



Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología  
Universidad Nacional Autónoma de México



**DETERMINACIÓN DE PIGMENTOS ACCESORIOS Y DE  
LA DENSIDAD CELULAR DEL PICOFITOPLANCTON EN  
EL SUR DEL GOLFO DE MÉXICO**

**T E S I S**

que para obtener el grado académico de

**Maestro en Ciencias del Mar y Limnología  
(Biología Marina)**

p r e s e n t a

**ALDO AQUINO CRUZ**

Codirectores de Tesis: Dr. David Uriel Hernández Becerril y  
Dr. Miroslav Macek

Comité Tutorial: Dr. David Alberto Salas de León  
Dra. Martha Signoret Poillon  
M en C. Roberto Cortés Altamirano

México, D.F., 2005



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## AGRADECIMIENTOS

Al Dr. David Uriel Hernández Becerril, por brindarme la oportunidad, su confianza y el espacio necesario para la realización de esta tesis.

Al Dr. Miroslav Macek, quien amablemente siempre me apoyó, me instruyó y logró que este trabajo mejorara.

Al Dr. David Alberto Salas de León, quien impulsó la realización de este trabajo gracias al proyecto “procesos oceánicos y mecanismos de producción biológica en el sur del Golfo de México”.

A la Dra. Martha Signoret Poillon, quien cuidadosamente aportó valiosas observaciones y comentarios que mejoraron el manuscrito final de este trabajo.

Al Dr. Luis Fernando Oropeza, a Rodolfo Paredes y a Jorge Sepúlveda, responsables de la unidad de microscopía electrónica del Instituto de Fisiología Celular, UNAM, quienes atentamente me enseñaron y me dieron la libertad de manejar el HPLC y el microscopio electrónico de transmisión.

A la Dra. Gloria Soldevila y sus estudiantes Karen y Ramses, del Instituto de Biomédicas de la UNAM, de quienes recibí un gran apoyo para conservar el material picofitoplanctónico.

Al M en C. Victor Rosales, técnico de la unidad de citometría del CINVESTAV, quien fue un gran apoyo y siempre mostró una gran accesibilidad para dejarme utilizar el citómetro de flujo.

Al Biól. Alejandro García Reséndiz y al M en C. Ernesto Bravo Sierra, dos grandes compañeros, con quienes compartí una experiencia muy agradable en el laboratorio de diversidad del fitoplancton del ICMYL. Alejandro, te agradezco toda tu ayuda durante los cruceros PROMEBIO VII Y VIII.

Al Lic. Marcos Jiménez Márquez, quien en diversos días acertó el tiempo para que yo llegara puntualmente al ICMYL.

A todas aquellas personas que me brindaron su tiempo y su esfuerzo para concluir esta tesis, sinceramente les agradezco por todo ello.

## *Dedicatoria*

### *A mi madre*

*Quien en cualquier lugar y a toda hora me contagia una gran motivación de vivir, de crecer y de mejorar las cosas. Tu fortaleza, que día a día me demuestras, ha sido la brillante fructificación que ha elevado la naturaleza de mi ser.*

*Y cuando llegue el día de mañana, sabré que en cualquier tiempo del universo, seguiremos navegando con los profundos pensamientos que me invitaste a compartir, a disfrutar y a no soltarlos ni en la más feroz de las tormentas.*

## ÍNDICE

ABSTRACT	
RESUMEN	
<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>II. ANTECEDENTES.....</b>	<b>4</b>
<b>III. OBJETIVOS.....</b>	<b>7</b>
<b>IV. ÁREA DE ESTUDIO.....</b>	<b>8</b>
<b>V. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>12</b>
V.1 Etapa de campo.....	12
V.2 Etapa de laboratorio.....	13
V.3 Etapa de gabinete.....	16
<b>VI. RESULTADOS.....</b>	<b>17</b>
VI.1 Temporada de nortes (febrero, 2004).....	17
VI.1.1 Características oceanográficas y perfiles de clorofila <i>a</i> .....	17
VI.1.2 Concentración vertical de los pigmentos marcadores.....	18
VI.2 Temporada de secas (junio-julio, 2004).....	27
VI.2.1 Características oceanográficas y perfiles de clorofila <i>a</i> .....	27
VI.2.2. Densidad del picofitoplancton en la columna de agua:	
VI.2.2.1 Cuantificaciones por microscopía de epifluorescencia.....	27
VI.2.2.2 Cuantificaciones por citometría de flujo.....	30
VI.2.2.3 Microscopía electrónica de transmisión (TEM).....	31
<b>VII. DISCUSIÓN.....</b>	<b>34</b>
VII.1 Concentración de los pigmentos marcadores.....	34
VII.2 Densidad del picofitoplancton.....	39
<b>VIII. CONCLUSIONES.....</b>	<b>43</b>
<b>IX. LITERATURA CITADA.....</b>	<b>44</b>
<b>X. ANEXO I.....</b>	<b>50</b>

## ABSTRACT

Two coastal zones (influenced by the Coatzacoalcos and Grijalva-Usumacinta rivers) and an oceanic one (Campeche Canyon) from the southern Gulf of Mexico were sampled during “nortes” (February, 2004) and dry (June-July, 2004) seasons. Autotrophic picoplankton (APP) was analyzed using both pigment analysis and epifluorescence microscopy in that region. Despite rivers’ discharges to the continental shelf, salinity was never below 34.1. The highest concentrations of accessory pigments (fucoxanthin, zeaxantina and divinyl-chlorophyll *a*) and elevated APP numbers were associated with shallow coastal zones (above 1% PAR<sub>1</sub>), except for prasinoxanthin, which also showed high concentrations in the Campeche Canyon. Violaxanthin was never detected by HPLC in the southern Gulf of Mexico. Pigments associated with prokaryotic APP (zeaxanthin and divinyl-chlorophyll *a*) were more distinguishable in the Campeche Canyon than in the coastal zones. Fucoxanthin, zeaxanthin, divinyl-chlorophyll *a* and APP numbers presented significant differences between coastal regions and the Campeche Canyon ( $\alpha < 0.05$ ). Chlorophyll *a* was not directly related to accessory pigments and APP numbers in the majority of the stations studied. Using the index pigments (*F<sub>μ</sub>*), it was proven that phytoplankton of the southern Gulf of Mexico was composed by diverse sizes. The highest numbers of APP were found in the region influenced by the river Grijalva-Usumacinta ( $1.67 \times 10^5$  cells ml<sup>-1</sup>), following by the region influenced by the Coatzacoalcos river ( $1.19 \times 10^5$  cells ml<sup>-1</sup>), and in the Campeche Canyon ( $1.53 \times 10^5$  cells ml<sup>-1</sup>). The identity of picoprokaryotic organisms (*Synechococcus* and *Prochlorococcus*) was confirmed by TEM. Eukaryotic APP was not observed by TEM, however, based on flow cytometry analysis, two populations of picoeukaryotic phytoplankton were recognized.

## RESUMEN

Se determinó la concentración de 5 pigmentos accesorios del plancton autótrofo (temporada de nortes: febrero, 2004) y la densidad del picofitoplancton (temporada de secas: junio-julio, 2004) en dos regiones costeras asociadas a los ríos Coatzacoalcos y Grijalva-Usumacinta y una región oceánica, Cañón de Campeche, en el sur del Golfo de México. Las regiones asociadas a los ríos Coatzacoalcos y Grijalva-Usumacinta, con salinidades mayores a 34.1, no presentaron una fuerte influencia de aguas continentales. El pigmento violaxantina nunca se presentó en concentraciones cuantificables por el sistema HPLC (cromatografía líquida de alta resolución). Durante las dos temporadas de estudios, las mayores concentraciones de los pigmentos y del picofitoplancton (PFP) se presentaron por arriba del 1% de la radiación fotosintética activa ( $PAR_0$ ). Con excepción de la prasinoxantina, las mayores concentraciones de los pigmentos y del PFP se asociaron a las localidades más someras de la plataforma continental. Los pigmentos asociados al PFP procarionte (zeaxantina y divinyl-clorofila *a*) se distinguieron mejor en el Cañón de Campeche que en las regiones costeras, excepto en la localidad más somera durante la temporada de nortes. En general, la clorofila *a* no se relacionó ni con la concentración de los pigmentos ni con la densidad del PFP en la columna de agua. La densidad del PFP y los pigmentos fucoxantina, zeaxantina y divinyl-clorofila *a* presentaron diferencias significativas ( $\alpha= 0.05$ ) entre el ambiente costero y el ambiente marino. La biomasa fitoplanctónica se compuso de una gran diversidad de tamaños del fitoplancton. Las mayores concentraciones celulares del PFP se presentaron, en primer lugar, en la región asociada al sistema Grijalva-Usumacinta ( $1.67 \times 10^5$  céls  $ml^{-1}$ ); en segundo lugar, en la región con influencia del río Coatzacoalcos ( $1.19 \times 10^5$  céls  $ml^{-1}$ ); y en último lugar, en las aguas oligotróficas del Cañón Campeche ( $1.53 \times 10^5$  céls  $ml^{-1}$ ). Los análisis de microscopía electrónica confirmaron la presencia de *Synechococcus* y *Prochlorococcus*. Durante los análisis por citometría de flujo se observó la presencia de dos poblaciones del PFP eucarionte (no determinadas).

## I. INTRODUCCIÓN

Con el término picoplancton autótrofo o picofitoplancton (PFP) técnicamente se denomina a los organismos fotosintetizadores que miden entre 0.2 y 3.0  $\mu\text{m}$  (Stockner y Antia, 1986). La distribución de estos organismos abarca una amplia gama de ambientes. En los sistemas continentales se les encuentra en ríos, lagunas, lagos, estanques y presas; en zonas de transición océano-continente, en estuarios, esteros, lagunas costeras, y en el mar, desde zonas costeras hasta lugares por debajo del límite de la capa eufótica de zonas oligotróficas (Sorokin, 1999; Callieri y Stockner, 2002).

En diversos sistemas acuáticos, el PFP es responsable de la captación de una gran cantidad de energía que ingresa a la trama trófica a través del proceso fotosíntesis (Paerl, 2000). En los ciclos del nitrógeno y el carbono, el PFP, por asimilación de nutrientes, cumple la función fundamental de reingresar nutrientes a la trama trófica (Weisse, 1993; Raven, 1998; Paerl, 2000; Rodríguez, 2005). En regiones oligotróficas, la tasa de crecimiento del PFP es mayor que la de otros tamaños autotróficos (nano- y micro-fitoplancton); debido a esto, en diversas ocasiones se ha encontrado que la gran abundancia del PFP es promotora de una alta producción de carbono orgánico (Rodríguez, 2005).

En aguas templadas y tropicales del ambiente marino, se ha destacado que los organismos del PFP pueden llegar a contribuir con más del 50% de la biomasa autótrofa (Hall y Vincent, 1990; Goericke y Repeta, 1991; Crosbie y Furnas, 2001). En aguas oligotróficas oceánicas, el PFP ha tenido una mayor importancia debido a que puede contribuir con más del 70% de la biomasa fitoplanctónica (Jeffrey y Vesk, 1997; Blanchot *et al.*, 2001; Veldhuis y Kraay, 2004). Sin embargo, en ambientes costeros, el PFP presenta una gran variabilidad respecto a la producción de carbono orgánico (Callieri y Stockner, 2002). Esto se debe a que en los ambientes costeros, donde aumenta la diversidad de organismos fotosintetizadores, el PFP se somete a una mayor competencia y depredación por organismos de mayor tamaño (nanoplancton y microplancton).

Hasta ahora no se han determinado muchas de las especies que integran al picofitoplancton marino (Raven, 1998). De acuerdo con el sistema botánico, algunos de los principales representantes del PFP se encuentran en las clases Cyanophyceae, Prochlorophyceae, Chrysophyceae, Pelagophyceae y Prasinophyceae (Jeffrey y Vesk, 1997). Dentro de estos grupos, existen organismos procariontes y eucariontes. Los integrantes picoprocariontes se encuentran dentro de las divisiones Cyanophyta y Prochlorophyta, en las cuales, los géneros *Synechococcus* y *Prochlorococcus* respectivamente, albergan a los organismos cocoides más pequeños del PFP. *Synechococcus* se ha observado con una talla de aproximadamente 0.9  $\mu\text{m}$  y *Prochlorococcus* ha sido reportado con un diámetro de aproximadamente 0.6  $\mu\text{m}$  (Raven, 1998). Con respecto a los representantes picoeucariontes, se puede decir que de este grupo se han identificado un mayor número de taxa; sin embargo, debido a la falta de métodos rutinarios para estudiar las diversas poblaciones picoeucariontes, su distribución y su abundancia aún no han sido bien explicadas (Latasa *et al.*, 2004; Not *et al.*, 2004). Se ha observado que la mayor diversidad del PFP eucarionte se asocia a la clase Prasinophyceae (Chlorophyta), en la cual el género *Micromonas* se ha distinguido por presentar altas concentraciones de organismos en aguas costeras (Guillou *et al.*, 2004; Not *et al.*, 2004).



En el ambiente marino se ha observado que el PFP procarionte (*Synechococcus* y *Prochlorococcus*) es más abundante que el PFP eucarionte (Ansotegui *et al.*, 2003; Pan *et al.*, 2005; Jiao *et al.*, 2005). Sin embargo, entre ambas categorías e incluso especies, existe una variación espacio-temporal que localmente puede estar influenciada por ciertos factores físicos (turbulencia, mezcla de la columna de agua, frentes, estratificación térmica, disponibilidad de la radiación fotosintéticamente activa), químicos (disponibilidad de nutrientes, inhibidores de crecimiento) y biológicos (competencia, depredación, senescencia de las células).

Los estudios de abundancia han determinado que *Synechococcus* y algunos picoeucariontes están asociados a zonas costeras, en lugares bien iluminados (capas superficiales) y en regiones ricas en nutrientes (Paerl, 2000; Collier y Palenik, 2003; Jiao *et al.*, 2005). Bajo fuertes condiciones de mezcla, se ha observado que el PFP eucarionte crece más rápido que el PFP procarionte (Paerl, 2000). Con respecto a *Prochlorococcus*, diversos estudios han mostrado que las mayores concentraciones de estos organismos se asocian a regiones oligotróficas, desde zonas superficiales, donde los nutrientes pueden estar prácticamente agotados (menor a  $0.1 \mu\text{mol l}^{-1}$ ), hasta profundidades cerca del límite de la capa eufótica (Chisholm *et al.*, 1988; Vaultot y Partensky, 1992; Blanchot y Rodier, 1996; Shimada *et al.*, 1996; Crosbie y Furnas, 2001).

En diversas zonas oligotróficas, el éxito del PFP sobre el nano y el microfitoplancton se debe a sus rápidas tasas fisiológicas y de renovación celular, mismas que se han determinado como dependientes del tamaño individual de los organismos (Raven, 1998; Rodríguez, 2005). En este sentido, se ha observado que el tamaño del PFP es una ventaja sobre otros autótrofos, debido a que la incorporación de nutrientes hacia el interior de sus células se hace de manera más eficiente que en organismos con mayor tamaño (Raven, 1998; Paerl, 2000). Además, debido a que el PFP ha mejorado la eficiencia de absorción de luz y de crecimiento, su distribución y su abundancia han superado en muchos de los casos a otros tamaños del fitoplancton (Stockner y Antia, 1986; Urbach *et al.*, 1998).

El  $\text{PAR}_0$  (radiación fotosintéticamente activa, con una longitud de onda de 400-700 nm) es una de las variables más importantes que determina la distribución vertical del PFP (Paerl, 2000). Su importancia radica en que dentro de este espectro (400-700 nm) se encuentra la luz óptima para que los organismos autótrofos realicen la fotosíntesis. Se ha observado que al disminuir la luz en la columna de agua, el PFP, a través de sus vesículas de gas, puede regular su suspensión hacia las capas con mayor iluminación (Paerl, 2000). En general, la mayoría del PFP se distribuye por arriba del 1% del  $\text{PAR}_0$  o capa eufótica. Sin embargo, la presencia de ciertos pigmentos accesorios, como la divinyl-clorofila *a* (marcador monoespecífico de *Prochlorococcus*) y la zeaxantina (marcador multiespecífico principalmente contenido en *Synechococcus*), han hecho que algunas especies del PFP puedan distribuirse por debajo de la capa eufótica (Chisholm *et al.* 1988). Estas adaptaciones hacia los lugares con poca iluminación se deben a la alta eficiencia de los pigmentos accesorios para absorber energía a estas profundidades (Ting *et al.*, 2002).

La temperatura de la columna de agua está estrechamente relacionada con la distribución del plancton autótrofo; inclusive, su variación estacional es determinante sobre la composición y

abundancia de todo el plancton autótrofo (Sorokin, 1999). Durante las épocas de estratificación térmica, por arriba de la termoclina (capa de mezcla), la abundancia y la composición del plancton autótrofo tienden a disminuir por escasez de nutrientes. Debido a esto, se ha observado que en cuerpos de agua estratificados, la mayor abundancia del plancton autótrofo se sitúa hacia las zonas con mayor concentración de nutrientes de la capa eufótica (Raven, 1998). Sin embargo, al llevarse a cabo estos desplazamientos, la fuente de energía (luz) para la mayoría del fitoplancton es una fuerte limitante, por lo cual, la distribución de algunos organismos en la columna de agua se ve restringida a ciertas profundidades de la capa eufótica. El PFP, gracias a sus mecanismos de fotoadaptación: presencia de pigmentos accesorios, aumento de pigmentos clorofílicos, eficiencia para absorber energía en el rango de luz azul y asimilación óptima de nutrientes, puede distribuirse en toda la capa eufótica, e incluso, por debajo de ésta, como se ha visto en el caso de *Prochlorococcus marinus* (Chisholm *et al.* 1988). En suma, se ha señalado que en cuerpos de agua estratificados, el PFP tiende a presentar sus máximas concentraciones hacia el fondo de la capa eufótica (Raven, 1998).

La caracterización de los pigmentos fotosintéticos por medio del sistema HPLC (Cromatografía Líquida de Alta Resolución), actualmente se considera un instrumento rutinario para determinar la composición y la distribución de diversas poblaciones del PFP (Mackey *et al.*, 1996; Vidussi *et al.*, 1996). Debe señalarse que después de la introducción del citómetro de flujo a la oceanografía biológica (Chisholm *et al.* 1988), diversas investigaciones han comprobado la eficacia y la rapidez de este instrumento para cuantificar diversas poblaciones del PFP (Dubelaar y Jonker, 2000). Por esto, la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y el citómetro de flujo se consideran dos herramientas adecuadas cuando el objetivo es estudiar la composición y la abundancia de diversas poblaciones picofitoplanctónicas (Jeffrey y Vesk, 1997; Dubelaar y Jonker, 2000).

## II. ANTECEDENTES

Hasta ahora existen pocos reportes sobre el picofitoplancton (PFP) para las aguas del Golfo de México. Los estudios más recientes corresponden a regiones del noreste del Golfo de México. Chisholm *et al.* (1998) analizaron el PFP en una zona oceánica del noreste del Golfo de México, así como en otras regiones tropicales, e identificaron al organismo picofitoplanctónico más pequeño y abundante del medio marino, al cual llamaron *Prochlorococcus marinus*. Chisholm *et al.* (1998) destacaron que la abundancia de *Prochlorococcus*, en la mayoría de las regiones, presentó una densidad entre  $5 \times 10^4$  y  $1.2 \times 10^5$  céls  $\text{ml}^{-1}$ . Al noreste del Golfo, Quian *et al.* (2003) observaron que los organismos procariontes (*Prochlorococcus* y *Synechococcus*) presentaron su mayor abundancia en regiones oceánicas (salinidades mayores a 35.0); sin embargo, Jochem (2003) encontró, en una región asociada a la pluma del río Mississippi, que *Prochlorococcus* presentó su mayor abundancia ( $4.35 \times 10^4$  céls  $\text{ml}^{-1}$ ) a una salinidad de 23.5, mientras que *Synechococcus* alcanzó altas concentraciones ( $3.06 \times 10^4$  céls  $\text{ml}^{-1}$ ) en regiones costeras donde la salinidad osciló entre 8.5 y 14.7. Jochem (2003) concluyó que *Prochlorococcus* no es un organismo que contribuya significativamente a la biomasa fitoplanctónica en regiones costeras.

Qian *et al.* (2003) encontraron que las clases Prymnesiophyceae, Cyanophyceae, Prochlorophyceae, Bacillariophyceae y Chrysophyceae son los grupos que mejor representan al fitoplancton del noreste del Golfo de México. Estos autores determinaron que los organismos procariontes (*Synechococcus* y *Prochlorococcus*) contribuyeron entre 6 y 31% al total de la clorofila *a*. En el noreste del Golfo, Fahnenstiel *et al.* (1994) encontraron que el picofitoplancton total alcanzó su mayor densidad en el máximo de clorofila *a* (50 m), con  $6.24 \times 10^4$  céls  $\text{ml}^{-1}$ , y la menor en la capa de mezcla, con  $3.8 \times 10^4$  céls  $\text{ml}^{-1}$ . Estos autores compararon la producción de carbono orgánico entre organismos menores a 1  $\mu\text{m}$  (*Prochlorococcus*) y organismos con una talla entre 1 y 3  $\mu\text{m}$  (*Synechococcus* y picoeucariontes) y concluyeron que los organismos entre 1 y 3  $\mu\text{m}$  produjeron la mayor cantidad de biomasa picofitoplanctónica.

