes y a una limitación del crecimiento fitoplanctónico (Cabrales-Talavera, 2010).

## VII. CONCLUSIONES

---

1. Las mayores abundancias de los géneros de *Pseudo-nitzschia* y *Chaetoceros* se presentaron en julio, noviembre 2020 y marzo 2021; y las menores abundancias en junio 2020.
2. Se identificaron a nivel *con forma* (c.f), 19 especies del género *Pseudo-nitzschia* y 18 especies del género *Chaetoceros*.
3. La concentración de  $B_{12}$  particulada presentó una correlación con las mayores abundancias de *Pseudo-nitzschia* y *Chaetoceros* en los meses de julio y noviembre 2020 lo cual indica que la distribución y abundancia de dichas especies depende de presencia de  $B_{12}$  en la BTS. Las menores concentraciones de  $B_{12}$  total se presentaron en el mes de septiembre 2020.
4. La temperatura fue la variable ambiental que tuvo una mayor relación con la presencia de ambas especies durante los meses de julio, noviembre 2020 y marzo 2021.

## VIII. REFERENCIAS

---

Argote-Espinosa, M., F. y A. Gavidia. 1991. Wind-induced circulation in Todos Santos Bay, B. C., México. *Atmósfera*. 4 (2): 101-115.

Barber-Lluch, E., V. Joglar, G. Moreiras, J. M. Leao, A. Gago-Martínez, E. Fernandez, E. Teira. 2021. Variability of vitamin B<sub>12</sub> concentrations in waters along the Northwest Iberian shelf. *Elsevier*. 42: 101608

Bates, S. S., D. L. Garrison, R. A. Horner. 1998. Bloom Dynamics and Physiology of Domoic-Acid-producing Pseudo-nitzschia Species, In: Anderson, D.M., Cembella, A.D., Hallegraeff, a.G.M. (Ed.), *Physiological ecology of harmful algal blooms*. Springer-Verlag, Heidelberg.

Bertrand, E. M., A. E. Allen, C. L. Dupont, T. M. Norden-Krichmar, J. Bai, R. E. Valas, M. A. Saito. 2012. Influence of cobalamin scarcity on diatom molecular physiology and identification of a cobalamin acquisition protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(26): 1762-1761.

Billler, D. V., y K. W. Bruland. 2013. Sources and distributions of Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, and Cd relative to macronutrients along the central California coast during the spring and summer upwelling season. *Marine Chemistry*, 155, 50-70.

Cabrales-Talavera, 2010. Distribución especial y temporal de diatomeas del género *Pseudo-nitzschia spp* y concentración de ácido domoico en la region de la Bahía Todos Santos, B. C., México. Tesis de maestría.

Cano-Sauzan. A. 2021. Distribución de vitamina B<sub>12</sub> y composición fitoplanctónica en Bahía san quintín, durante un muestreo en abril 2019. Universidad Autonoma de Baja California. Tesis de Maestría. 61p.

Carlucci, A.F. y P. M. Bowes. 1970. Vitamin production and utilization by phytoplankton in mixed culture. *Journal of Phycology*, 6: 393-400.

Croft, M. T., M. J Warren, A.G. Smith. 2006. Algae Need Their Vitamins. *Eukaryotic Cell*. 5(8): 175-183.

Cruz-Rico, J. E. 2015. Análisis de la variabilidad de la clorofila en la Bahía Todos Santos a través de un modelo numérico físico-biológico. Tesis de maestría. Programa de posgrado en ciencias en Ecología Marina. 77p.

Cullen, J. J., P. J. Franks, D. Karl, A. Longhurst. 2002. Physical influences on marine ecosystem dynamics. Cap.8. *The Sea*, Volume 12, ed. Allan R. Robinson, James J. McCarthy y Brian J. Rothschild. 297-336.

De Luca, D., W. Kooistra, D. Sarno, C. Gaonkar, R. Piredda. 2019. Global distribution and diversity of *Chaetoceros* (Bacillariophyta, Mediophyceae): integration of classical and novel strategies. *PeerJ*. 23p.

Droop, M. 1968. Vitamin B12 and Marine Ecology. IV. The Kinetics of Uptake, Growth and Inhibition in Monochrysis Lutheri. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 48(3): 689-733.

Droop, M. R. 2007. Vitamins, phytoplankton and bacteria: symbiosis or scavenging? *Journal of Plankton Research*, 29(2): 107-113.