En condiciones experimentales, bajo diferentes porcentajes de iluminación, se ha determinado que algunas poblaciones del PFP tienen preferencia por ciertos rangos de luz ( $> 1\%$  de  $\text{PAR}_0$ , Urbach *et al.*, 1998; Ting *et al.*, 2002). Sin embargo, en condiciones naturales, la respuesta del PFP a la variable luz puede ser muy diferente a lo observado en condiciones controladas (Lazzara *et al.*, 1996). Se ha confirmado que la capacidad de producir ciertos pigmentos accesorios (por ejemplo: la divinyl-clorofila *a* producida por *Prochlorococcus* o la zeaxantina en *Synechococcus*) es una ventaja del PFP para distribuirse por toda la capa eufótica, ya que al desplazarse a diferentes profundidades de la capa eufótica, su eficiencia fotosintética no decrece como ocurre con otros autótrofos (Chisholm, 1988; Olson *et al.*, 1990a; Olson *et al.*, 1990b; Dusenberry *et al.*, 2001; Barlow, 2002; Paerl, 2000; Scanlan y West, 2002, Ting *et al.*, 2002;). Por otra parte, se ha observado que la habilidad del PFP de tolerar distintos rangos de iluminación se debe a un proceso de fotoaclimatación (Olson *et al.*, 1990a; Olson *et al.*, 1990b; Partensky *et al.*, 1996; DuRand *et al.*, 2001; Veldhuis *et al.*, 2005).

En aguas tropicales, al oeste del Océano Pacífico, Shimada *et al.* (1993, 1996) observaron que *Prochlorococcus* puede presentar sus máximas concentraciones donde el porcentaje de PAR<sub>0</sub> es menor al 6 % (luz azul-violeta). Chisholm (1988), en aguas tropicales, y Goericke *et al.* (2000), en el mar Arábigo, determinaron que *Prochlorococcus* alcanzó altas concentraciones celulares por debajo del 1% de la luz visible. Tanto Shimada *et al.* (1993) como DuRand *et al.* (2001) llegaron a la conclusión de que el incremento de *Prochlorococcus* comienza a ser importante debajo de la nitraclina, principalmente donde se encuentran los porcentajes más bajos de irradiación superficial. Por otro lado, Urbach *et al.* (1998), DiTullio *et al.* (2003), Veldhuis y Kraay (2004) y Veldhuis *et al.* (2005) observaron que la capacidad de *Prochlorococcus* de distribuirse prácticamente en toda la capa eufótica se debe a dos factores: (1) la presencia del pigmento divinyl-clorofila *a*, el cual le proporciona la capacidad de absorber energía en lugares de muy escasa iluminación (< 1% PAR<sub>0</sub>), y (2) la existencia de dos ecotipos (organismos con variaciones fisiológicas distintas): el primero, con distribución en zonas superficiales y adaptado a altas intensidades de luz; y el segundo, con adaptaciones a zonas profundas (por debajo de la zona eufótica) en condiciones de escasa iluminación (Goericke *et al.*, 2000; Ting *et al.*, 2002).

Algunos estudios sobre la distribución de *Synechococcus* (predominantemente en la capa de mezcla) han señalado que la producción del pigmento fotoprotector ficoeritrina, ha permitido que *Synechococcus* se adapte a altas condiciones lumínicas (Olson *et al.*, 1990a; Blanchot y Rodier, 1996; Paerl, 2000; Collier y Palenik, 2003). Bajo este criterio, Uysal (2000) observó que las máximas concentraciones de *Synechococcus* se presentaron dentro de la capa de mezcla (0-10 m de profundidad, con  $1.45 \times 10^5$  cels mL<sup>-1</sup>), y en el máximo de clorofila *a* (con  $1.23 \times 10^5$  cels mL<sup>-1</sup>); asimismo, observó que los tamaños y la fluorescencia de *Synechococcus* fueron mayores por arriba de la termoclina.

Sorokin (1999) señaló que, en lugares donde los nutrientes son abundantes (zona costera), la producción de carbono orgánico por parte del PFP generalmente es menor que la del nanoplancton y microplancton. Furuya (1990) encontró que, en aguas tropicales y subtropicales (al oeste del Océano Pacífico), el aporte de carbono orgánico por parte del PFP fue el más bajo (< 15%). Sin embargo, en regiones oligotróficas (con nutrientes en escasas concentraciones), se ha observado que el PFP aporta la mayor cantidad de la biomasa fotosintética (Raven, 1998). Por ejemplo, en el giro subtropical del Océano Atlántico, Marañón *et al.* (2000) determinaron que el PFP contribuyó entre 70 y 90% al total de la biomasa fotosintética.

De los tres grandes grupos más comunes del PFP (*Prochlorococcus*, *Synechococcus* y los picoeucariontes), se ha observado que *Prochlorococcus* puede alcanzar concentraciones mayores a  $10^5$  céls mL<sup>-1</sup>, en aguas oceánicas (Chisholm *et al.*, 1988; Hall y Vincent, 1990; Vaultot *et al.*, 1992; Iriarte y Purdie, 1994; Blanchot y Rodier, 1996; Partensky *et al.*, 1996; Zubkov *et al.*, 1998; Marie *et al.*, 1999); *Synechococcus*,  $\sim 10^5$  céls mL<sup>-1</sup>, en regiones sobre la plataforma continental (Hall y Vincent, 1990; Partensky *et al.*, 1996; Campell *et al.*, 1997; Moreira-Turcq y Martin, 1998; Marie *et al.*, 1999; DuRand *et al.*, 2001; Jiao *et al.*, 2005), y los picoeucariontes,  $\sim 10^3$  céls mL<sup>-1</sup>, en aguas oceánicas, y mayores a  $10^5$  céls mL<sup>-1</sup> en aguas costeras (Hall y Vincent, 1990; Shimada *et al.*, 1993; Marie *et al.*, 1999; Pan *et al.*, 2005; Jiao *et al.*, 2005;).

La principal limitante que se enfrenta al estudiar la comunidad del PFP, es que existen pocos métodos que permiten valorar parámetros ecológicos, como la diversidad, la composición, la abundancia o las interacciones inter e intraespecíficas (López López y Zaballos, 2005). Debido a esto, se ha indicado que el conocimiento de los microorganismos procariontes (incluyendo el PFP procarionte) es muy pobre: no rebasa el 0.4 % de especies conocidas (Roselló Mora, 2005); Not *et al.* (2004) han señalado que aproximadamente 40 especies del PFP eucarionte han sido formalmente descritas. Sin embargo, debido al origen parafilético del PFP eucarionte (Latasa *et al.*, 2004), se considera que su diversidad es muy alta (Biegala *et al.*, 2003; Not *et al.*, 2004).

### **III. OBJETIVOS**

#### **General**

- Determinar la concentración de pigmentos del plancton autótrofo y la densidad del picofitoplancton en dos regiones costeras y una región oceánica del sur del Golfo de México; y establecer la asociación de la temperatura (posición de la termoclina) y el porcentaje de PAR<sub>0</sub> con respecto a la concentración de los pigmentos y la densidad total del picofitoplancton.

#### **Particulares**

- Determinar la concentración de cinco pigmentos marcadores (fucoxantina, prasinoxantina, violaxantina, zeaxantina y divinyl-clorofila *a*) asociados con poblaciones autótrofas.
- Cuantificar el picofitoplancton con base en su tamaño celular y su fluorescencia.
- Obtener la relación de la temperatura (posición de la termoclina) y el porcentaje de PAR<sub>0</sub> con respecto a la concentración de los pigmentos y la concentración celular del picofitoplancton.
- Caracterizar la región oceánica y la región costera de acuerdo a la concentración de los pigmentos marcadores y la densidad del picofitoplancton.
- Determinar la identidad de las poblaciones del picofitoplancton a través de microscopía de transmisión electrónica.

#### IV. ÁREA DE ESTUDIO

Este estudio se realizó en el sur del Golfo de México (Bahía de Campeche), entre 18 y 21° de latitud norte y 92 y 95° de longitud oeste (Fig. 1 y 2). El clima del sur del Golfo de México es de tipo tropical. Durante el verano, la temperatura atmosférica es mayor a 30° C, y en invierno, desciende por debajo de los 25° C (Yáñez Arancibia y Day, 2004). En verano, la temperatura superficial del agua se encuentra aproximadamente a 29° C (Toledo, 1996) y en invierno, puede oscilar entre 19 y 27° C (De La Lanza, 2001).

Del mes de octubre al mes de marzo, el sur del Golfo de México se caracteriza por la presencia de fuertes vientos (21-30 m s<sup>-1</sup>) llamados “nortes” (Yáñez Arancibia y Day 2004; Hernández Arana *et al.*, 2003). De noviembre a febrero, cuando se intensifican los nortes, la influencia de los vientos sobre la región proviene del noroeste (Salas de León *et al.*, 1996), mientras que durante los meses de secas (de mayo a principios de agosto, Mosiño y García, 1968; Martyn, 1992), los vientos tienden a proceder del sur o sureste (Sanvicente Añorve *et al.*, 2000; Hernández Arana *et al.*, 2003).

Monreal Gómez y Salas de León (1997) han señalado que, excepto en la temporada de nortes, la convección vertical del Golfo de México es débil, por lo cual la mayor parte del Golfo se encuentra verticalmente estratificado. Cuando los nortes actúan sobre el sur del Golfo de México, debido a que se extrae una gran cantidad de calor de las aguas superficiales, por mezcla, es posible que se pierda la estratificación térmica de toda la región (Fernández *et al.*, 1993; Zavala Hidalgo *et al.*, 2002).

Hacia el final de la época fría, entre los meses de febrero y mayo, la termoclina en la zona oceánica se caracteriza por ser profunda, mayor a 70 m (Espinosa Fuentes y Flores Coto, 2004); y en verano, conforme va disminuyendo la profundidad de la columna de agua, la termoclina tiende a ser somera (Fernández *et al.*, 1993; Espinosa Fuentes y Flores Coto, 2004). Monreal Gómez y Salas de León (1997) determinaron que la Bahía de Campeche se caracteriza por un gran giro ciclónico durante el otoño (menor a 150 km de diámetro), mismo que permite el ascenso de la termoclina, ya que sus características son tales que favorecen el ascenso de agua fría hacia las capas superficiales de la columna de agua.

Durante el ingreso de masas de agua cálidas por el estrecho de Yucatán (Corriente de Yucatán), la mayor parte describe un desplazamiento semicircular hacia el oeste y después hacia el este, hasta salir por el estrecho de Florida: comúnmente llamada Corriente de Lazo (Sheinbaum *et al.*, 2002; Bunge *et al.*, 2002). La inercia de la Corriente de Lazo produce giros ciclónicos y anticlónicos que influyen en la circulación oceánica del sur del Golfo de México (Toledo, 1996; Bunge *et al.*, 2002; Candela *et al.*, 2002; Zavala Hidalgo *et al.*, 2003), con el transporte de masas de agua que se desplazan, en dirección este a oeste, por el sur del Golfo de México (Salas de León *et al.*, 1996).

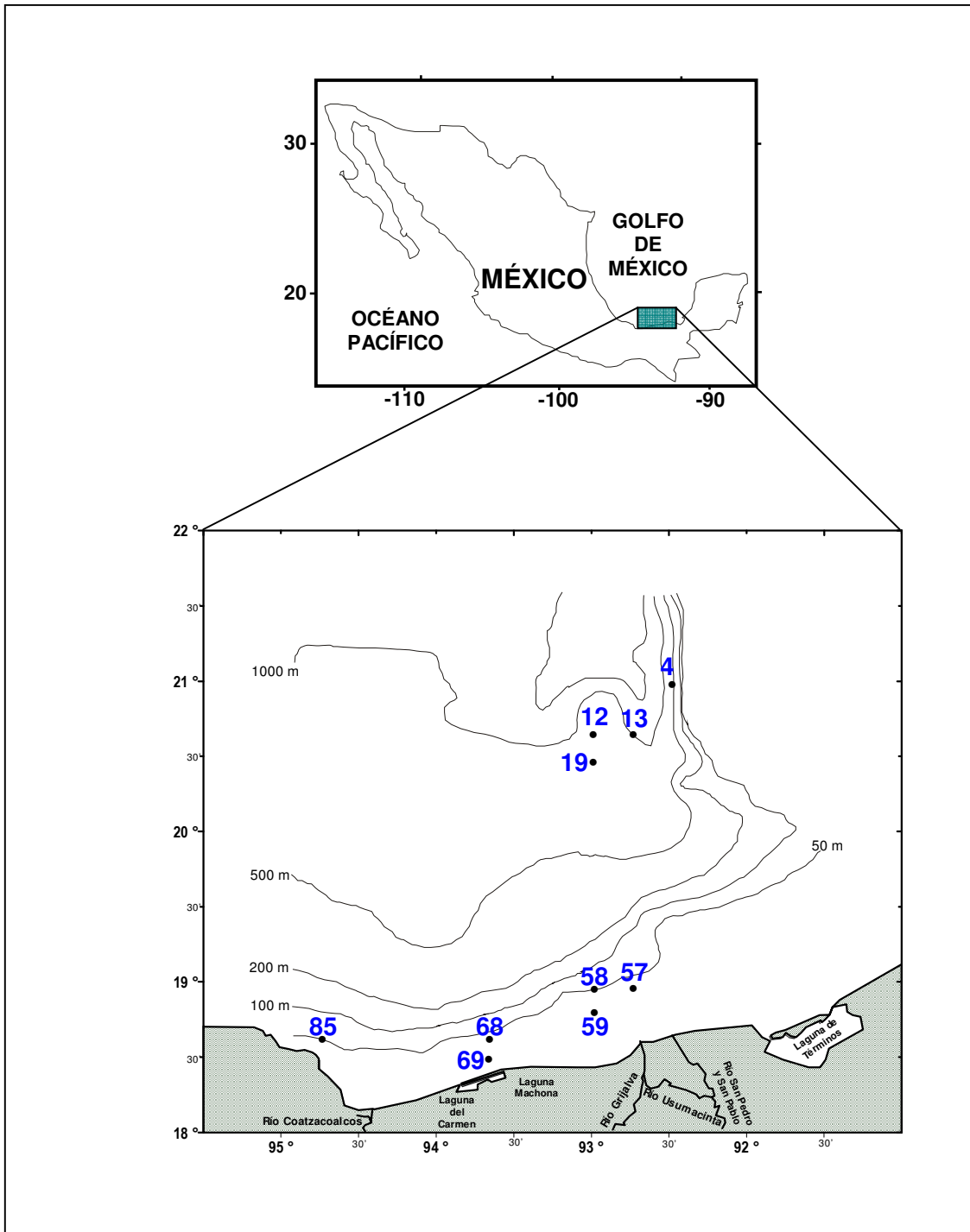


Fig. 1. Ubicación de las estaciones de muestreo en el sur del Golfo de México (temporada de nortes: febrero, 2004).



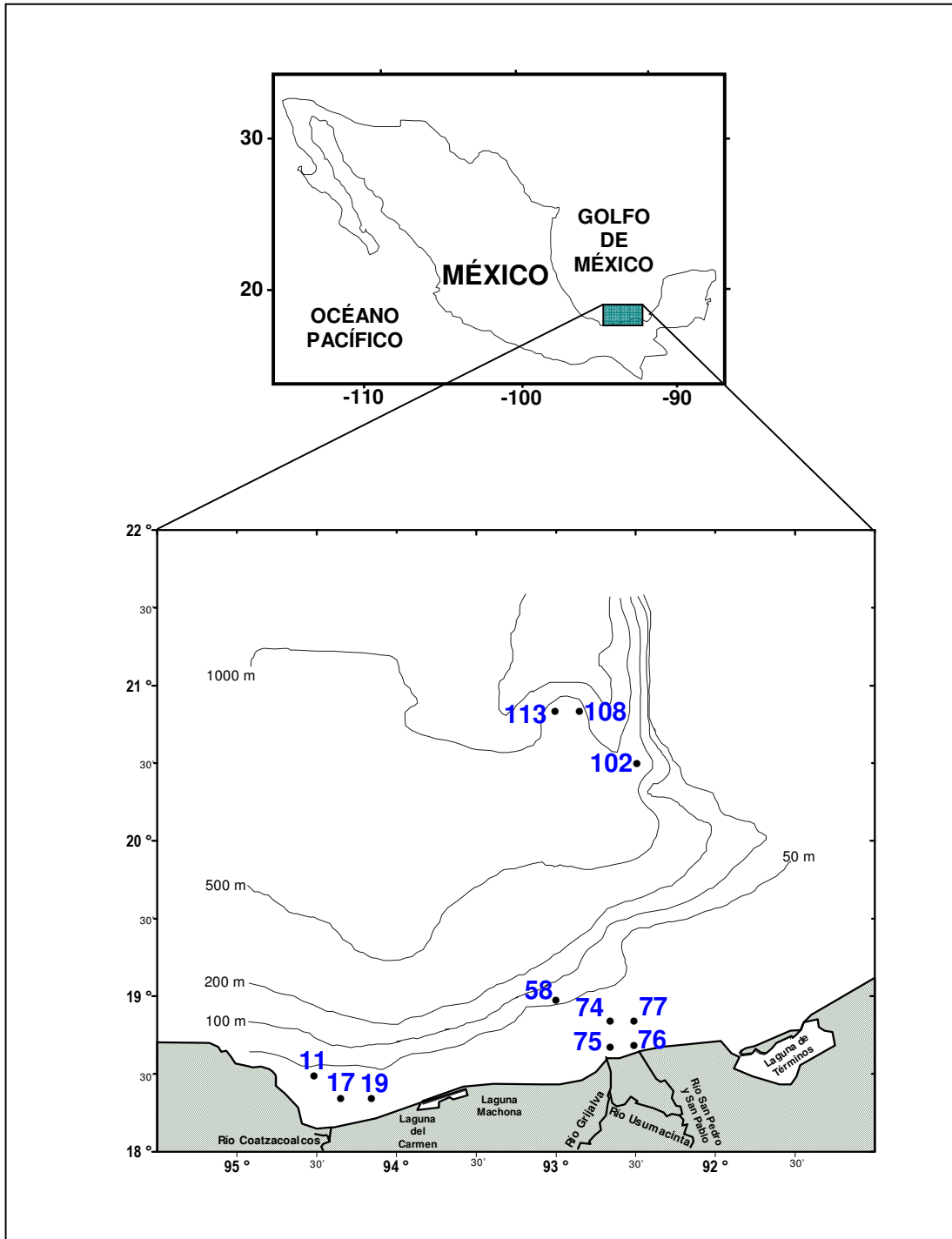


Fig. 2. Ubicación de las estaciones de muestreo en el sur del Golfo de México (temporada de secas: junio-julio, 2004).

Un rasgo particular del sur del Golfo de México es la plataforma continental carbonatada que tiende a incrementarse de oeste a este (Carranza Edwards *et al.*, 1975). El área de estudio se caracteriza por la descarga de tres principales ríos: Coatzacoalcos (ubicado al suroeste), el sistema Grivalva-Usumacinta (hacia la parte sureste), el cual, después del río Mississippi, descarga la mayor cantidad de agua continental (con una gran aporte de nutrientes) en el sur del Golfo de México (Yáñez Arancibia y Day, 2004) y el río San Pedro y San Pablo, ubicado al este del sistema Grijalva-Usumacinta y al oeste de la Laguna de Términos.

El área de estudio se distingue por un cañón submarino de origen tectónico: Cañón de Campeche (Mendoza y Ortiz Pérez, 2000). En esta región, Salas de León *et al.* (2004) determinaron que los máximos de materia orgánica particulada, con una variación de 2.8 a 33.1 mg l<sup>-1</sup>, están asociados a la capa eufótica. Además, determinaron que la profundidad del máximo de clorofila *a* (con concentraciones de 0.21 a 0.32 mg m<sup>-3</sup>) se presentó en la base de la capa eufótica, entre 78 y 88 m.

Salas de León *et al.* (1996) observaron que la presencia del gran giro ciclónico en la Bahía de Campeche, el cual comienza a formarse en el verano; en el invierno ya se encuentra completamente desarrollado, favorece la distribución estacional de organismos planctónicos de la zona oceánica hacia la zona costera. Asimismo, Sanvicente Añorve *et al.* (2000) observaron que la formación del giro ciclónico favoreció la distribución de organismos zooplanctónicos oceánicos hacia la plataforma continental del sur del Golfo de México.

En la región costera del sur del Golfo de México, Sanvicente Añorve *et al.* (2000) y Espinosa Fuentes y Flores Coto (2004) observaron que durante los periodos de mezcla y la intensificación de la descarga del sistema Grijalva-Usumacinta, la abundancia de organismos zooplanctónicos se incrementa en la capa de mezcla de la plataforma continental.

## V. MATERIALES Y MÉTODOS

### V.1. ETAPA DE CAMPO

Se trabajó con material que se recolectó durante dos campañas oceanográficas en el sur del Golfo de México, PROMEBIO VIII (temporada de nortes: febrero, 2004) y PROMEBIO IX (temporada de secas: junio-julio, 2004). Al material se le determinó la concentración de 5 pigmentos del plancton autótrofo y la densidad del PFP pertenecientes a dos zonas costeras (la primera, con influencia del sistema Grijalva-Usumacinta; y la segunda, con influencia del río Coatzacoalcos) y una zona oceánica (Cañón de Campeche). Para la campaña PROMEBIO VIII, 10 estaciones de muestreo se distribuyeron entre las tres zonas de estudio, mientras que para la campaña PROMEBIO IX, se distribuyeron 11 estaciones de recolecta (Fig. 1 y 2).

#### *Variables físicas y clorofila a*

Se registró la temperatura, la salinidad y la profundidad de la columna de agua con un CTD marca Neil Brown Mark III; la salinidad y la profundidad se calcularon usando los algoritmos de la UNESCO (Fofonoff y Millard, 1983). La fluorescencia *in vivo* de la clorofila *a* y el PAR<sub>0</sub> se midieron con un perfilador pasivo marca PNF-300 de Biospherical Instruments; la clorofila *a* se calculó con los programas proporcionados por la compañía Biospherical Instruments, los cuales se basan en una relación directa del número de fotones absorbidos por la clorofila *a* y el número de fotones emitidos por la fluorescencia de la clorofila *a*. Durante la temporada de nortes (febrero, 2004), el perfilador de fluorescencia sólo obtuvo datos completos en 4 de las 10 estaciones de muestreo. Por ello, no se pudieron determinar, en 6 estaciones, las relaciones de la clorofila *a* y el PAR<sub>0</sub> con respecto a la concentración de los pigmentos accesorios.

#### *Recolecta del material biológico*

La recolecta del material biológico se realizó con botellas Niskin de 8 L unidas a una roseta y al CTD. En la campaña PROMEBIO VIII, de los 10-100 m de profundidad, se recolectó con una separación de 10-20 m entre cada nivel (máximo 7 profundidades); después de los 100 m, siempre se recolectó a 120, 150 y 180 m de profundidad. En la campaña PROMEBIO IX, entre 5 y 40 m de profundidad (estaciones someras), se muestreó con una separación de 4-10 m de profundidad entre cada nivel (máximo 6 profundidades); después de los 40 m, siempre se muestreó a 60, 80, 100, 120, 150 y 180 m de profundidad. Además, sólo en esta campaña se recolectó en la profundidad de la termoclina y la profundidad del máximo de clorofila *a*. Del volumen que se recolectó por las botellas Niskin (8 l), 2.5 l de agua de cada nivel se llevaron al laboratorio para preparar las muestras correspondientes al análisis de pigmentos (HPLC), los conteos celulares por citometría y epifluorescencia y los análisis por microscopía electrónica de transmisión (TEM).

### *Preparación de muestras para el HPLC*

Se filtraron 2 l de agua de cada nivel de colecta a través de filtros GF/F (47 mm diámetro) con un sistema de filtración Manifold (Millipore), el cual se conectó a una bomba de extracción (Millipore) y un recipiente colector de desechos (vol. 20 l). Los filtros GF/F se retiraron con unas pinzas delgadas y se colocaron en viales etiquetados (Eppendorf 1.5 ml). Los viales se conservaron en nitrógeno líquido hasta antes de analizarse por el sistema HPLC. Se ha recomendado este tipo de conservación ya que los pigmentos pueden preservarse por varios meses sin sufrir degradaciones significativas (Marie *et al.*, 1999).

### *Preparación de muestras para citometría, microscopía de epifluorescencia y microscopía electrónica de transmisión (TEM)*

Se fijaron 150 ml de agua de mar con paraformaldehído a una concentración final del 1% (Marie *et al.*, 1999). El preservante adicionado se dejó actuar durante 10 min a temperatura ambiente. Para las muestras de citometría, se tomó una alícuota de 5 ml y se colocó en crioviales, los cuales se conservaron en nitrógeno líquido hasta antes de su análisis. Esto ha sido ampliamente recomendado previo a los análisis por citometría, ya que la fluorescencia de los pigmentos puede conservarse en óptimas condiciones durante varios meses (Marie *et al.*, 1999). El volumen restante, fijado, 50 % se reservó para los análisis de microscopía de epifluorescencia y el otro 50 % para los análisis por microscopía electrónica (TEM), ambos conservados a una temperatura de -15 ° C.

## V.2 ETAPA DE LABORATORIO

### *Preparación de la muestra para el análisis de pigmentos accesorios (RF-HPLC)*

La cuantificación de los pigmentos accesorios se determinó mediante de la cromatografía líquida de alta resolución fase reversa (RF-HPLC). El proceso inició descongelando las muestras (viales con material biológico) que se conservaron en nitrógeno líquido. Con unas pinzas se sacó el filtro del vial y se colocó en un tubo de extracción de 10 ml de volumen. Dentro del tubo de extracción, se agregaron 5.0 ml de metanol (disolvente) grado HPLC. En este tubo, con una punta plástica unida a un taladro de baja velocidad, se trituró el filtro hasta que quedó totalmente resuspendido en el disolvente. Inmediatamente después, dicha suspensión se refrigeró a 4° C durante 24 h. Vidussi *et al.* (1996) han señalado que en este tiempo (24 h) se han extraído todos los pigmentos fotosintéticos, los cuales se analizaron posteriormente por el sistema HPLC.

### *Preparación de disolventes (fase móvil) para el sistema HPLC*

#### *Disolvente A*

El disolvente A se compuso de la mezcla de acetato de amonio acuoso (0.5 M) y metanol grado HPLC. El disolvente A se preparó mezclando 30% de acetato de amonio acuoso (0.5 M) y 70% de metanol grado HPLC (Vidussi *et al.* 1996).

#### *Disolvente B*

El disolvente B fue metanol grado HPLC.

### *Cuantificación de pigmentos accesorios (RF-HPLC)*

Trascurrido el tiempo de extracción de los pigmentos fotosintéticos (24 h), los tubos con los pigmentos extraídos se centrifugaron durante 5 min a  $10,500 \times g$ . Terminada la separación del material, con la ayuda de una pipeta se apartó el disolvente (muestra) del resto del filtro sedimentado (residuo). De cada muestra, se inyectaron 600  $\mu$ l al sistema HPLC con la ayuda de un automuestreador (Waters 717), el cual se conectó bidireccionalmente a una computadora. La muestra pasó por una columna fase reversa (Hypersil MOS-2) hasta llegar a un espectrofotómetro (Waters 996, con detector de fotodiodos), con una longitud de onda de 440 nanómetros.

Los pigmentos analizados fueron fucoxantina, prasinoxantina, violaxantina, zeaxantina y divinyl-clorofila *a*. Antes del análisis de las muestras, todos los estándares se calibraron en el instrumento de cuantificación (RF-HPLC), es decir, las señales de detección de los pigmentos se calibraron de acuerdo a su tiempo de retención (tiempo específico en el que un pigmento se detecta y cuantifica). Posteriormente, con base en una concentración conocida de los estándares, se cuantificaron las concentraciones de los pigmentos de cada muestra.

### *Cuantificación celular por citometría*

Se utilizó un citómetro FCScalibur (Becton Dickinson), equipado con un láser de 488 nm y tres fotodetectores: FL1 (fluorescencia verde), FL2 (fluorescencia naranja) y FL3 (fluorescencia roja). Por medio de una conexión bidireccional, el citómetro de flujo se controló desde una computara (G3 Macintosh) con el programa Cellquest. Antes de analizar las muestras, el sistema se lavó con hipoclorito de sodio al 10% durante 10 minutos. Con una suspensión (agua MilliQ más microesferas yellow-green, marca Polyscience, de 1  $\mu$ m de diámetro), a una concentración conocida de aproximadamente  $10^5$  microesferas  $\text{ml}^{-1}$ ; se calibró el tamaño de partículas ( $< 3 \mu$ m) y las fluorescencias del citómetro de flujo. Al descongelarse las muestras, conservadas en nitrógeno líquido, en tubos Falcon (5 ml) se agregó 1-2 ml de muestra y 5-10  $\mu$ l de la solución con microesferas (estándar de referencia). Terminada la calibración del citómetro y la preparación de las muestras, se hizo la adquisición (inyección de partículas) del material biológico. Se contaron aproximadamente 100 000 eventos, donde existió mayor abundancia de partículas (zona costera), o 50 000 eventos, donde hubo bajas densidades de partículas (zona

oceánica). Las poblaciones picoeucariontes fueron reconocidas por presentar una alta fluorescencia roja (debida a la clorofila *a*) y una muy baja fluorescencia naranja. La población de *Synechococcus* fue distinguida por presentar una combinación entre la fluorescencia roja y la fluorescencia naranja (debido a la clorofila *a* y ficoeritrina). Respecto a la población de *Prochlorococcus*, la cual se identifica por tener una muy baja fluorescencia roja y una despreciable fluorescencia naranja, la cantidad de ruido electrónico del citómetro impidió que se distinguiera esta población.

#### *Preparación y cuantificación de muestras por microscopía de epifluorescencia*

Las muestras fijadas con paraformaldehído (1% concentración final) y conservadas a -15° C, se descongelaron sumergiéndolas en un recipiente con agua, a no más de 37° C. Con una jeringa de 60 ml, se tomó una alícuota de 15-25 ml por muestra, y ésta se filtró a través de un filtro negro de nitrocelulosa (0.22 µm de poro y 2.5 cm de diámetro). Se utilizó un sistema de filtración swing (Millipore, 2.5 cm de diámetro). El filtro con el material planctónico se colocó entre un portaobjetos y un cubreobjetos, adherido por dos pequeñas gotas de aceite de inmersión (Zeiss) sobre las superficies de los cristales. Las cuantificaciones celulares se hicieron con un microscopio Olympus BX-40, el cual se equipó con un filtro de excitación de 470 nm (luz azul), un filtro dicróico de 495 nm y un filtro de emisión de 515 nm, todos de la marca Chroma. Por cada muestra, se contaron más de 300 células sobre diferentes superficies del filtro (método zick-zack). Para conocer la concentración celular del PFP por ml se aplicó la siguiente fórmula.

$$N = \frac{n(\text{promedio})}{\text{volumen filtrado(ml)}} \times \frac{S}{P}$$

donde:

$N$  = Número (concentración) de células del PFP en un mililitro de muestra

$n$  = Número total de células contadas.

$S$  = Área del filtro (cm<sup>2</sup>)

$P$  = Área contada del filtro (cm<sup>2</sup>)

#### *Índice de pigmentos*

Se utilizó el índice de pigmentos ( $F_{\mu}$ ) aplicado por Platt *et al.* (2005) para estimar, de manera general, el aporte del microplancton (clorofila *a*) al total de la biomasa fitoplanctónica. Este índice señala la tendencia del microplancton a ser dominante sobre el nanoplancton y el picofitoplancton, con base en la concentración de los pigmentos accesorios. El índice de pigmentos es la suma de los pigmentos que se asocian con células grandes (diatomeas y dinoflagelados), dividida entre la suma de todos los pigmentos accesorios de los diferentes tamaños del fitoplancton (pico-, nano- y micro-fitoplancton):

$$F_{\mu} = \frac{Df + Dp}{Df + Dp + Dh + Db + Da + Dc + Dz}$$

donde:

$F_{\mu}$  = índice de pigmentos

$D_f$  = concentración de fucoxantina (Bacillariophyta)

$D_p$  = concentración de peridina (Dinophyta)

$D_h$  = concentración de 19'-hexanoxyfucoxantina (Prymnesiophyta)

$D_b$  = concentración de 19'-butanoxyfucoxantina (Chrysophyta)

$D_a$  = concentración de alloxantina (Cryptophyta)

$D_c$  = concentración de clorofila *b* (Cyanophyta, Prochlorophyta, Prasinophyta)

$D_z$  = concentración de zeaxantina (Cyanophyta y Prochlorophyta)

Para este estudio, el índice de pigmentos se adecuó de acuerdo a los pigmentos analizados (fucoxantina, prasinoxantina, violaxantina, zeaxantina y divinyl-clorofila *a*). La fucoxantina, se asoció a células grandes; y el resto de los pigmentos, a células del nanoplancton y picofitoplancton.

$$F_{\mu} = \frac{D_{fuc}}{D_{fuc} + D_{pra} + D_{vio} + D_{zea} + D_{div}}$$

De acuerdo con Platt *et al.* (2005), cuando las concentraciones de clorofila *a* son menor a 5 mg m<sup>3</sup>,  $F_{\mu}$  presenta valores muy variables (entre 0 y 1) y la tendencia sería que el fitoplancton está compuesto por diversos tamaños. Sin embargo, si la concentración de clorofila *a* es mayor a 5 mg m<sup>3</sup>,  $F_{\mu}$  tiende a ser grande (mayor a 1) y la dominancia es por células grandes (diatomeas).

#### *Determinación de los grupos picoplanctónicos por TEM*

La determinación de los organismos picoplanctónicos se logró con la Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM). A partir de muestras costeras y oceánicas, donde se observó la más alta concentración de células del PFP, se centrifugó un volumen de 300 ml (a 10,500.0 × g) hasta aglutinar una masa considerable del material planctónico. La masa planctónica se fijó con glutaraldehído al 3 % durante 24 h. Posteriormente, el material biológico se postfijó en vapores de tetraóxido de osmio al 2%. Terminado este procedimiento, se deshidrató la muestra en etanol con porcentajes del 10 al 100%. El material obtenido fue incluido en resina epóxica y su polimerización fue en una estufa a 60° C durante 48 h. Los cortes de las muestras se hicieron en un ultramicrotomo Reichert-Jung a 100 nm, y éstos fueron contrastados con acetato de amonio y citrato de plomo en rejillas de observación. Las observaciones de las preparaciones se hicieron con un microscopio de transmisión electrónica Jeol 1200 CXII.

#### V.3 ETAPA DE GABINETE

Los resultados fueron presentados en tablas, gráficas y textos descriptivos de los mismos. A través del análisis de varianza múltiple (MANOVA), se determinaron las diferencias significativas con respecto a los pigmentos (fucoxantina, zeaxantina, prasinoxantina y divinyl-clorofila *a*) y la densidad del PFP para las dos regiones costeras y la región oceánica.

## VI. RESULTADOS

Se determinó la concentración de cinco pigmentos marcadores del plancton autótrofo (en 10 estaciones de muestreo) durante la temporada de nortes (febrero, 2004) y la densidad del PFP total (en 11 estaciones de muestreo) durante la temporada de secas (junio-julio, 2004). Los resultados corresponden a dos regiones costeras y una oceánica del sur del Golfo de México.

De los cinco pigmentos analizados por el HPLC, la violaxantina nunca dio una señal que pudiera ser cuantificada por el sistema.

Los resultados obtenidos por citometría de flujo sobreestimaron las concentraciones normales de las poblaciones del PFP. Además, la cantidad de ruido electrónico impidió distinguir a la población más pequeña del PFP (*Prochlorococcus*). Por tales motivos, los resultados por este método no se incluyeron en este estudio. No obstante, se destaca que la citometría de flujo permitió distinguir una población procarionte (*Synechococcus*) y dos poblaciones eucariontes (no determinadas) del picofitoplancton.

### VI.1 Temporada de nortes en el sur del Golfo de México (PROMEBIO VIII)

#### VI.1.1 Características oceanográficas y perfiles de clorofila *a*

El Cañón de Campeche (estaciones 4-19) se caracterizó por presentar una termoclina entre 65 y 106 m de profundidad (Fig. 3). La salinidad en la capa de mezcla osciló entre 36.0 y 36.4 (Fig. 3).

Sobre la plataforma continental del sur del Golfo de México (estaciones 57-85), la termoclina se caracterizó por ser muy débil (Fig. 4). Las estaciones costeras no se caracterizaron por tener un fuerte aporte de aguas continentales, ya que la salinidad de esta región no descendió por debajo de 34.1. La zona costera se caracterizó por presentar los máximos de clorofila *a* entre 6 y 20 m de profundidad (estaciones 57, 58, 68 y 69), con concentraciones que van desde 0.27 mg m<sup>-3</sup> a 0.85 mg m<sup>-3</sup>.

Las concentraciones de los pigmentos fucoxantina, zeaxantina y divinyl-clorofila *a* difirieron significativamente ( $F_{\text{muestreo}} (4.3) > F_{\text{tablas}} (1.3); \alpha = 0.05$ ) entre el ambiente costero y el ambiente oceánico (Tabla 1). El pigmento prasinoxantina no mostró diferencias importantes entre la región oceánica y la región costera.

Tabla 1. Resultados del análisis multivariado (MANOVA) entre los pigmentos y las estaciones de muestreo

	Estadístico de prueba	Valor	Estadístico F	Grados de libertad	Grados de libertad	Valor <i>p</i>
Estaciones	Wilks	0.023456	4.3	54	213	0.000000



## VI.I.2 Concentración vertical de los pigmentos marcadores

### *Fucoxantina*

De todos los pigmentos analizados, la fucoxantina (diatomeas) presentó las mayores concentraciones en la zona costera; de hecho, se observó que a menor profundidad, mayor la concentración de fucoxantina (Fig. 4). En las 6 estaciones localizadas en la zona costera, entre la estación más alejada (estación 58, 110 m) y la más cercana (estación 69, 30 m) a la línea de costa, la diferencia en la concentración de fucoxantina es grande (mayor a 20 veces). Esto indica que la abundancia de las diatomeas fue más importante sobre la plataforma continental que en las aguas oligotróficas del Cañón de Campeche.

La zona costera se caracterizó por presentar los máximos de fucoxantina (27.3-165.1 ng l<sup>-1</sup>) entre 10 y 40 m de profundidad (estaciones 57 y 59-85), excepto en la estación más profunda (estación 58; prof. ~ 110 m) de esta zona, la cual presentó su máximo (10.2 ng l<sup>-1</sup>) a 80 m de profundidad (Fig. 4). Todos estos máximos se presentaron por arriba del 1% de PAR<sub>0</sub> y la termoclina. En la plataforma continental, a profundidades menores a los 100 m, la fucoxantina fluctuó entre 1.2 y 165.1 ng l<sup>-1</sup> (Fig. 4).

Es importante señalar que en la estación más somera de la zona costera (estación 69, 30 m), se presentó la mayor concentración de fucoxantina (165.1 ng l<sup>-1</sup>) al 75 % de PAR<sub>0</sub>, mientras que en esta misma región, pero en la estación más profunda (estación 58, ~ 110 m), el máximo de fucoxantina (10.2 ng l<sup>-1</sup>) se encontró al 16% de PAR<sub>0</sub> (Tabla 2). Por otra parte, se observó que en la estación 57 y la estación 68, los máximos de fucoxantina tuvieron casi la misma concentración (~ 27.0 ng l<sup>-1</sup>), sólo que en la estación 57 se encontró al 34% de PAR<sub>0</sub> y en la estación 68 al 75% de PAR<sub>0</sub> (Fig. 4 y Tabla 2). En la estación 59 y en la estación 85 no se determinó la clorofila *a* y el % PAR<sub>0</sub>, no obstante, los perfiles de fucoxantina (Fig. 4) ilustran una mayor concentración del pigmento hacia las zonas superficiales (< 40 m).

El Cañón de Campeche presentó los máximos de fucoxantina (4.7-11.1 ng l<sup>-1</sup>) entre 60 y 80 m de profundidad, con excepción de la estación 19, en la cual sólo se detectó la concentración de 1.3 ng l<sup>-1</sup> a 40 m de profundidad (Fig. 3). En esta zona se presentaron las menores concentraciones de fucoxantina comparado con lo obtenido en la zona costera (Tabla 2).

Para las estaciones localizadas en el Cañón de Campeche, se observó que la concentración de fucoxantina no indicó diferencias estadísticamente significativas ( $\alpha= 0.05$ ), en tanto que en la región de la plataforma continental, varias de las estaciones costeras presentaron diferencias significativas entre sí y hacia las estaciones localizadas en la zona oceánica.

La fucoxantina, al seguir un patrón de distribución análogo a los pigmentos prasinoxantina, zeaxantina o divinyl-clorofila *a*, se correlacionó positivamente con estos pigmentos en 3 estaciones costeras y 3 estaciones oceánicas (Tabla 3; Fig. 3 y 4); sin embargo, la fucoxantina no presentó una relación importante con la clorofila *a*, excepto en la estación costera 68 ( $r^2= 0.97$ ). Por lo tanto, es probable que el mayor aporte de clorofila *a* no estuvo asociado con las

diatomeas (fucoxantina); sino tal vez, con otros grupos, dentro de los cuales podrían tener cierta contribución algunos grupos del picofitoplancton y el nanoplancton.