Durán Flores, B. A. 2017. Evaluación de ácido domoico en mamíferos marinos en Baja California, México. Tesis de Maestría en Ciencias. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California. 56 pp.

Ferrario, M. E., E. A. Sar y S. E. Sala. 2002. Diatomeas potencialmente tóxicas del Cono Sur Americano. In: SAR, E. A., M. E. FERRARIO & B. REGUERA (eds.), Floraciones algales nocivas en el Cono Sur Americano, pp. 169-194. Instituto Español de Oceanografía.

Field, B., J. Behrenfeld, T. Randerson y P. Falkowski. 1998. Primary Production of the Biosphere: Integrating Terrestrial and Oceanic Components. *American Association for the Advancement of Science*. (281): 237-240.

Fryxell G. A y G.R. Hasle. 2004. Taxonomy of harmful diatoms. In: Hallegraeff GM, DM Anderson & AD Cembella (eds). Manual on Harmful Marine Microalgae, pp. 465-509. Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Paris.

Garate-Lizarraga, I., G. Verdugo-Díaz y B. Y. Okolodkov. 2016. Florecimientos algales nocivos en la costa occidental de Baja California Sur. Research Gate. En. Florecimientos algales nocivos en México. 44-59.

García-Mendoza, E., D., Rivas, A. Olivos-Ortiz, A. Almazán-Becerril, C. Castañeda-Vega, J. L. Peña-Manjarrez. 2009. A toxic *Pseudo-nitzschia* bloom in Todos Santos Bay, northwestern Baja California, México. *Harmful Algae*: 493-503.

García-Mendoza, E., S. I., Quijano-Scheggia, A. Olivos-Ortiz, E. J. Núñez-Vázquez. 2016. Introducción general. Florecimientos Algales Nocivos en México. Ensenada, México. En. Florecimientos algales nocivos en México, 10-19.

García-Reyes, M., W. J. Sydeman, D. S. Schoeman, R. R. Rykaczewski, B. A. Black, A. J. Smit, y S. J. Bograd 2015. Under pressure: Climate change, upwelling, and Eastern Boundary Upwelling Ecosystems. *Frontiers in Marine Science*, 2: 1-10.

Gobler, C. J., N. Colleen, C. Panzeca, G. T. Taylor, S. A. Sañudo-Wilhelmy. 2007. Effect of B-vitamins (B<sub>1</sub>, B<sub>12</sub>) and inorganic nutrients on algal Bloom dynamics in a coastal ecosystem. *Aquatic Microbial Ecology*, 49: 181-194.

Grant M. A., E. Kazamia, P. Cicuta y A. Smith. 2014. Direct exchange of vitamin B12 is demonstrated by modelling the growth dynamics of algal–bacterial cocultures. *The ISME Journal*. 8: 1418-1427.

Gutiérrez-Galindo, E. A., A. Muñoz-Barbosa, M. R. Mandujano-Velasco, L.W. Daesslé, y M. V. Orozco Borbón. 2010. Distribution and Enrichment of Silver and Cadmium in Coastal Sediments from Bahía Todos Santos, Baja California, México. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 85(4): 391–396.

Gutierrez-Rosas, P. C. 2013. Vitaminas y fitoplancton: aspectos metodológicos para determinar las vías de adquisición en *T. pseudonana* y concentraciones de vitamina intracelular. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. Tesis de maestría, 1-81.

Hasle, G. R. 1993. Nomenclatural notes on marine planktonic diatoms. The family Bacillariaceae. *Beih. Nova Hedw*, 106: 315-321.

Helleren, S. 2016. The diatom *Chaetoceros* spp. as a potential contributing factor to fish mortality events in Cockburn Sound, November 2015. *Dalcon Environmental*, 32pp.

Horta-García, M. 2020. Variación espacio-temporal de ácido domoico disuelto (ADd) en la Bahía Todos Santos, Baja California. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California. Tesis de Maestría, 94pp

Isegawa Y., N. Yoshihisa Nakano, y K. Shozaburo. 1984. Conversion and Distribution of Cobalamin in *Euglena gracilis* z, with Special Reference to Its Location and Probable Function within Chloroplasts. *Plant Physiology*, 76(3): 814-818.

Kazamia, E., H. Czesnick, T. V. Nguyen, M. Croft, E. Sherwood, E. Sasso, S. Hodson, M. Warren y A. Smith. 2012. Mutualistic interactions between vitamin B12 - dependent algae and heterotrophic bacteria exhibit regulation. *Environmental Microbiology*, 14(6): 1466 - 1476.