### *Prasinoxantina*

En el Cañón de Campeche, los máximos de prasinoxantina se localizaron entre 50 y 80 m de profundidad, y éstos estuvieron por arriba o ligeramente asociados a la débil termoclina formada (Fig. 3). En esta región, los máximos de prasinoxantina tuvieron una mayor variación en su concentración que los observados en la zona costera (Tabla 2). En la estación 12 (Cañón de Campeche), se encontró la mayor concentración de prasinoxantina ( $35.4 \text{ ng l}^{-1}$ , 60 m) de todas las estaciones muestreadas (Tabla 2). Para esta región oceánica, la prasinoxantina comenzó a ser indetectable después de los 120 m de profundidad (Fig. 3).

En la región de la plataforma continental, los máximos de prasinoxantina se definieron entre 5 y 50 m de profundidad, con un rango de concentración que varió de  $11.1$  a  $17.9 \text{ ng l}^{-1}$  (Tabla 2; Fig. 4). Estos máximos se definieron por arriba del 1 % de  $\text{PAR}_0$  y la termoclina. Sin embargo, en la estación 57 (con influencia del sistema Grijalva-Usumacinta), se encontró que el máximo de prasinoxantina estuvo ligeramente por debajo del límite de la capa eufótica (Fig. 4; Tabla 2). En las estaciones 58, 68 y 69, los máximos de prasinoxantina se asociaron a zonas bien iluminadas ( $> 67 \%$  del  $\text{PAR}_0$ ) de la zona costera (Fig. 4 y Tabla 2). Tanto en la zona costera como en la oceánica se observó que a partir del máximo de prasinoxantina, la concentración de dicho pigmento disminuyó rápidamente hacia el límite de la capa eufótica.

La prasinoxantina se correlacionó en mayor número de ocasiones con la divinyl-clorofila *a* que con algún otro pigmento (Tabla 3). Esta relación entre la prasinoxantina y la divinyl-clorofila *a* puede apreciarse incluso en los perfiles de las Figuras 3 y 4, ya que la distribución vertical de dichos pigmentos sigue un patrón similar en la columna de agua.

Los resultados del análisis MANOVA para el pigmento prasinoxantina estadísticamente no mostraron diferencias significativas entre la zona oceánica y la zona costera. Sin embargo, en la estación 12 (Cañón de Campeche) el máximo de prasinoxantina fue más del doble que lo observado en las estaciones de la región costera.

### *Zeaxantina*

De todos los pigmentos analizados, la zeaxantina fue el pigmento que más se concentró en las capas subsuperficiales de la columna de agua ( $< 60 \text{ m}$ ). En el cañón de Campeche sus máximos se presentaron entre 10 y 60 m de profundidad, y su intervalo fluctuó entre  $23.1$  y  $36.7 \text{ ng l}^{-1}$ . Los máximos de zeaxantina (Cañón de Campeche) se localizaron muy por arriba de la termoclina y de los máximos de fucoxantina, prasinoxantina y divinyl-clorofila *a* (Fig. 3). En general, la concentración de los máximos de zeaxantina varió menos en la región del Cañón que sobre la plataforma continental (Tabla 2).

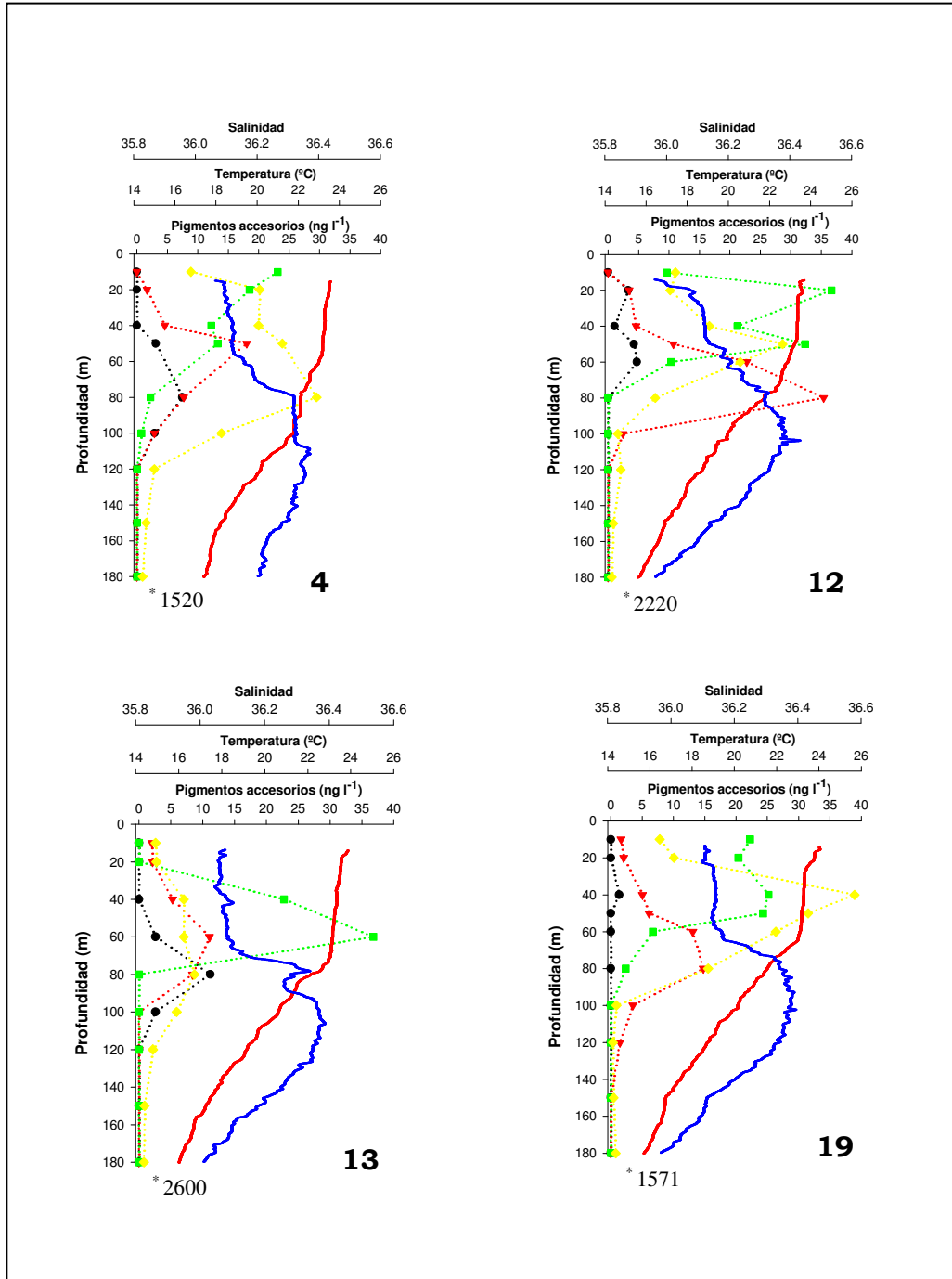


Fig. 3 Distribución vertical de Fucoxantina (●), Prasinolaxantina (▼), Zeaxantina (■), Divinyl-clorofila *a* (◆), Temperatura (—) y Salinidad (—); en las estaciones oceánicas 4-19. \* es la profundidad total (m).

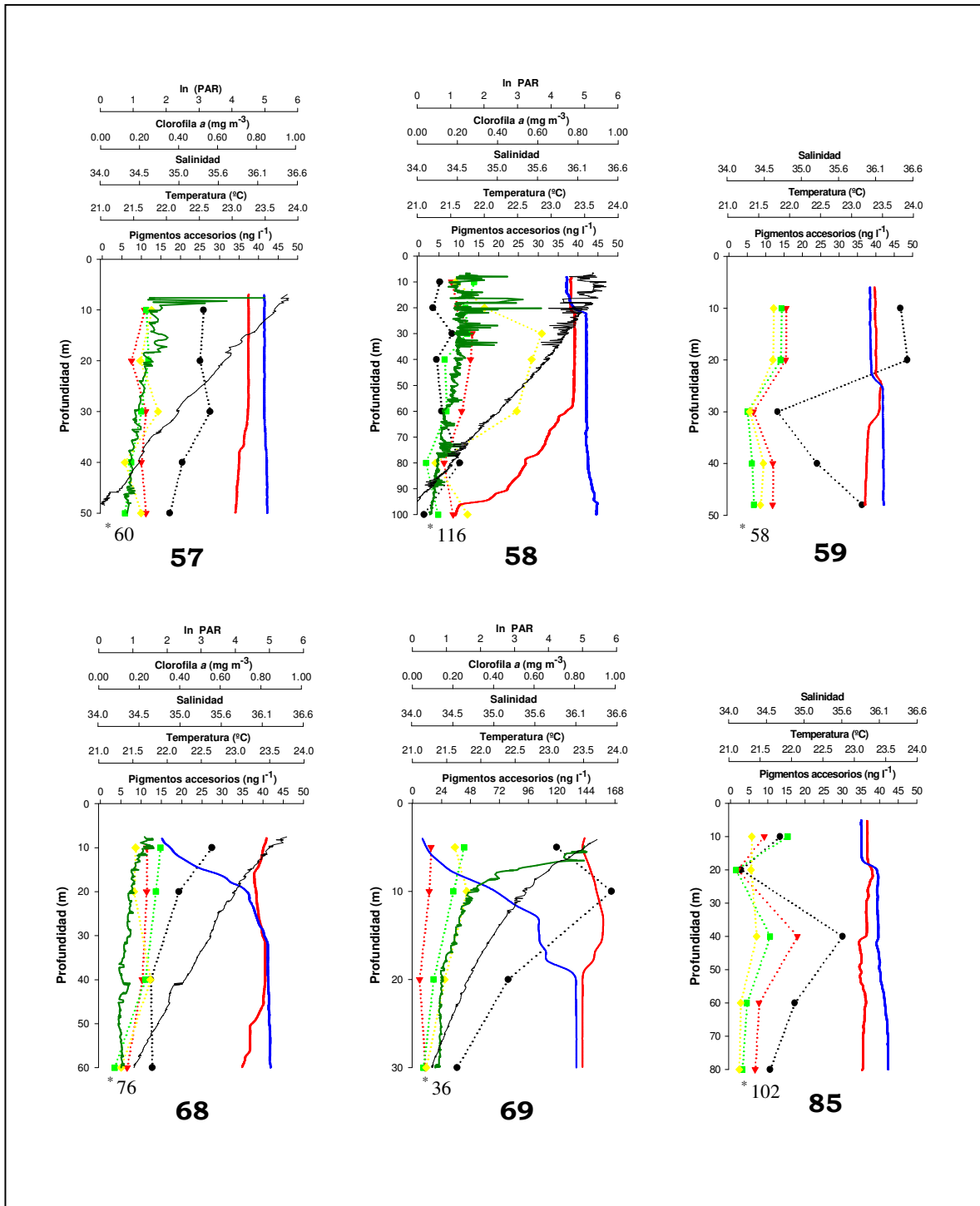


Fig. 4 Distribución vertical de Fucoxantina (●), Prasinolantoxantina (▼), Zeaxantina (■), Divinyl-clorofila *a* (◆), Temperatura (—), Salinidad (—) y Clorofila *a* (—) y ln PAR (—); en las estaciones costeras 57-85. \* es la profundidad total (m).

En el Cañón de Campeche, después de los 100 m de profundidad, la zeaxantina no presentó concentraciones que pudieran ser cuantificables (Fig. 3). Además, en este lugar la zeaxantina se distinguió por tener el mayor número de correlaciones significativas con la temperatura (Tabla 3; estaciones 4,  $r^2=0.62$ ; 12,  $r^2=0.51$ ; 19,  $r^2=0.65$ )

Las estaciones localizadas sobre la plataforma continental presentaron los máximos de zeaxantina entre 5 y 20 m de profundidad, con irradianzas entre 54 y 89% de  $PAR_0$  y concentraciones que variaron de 11.7 a 42.7  $ng\ l^{-1}$  (Tabla 6; Fig. 4). En esta región, la estación más somera (estación 69) tuvo la mayor concentración (42.7  $ng\ L^{-1}$ ) de este pigmento (Fig. 4).

En las estaciones 68 y 69 (zona costera), se observó que el máximo de zeaxantina coincidió con el máximo de clorofila *a* (Fig. 4 y Tabla 2), en tanto que en la estación 57 de la misma región, se encontró la única correlación significativa entre la zeaxantina y la clorofila *a* ( $r^2=0.78$ ). Además, sólo en las estaciones 57 y 69, la zeaxantina obtuvo la más alta correlación con la temperatura (57,  $r^2=0.95$ ; 69,  $r^2=0.90$ ).

Los resultados del MANOVA para el pigmento zeaxantina mostraron que, sólo entre la estación 13 (Cañón de Campeche) y la estación 69 (zona costera), existieron diferencias estadísticamente significativas entre el ambiente marino y el ambiente costero.

#### *Divinyl-clorofila a*

El Cañón de Campeche se caracterizó por presentar los máximos de divinyl-clorofila *a* entre 40 y 80 m de profundidad (Fig. 3). En esta zona, las máximas concentraciones de divinyl-clorofila *a* fluctuaron entre 8.7 y 38.9  $ng\ l^{-1}$ , y éstas se presentaron por arriba o asociadas a la termoclina (Tabla 2 y Fig. 3). La divinyl-clorofila *a* fue el único pigmento que a la profundidad 180 m manifestó concentraciones (0.6-0.9  $ng\ l^{-1}$ ) cuantificables por el sistema HPLC. De hecho, la divinyl-clorofila *a* fue el único pigmento que alcanzó la distribución más profunda en la columna de agua. Al igual que ocurrió con los otros pigmentos, la divinyl-clorofila *a* disminuyó su concentración gradualmente hacia las zonas con menor iluminación, después de presentarse los máximos subsuperficiales en la columna de agua (Fig. 3).

En el Cañón de Campeche, la divinyl-clorofila *a* y la zeaxantina (*Prochlorococcus*) se distinguieron por tener mayores concentraciones que los pigmentos fucoxantina y prasinoxantina. En esta región, la divinyl-clorofila *a* se correlacionó significativamente con la temperatura (estaciones 4,  $r^2=0.56$ ; 12,  $r^2=0.53$ ; 13,  $r^2=0.48$ ) y los pigmentos prasinoxantina y fucoxantina (estaciones 4-13).

La zona costera presentó los máximos de divinyl-clorofila *a* arriba de la termoclina, entre 10 y 40 m de profundidad; cuyas concentraciones variaron de 6.9 a 40.9  $ng\ l^{-1}$ . En la estación 69, con influencia del sistema Grijalva-Usumacinta, se encontró la mayor concentración de divinyl-clorofila *a* (44.9  $ng\ l^{-1}$ ) a 10 m (Fig. 4 y Tabla 2). Dichos máximos se presentaron con irradianzas del 34 al 67 % de  $PAR_0$  (estaciones 57, 58, 68 y 69).

En la zona costera, la divinyl-clorofila *a* no mostró ninguna correlación con la temperatura ni con la clorofila *a*. No obstante, en la estaciones 59 y 69, la divinyl-clorofila *a* se correlacionó significativamente con el pigmento fucoxantina y en la estación 58, con la prasinoxantina (Tabla 3).

### *Índice de pigmentos*

Durante la temporada de nortes, en el sur del Golfo de México, el índice de pigmentos ( $F_{\mu}$ ) indicó que la composición del fitoplancton estuvo integrada por una gran diversidad de tamaños del plancton. Para el Cañón de Campeche, se determinaron los valores más bajos del índice de pigmentos ( $< 0.40$ ), en tanto que en la zona costera, los valores del índice de pigmentos se incrementaron, pero estos no fueron mayores a 0.65 (Tabla 4). Con base en estos resultados, se estimó que el nanofitoplancton y el picofitoplancton pudieron haber sido más importantes que el microfitoplancton durante la temporada de nortes.

Tabla 2. Profundidades de la termoclina, del 1% de PAR<sub>0</sub>, de los máximos de los pigmentos y de la concentración y del % de PAR<sub>0</sub> en los máximos de cada pigmento para las estaciones oceánica (4-19) y las estaciones costeras (57-85).

Est.	Prof. Termoclina		Fucoxantina			Prasincoxantina			Zeaxantina			Divinyl-clorofila <i>a</i>			Clorofila <i>a</i>		
	Prof. (m)	Prof. 1% de PAR <sub>0</sub>	Prof. del Máx. (m)	Conc. en el Máx. (ng l <sup>-1</sup> )	% de PAR <sub>0</sub> en el Máx.	Prof. del Máx. (m)	Conc. en el Máx. (ng l <sup>-1</sup> )	% de PAR <sub>0</sub> en el Máx.	Prof. del Máx. (m)	Conc. en el Máx. (ng l <sup>-1</sup> )	% de PAR <sub>0</sub> en el Máx.	Prof. del Máx. (m)	Conc. en el Máx. (ng l <sup>-1</sup> )	% de PAR <sub>0</sub> en el Máx.	Prof. del Máx. (m)	Conc. en el Máx. (mg m <sup>-3</sup> )	% de PAR <sub>0</sub> en el Máx.
4	106	sin datos	80	7.4	-	50	18.0	-	10	23.1	-	80	29.5	-	-	-	-
12	83	sin datos	60	4.7	-	60	35.4	-	20	36.7	-	50	28.6	-	-	-	-
13	79	sin datos	80	11.1	-	60	11.0	-	60	36.7	-	80	8.7	-	-	-	-
19	65	sin datos	40	1.3	-	80	14.7	-	40	25.1	-	40	38.9	-	-	-	-
57	mezcla	48	30	27.5	34	50	11.1	< 1	20	11.7	54	30	14.2	34	8	0.84	83
58	63	93	80	10.2	16	30	13.3	67	10	13.8	89	30	30.8	67	20	0.61	80
59	31	sin datos	20	48.5	-	10	15.5	-	10	14.3	-	10	12.1	-	-	-	-
68	mezcla	máx. 15% a 60 m	10	27.3	75	10	11.4	75	10	14.7	75	40	12.2	37	10	0.27	75
69	18	máx. 9% a 30 m	10	165.1	53	5	15.2	75	5	42.7	75	10	44.9	53	6	0.85	74
85	40	sin datos	40	30.0	-	40	17.9	-	10	15.3	-	40	6.9	-	-	-	-

Tabla 3. Correlaciones significativas entre los pigmentos y algunas variables físicas (temperatura, salinidad y profundidad) en la columna de agua.

	Estación	Variables	r	r <sup>2</sup>	n
ZONA OCEÁNICA	4	Zea-Temp	0.7886	0.62	9
		Zea-Sal	-0.9298	0.86	
		Zea-Prof	-0.8939	0.79	
		Div.a-Temp	0.7508	0.56	
		Div.a-Fuco	0.7004	0.49	
		Div.a-Prasi	0.7033	0.49	
	12	Prasi-Fuco	0.8637	0.74	10
		Zea-Temp	0.7147	0.51	
		Zea-Prof	-0.7000	0.49	
		Zea-Fuco	0.7091	0.50	
		Div.a-Temp	0.7322	0.53	
		Div.a-Fuco	0.8126	0.66	
		Div.a-Prasi	0.8570	0.73	
		Div.a-Zea	0.6735	0.45	
	13	Zea-Prasi	0.7447	0.55	9
		Div.a-Fuco	0.7083	0.50	
Div.a-Prasi		0.7886	0.62		
19	Zea-Temp	0.8077	0.65	10	
	Zea-Prof	-0.8287	0.68		
	Div.a-Temp	0.6939	0.48		
	Div.a-Zea	0.6803	0.46		
ZONA COSTERA	57	Fuco-Temp	0.9400	0.88	5
		Fuco-Sal	-0.9420	0.88	
		Zea-Temp	0.9779	0.95	
		Zea-Sal	-0.9842	0.96	
		Zea-Prof	-0.9439	0.89	
		Zea-Fuco	0.8848	0.78	
		Zea-Clor. A	0.8859	0.78	
	58	Prasi-Clor.a	0.7592	0.57	7
		Zea-Prof	-0.8797	0.77	
		Div.a-Prasi	0.9852	0.97	
	59	Prasi-Fuco	0.9454	0.89	5
		Zea-Sal	-0.9800	0.96	
		Zea-Fuco	0.9045	0.81	
		Div.a-Fuco	0.9190	0.84	
		Div.a-Prasi	0.9899	0.98	
		Div.a-Zea	0.9116	0.83	
	68	Fuco-Sal	-0.9673	0.93	4
		Fuco-Clor. a	0.9896	0.97	
		Zea-Prof.	-0.9594	0.92	
Zea-Prasi		0.9946	0.98		
69	Zea-Temp	0.9525	0.90	4	
	Zea-Sal	-0.9700	0.94		
	Zea-Prof	-0.9878	0.97		
	Div.a-Fuco	0.9903	0.98		
85	Fuco-Prasi	0.9717	0.94	5	



Tabla 4. Índice de pigmentos en la columna de agua para la zona oceánica y costera.

Zona Oceánica	Profundidad	Índice de pigmentos	Zona Costera	Profundidad	Índice de pigmentos
Estación 4	10	0	Estación 57	10	0.43
Estación 4	20	0	Estación 57	20	0.46
Estación 4	40	0	Estación 57	30	0.44
Estación 4	50	0.05	Estación 57	40	0.47
Estación 4	80	0.15	Estación 57	50	0.39
Estación 4	100	0.14			
Estación 4	120	0	Estación 58	10	0.14
Estación 4	150	0	Estación 58	20	0.08
Estación 4	180	0	Estación 58	30	0.13
			Estación 58	40	0.08
Estación 12	10	0	Estación 58	60	0.12
Estación 12	20	0.06	Estación 58	80	0.46
Estación 12	40	0.02	Estación 58	100	0.05
Estación 12	50	0.04			
Estación 12	60	0.06	Estación 59	10	0.53
Estación 12	80	0	Estación 59	20	0.54
Estación 12	100	0	Estación 59	30	0.43
Estación 12	120	0	Estación 59	40	0.46
Estación 12	150	0	Estación 59	48	0.57
Estación 12	180	0			
			Estación 68	10	0.44
Estación 13	10	0	Estación 68	20	0.37
Estación 13	20	0	Estación 68	40	0.27
Estación 13	40	0	Estación 68	60	0.46
Estación 13	60	0.04			
Estación 13	80	0.39	Estación 69	5	0.56
Estación 13	100	0.30	Estación 69	10	0.64
Estación 13	120	0	Estación 69	20	0.61
Estación 13	150	0	Estación 69	30	0.55
Estación 13	180	0			
			Estación 85	10	0.31
Estación 19	10	0	Estación 85	20	0.24
Estación 19	20	0	Estación 85	40	0.46
Estación 19	40	0.01	Estación 85	60	0.54
Estación 19	50	0	Estación 85	80	0.47
Estación 19	60	0			
Estación 19	80	0			
Estación 19	100	0			
Estación 19	120	0			
Estación 19	150	0			
Estación 19	180	0			

## VI.2 Temporada de secas en el sur Golfo de México (junio-julio, 2004)

### VI.2.1 Características oceanográficas y perfiles de clorofila *a*

La región influenciada por el río Coatzacoalcos (estaciones 11-19) presentó una capa de mezcla de aproximadamente 15 m de profundidad (Fig. 5). La temperatura de la capa de mezcla se mantuvo en aproximadamente 27° C en las estaciones 11 y 17; en la estación 19, varió entre 22.8 y 25.8° C. En esta región no se observó un descenso de la salinidad a causa de la descarga de aguas continentales hacia la zona costera. De hecho, la salinidad nunca descendió por debajo de 36.0 (Fig. 5). La capa eufótica (1% de PAR<sub>0</sub>), en la estación 11, tuvo una profundidad de 57 m; en la estación 17, de 31 m; y en la estación 19, penetró aproximadamente el 46% de PAR<sub>0</sub> cerca del fondo de la columna de agua (~30 m). Los máximos de clorofila *a* se presentaron a 33 m (estación 11), 26 m (estación 17) y 19 m (estación 19) de profundidad (Fig. 5).

La zona asociada al sistema Grijalva-Usumacinta presentó localidades con la columna de agua bien mezclada (estaciones 74 y 76) y áreas donde la capa de mezcla varió entre 11.4 y 33.5 m de profundidad (estaciones 58, 75 y 77). Esta región no se caracterizó por tener salinidades menores a 36 en toda la columna de agua. El límite de la capa eufótica sólo se determinó en la estación 58 a 109 m de profundidad; en las otras estaciones, el PAR<sub>0</sub> abarcó toda la columna de agua. Los máximos de clorofila *a* se definieron entre 5 y 66 m de profundidad, de acuerdo con las profundidades de las estaciones de la región (Fig. 5).

La capa de mezcla en el Cañón de Campeche (estaciones 102-113) se estableció entre 30 y 42.5 m de profundidad, con una temperatura de aproximadamente 28.5° C. La capa eufótica varió entre 81.5 y 118.5 m de profundidad. La estación 102 se caracterizó por presentar dos máximos clorofila *a* con 0.35 mg m<sup>-3</sup>: el primero a 21 m de profundidad, y el segundo a 78 m de profundidad. En las estación 108 y 113, los máximos de clorofila *a* se ubicaron a 60 m de profundidad, con 0.49 y 0.45 mg m<sup>-3</sup> respectivamente. Por arriba de los 200 m de profundidad, la salinidad se mantuvo entre 35.5 y 36.6 (Fig. 6).

### VI.2.2 Densidad del picofitoplancton (PFP) en la columna de agua

#### VI.2.2.1 Cuantificaciones por microcopía de epifluorescencia

El análisis de varianza múltiple (MANOVA) mostró que existen diferencias significativas en la densidad del PFP entre la zona costera y el Cañón de Campeche ( $F_{\text{muestreo (6.9)}} > F_{\text{tablas (1.5)}}$ ;  $\alpha = 0.05$ , Tabla 5). Cabe destacar que la zona costera, debido a la fuerte variación en la densidad del PFP, mostró diferencias significativas entre sus estaciones.

Tabla 5. Resultado del análisis de varianza múltiple entre la densidad del picofitoplancton ( $p=0.05$ ).

	Estadístico de prueba	Valor	Estadístico F	Grados de libertad	Grados de libertad	Valor <i>p</i>
Estación	Wilks	0.004750	6.9	40	89.06867	0.000000

Las mayores concentraciones del PFP se presentaron en la región asociada al sistema Grijalva-Usumacinta ( $1.67 \times 10^5$  céls  $\text{ml}^{-1}$ ); en segundo lugar, en la región con influencia del río Coatzacoalcos ( $1.19 \times 10^5$  céls  $\text{ml}^{-1}$ ); y en último lugar, en las aguas del Cañón Campeche ( $1.53 \times 10^4$  céls  $\text{ml}^{-1}$ , Figs. 5 y 6; Tabla 6).

Enfrente de la descarga del río Coatzacoalcos (estaciones 11-19), la concentración del PFP varió verticalmente de  $5.82 \times 10^4$  a  $1.19 \times 10^5$  céls  $\text{ml}^{-1}$ . En esta zona, las máximas concentraciones del PFP se definieron entre 5 y 32 m de profundidad. Estos máximos se caracterizaron por presentarse entre el 49 y el 77% de  $\text{PAR}_0$ , con concentraciones que variaron de  $8.12 \times 10^4$  a  $1.19 \times 10^5$  céls  $\text{ml}^{-1}$ . A excepción de la estación 11, los máximos del PFP (zona Coatzacoalcos) se establecieron por arriba de la termoclina (estaciones 17 y 19). La estación 11 (68 m de profundidad) se distinguió por presentar cierta coincidencia entre el máximo de clorofila *a* ( $0.44 \text{ mg m}^{-3}$ , con 48%  $\text{PAR}_0$ ) y el máximo del PFP (1 m de diferencia entre ambos máximos).

Las estaciones vinculadas al sistema Grijalva-Usumacinta (< 25 m de profundidad) presentaron la mayor abundancia del PFP (Fig. 5). En la columna de agua de esta región (> 100 m), la densidad del PFP fluctuó de  $9.61 \times 10^3$  a  $1.67 \times 10^5$  cel  $\text{ml}^{-1}$ , y sus máximas concentraciones celulares (entre  $2.78 \times 10^4$  y  $1.67 \times 10^5$  cel  $\text{ml}^{-1}$ ) se presentaron a nivel subsuperficial, entre 5 y 21 m de profundidad. Estas altas concentraciones se registraron en la capa eufótica entre el 24 y el 78% de  $\text{PAR}_0$  (Tabla 6). Asimismo, se observó que los máximos del PFP se ubicaron por arriba de la termoclina (estaciones 58, 75 y 77), excepto en lugares donde la columna de agua estaba bien mezclada (estaciones 74 y 76).

Cabe señalar que sólo en la estación 74 (región Grijalva-Usumacinta), se observó que el máximo de clorofila *a* ( $0.60 \text{ mg m}^{-3}$ ; 73% de  $\text{PAR}$ ) se asoció al máximo del PFP (21 m, 75% de  $\text{PAR}_0$ ). En general, la tendencia fue encontrar las mayores concentraciones por arriba de la termoclina; sin embargo, en las estaciones con la columna de agua bien mezclada (estaciones 74 y 76), las mayores concentraciones del PFP se encontraron cerca del fondo de la columna de agua (Fig. 5). En la estación más somera (estación 76, ~ 10 m de profundidad), se detectó la mayor concentración del PFP ( $1.67 \times 10^5$  cel  $\text{ml}^{-1}$ ) asociada a la menor intensidad lumínica (24.5% de  $\text{PAR}_0$ ).

En el Cañón de Campeche, la densidad del PFP osciló entre 275 cel  $\text{ml}^{-1}$  y  $1.53 \times 10^4$  cel  $\text{ml}^{-1}$ . A pesar de las condiciones homogéneas que caracterizan a las aguas del Cañón de Campeche, se observó que la abundancia del PFP varió entre estaciones y en la columna de agua (Fig. 6 y Tabla 6). Las estaciones 108 y 113 presentaron los máximos del PFP a 60 m de profundidad y sus máximas concentraciones tuvieron  $1.25 \times 10^4$  cel  $\text{ml}^{-1}$  y  $1.32 \times 10^4$  cel  $\text{ml}^{-1}$  respectivamente. Estos máximos, no obstante que se presentaron a la misma profundidad (60 m), no se caracterizaron por presentarse al mismo porcentaje de  $\text{PAR}_0$ : estación 108 (68%) y estación 113 (31%). Sin embargo, en ambas estaciones (108 y 113) se observó que sus máximos estuvieron por debajo de la termoclina, la cual se situó en las dos localidades aproximadamente a 40 m de profundidad. En el Cañón de Campeche, en la estación 102, se determinó la mayor abundancia del PFP ( $1.53 \times 10^4$  cel  $\text{ml}^{-1}$ ) a 10 m de profundidad, misma que se ubicó por arriba de la termoclina (Fig. 6).

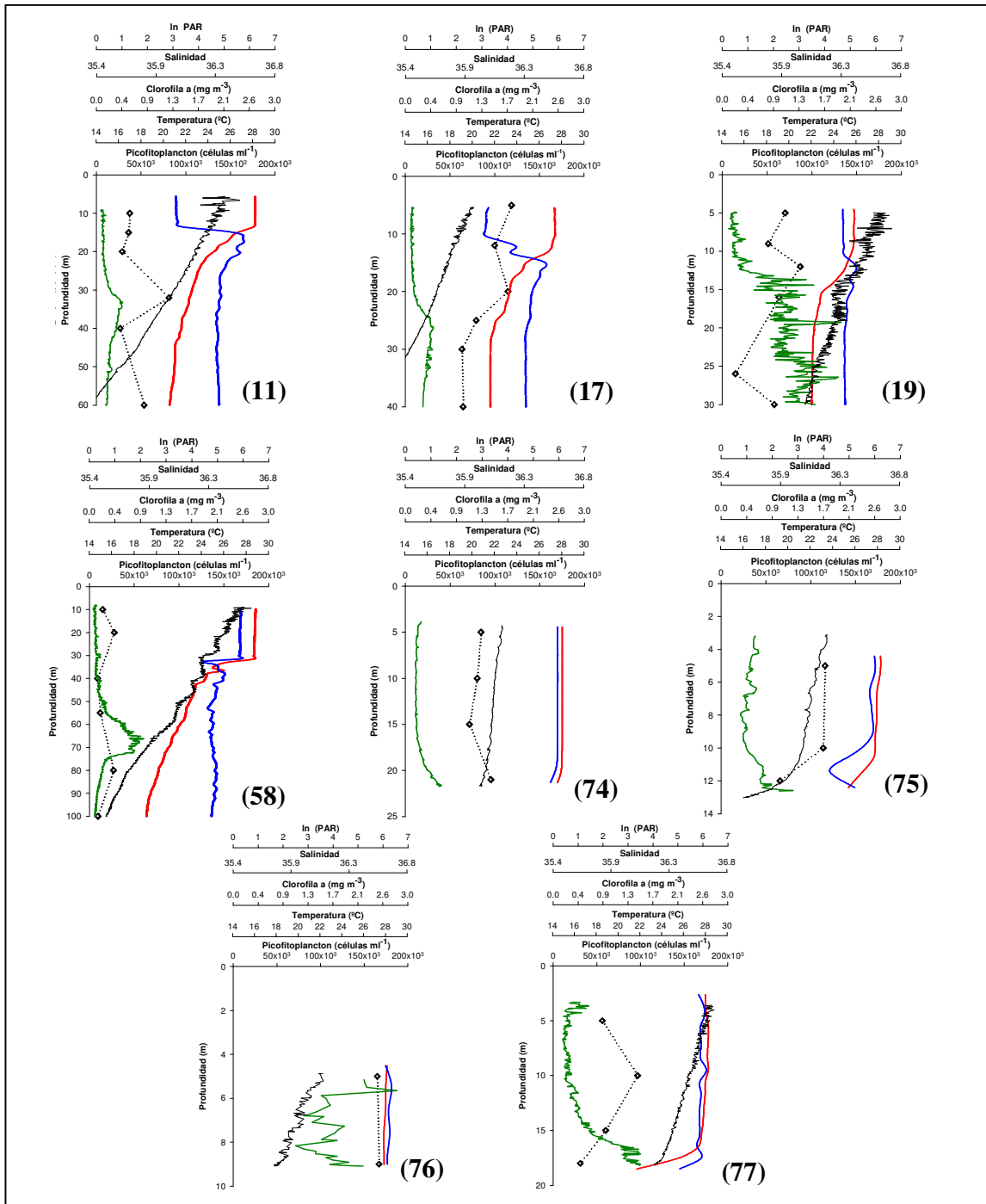


Fig. 5 Perfiles de clorofila *a* (—), densidad del picofitoplancton (◆), temperatura (—), salinidad (—) y PAR (—) de la zona costera.

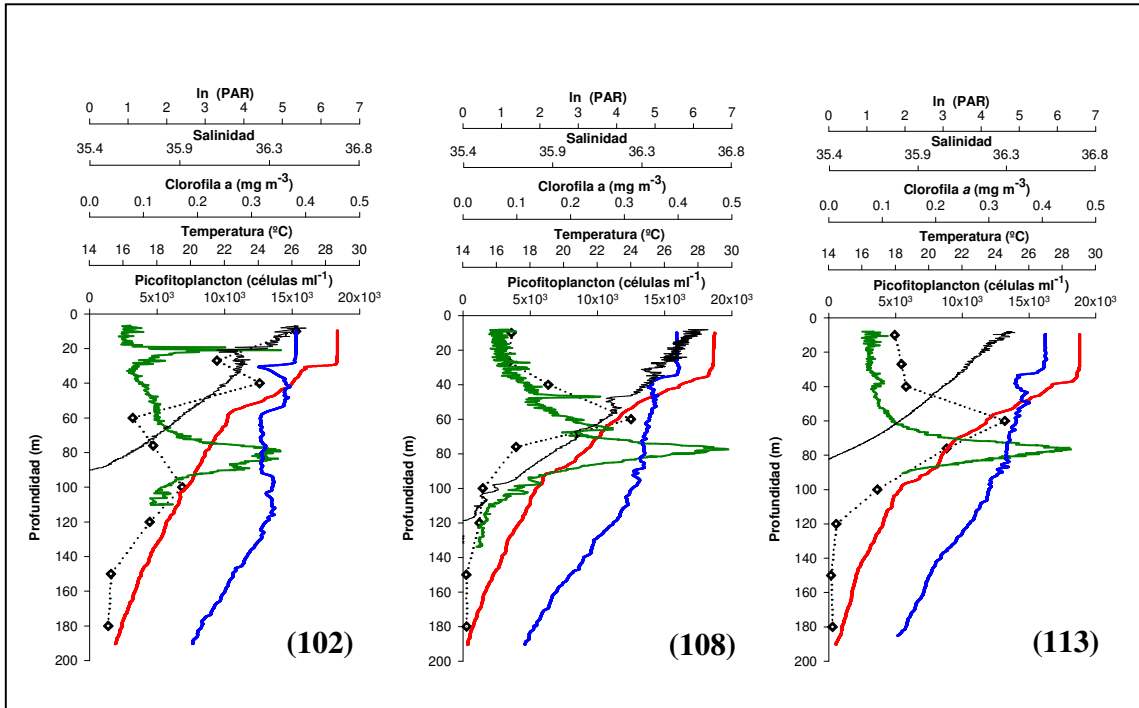


Fig. 6 Perfiles de clorofila *a* (—), densidad del picofitoplancton (◆), temperatura (—), salinidad (—) y PAR (—) en Cañón de Campeche.

De todas las estaciones estudiadas, la estación 102 se distinguió por presentar la mayor abundancia del PFP al mayor porcentaje de PAR<sub>0</sub> (91%). Es importante señalar que sólo en esta estación, el perfil de clorofila *a* presentó una distribución bimodal: el primer máximo a 21 m de profundidad (0.35 mg m<sup>-3</sup>; 68% de PAR<sub>0</sub>) y el segundo a 78 m de profundidad (0.35 mg m<sup>-3</sup>; 22% de PAR).

En el Cañón de Campeche no se observó una coincidencia entre los máximos del PFP con los máximos de clorofila *a* (Fig. 6 y Tabla 6). De hecho, en los sitios donde se presentaron los máximos de clorofila *a*, se observó que la abundancia del picofitoplancton disminuía. Por debajo del 1% de PAR<sub>0</sub> (capa eufótica) se observó una disminución del PFP, excepto en la estación 102, donde se observó un ligero aumento que después decreció a partir de los 150 m de profundidad.

#### VI.2.2.2 Cuantificaciones por citometría de flujo

Los resultados por citometría sobreestimaron en más de 3 órdenes de magnitud las concentraciones calculadas por microscopía de epifluorescencia. Los conteos por microscopía de epifluorescencia no presentan ninguna relación significativa con respecto a los conteos por citometría de flujo ( $r^2=0.045$ ,  $p=0.09$ ,  $n=63$ ).

Durante los conteos por citometría interfirió una gran cantidad de ruido electrónico, misma que impidió distinguir y cuantificar a la población más pequeña del PFP (Fig. 7). Debe de destacarse, sin embargo, que por citometría de flujo se logró distinguir un grupo procarionte (*Synechococcus*) y dos eucariontes (no determinados).

Las poblaciones eucariontes del picoplancton, tanto en la zona oceánica como en la costera, fueron más relevantes y mejor definidas cerca del máximo de clorofila *a* (Fig. 7). Además, comparando los citogramas obtenidos para las diferentes profundidades, se observó que la abundancia de *Synechococcus* presentó una mayor variabilidad en la zona costera que en la oceánica.

Tabla 6. Localización de la termoclina, del 1% de PAR<sub>0</sub> y de los máximos del PFP y clorofila *a* de la zona costera (estaciones 11-77) y de la zona oceánica (estaciones 102–113). \*máx es el porcentaje de PAR cercano al fondo de la columna de agua.

Estación	Profundidad total (m)	Prof. de la termoclina (m)	Profundidad del 1% de PAR <sub>0</sub> (m)	Prof. Máx. PFP (conc. céls ml <sup>-1</sup> ; % PAR)	Prof. Máx. Clor. <i>a</i> (conc. mg m <sup>-3</sup> ; % PAR <sub>0</sub> )
11	68	14	57	32 m (8.12 × 10 <sup>4</sup> ; 49)	33 m (0.44; 48)
17	42	13.5	31	5 m (1.19 × 10 <sup>5</sup> ; 82)	26 m (0.46; 20)
19	34	14.5	*máx. 46%	12 m (8.72 × 10 <sup>4</sup> ; 77)	19 m (1.98; 70)
58	120	33.5	109	20 m (2.78 × 10 <sup>4</sup> ; 79)	66 m (0.91; 38)
74	25	mezcla	*máx. 10%	21 m (9.54 × 10 <sup>4</sup> ; 75)	21.6 m (0.60; 73)
75	14	11.4	*máx. 20%	5 m (1.16 × 10 <sup>5</sup> ; 87)	12.5 m (1.20; 54)
76	10	mezcla	*máx. 24.5%	9 m (1.67 × 10 <sup>5</sup> ; 24.5)	5.5 m (2.81; 48)
77	21	16.5	*máx. 58%	10 m (9.68 × 10 <sup>4</sup> ; 78)	17 m (1.49; 63)
102	2371	30	90	10 m (1.53 × 10 <sup>4</sup> ; 91)	21 m (0.35; 68) 78 m (0.35; 22)
108	2219	40	118.5	60 m (1.25 × 10 <sup>4</sup> ; 68)	77 m (0.49; 45)
113	2196	42.	81.5	60 m (1.32 × 10 <sup>4</sup> ; 31)	76 m (0.45; 10)

### VI.2.2.3 Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM)

Los hallazgos de células del PFP a través de microscopía electrónica de transmisión (TEM) confirmaron la presencia de *Synechococcus* y *Prochlorococcus* (Fig. 8); sin embargo, por este método no se encontraron evidencias de las poblaciones eucariontes. Es probable que las células eucariontes no hayan resistido los tratamientos previos a la observación por TEM.