Koch, F., M. A. Marcoval, C. Panzeca, K. W., Bruland, S. A. Sañudo-Wilhemly y C. J. Gobler. 2011. The effect of vitamin B<sub>12</sub> on phytoplankton growth and community structure in the Gulf of Alaska. *Limnology and Oceanography*, 56(3): 1023-1034.

Kudela, R., W. Cochlan y A. Roberts. 2003. Spatial and temporal patterns of *Pseudo-nitzschia* spp. in Central California related regional oceanography. *Harmful Algae. Florida and Wildlife Conservation Commission*, 136-138.

Li, Y., A. Boonprakob, C. Gaonkar, C. W. Kooistra, C. Lange, D. Hernández-Becerril, Z. Chen, O. Moestrup, N. Lundholm. 2017. Diversity in the Globally Distributed Diatom

Genus *Chaetoceros* (Bacillariophyceae): Three New Species from Warm-Temperate Waters. *Plos One* 12(1): 1-38.

Lund, J., C. Kipling y E. D. Le Cren. 1958. The inverted microscope method of estimating algal numbers and the statistical basis of estimations by counting. *Hydrobiol*, 11: 143–170.

Moreno-Diaz, G., A. A. Rojas-Herrera, J. González-González, J. Violante-González, J. L. Rosas-Acevedo, S. García Ibáñez. 2015. Temporal and spatial variation in the phytoplankton community of Acapulco Bay, Mexico. *Revista Bio Ciencias* 3(2): 88-102.

Okbamichael, M. y Sañudo-Wilhelmy, S. 2004. A new method for the determination of Vitamin B<sub>12</sub> in seawater. *Analytica Chimica*, 517: 33-38.

Örnólfssdóttir, E. B., S. E. Lumsden, J. L. Pinckney. 2004. Nutrient pulsing as a regulator of phytoplankton abundance and community composition in Galveston Bay, Texas. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 303:197 – 220

Panzeca, C., A. J. Beck, A. Tovar-Sánchez, J. Segovia-Zavala, G. T. Taylor, C. J. Gobler, S. A. Sañudo-Wilhelmy 2009. Distributions of dissolved vitamin B<sub>12</sub> and Co in coastal and open-ocean environments. *Elsevier*, 85: 223-230.

Peña-Manjarrez, J. L. 2008. Ecología de dinoflagelados productores de florecimientos en la Bahía de Todos Santos, Baja California. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California.

Provasoli, I. y A. F. Carlucci. 1974. Vitamins and growth regulators, *Algal physiology and chemistry*. Blackwell, 741–787.

Quijano-Scheggia SI, Olivos-Ortiz A, Garcia-Mendoza E, Sánchez-Bravo Y, Sosa-Avalos R, Salas Marias N, et al. 2020. Phylogenetic relationships of *Pseudo-nitzschia subpacificae* (Bacillariophyceae) from the Mexican Pacific, and its production of domoic acid in culture. *PLoS ONE* 15(4): e0231902.

Rines J. E. B y E. C. Theriot. 2003. Systematics of Chaetocerotaceae (Bacillariophyceae). I. A phylogenetic analysis of the family. *Phycological Research*, 51: 83-98.

Santiago-Morales, I. 2011. Potencial toxico de cepas de *Pseudo-nitzschia* aisladas de la costa occidental de Baja California. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada.

Sañudo-Wilhelmy S., L. Gómez-Consarnau, C. Suffridge y E. Webb. 2014. The Role of B Vitamins in Marine Biogeochemistry. *Annu. Rev. Mar. Sci*, 6: 339-3367.

Schlitzer, R., Ocean Data View, <https://odv.awi.de>, 2018.

Shannon C.E., y W. Weaver. 1949. The mathematical theory of communication. University of Illinois Press. Urbana, 144 pp.

Shelton, A.N., E.C. Seth, K. C. Mok, et al. 2019 Uneven distribution of cobamide biosynthesis and dependence in bacteria predicted by comparative genomics. *ISME J* 13, 789–804.

Shevchenko, O., T. Orlova y D. U. Hernández-Becerril. 2008. The genus *Chaetoceros* (Bacillariophyta) from Peter the Great Bay, Sea of Japan. *Botanica Marina*, 49:236-258.

Simpson, E.H. 1949. Measurement of Diversity. *Nature*, 163: 688.

Smayda T. J. 2006. Diatom Blooms and fish mortality. In: Scottish Executive Environment Group, Harmful Algal Bloom Communities in Scottish Coastal Waters: Relationship to Fish Farming and Regional Comparisons.