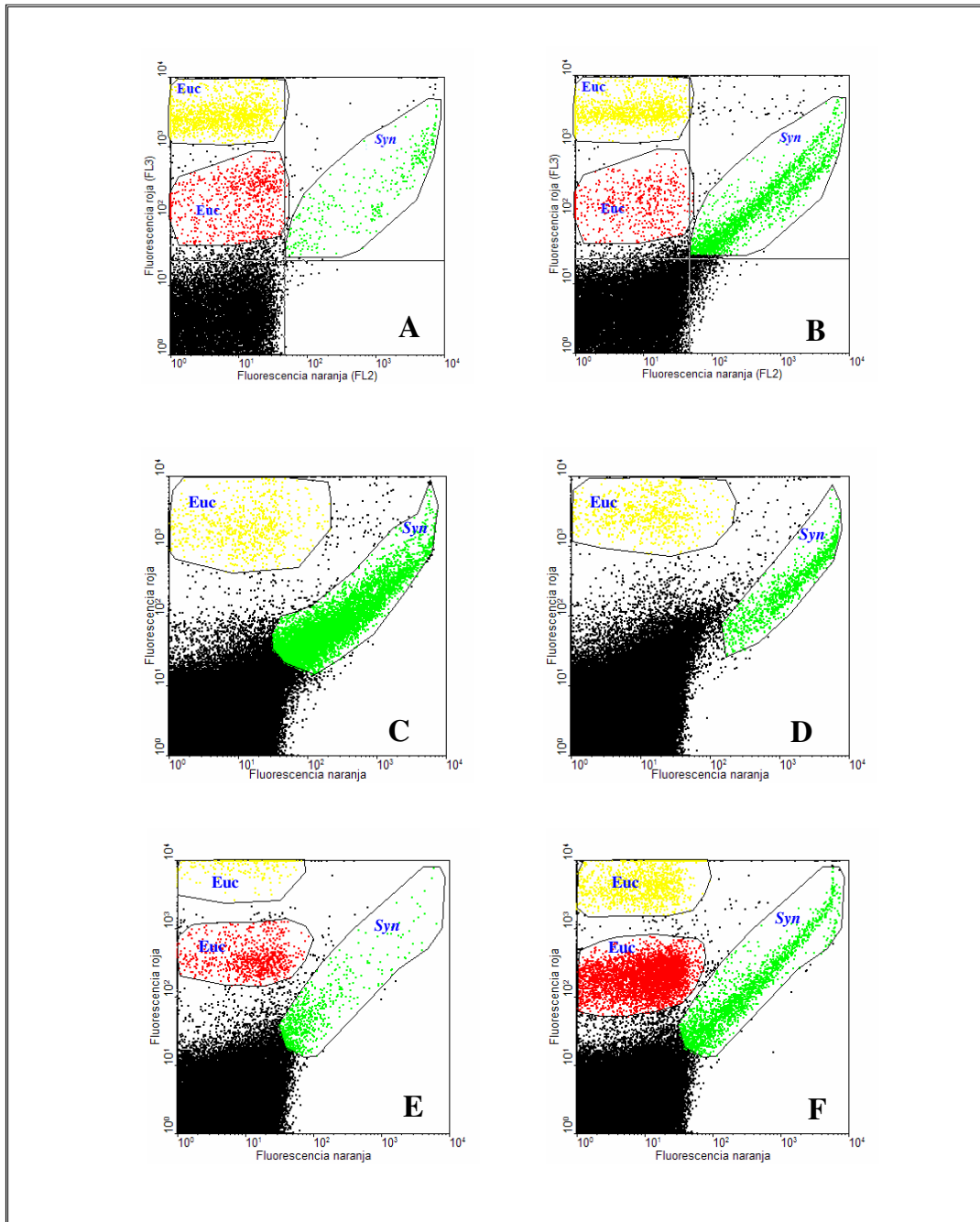


Fig 7. Poblaciones del PFP en el intervalo del máximo de clorofila *a* correspondientes a la región Coatzacoalcos: A) Estación 17 (40 m), y B) Estación 19 (26 m); Grijalva-Usumacinta: (C) Estación 75 (12 m), y D) Estación 77 (18 m); y Cañón de Campeche: (E) Estación 108 (87 m), y (F) Estación 113 (75 m). *Synechococcus* (*Syn*) y Eucariontes no determinados (*Euc*).

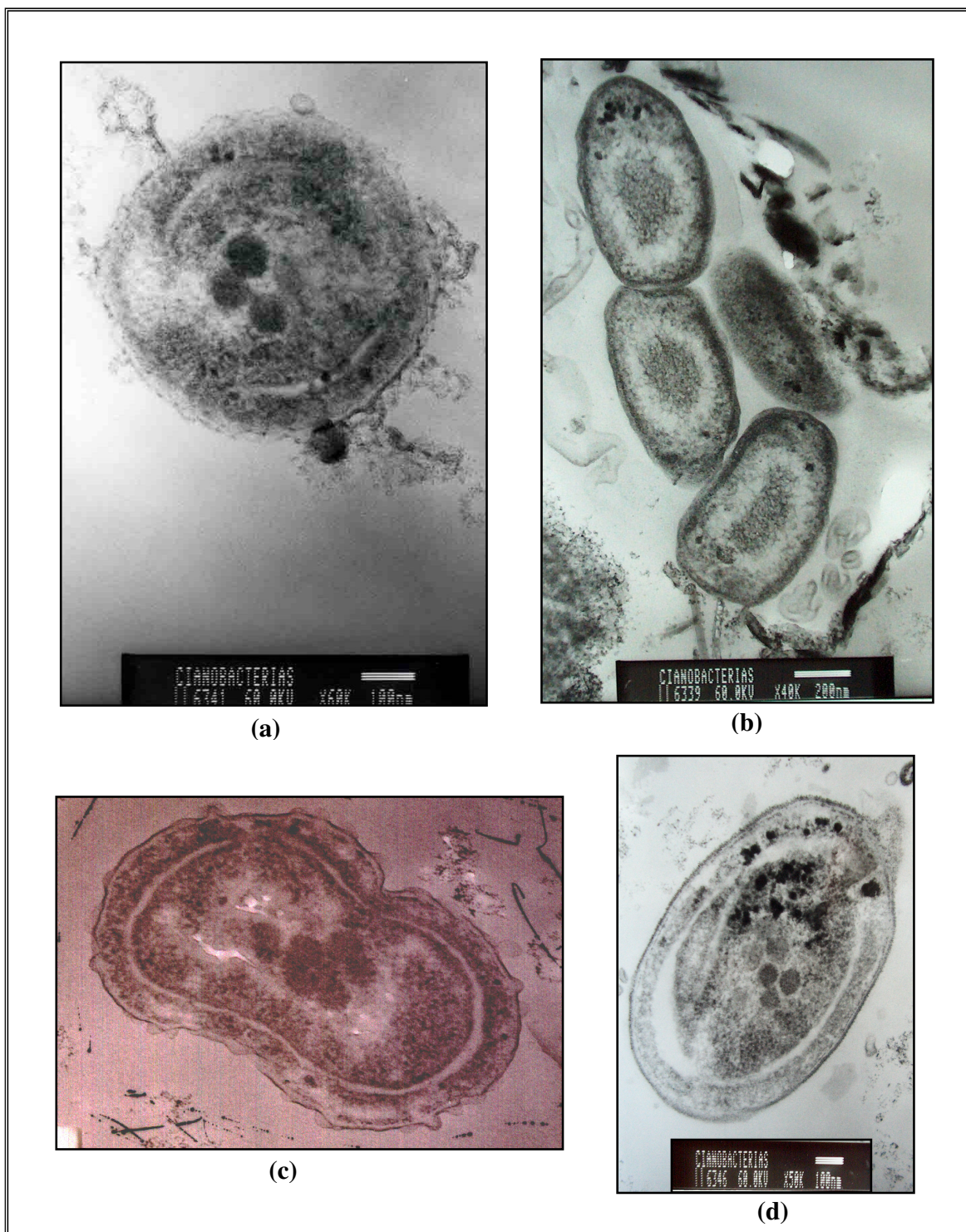


Fig. 8 Picofitoplancton procarionte: (a) *Prochlorococcus* ( $0.64 \times 0.63 \mu\text{m}$ ), (b) *Synechococcus* ( $0.72 \times 0.41 \mu\text{m}$ ), (c) Célula de *Synechococcus* en división y (d) *Synechococcus* ( $1.12 \times 0.73 \mu\text{m}$ ).



## VII. DISCUSIÓN

La caracterización del PFP autótrofo, tras emplear el análisis de pigmentos (HPLC) y los conteos celulares (epifluorescencia y citometría de flujo), ha mostrado un panorama general de la distribución vertical que podrían presentar ciertas poblaciones del PFP en el sur del Golfo de México. De acuerdo con los resultados obtenidos, se coincide con Jiao *et al.* (2005) y Sherr *et al.* (2005) en que la distribución del PFP puede mostrar amplias variaciones en la zona oceánica y la zona costera. En relación con estos ambientes, Allen *et al.* (2002) y Veldhuis *et al.* (2005) han señalado que la mayoría de las variaciones espaciales del PFP se relacionan con eventos locales como las corrientes, la mezcla, la convección de la columna de agua, las surgencias, la irradiación, la estratificación térmica de la columna de agua, el aporte de nutrientes y la depredación. Aunado a esto, Roy *et al.* (1996) han agregado que ciertos factores fisiológicos (senescencia de las células, efectos virales, fotoaclimatación) también podrían influir en las variaciones espaciales del PFP.

Desafortunadamente el PFP recolectado tuvo que estudiarse con métodos de investigación diferentes: análisis de pigmentos (temporada de nortes: febrero del 2004) y conteos celulares por epifluorescencia y citometría de flujo (temporada de secas: junio-julio del 2004). Ambos métodos, tienen alcances y resultados distintos; sin embargo, se coincide con Havskum *et al.* (2004) en el sentido de que es necesario emplear distintos métodos para comprender diversos aspectos del PFP en los ecosistemas acuáticos.

En este estudio, se concuerda con Mackey *et al.* (1996) en que el uso de pigmentos marcadores, bajo ciertas condiciones, puede ser un método útil para determinar la distribución vertical de algunas poblaciones del PFP. Esto se señala ya que hasta ahora varios de los marcadores usados son multiespecíficos (fucoxantina, prasinoxantina, zeaxantina), es decir, pueden contenerse en más de dos grupos del picofitoplancton (Mackey *et al.*, 1996; Jeffrey y Vesk, 1997). Por ello, al usar este tipo de marcadores, las conclusiones deben de enunciarse muy cuidadosamente, ya que es posible cometer errores, principalmente porque algunas poblaciones del picofitoplancton pueden ser subestimadas (Wright *et al.*, 1996).

### VII.1 Concentración de los pigmentos marcadores (temporada de nortes, febrero del 2004)

Gieskes y Kraay (1983), Mackey *et al.* (1996) y Jeffrey y Vesk (1997) indican que la fucoxantina (marcador multiespecífico) es un pigmento que se encuentra en las divisiones Bacillariophyta (diatomeas), Chrysophyta y Prymnesiophyta (cocolitofóridos). Dentro de estos tres grupos, únicamente la clase Chrysophyceae alberga algunos representantes del picofitoplancton. En este estudio, debido a que no se encontraron evidencias de la clase Chrysophyceae (fucoxantina) durante las observaciones por microscopía electrónica (TEM), se determinó que la fucoxantina cuantificada no derivó de organismos picoplanctónicos, sino más bien de organismos mayores a 3  $\mu\text{m}$  (diatomeas y cocolitofóridos). Existe la posibilidad de que estas poblaciones picofitoplanctónicas (clase Chrysophyceae) hayan estado en concentraciones despreciables o simplemente no resistieran la manipulación (Vaulot *et al.*, 1989).

La distribución de la fucoxantina reportada en este estudio coincide con las observaciones de Barlow *et al.* (2002), en el sentido de que los organismos que portan este pigmento, se asocian a la plataforma continental, a la capa de mezcla (o nivel superficial) y principalmente se atribuye a las diatomeas y las prymnesiofitas (coccolitofóridos). Roy *et al.* (1996) observaron que incluso algunos dinoflagelados heterótrofos, a causa de la endosimbiosis con ciertas picocianobacterias, pueden contener derivados de fucoxantina; estos autores concluyen que esta falta de especificidad de la fucoxantina es una desventaja al hacer determinaciones taxonómicas o al calcular las contribuciones al total de clorofila *a*, con base en los tamaños del fitoplancton y su relación proporcional entre la fucoxantina y la clorofila *a*. Gin *et al.* (2003) incluyeron en un estudio dos derivados de la fucoxantina, la 19'-hexanoyloxyfucoxantina (marcador de la clase Prymnesiophyceae) y la 19'-butanoyloxyfucoxantina (marcador de la clase Chrysophyceae) y concluyeron que la fucoxantina únicamente es producto de las diatomeas y no de organismos picofitoplanctónicos. En sus resultados, Gin *et al.* (2003) determinaron una mayor concentración de fucoxantina (0.62 a 5.72  $\mu\text{g l}^{-1}$ ) en el estrecho de Johor (aguas relativamente oligotróficas) que el encontrado en este estudio para las aguas costeras (5.5 a 100.16  $\text{ng l}^{-1}$ ).

Los resultados correspondientes a que la fucoxantina disminuye con la profundidad coinciden con los resultados de Mackey *et al.* (1998), sólo que ellos observaron, además, que el aporte de fucoxantina a mayor profundidad se asocia con las clases Chrysophyceae y Haptophyceae; y en la capa de mezcla, el mayor aporte de fucoxantina es producto de las diatomeas (Mackey *et al.*, 1998)

Los resultados obtenidos en la zona costera, con altas concentraciones de fucoxantina a nivel superficial, coinciden con los resultados de DiTullio *et al.* (2003), quienes señalan que los máximos de fucoxantina ocurren en zonas ricas en nutrientes, por arriba del 1% de PAR<sub>0</sub>, o donde se presentan frentes térmicos. Asimismo, señalan que la fucoxantina algunas veces sigue patrones muy homogéneos como los de las clorofilas en aguas oceánicas.

En la zona oceánica del sur del Golfo de México, prácticamente no se encontraron concentraciones cuantificables de fucoxantina después de los 100 m de profundidad, sin embargo, DiTullio *et al.* (2003), en el frente subantártico y en el frente polar, detectaron que la distribución vertical de la fucoxantina (producto de las diatomeas) alcanzó aproximadamente 130 m de profundidad. Además, señalan que los derivados de fucoxantina, la 19'-hexanoyloxyfucoxantina y la 19'-butanoyloxyfucoxantina, pueden presentarse por debajo de la capa eufótica, por la presencia de las clases Prymnesiophyceae y Chrysophyceae.

Los organismos autótrofos que se distinguen por producir prasinoxantina, se encuentran dentro la división Chlorophyta. En este grupo, las clases Prasinophyceae y Chlorophyceae albergan pequeños flagelados (1-40  $\mu\text{m}$  de diámetro), que pueden llegar a ser muy abundantes dentro del fitoplancton oceánico (Jeffrey y Vesik, 1997): por ejemplo, *Micromonas pusilla* (Prasinophyceae), la cual se encuentra dentro del picofitoplancton más abundante en aguas costeras del Mar Mediterraneo, el Mar de Noruega y regiones centrales de la corriente de California (Not *et al.*, 2004). No obstante que la prasinoxantina pudo ser cuantificada en todas las estaciones durante la temporada de nortes, no se encontraron evidencias de la clase Prasinophyceae (picofitoplanctónicas) en las muestras revisadas con microscopía electrónica

(TEM). Existen tres razones por las cuales no fue posible encontrar integrantes de la clase Prasinophyceae por TEM: 1) sus cantidades fueron muy bajas, 2) no resistieron la manipulación (fijadores celulares, centrifugación de las muestras o lavados previos a la observación por microscopía electrónica) y 3) la prasinoxantina fue aportada por poblaciones más grandes que las picofitoplanctónicas: por ejemplo, los géneros *Prasinococcus* (3-5  $\mu\text{m}$ ) y *Prasinoderma* (3-8  $\mu\text{m}$ ), los cuales han sido encontrados en el Golfo de México (Not *et al.*, 2004).

De acuerdo con Jeffrey y Vesk (1997), la clase Prasinophyceae no es exclusiva del picofitoplancton (0.2-2.0  $\mu\text{m}$ ); de hecho, también existen representantes en el nanofitoplancton (2-20  $\mu\text{m}$ ) y en el microfitoplancton (20-200  $\mu\text{m}$ ). Mackey *et al.* (1998), Not *et al.* (2004) y Latasa *et al.* (2004) han señalado que el grupo Prasinophyceae es muy heterogéneo, y debe tenerse ciertas precauciones antes de afirmar la presencia de una población de esta clase.

En esta investigación, existen dos argumentos que podrían apoyar la presencia de organismos piceo-eucariontes (clase Prasinophyceae): 1) los análisis por citometría reconocen una población picofitoplanctónica (~ 1.5  $\mu\text{m}$  de diámetro), caracterizada por una alta fluorescencia roja (típica de organismos eucariontes por el contenido de clorofila *a*) y baja fluorescencia naranja (Fig. 7) y 2) se aplicaron sondas moleculares a muestras picofitoplanctónicas del sur del Golfo de México (temporada de nortes), en donde se detectó la presencia del género *Micromonas* (Hernández-Becerril, comunicación personal).

Bajo el criterio de que *Micromonas pusilla* es muy abundante en aguas costeras y principalmente se encuentra dentro del plancton marino (Stockner y Antia, 1986; Anosotegui, 2003; Guillou *et al.*, 2004; Courties *et al.*, 1994), es probable que una parte de la prasinoxantina reportada haya provenido de esta especie. Sin embargo, también debería de considerarse que los tratamientos por los que pasaron las muestras pudieron haber impedido la preservación de las membranas celulares de algunos organismos del PFP eucarionte. Vaultot *et al.* (1989) han señalado que la población de *Micromonas pusilla* no resiste largos períodos de preservación en soluciones fijadoras (glutaraldehído o paraformaldehído), no obstante que las muestras hayan sido almacenadas a una temperatura de -20° C. En este estudio, desafortunadamente las muestras analizadas por TEM se revisaron después de más de 6 meses de recolectadas y su conservación se mantuvo en refrigeración a -15° C. Debido a esto, es muy probable que las muestras para TEM perdieran una gran cantidad de células del PFP eucarionte.

En este estudio, los máximos de prasinoxantina se localizaron entre 50 y 80 m de profundidad en la zona oceánica. Mackey *et al.* (1998), en un estudio en el Pacífico ecuatorial, determinaron que los máximos de prasinoxantina se ubicaron entre 90 y 100 m de profundidad. En las aguas oligotróficas, diversos estudios han coincidido en que la mayoría de los piceo-eucariontes son más abundantes por arriba del 1% de PAR<sub>0</sub> (DiTullio *et al.*, 2003; Pan *et al.*, 2005), donde se presentan aguas cálidas (Weisse, 1993; Jiao *et al.*, 2005) y muy cerca o por arriba del máximo de clorofila *a* (Furuya, 1990).

Los máximos de prasinoxantina (marcador de piceo-eucariontes) en el Cañón de Campeche y sobre la plataforma del sur del Golfo de México, podrían sustentar la hipótesis de que la distribución de los piceo-eucariontes se circunscribe a masas de agua por arriba del 1% de PAR<sub>0</sub>

(capa eufótica) y donde éstos no sean afectados por fotoinhibición (Stockner y Antia, 1986; Barlow *et al.*, 2002). Esto se observó sobre la plataforma continental del sur del Golfo de México, donde altas concentraciones de prasinoxantina se asociaron a zonas bien iluminadas de la capa eufótica (~75% de PAR<sub>0</sub>). Para el Cañón de Campeche, desafortunadamente no se conoció el porcentaje de PAR<sub>0</sub> al cual se presentaron los máximos de prasinoxantina; sin embargo, con base en las determinaciones del 1% de PAR<sub>0</sub> en la temporada de secas (81-118 m) y las observaciones de Salas de León *et al.* (2004) para la misma zona (1% de PAR<sub>0</sub> entre 75 y 101 m), es posible estimar que la mayor abundancia de las células piceoeucariontes se situó dentro de la capa eufótica.

No obstante que la zeaxantina puede contenerse en algunos organismos de la clase Prasinophyceae (Jeffrey y Vesk, 1997), en este estudio no se encontraron evidencias de organismos que pudieran producir ambos pigmentos (prasinoxantina + zeaxantina). De hecho, la zeaxantina es producida fundamentalmente por las picocianobacterias *Synechococcus* y en menor grado por *Prochlorococcus* (Goericke y Repeta, 1991; Mackey *et al.*, 1996; Jeffrey y Vesk, 1997; Veldhuis y Kraay, 2004). En este estudio, se asumió que el mayor aporte de zeaxantina fue producto de *Synechococcus*, debido a que durante los análisis por microscopía electrónica (TEM), *Synechococcus* fue más abundante y distinguible que *Prochlorococcus*.

El haber detectado mayores concentraciones de zeaxantina en la zona costera coincide con los resultados de Olson *et al.* (1990b), Gin *et al.* (2003) y Lutz *et al.* (2003), quienes observaron que *Synechococcus* es más abundante en la zona costera. Sin embargo, en aguas oligotróficas del estrecho de Singapur, Gin *et al.* (2003) observaron que *Synechococcus* contribuyó con más del 70% de zeaxantina.

En general, se determinó que las máximas concentraciones de zeaxantina (*Synechococcus*) estuvieron por arriba de la termoclina, lo cual concuerda con los resultados de Goericke *et al.* (2000) y DuRand *et al.* (2003), quienes señalan que las máximas concentraciones de *Synechococcus* están asociadas a la capa de mezcla y a zonas donde los nutrientes no son limitantes para *Synechococcus*, como en las regiones costeras. En algunos estudios se ha observado que la capacidad de *Synechococcus* de alcanzar altas concentraciones en la capa de mezcla se debe a la producción del pigmento fotoprotector ficoeritrina, el cual le ha permitido a *Synechococcus* adaptarse a altas condiciones lumínicas (Olson *et al.*, 1990a; Blanchot y Rodier, 1996; Paerl, 2000; Collier y Palenik, 2003). Bajo este criterio, Uysal (2000) observó que las máximas concentraciones de *Synechococcus* se asociaron a la superficie (0-10 m de profundidad, con  $1.45 \times 10^5$  cels ml<sup>-1</sup>) y al máximo de clorofila *a*, localizado por arriba de la termoclina (con  $1.23 \times 10^5$  cels ml<sup>-1</sup>).

De todos los pigmentos marcadores analizados, el pigmento divinyl-clorofila *a* (marcador monoespecífico) caracterizó a la división Prochlorophyta (Jeffrey y Vesk, 1997; Barlow *et al.*, 2002), misma que alberga al picoprocarionte más pequeño y abundante del picofitoplancton, llamado *Prochlorococcus marinus* (Chisholm *et al.*, 1988; Goericke y Repeta, 1991; Vaultot y Partensky, 1992; Shimada *et al.*, 1996; Vidussi *et al.*, 1996). Con el objetivo de determinar la distribución de *Prochlorococcus* en el medio marino, distintas investigaciones han utilizado el marcador monoespecífico divinyl-clorofila *a* para determinar la variación espacial de este

organismo en la columna de agua (Goericke y Repeta, 1991; Mackey *et al.*, 1996; Shimada *et al.*, 1996; Mackey *et al.*, 1998).

En zonas oligotróficas marinas, diversas investigaciones han demostrado que *Prochlorococcus* domina numéricamente (Chisholm *et al.*, 1988; Weisse, 1993; Raven, 1998; Veldhuis y Kraay, 2004), aporta la mayor cantidad de biomasa y de clorofila *a* (Shimada *et al.*, 1996; Zubkov *et al.*, 1998; Blanchot *et al.*, 2001), y puede tener una distribución desde el nivel superficial hasta muy por debajo de la zona eufótica (Goericke y Repeta, 1991; Shimada *et al.*, 1993; Lazarra *et al.*, 1996, Marie *et al.*, 1999).

En este estudio, se observó que los máximos de clorofila *a* (76-78 m de profundidad) para el Cañón de Campeche (temporada de secas), tienen cierta coincidencia en profundidad con los máximos de clorofila *a* (78-89 m) reportados por Salas de León *et al.* (2004) para la misma temporada y área de estudio. Estos rangos donde se han presentado los máximos de clorofila *a*, coinciden con las profundidades donde se encontraron las máximas concentraciones de divinyl-clorofila *a* (50-80 m). Bajo este criterio, es posible sugerir que *Prochlorococcus* contribuye significativamente al máximo de clorofila *a* en aguas del Cañón. Asimismo, el sustento de que *Prochlorococcus* pudo haber contribuido con la mayor cantidad de clorofila *a* en aguas oceánicas se debe a: 1) las concentraciones de los pigmentos marcadores para eucariontes (fucoxantina y prasioxantina) fueron mucho menores que la divinyl-clorofila *a*, y 2) a pesar de que la zeaxantina (*Synechococcus*) tuvo valores (en algunos casos) muy cercanos a la divinyl-clorofila *a*, este pigmento fue producto de la abundancia de *Prochlorococcus*.

De todos los pigmentos analizados, la divinyl-clorofila *a* (*Prochlorococcus*) fue el único pigmento que pudo cuantificarse entre los 140 y 180 m de profundidad. Sin embargo, Partensky *et al.* (1996) determinaron que *Prochlorococcus* puede distribuirse hasta los 200 m de profundidad. Bajo estas observaciones, diversas investigaciones coinciden en que *Prochlorococcus* tiene una de las distribuciones más amplias en la columna de agua (Chisholm *et al.*, 1988; Goericke y Repeta, 1992; Shimada *et al.*, 1993; Goericke *et al.*, 2000; Blanchot *et al.*, 2001).

En general, se sabe que *Prochlorococcus* tiene una distribución desde la superficie hasta muy por debajo de la zona eufótica (Goericke *et al.*, 2000). Diversas investigaciones han señalado que *Prochlorococcus* tiene la habilidad de modificar su genotipo, de manera que esto le permite adaptarse a condiciones por debajo de la capa eufótica (Partensky *et al.*, 1996; Veldhuis y Kraay, 2004). De hecho, se ha observado que *Prochlorococcus* podría tener dos variaciones principales de su especie: 1) el adaptado a altas irradianzas (nivel superficial), con pocos pigmentos fotosintéticos y 2) el adaptado a irradianzas menores al 1% de PAR<sub>0</sub>, con gran cantidad de pigmentos accesorios (Partensky *et al.*, 1996; Goericke *et al.*, 2000; Blanchot *et al.*, 2001; Jacquet *et al.*, 2001; Scanlan y West, 2002; Ting *et al.*, 2002; Veldhuis y Kraay, 2004).

En general, tomando en consideración que *Prochlorococcus* no es tan abundante en aguas costeras (Lutz *et al.*, 2003), fue totalmente extraño haber detectado la más alta concentración de divinyl-clorofila *a* (44.94 ng l<sup>-1</sup>) en la estación costera más somera (Estación 69, ~ 30 m). La explicación más razonable a este comportamiento de la divinyl-clorofila *a* (*Prochlorococcus*)

podría partir de un criterio aceptado: *Prochlorococcus* (conocido como un organismo cosmopolita) realmente tiene una amplia flexibilidad para adaptarse a diferentes condiciones ambientales, con posibilidad de dominar incluso en aguas someras (Lazzarra, 1996; Raven, 1998; Urbach *et al.*, 1998; Goericke *et al.*, 2000; Jacques *et al.*, 2001). Hay que destacar que cuando la circulación ciclónicas está completamente desarrollada (temporada de nortes) en el sur del Golfo de México, Salas de León *et al.* (1996) observaron cómo este mecanismo favoreció el transporte de organismos pláncnicos de la zona oceánica hacia la zona costera. Cabe señalar que durante la temporada de nortes no se observó que hubiera un fuerte aporte de aguas continentales, ya que la salinidad en las estaciones más someras no descendió por debajo de 34.1. Por lo tanto, el haber determinado la mayor concentración de divinyl-clorofila *a* en la zona costera (estación 69), podría asociarse al desplazamiento de masas de agua oceánicas producto del giro ciclónico del sur del Golfo de México. Debe de señalarse que Barlow *et al.* (2002) reportaron altas concentraciones de divinyl-clorofila *a* entre los 20-30 m, en la zona ecuatorial, así como a profundidades mayores (70-110 m) asociadas a un giro oligotrófico del Atlántico norte.

El índice de pigmentos (Platt *et al.*, 2005), a pesar de que toma como referencia algunos pigmentos accesorios del nanoplancton y el picofitoplancton, no indicó ninguna relación específica del nano y el picofitoplancton con respecto al total de clorofila *a*. Este índice es una forma de determinar la contribución del microfitoplancton al total de la clorofila *a*, sobre todo cuando la concentración de clorofila *a* es mayor a  $5 \text{ mg m}^{-3}$ . Es importante señalar que, incluso durante la temporada de nortes, en la región costera del sur del Golfo de México, el índice de pigmentos no indicó que el microfitoplancton fuera el principal contribuidor al total de clorofila *a*. Platt *et al.* (2005) señalan que cuando los valores del índice de pigmentos son bajos (menor a 1), es muy probable que la biomasa fitoplanctónica esté compuesta por diversos tamaños del fitoplancton. Aunque en este trabajo el índice de pigmentos mostró valores por debajo de 1, desafortunadamente, bajo este criterio, no es posible estimar qué grupos podrían ser los dominantes. En suma, sería recomendable que el índice de pigmentos se aplicara a sistemas mesotróficos o eutróficos del ambiente marino.

## VII.2 Densidad del picofitoplancton (PFP) durante la temporada de secas

Diversos estudios han observado que las mayores concentraciones del PFP se asocian a la plataforma continental de las regiones costeras, específicamente donde la concentración de los nutrientes no sea un factor limitante para la multiplicación del PFP (Sorokin, 1999; Paerl, 2000; Ansotegui *et al.*, 2003). Este criterio se cumplió en este estudio, ya que las mayores concentraciones del PFP se asociaron a las regiones someras (< 40 m de profundidad), donde los ríos Grijalva-Usumacinta y Coatzacoalcos vierten una gran cantidad de nutrientes sobre la plataforma continental del sur del Golfo de México (Yáñez Arancibia y Day, 2004). Sin embargo, durante la temporada de muestreo de este estudio (temporada de secas), no se observó que los ríos Grijalva-Usumacinta y Coatzacoalcos tuvieran una fuerte influencia hacia el medio marino, ya que la salinidad de las estaciones asociadas a estos sistemas no descendió por debajo de 36.0. Por consiguiente, es probable que la hidrodinámica del sur del Golfo de México haya tenido una función importante respecto al ingreso de nutrientes u organismos planctónicos hacia las regiones asociadas a los ríos Coatzacoalcos y Grijalva-Usumacinta. Salas de León *et*

*al.* (1996) han señalado que, durante la temporada de secas en el sur del Golfo, comienza a desarrollarse la circulación ciclónica en la Bahía de Campeche, misma que deriva con un transporte de masas de agua de la zona este hacia la zona oeste del sur del Golfo y coincide con el incremento de la abundancia de organismos planctónicos. Con base en esto, es probable que algunos factores físicos (mezcla, corrientes, convección de la columna de agua) asociados con la circulación ciclónica del sur del Golfo, estén influyendo en el incremento estacional de los organismos autótrofos del sur del Golfo.

Este estudio coincide con Takahashi y Hori (1984), Hall y Vincent (1990) y Jaquet *et al.* (2002) en que el PFP presenta sus máximas concentraciones celulares por arriba del 1% de PAR<sub>0</sub>. De hecho, es importante señalar que, en la mayoría de las estaciones, se determinaron los máximos del PFP con irradianzas mayores al 68% de PAR<sub>0</sub>. Veldhuis *et al.* (2004) han señalado que una de las ventajas del PFP para distribuirse en toda la capa eufótica, se debe a la presencia de ciertos pigmentos accesorios, los cuales les han permitido absorber energía bajo diferentes tipos de luz. Los ejemplos más claros con este tipo de adaptaciones son *Synechococcus* y *Prochlorococcus*, quienes producen ficoeritrina y divinyl-clorofila *a*, respectivamente. La ficoeritrina (pigmento fotoprotector), se ha observado que le ha permitido a *Synechococcus* fotosintetizar en altas condiciones lumínicas (Olson *et al.*, 1990b; Blanchot y Rodier, 1996; Paerl, 2000; Collier y Palenik, 2003), en tanto que la divinyl-clorofila *a*, le ha beneficiado a *Prochlorococcus* para absorber energía por debajo de 1% de PAR<sub>0</sub> (Chisholm *et al.*, 1988; Goericke y Repeta, 1992; Shimada *et al.*, 1993; Jeffrey y Vesk, 1997; Blanchot *et al.*, 2001).

Para la mayoría de la estaciones muestreadas, es muy probable que la biomasa picofitoplanctónica no haya contribuido significativamente al total de la clorofila *a*. Esta apreciación se señala ya que los máximos del PFP no se asociaron con los máximos de clorofila *a*. De hecho, en los lugares donde se alcanzó el máximo de clorofila *a*, se observó que la abundancia del PFP tendía a disminuir. Estas diferencias en la columna de agua también las reportan Díaz y Maske (2000), quienes concluyeron, que la abundancia del PFP no mostró una relación significativa con los nutrientes, la irradiancia (capa eufótica) y la temperatura. Sin embargo, en otras investigaciones sí se ha observado una estrecha correspondencia entre la abundancia del PFP y la concentración de clorofila *a* (Takahashi y Hori, 1984; Hall y Vincent, 1990; Collier y Palenik, 2003). Por ejemplo, Takahashi y Hori (1984), en aguas tropicales y subtropicales del oeste del Océano Pacífico, determinaron que más del 70% de máximo subsuperficial de clorofila *a* provino de organismos del PFP. Shimada *et al.* (1993) sugieren que la irradianza y la concentración de nutrientes son variables determinantes para justificar la relación entre los máximos de clorofila *a* y los máximos de PFP.

Algunos investigadores han observado que el PFP tiene fluctuaciones más rápidas y variables que las del nano y microfitoplancton (Miyazono *et al.*, 1992; Allen *et al.*, 2002; Lutz *et al.*, 2003; Jiao *et al.*, 2005). En varias ocasiones no se ha encontrado una relación entre las variables físicas (temperatura, nutrientes, salinidad, irradianza) y el comportamiento del PFP (Díaz y Maske, 2000; Uysal, 2000). Bajo estas consideraciones, se cree que el no haber encontrado una relación entre la temperatura y la distribución del PFP, pudo deberse a que en ese momento estaban actuando otras variables (nutrientes, irradianza, depredación) sobre la distribución de los organismos picofitoplactónicos. Andersson *et al.* (1994) observaron que el PFP puede tener

una respuesta más rápida (división celular) a los cambios de temperatura que el nanoplancton y el microplancton; y concluyeron que la fuerte respuesta a la temperatura por parte del PFP (> 10° C) favoreció una alta actividad fotosintética, con una eficiente fijación de carbono inorgánico.

Las determinaciones de Collier y Palenik (2003), quienes observaron la mayor variabilidad del PFP sobre la plataforma continental, coinciden con los resultados de este estudio. Respecto a este ambiente, Allen *et al.* (2002) observaron que los procesos de mezcla en la columna de agua, son el principal factor que determina una alta densidad del PFP en zonas costeras. Asimismo, Allen *et al.* (2002) encontraron que el crecimiento del PFP en las zonas costeras es la principal fuente de carbono que conlleva un aumento paralelo de la abundancia de los organismos heterótrofos (depredadores).

De los dos grandes grupos que constituyen el PFP (picoprocariontes y picoeucariontes), se ha observado que las densidades del PFP procarionte fluctúan entre  $10^2$  y  $10^6$  céls  $ml^{-1}$  en aguas oceánicas y costeras (Hall y Vincent, 1990; Miyazono *et al.*, 1992; Partensky *et al.*, 1996; Campbell *et al.*, 1997), en tanto que para el PFP eucarionte se han reportado con densidades de  $10^3$  céls  $ml^{-1}$  en aguas oceánicas, y mayores a  $10^5$  céls  $ml^{-1}$  en aguas costeras (Hall y Vincent, 1990; Shimada *et al.*, 1993; Marie *et al.*, 1999; Pan *et al.*, 2005; Jiao *et al.*, 2005;). En este estudio, pese a que no se hizo una separación de la abundancia del PFP procarionte y del PFP eucarionte, se observó que los rangos de abundancia del PFP para la zona costera (rango de  $9.61 \times 10^3 - 1.67 \times 10^5$  céls  $ml^{-1}$ ) y la zona oceánica (rango de  $2.75 \times 10^2 - 1.53 \times 10^4$  céls  $ml^{-1}$ ) concordaron con observaciones anteriores (Miyazono *et al.*, 1992; Marie *et al.*, 1999; Pan *et al.*, 2005).

En las aguas oligotróficas oceánicas, diversas investigaciones han coincidido en que los nutrientes son determinantes sobre la composición y distribución vertical del plancton autótrofo (Paerl, 2000; Allen *et al.*, 2002; Jiao *et al.*, 2004; Pan *et al.*, 2005; Veldhuis *et al.*, 2005). De hecho, se ha observado que el encontrar las máximas concentraciones del PFP en zonas muy profundas, señala la importancia que tienen los nutrientes sobre la distribución del PFP (Pan *et al.* 2005). Estas observaciones podrían ajustarse a lo encontrado en el Cañón de Campeche (estaciones 108 y 113), ya que los máximos del PFP se establecieron en zonas profundas (60 m, y por arriba del 1% de  $PAR_0$ ), donde los nutrientes no se agotan tan rápido como en las capas superficiales. Sin embargo, en una localidad del Cañón de Campeche (estación 102), se observó que la mayor densidad del PFP se asoció a una alta irradianza (91% de  $PAR_0$ ) en la capa de mezcla. Este comportamiento del PFP en la estación 102 coincide con las observaciones de Blanchot y Rodier (1996); Campbell *et al.* (1997) y Collier y Palenik (2002), en el sentido que las mayores concentraciones del PFP se asociaron a zonas subsuperficiales (< 50 m), donde la concentración de los nutrientes es muy reducida.

Es importante señalar que sólo en el Cañón de Campeche (estación 102) se observó un evento singular, donde dos máximos de clorofila *a* (21 y 78 m de profundidad con  $0.35 \text{ mg m}^{-3}$ ) se ubicaron por debajo del máximo del PFP. Estas diferencias entre el máximo del PFP y los dos máximos de clorofila *a* sugiere que el PFP probablemente no contribuyó significativamente a los máximos de clorofila *a*. Sin embargo, esta afirmación deberá de tomarse con precaución, ya



que el PFP del Golfo se recolectó a profundidades discretas y la clorofila *a* se registró de forma continua a partir de la fluorescencia natural; por lo cual, es posible que se hayan omitido ciertas profundidades donde el PFP pudo haber contribuido significativamente al total de clorofila *a*.

## VIII. CONCLUSIONES

Las mayores concentraciones de los pigmentos accesorios y de las células del PFP se asociaron a la capa eufótica de la plataforma continental y del Cañón de Campeche, en el sur del Golfo de México. Durante las dos temporadas de este estudio (nortes y secas), no se observó una fuerte influencia de los ríos Coatzacoalcos y Grijalva-Usumacinta sobre la plataforma continental del sur del Golfo de México. En las estaciones más someras de la plataforma continental, se determinaron las mayores concentraciones de los pigmentos accesorios (fucoxantina, zeaxantina y divinyl-clorofila *a*) y de las células del picofitoplancton, principalmente en la región asociada a la descarga del sistema Grijalva-Usumacinta. La zona oceánica se diferenció de la zona costera con respecto a la concentración de los pigmentos y la densidad del picofitoplancton, asimismo, la zona costera presentó marcadas diferencias entre sus localidades con respecto a la concentración de los pigmentos y la densidad del picofitoplancton. Durante la temporada de nortes, a pesar de que no se observó una estratificación fuerte de la columna de agua, las mayores concentraciones de los pigmentos se presentaron por arriba o estrechamente asociadas a la termoclina. Durante la temporada de secas, a pesar de que no se formó una fuerte termoclina, las mayores concentraciones del picofitoplancton se situaron por debajo de la termoclina. El pigmento asociado a células grandes (fucoxantina) fue más importante en la región costera que en el Cañón de Campeche. Los pigmentos asociados al picofitoplancton procarionte, en general, presentaron concentraciones más altas en las localidades del Cañón de Campeche que en la región costera, con excepción de la localidad más somera de la zona costera. La mayor densidad del picofitoplancton se presentó, en primer lugar, enfrente de la desembocadura del río San Pedro y San Pablo (región Grijalva-Usumacinta); en segundo lugar, en la desembocadura del río Coatzacoalcos; y en último lugar, en el Cañón de Campeche. La distribución vertical de los pigmentos y del picofitoplancton no se relacionó con la clorofila *a* para la mayoría de las estaciones. La determinación de los pigmentos accesorios y del picofitoplancton total ha permitido estimar la distribución que ciertas poblaciones del picofitoplancton podrían presentar en el sur del Golfo de México. Los métodos empleados en este estudio han permitido afirmar la presencia de dos poblaciones del picofitoplancton procarionte (*Synechococcus* y *Prochlorococcus*) y estimar la presencia de las poblaciones piceoeucariontes.