Smayda, T. J. 1990. Novel and nuisance phytoplankton blooms in the sea: Evidence for a global epidemic. *Toxic Marine Phytoplankton*. Elsevier, NY, 29-40.

Smayda, T.J. (1997). Harmful algal blooms: Their ecophysiology and general relevance to phytoplankton blooms in the sea. *Limnol. Oceanogr.* 42(5): 1137-1153.

Suffridge, C., L. Gomez-Consarnau, D. Monteverde, L. Cutter, J. Aristegui, X. A. Álvarez-Salgado, J. Gasol, y S. Sañudo-Wilhelmy, Sergio. 2018. B Vitamins and Their Congeners as Potential Drivers of Microbial Community Composition in an Oligotrophic Marine Ecosystem. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*, 123: 2890–2907.

Sunesen, I., D. U. Hernández-Becerril y E. Sar. 2008. Marine diatoms from Buenos Aires coastal waters (Argentina). V. Species of the genus *Chaetoceros*. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 43(2): 303-326.

Swift, D. G. 1980. Vitamins and growth factors. *The physiological ecology of phytoplankton*. Blackwell Scientific, 329-368.

Trainer, V., S. Bates, W. Cochlan, N. Lundholm, A. Thessen, Adams, C. Trick. 2012. Pseudo-nitzschia physiological ecology, phylogeny, toxicity, monitoring and impacts on ecosystem health. *Harmful Algae*, 14: 271-300.

Trainer, V.L., B. M. Hickey y S.S. Bates. 2008. Toxic diatoms. In: P.J. Waish, S.L. Smith, L.E. H. Fleming, Solo- Gabriele, and W.H. Gerwick, *Oceans and human health: risks and remedies from the sea*. *Elsevier Science Publishers*, 219-237.

Varona-Cordero, F. y F. J. Gutiérrez-Mendieta. 2006. Composición estacional del fitoplancton de dos lagunas del Pacífico tropical. *Hidrobiológica*, 16, 159-174

Vilchis, M. C, O. López-Fuerte, C. A. Pérez-Rojas. 2020. Algas de Cristal; diatomeas. 25-42.

Villafañe, V y F. Reid. 2005. Métodos de microscopía para la cuantificación del fitoplancton. En: Manual de Métodos Ficológicos; Alveal, Ferrario, Oliveira y Sar (eds.) Univ. de Concepción, Chile. 169-186.

Villegas Mendoza, J., R. Cajal Medrano, Helmut Maske. 2019. B12 production by marine microbial communities and *Dinoroseobacter shibae* continuous cultures under different growth and respiration rates. *Aquatic Microbial Ecology*, 83: 251-262.

Zhu, Q., R. Aller y A. Kaushik. 2011. Analysis of vitamin B12 in seawater and marine sediment porewater using ELISA. *Limnology and Oceanography-Methods*, 9: 515-523.

## V. ANEXOS

---

**Anexo VI** Resumen de la prueba de homocedasticidad (Leven's) de las variables ambientales en la Bahía Todos Santos

Parámetro	Cuadrados medios (MS)	Cuadrados medios Error	F	p
Temperatura	14.7	1.077	13.655710	0.0000000
Clorofila a	17.94	3.909	4.589290	0.0001480
Oxígeno disuelto	4520.51	870.5	5.193000	0.0000360
PAR	28675.01	66.72967	4.297190	0.0002930
B <sub>12</sub> part	0	0	17.13016	0.000000
B <sub>12</sub> dis	0	0	11.18726	0.000000
B <sub>12</sub> total	1	0	10.22262	0.000000

**Anexo VII** Resumen de la prueba de homocedasticidad (Leven's) de las variables biológicas en la Bahía Todos Santos

Parámetro	Cuadrados medios (MS)	Cuadrados medios Error	F	p
Diatomeas	81425602	18668294	4.36171	0.000044
<i>Pseudo-nitzschia</i> sp.	5395025	989602	5.45171	0.000001
<i>Chaetoceros</i> sp.	40959041	5484533	7.46810	0.000421

**Anexo VIII** Resumen de la prueba de normalidad de las variables biológicas y ambientales

Variable	N	max D	K-S	Lilliefors	W	p
Temperatura	124	0.144916	p < .05	p < .01	0.942461	0.000047
Clorofila a	124	0.162785	p < .01	p < .01	0.854349	0.000000
Oxígeno disuelto	124	0.095865	p > .20	p < .01	0.931652	0.000009
PAR	124	0.265352	p < .01	p < .01	0.665486	0.000000
B <sub>12</sub> part	83	0.346028	p < .01	p < .01	0.749271	0.000000
B <sub>12</sub> dis	85	0.324338	p < .01	p < .01	0.745997	0.000000
B <sub>12</sub> total	84	0.340558	p < .01	p < .01	0.75461	0.000000
<i>Pseudo-nitzschia</i> <i>sp</i>	124	0.160972	p < .01	p < .01	0.827396	0.000000
<i>Chaetoceros</i> <i>sp</i>	124	0.301738	p < .01	p < .01	0.520797	0.000000
Diatomeas	124	0.143656	p < .05	p < .01	0.822335	0.000000

k-s: prueba de hipótesis de Kolmogorov-Smirnov  
w: prueba de Shapiro-Wilk's

**Anexo IX** Resumen del análisis de varianza (ANOVA) de las variables fisicoquímicas en la Bahía Todos Santos

Parámetro	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajustada	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrados medios	Grados de libertad Res.	Cuadrados medios Res.	F	Nivel de probabilidad
B <sub>12</sub> part	0.805313	0.787142	15.81742	7	2	75	0	44.31914	<b>0.000000</b>
B <sub>12</sub> dis	0.763478	0.741403	20.51390	7	3	75	0	34.58505	<b>0.000000</b>
B <sub>12</sub> total	0.823724	0.807271	71.25148	7	10	75	0	50.06689	<b>0.000000</b>
Temperatura	0.246446	0.176114	89.30106	7	13	75	4	3.50405	<b>0.002638</b>
Clorofila a	0.135986	0.055344	146.72044	7	21	75	12	1.68630	<b>0.125263</b>
Oxígeno disuelto	0.177117	0.100315	48040.958	7	6863	75	2976	2.30614	<b>0.034797</b>
PAR	0.201328	0.126785	297489.17	7	42498	75	15735	2.70084	<b>0.014955</b>

**Anexo X Resultado de las pruebas del pos-hoc de Tukey durante toda la campaña de muestreo**

**B<sub>12</sub> particulada**

	<b>Julio</b>	<b>Agosto</b>	<b>Septiembre</b>	<b>Octubre</b>	<b>Noviembre</b>
<b>Julio</b>	0.00	0.958596	0.000503	0.83071	0.992776
<b>Agosto</b>	0.958596	0.00	0.035108	0.99999	0.999987
<b>Septiembre</b>	0.000503	0.035108	0.00	0.056507	0.009251
<b>Octubre</b>	0.83071	0.99999	0.056507	0.00	0.998376
<b>Noviembre</b>	0.992776	0.999987	0.009251	0.998376	0.00

**B<sub>12</sub> disuelta**

	<b>Julio</b>	<b>Agosto</b>	<b>Septiembre</b>	<b>Octubre</b>	<b>Noviembre</b>
<b>Julio</b>	0.00	0.146514	0.000483	0.581165	0.002063
<b>Agosto</b>	0.146514	0.00	0.676833	0.988251	0.902523
<b>Septiembre</b>	0.000483	0.676833	0.00	0.142762	0.999827
<b>Octubre</b>	0.581165	0.988251	0.142762	0.00	0.342850
<b>Noviembre</b>	0.002063	0.902523	0.999827	0.342850	0.00

**B<sub>12</sub> total**

	<b>Julio</b>	<b>Agosto</b>	<b>Septiembre</b>	<b>Octubre</b>	<b>Noviembre</b>
<b>Julio</b>	0.00	0.324114	0.000145	0.536708	0.053576
<b>Agosto</b>	0.324114	0.00	0.128270	0.999910	0.997502
<b>Septiembre</b>	0.000145	0.128270	0.00	0.032867	0.396186
<b>Octubre</b>	0.536708	0.999910	0.032867	0.00	0.948698
<b>Noviembre</b>	0.053576	0.997502	0.396186	0.948698	0.00

**Temperatura**

	<b>Junio</b>	<b>Julio</b>	<b>Agosto</b>	<b>Septiembre</b>	<b>Octubre</b>	<b>Noviembre</b>	<b>Febrero</b>	<b>Marzo</b>
<b>Junio</b>	0.00	0.012104	0.983223	0.987400	0.999700	0.993213	0.826168	0.059154
<b>Julio</b>	0.012104	0.00	0.008912	0.330213	0.173788	0.289763	0.244982	0.949904
<b>Agosto</b>	0.983223	0.008912	0.00	0.802241	0.932059	0.837855	0.490275	0.042896
<b>Septiembre</b>	0.987400	0.330213	0.802241	0.00	0.999980	1.000000	0.999996	0.801420
<b>Octubre</b>	0.999700	0.173788	0.932059	0.999980	0.00	0.999997	0.998045	0.560305
<b>Noviembre</b>	0.993213	0.289763	0.837855	1.000000	0.999997	0.00	0.999970	0.753112
<b>Febrero</b>	0.826168	0.244982	0.490275	0.999996	0.998045	0.999970	0.00	0.751724
<b>Marzo</b>	0.059154	0.949904	0.042896	0.801420	0.560305	0.753112	0.751724	0.00

**Clorofila a**

	<b>Junio</b>	<b>Julio</b>	<b>Agosto</b>	<b>Septiembre</b>	<b>Octubre</b>	<b>Noviembre</b>	<b>Febrero</b>	<b>Marzo</b>
<b>Junio</b>	0.00	0.998640	0.712472	0.999998	0.981930	0.961495	0.199473	0.833424
<b>Julio</b>	0.998640	0.00	0.512974	0.996414	0.884559	0.831374	0.145357	0.626519
<b>Agosto</b>	0.712472	0.512974	0.00	0.916224	0.997610	0.999283	0.999999	0.998922
<b>Septiembre</b>	0.999998	0.996414	0.916224	0.00	0.998870	0.996429	0.657664	0.985311
<b>Octubre</b>	0.981930	0.884559	0.997610	0.998870	0.00	1.000000	0.966414	0.999999
<b>Noviembre</b>	0.961495	0.831374	0.999283	0.996429	1.000000	0.00	0.984715	1.000000
<b>Febrero</b>	0.199473	0.145357	0.999999	0.657664	0.966414	0.984715	0.00	0.958090
<b>Marzo</b>	0.833424	0.626519	0.998922	0.985311	0.999999	1.000000	0.958090	0.00

**Oxígeno disuelto**

	<b>Junio</b>	<b>Julio</b>	<b>Agosto</b>	<b>Septiembre</b>	<b>Octubre</b>	<b>Noviembre</b>	<b>Febrero</b>	<b>Marzo</b>
<b>Junio</b>	0.00	0.999990	0.567503	0.842474	0.987696	0.990284	0.219465	0.053219
<b>Julio</b>	0.999990	0.00	0.552052	0.807437	0.971423	0.975821	0.296002	0.104939
<b>Agosto</b>	0.567503	0.552052	0.00	0.999810	0.984421	0.981461	1.000000	0.999918
<b>Septiembre</b>	0.842474	0.807437	0.999810	0.00	0.999776	0.999667	0.999609	0.974747
<b>Octubre</b>	0.987696	0.971423	0.984421	0.999776	0.00	1.000000	0.962311	0.782146
<b>Noviembre</b>	0.990284	0.975821	0.981461	0.999667	1.000000	0.00	0.955400	0.762729
<b>Febrero</b>	0.219465	0.296002	1.000000	0.999609	0.962311	0.955400	0.00	0.998649
<b>Marzo</b>	0.053219	0.104939	0.999918	0.974747	0.782146	0.762729	0.998649	0.00

**PAR**

	<b>Junio</b>	<b>Julio</b>	<b>Agosto</b>	<b>Septiembre</b>	<b>Octubre</b>	<b>Noviembre</b>	<b>Febrero</b>	<b>Marzo</b>
<b>Junio</b>	0.00	0.997544	0.998561	0.998842	0.998236	0.997871	0.155858	0.853493
<b>Julio</b>	0.997544	0.00	1.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.102278	0.610963
<b>Agosto</b>	0.998561	1.000000	0.00	1.000000	1.000000	1.000000	0.181872	0.715549
<b>Septiembre</b>	0.998842	1.000000	1.000000	0.00	1.000000	1.000000	0.149947	0.691249
<b>Octubre</b>	0.998236	1.000000	1.000000	1.000000	0.00	1.000000	0.137537	0.666128
<b>Noviembre</b>	0.997871	1.000000	1.000000	1.000000	1.000000	0.00	0.132130	0.654467
<b>Febrero</b>	0.155858	0.102278	0.181872	0.149947	0.137537	0.132130	0.00	0.915520
<b>Marzo</b>	0.853493	0.610963	0.715549	0.691249	0.666128	0.654467	0.915520	0.00