## IX. LITERATURA CITADA

- Allen, J.I., P.J. Somerfield, y J. Siddorn. 2002. Primary and bacterial production in the Mediterranean Sea: a modeling study. *Journal of Marine Systems* 33-34: 473-495.
- Andersson, A., P. Haecky, y Å. Hagstrom. 1994. Effect of temperature and light on the growth of micro- nano- and pico-plankton: impact on algal succession. *Marine Biology* 120: 511-520.
- Ansotegui, A., A. Sarobe, J.M. Trigueros, I. Urrutxurtu, y E. Orive. 2003. Size distribution of algal pigments and phytoplankton assemblages in a coastal-estuarine environment: contribution of small eukaryotic algae. *Journal of Plankton Research* 25: 341-355.
- Barlow, R.G., J. Aiken, P.M. Holligan, D.G. Cummings, S. Maritorena, y S. Hooker. 2002. Phytoplankton pigment and absorption characteristics along meridional transects in the Atlantic Ocean. *Deep-Sea Research I* 47: 637-660.
- Blanchot, J., J.M. André, C. Navarette, J. Neveux, y M.H. Radenac. 2001. Picophytoplankton in the equatorial Pacific: vertical distributions in the warm pool and in the high nutrient low chlorophyll conditions. *Deep-Sea Research* 48: 297-314.
- Blanchot, J., y M. Rodier. 1996. Picophytoplankton abundance and biomass in the western tropical Pacific Ocean during the 1992 El Niño year: results from flow cytometry. *Deep-Sea Research* 43: 877-895.
- Biegala, I. C., F. Not, D. Vaultot, y N. Simon. 2003. Quantitative assessment of picoeukaryotes in natural environment by using taxon-specific oligonucleotide probes in association with tyramide signal amplification-fluorescence *in situ* hybridization and flow cytometry. *Applied and Environmental Microbiology* 69: 5519-5529.
- Bunge, L., J. Ochoa, A. Badan, J. Candela, y J. Sheinbaum. 2002. Deep flows in the Yucatan Channel and their relation to changes in the Loop Current extension. *Journal of Geophysical Research*. 107(C12), 3233, doi: 10.1029/2001JC001256, 2002.
- Callieri, C., y J.G. Stockner 2002. Freshwater autotrophic picoplankton: a review. *Journal of Limnology* 61: 1-14
- Campbell, L., H. Lui, H.A. Nolla, y D. Vaultot. 1997. Annual variability of phytoplankton and bacteria in the subtropical North Pacific Ocean at Station ALOHA during 1991-1994 ENSO event. *Deep-Sea Research* 44: 167-192.
- Candela, J., J. Sheinbaum, J. Ochoa, y A. Badam. 2002. The potential vorticity flux through the Yucatán Channel and the Loop Current in the Gulf of Mexico. *Geophysical Research Letters*. 29 (22), 2059, doi: 10.1029/2002GL015587, 2002.
- Carranza Edwards, A., M. Gutiérrez Estrada, y R. Rodríguez Torres. 1975. Unidades morfo-tectónicas continentales de las costas mexicanas. *An Centro Ciencias del Mar y Limnología. Univ. Nal. Autón. México. México*. 2 (1) 81-88.
- Chisholm, S.W., R.J. Olson, E.R. Zettler, J. Waterbury, R. Goericke, y N. Welschmeyer. 1988. A novel free-living prochlorophyte occurs at high cell concentrations in the oceanic euphotic zone. *Nature* 334: 340-343.
- Collier J.L., y B. Palenik. 2003. Phycoerythrin-containing picoplankton in the Southern California Bight. *Deep-Sea Research II* 50: 2405-2422.
- Crosbie, N., y M. Furnas. 2001. Abundance, distribution and flow-cytometry characterization of picophytoprookaryote populations in central (17°S) and southern (20°S) shelf waters of the great barrier reef. *Journal of Plankton Research* 23: 809- 828.

- Courties, C., A. Vaquer, M. Troussellier, J. Lautier., M. Chrétiennot-Dinet, J. Neveux, C. Machado, y H. Claustre. 1994. Smallest eukaryotic organism. *Nature* 370: 255.
- De La Lanza Espino, G. 2001. Características físico-químicas de los mares de México. Plaza y Valdés, S. A. de C. V. Instituto de Geografía, UNAM. p. 150
- Díaz, C., y H. Maske. 2000. Abundancia de cianobacterias coccales, parámetros hidrográficos y la posible subestimación de la clorofila *a in situ* en el Norte del Golfo de California y la Corriente de California, México. *Ciencias Marinas* 26: 441-461.
- DiTullio, G.R., M. E. Geesey, D.R. Jones, K.L. Daly, L. Campbell, y W.O. Smith Jr. 2003. Phytoplankton assemblage structure and primary productivity along 170° W in the South Pacific Ocean. *Marine Ecology Progress Series* 255: 55-80.
- Dubelaar, G.B.J., y R.R. Jonker. 2000. Flow cytometry as a tool for the study of phytoplankton. *Scientia Marina* 64: 135-156.
- Dusenberry, J.A., R.J. Olson, y S.W. Chisholm. 2001. Photoacclimation kinetic of single-cell fluorescence in laboratory and field populations of *Prochlorococcus*. *Deep-Sea Research* 1443-1458.
- DuRand, M.D., R.J. Olson, y S.W. Chisholm. 2001. Phytoplankton population dynamic at the Bermuda Atlantic time-series station in the Sargasso Sea. *Deep-Sea Research Part II* 48: 1983-2003.
- Espinosa Fuentes, M. L. y C. Flores Coto. 2004. Cross-shelf and vertical structure of Ichthyoplankton assemblages in continental shelf waters of the southern Gulf of Mexico. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 59: 333-352.
- Fahnenstiel, G.L., D.G. Redalje, y S.E. Lohrenz. 1994. Has the importance of photoautotrophic picoplankton been overestimated?. *Limnology and Oceanography* 39: 432- 438.
- Fernández, E.A., A.G. García, y J.Z. Hidalgo. 1993. Zona económica exclusiva, oceanografía física de México. *Ciencia y Desarrollo Vol. XVIII* (108): 24-35.
- Fofonoff, N.P., y R.C.J. Millard. 1983. Algorithms for computation of fundamental properties of seawater, UNESCO Technical Papers in Marine Science 44, UNESCO/SCOR/ICES/IAPSO Joint Panel on Oceanographic Tables and Standards. 1-53.
- Furuya, K. 1990. Subsurface chlorophyll maximum in the tropical and subtropical western Pacific Ocean: vertical profiles of phytoplankton biomass and its relationship with chlorophyll *a* and particulate organic carbon. *Marine Biology* 107: 529-539.
- Gieskes, W.W.C. y G.W. Kraay. 1983. Dominance of Cryptophyceae during the phytoplankton spring bloom in the central North Sea detected by HPLC analysis of pigments. *Marine Biology* 75: 179-185.
- Gin, K.Y.N., S. Zhang, y K. Lee. 2003. Phytoplankton community structure in Singapore's Coastal waters using HPLC pigment analysis and flow cytometry. *Journal of Plankton Research* 25: 1507-1519.
- Goericke, R., y D.J. Repeta. 1991. The pigments of *Prochlorococcus marinus*: The presence of divinyl-chlorophyll *a* and *b* in a marine prokaryote. *Limnology and Oceanography* 37: 425-433.
- Goericke, R., R.J. Olson, y A. Shalapyonok. 2000. A novel niche for *Prochlorococcus* sp. in low-light suboxic environments in the Arabian Sea and the Eastern Tropical North Pacific. *Deep-Sea Research* 47: 1183-1205.
- Guillou, L., W. Eikrem, M.J. Chrétiennot-Dinet, F.L. Gall, R. Masana, K. Romari, C. Pedrós-Alio, y D. Vaultot. 2004. Diversity of picoplanktonic prasinophytes assessed by direct

- nuclear SSU rDNA sequencing of environmental samples and novel isolates retrieved from oceanic and coastal marine ecosystems. *Protist* 155: 193-214.
- Hall, J.A. y W.F. Vincent. 1990. Vertical and horizontal structure in the picoplankton communities of a coastal upwelling system. *Marine Biology* 106: 465-471.
- Havskum, H., L. Schlüter, R. Scharek, E. Berdalet, y S. Jacquet. Routine quantification of phytoplankton groups-microscopy or pigment analyses? *Marine Ecology Progress Series* 273: 31-42.
- Hernández Arana, H.A., A.A. Rowden, M.J. Attrill, R.M. Warwick, y G. Gold-Bouchot. 2003. Large-scale environmental influences on the benthic macroinfauna of the southern Gulf of Mexico. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 58: 825-841.
- Iriarte, A., y D.A. Pardue. 1994. Size distribution of chlorophyll *a* biomass and primary production in a temperate estuary (Southampton Water): the contribution of photosynthetic picoplankton. *Marine Ecology Progress Series* 115: 283-297.
- Jacquet, S., L. Prieur, C. Avois-Jacquet, J.F. Lennon, y D. Vaultot. 2002. Short-timescale variability of picophytoplankton in surface waters of the Alboran Sea (Western Mediterranean). *Journal of Plankton Research* 24: 635-651.
- Jacquet, S., F. Partensky, D. Marie, R. Casotti, y D. Vaultot. 2001. Cell cycle regulation by light in *Prochlorococcus* strains. *Applied and Environmental Microbiology* 67: 782-790.
- Jeffrey, S.W., y M. Vesk. 1997. Development of pigment methods for oceanography: SCOR-supported Working Groups and objectives, In: Mantoura, R.F.C., y S.W. Wright (Eds.), *Phytoplankton pigments in Oceanography monograph 10*, UNESCO. París, p. 37-76.
- Jiao, N., Y. Yang, N. Hong, Y. Ma, S. Harada, H. Koshikawa, y M. Watanabe. 2005. Dynamic of autotrophic picoplankton and heterotrophic bacteria in the East China Sea. *Continental Shelf Research* 25: 1265-1279.
- Jochem, F.J. 2003. Photo- and heterotrophic pico- and nanoplankton in the Mississippi River plume: distribution y grazing activity. *Journal of Plankton Research* 25: 1201-1214.
- Latasa, M.R., Scharek, F., L. Gall, y L. Guillou. 2004. Pigment suites and taxonomic groups in Prasinophyceae. *Journal of Phycology* 40: 1149-1155.
- Lazzara, L., A. Bricaud, y H. Claustre. 1996. Spectral absorption and fluorescence excitation Properties of phytoplanktonic populations at a mesotrophic and oligotrophic site in the tropical North Atlantic (EUMELI program). *Deep-Sea Research* 43:1215-1240.
- López López, A., y M. Zaballos. 2005. Diversidad y actividad procariótica en ecosistemas marinos. *Ecosistemas*. 2005/2 (URL: [http://www.revistaecosistemas.net/articulo.asp?Id=111&Id\\_Categoria=2&tipo=portada](http://www.revistaecosistemas.net/articulo.asp?Id=111&Id_Categoria=2&tipo=portada))
- Lutz, V.A., S. Sathyendranath, E.J.H. Head, y W.K.W. Li. 2003. Variability in pigment composition and optical characteristics of phytoplankton in the Labrador Sea and the Central North Atlantic. *Marine Ecology Progress Series* 260: 1-18.
- Mackey, D.J., H.W. Higgins, M.D. Mackey, y D. Holdsworth. 1998. Algal class abundance in the western equatorial pacific: estimation from HPLC measurements of chloroplast pigments using CHEMTAX. *Deep-Sea Research* 45: 1441-1468.
- Mackey, M.D., D.J. Mackey, H.W. Higgins, y S.W. Wright. 1996. CHEMTAX- a program for estimating class abundance from chemical markers: application to HPLC measurements of phytoplankton. *Marine Ecology Progress Series* 144: 265-283.

- Marañón, E., P.M. Holligan, M. Varela, B. Mouriño, y A.J. Bale. 2000. Basin-scale variability of phytoplankton biomass production and growth in the Atlantic Ocean. *Deep-Sea Research* 47: 825-857.
- Marie, D., F. Partensky, D. Vaultot, y C. Brussaard. 1999. Enumeration of phytoplankton, bacteria, and viruses in marine samples, In: *Current Protocols in Cytometry, Supplement 10, Unit 11.11* (Robingson, J.P., Z. Darzynkiewicz, P.N. Dean, A. Orfao, P. Rabinovitch, C.C. Stewart, H.J. Tanke y L.L. Wheelless, Eds.), John Wiley y Sons Inc. pp. 1-15.
- Martyn, D. 1992. *Climates of the World*. Elsevier. Amsterdam-London-New York. pp. 286-290.
- Mendoza, M. y M.A. Ortiz Pérez. 2000. Caracterización geomorfológica del talud y la plataforma continentales de Campeche-Yucatán, México. *Boletín del Instituto de Geografía, UNAM*. 43: 7-31.
- Miyazono, A., T. Odate, y Y. Maita. 1992. Seasonal fluctuations of cell density of Cyanobacteria and other picophytoplankton in Iwanai Bay, Hokkaido, Japan. *Journal of Oceanography* 48: 257-266.
- Monreal Gómez, M.A., y Salas de León, D.A. 1997. Circulación y estructura termohalina del Golfo de México, *in*: M. F. Lavín, editor, *Contribuciones a la Oceanografía física de México, Monografía No. 3, Unión Geofísica Mexicana*, 183-199.
- Moreira-Turq, P., y J.M. Martin. 1998. Characterization of fine particles by flow cytometry in estuarine and coastal Arctic waters. *Journal of Sea Research* 39: 217-226.
- Mosiño, P. A., y E. García. 1968. Evaluación de la sequía interestival en la República Mexicana. Instituto de Geografía, UNAM. Distrito Federal. p. 36-51.
- Not, F., M. Latasa, D. Marie, T. Cariou, D. Vaultot, y N. Simon. 2004. A single species, *Micromonas pusilla* (Prasinophyceae), dominates the eukaryotic picoplankton in the Western English Channel. *Applied and Environmental Microbiology* 70: 4064-4072.
- Olson, R.J., S.W. Chisholm, E.R. Zettler, M.A. Altabet, y J.A. Dusenberry. 1990a. Spatial and temporal distributions of prochlorophyte picoplankton in the North Atlantic Ocean. *Deep-Sea Research* 37: 1033-1051.
- Olson, R.J., S.W. Chisholm, E.R. Zettler, y E.V. Armbrust. 1990b. Pigments size, and distribution of *Synechococcus* in the North Atlantic and Pacific Oceans. *Limnology and Oceanography* 35: 45-58.
- Paerl, H.W. 2000. Marine Plankton, In: Whitton, B. y M. Pott (Eds.). *The ecology of cyanobacteria, their diversity in time and space*. Kluwer Academic Publishers. p. 121-144.
- Pan, L.A., L.H. Zhang, J. Zhang, J.M. Gasol, y M. Chao. 2005. On-board flow cytometric observation of picoplankton community structure in the East China Sea during the fall of different years. *FEMS Microbiology Ecology*. 52 (issue 2): 243-253.
- Platt, T., H. Bouman, E. Devred, C. Fuentes-Yaco, y S. Sathyendranath. 2005. Physical forcing and phytoplankton distributions. *Scientia Marina*. 69 (Supplement 1) 55-73.
- Partensky, F., J. Blanchot, F. Lantoine, J. Neveux, y D. Marie. 1996. Vertical structure of picophytoplankton at different trophic sites of the tropical northeastern Atlantic Ocean. *Deep-Sea Research* 43: 1191-1213.
- Qian, Y., A.E. Jochens, M.C. Kennicutt II, y D.C. Biggs. 2003. Spatial and temporal variability of phytoplankton biomass and community over the continental margin of the northeast Gulf of Mexico based on pigment analysis. *Continental Shelf Research* 23: 1-17.

- Raven, J. A. 1998. The twelfth Tansley Lecture. Small is beautiful: the picophytoplankton functional ecology 12: 503-513.
- Rodríguez J. 2005. La estructura de tamaños del plancton: un tópico interdisciplinar y Margalefiano. *Ecosistemas*. 2005/1(URL: [http://www.revistaecosistemas.net/articulo.asp?Id=76&Id\\_Categoria=2&tipo=portada](http://www.revistaecosistemas.net/articulo.asp?Id=76&Id_Categoria=2&tipo=portada))
- Rosselló Mora R. 2005. El concepto de especie en Procariotas . *Ecosistemas*. 2005/2 (URL: [http://www.revistaecosistemas.net/articulo.asp?Id=107&Id\\_Categoria=2&tipo=portada](http://www.revistaecosistemas.net/articulo.asp?Id=107&Id_Categoria=2&tipo=portada))
- Roy, S., J.P. Chanut, M. Gosselin, y T. Sime-ngando. 1996. Characterization of phytoplankton communities in the lower St. Lawrence Estuary using HPLC-detected pigments and cell microscopy. *Marine Ecology Progress Series* 142: 55-73.
- Salas de León, D.A., M.A. Monreal Gómez, L. Sanvicente Añorve, y C. Flores Coto. 1996. Influence de la circulation à long terme sur la répartition des organismes zooplanctoniques dans la Baie de Campeche, Mexique. *Oceanologica Acta* 21 (1): 87-93.
- Salas de León, D.A., M.A. Monreal-Gómez, M. Signoret, y J. Aldeco. 2004. Anticyclonic-cyclonic eddies and their impact on near surface chlorophyll stocks and oxygen supersaturation over the Campeche Canyon, Gulf of Mexico. *Journal of Geophysical Research* 109, C05012, doi: 10.1029/2002JC001614.
- Sanvicente Añorve, L., C. Flores Coto, X. Chiappa Carrara. 2000. Temporal and spatial scales of ichthyoplankton distribution in the southern Gulf of Mexico. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 51: 463-475.
- Scanlan, D.J., y N.J. West. 2002. Molecular ecology of the marine cyanobacterial genera *Prochlorococcus* and *Synechococcus*. *FEMS Microbiology Ecology* 40: 1-12.
- Sheinbaum, J., J. Candela, J. Badam, y J. Ochoa. 2002. Flow structure and transport in the Yucatan Channel. *Geophysical Research Letters*. 29(3), 1040, 10.1029/2001GL013990,2002.
- Sherr, E.B., B.F. Sherr, y P.A. Wheeler. 2005. Distribution of coccoid cyanobacteria and Small eukaryotic phytoplankton in the upwelling ecosystem off the Oregon coast during 2001 and 2002. *Deep-Sea Research Part II* 52 (1-2): 317-330.
- Shimada, A., T. Hasegawa, I. Umeda, N. Kadoya, y T. Maruyama. 1993. Spatial mesoscale patterns of west pacific picophytoplankton as analyzed by flow cytometry: their contribution to subsurface chlorophyll maxima. *Marine Biology* 115: 209-215.
- Shimada, A., T. Maruyama y S. Miyachi. 1996. Vertical distributions and photosynthetic action spectra of two oceanic picophytoplankters, *Prochlorococcus marinus* and *Synechococcus* sp. *Marine Biology* 127: 15-23.
- Sorokin, Y.I. 1999. Aquatic microbial ecology. Backhuys Publishers. p. 6-45.
- Stockner, J.G., y N.J. Antia. 1986. Algal picoplankton from marine and fresh ecosystems: A multidisciplinary perspective. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 43: 2472- 2498.
- Takahashi, M. y T. Hori. 1984. Abundance of picophytoplankton in the subsurface chlorophyll maximum layer in subtropical and tropical waters. *Marine Biology* 79: 177-186.
- Ting, C.S., G. Rocap, J. King, y S.W. Chisholm. 2002. Cyanobacterial photosynthesis in the oceans. *Trends in Microbiology* 10: 134-142.
- Toledo, O. A. 1996. Caracterización ambiental del Golfo de México, *In*: A.V. Botello, J. L. Rojas-Galaviz, J. A. Benítez, D. Zárate Lomelí (Eds.). Golfo de México, contaminación e

- impacto ambiental: diagnóstico y tendencias, Universidad Autónoma de Campeche. EPOMEX Serie Científica. p. 9-28.
- Urbach, E., D.J. Scanlan, D.L. Distel, J.B. Waterbury, y S.W. Chisholm. 1998. Rapid diversification of marine picophytoplankton with dissimilar light-harvesting structures inferred from sequences of *Prochlorococcus*. *Journal of Molecular Evolution* 46: 188- 201.
- Uysal, Z. 2000. Pigments, size and distribution of *Synechococcus* spp. in the Black Sea. *Journal of Marine Systems* 24: 313-326.
- Vaulot, D., C. Courties, y F. Partensky. 1989. A simple method to preserve oceanic phytoplankton for flow cytometry analyses. *Cytometry* 10: 629-635.
- Vaulot, D., y F. Partensky. 1992. Cell cycle distribution of Prochlorophytes in the north western Mediterranean Sea. *Deep-Sea Research* 39: 727-742.
- Veldhuis, M.J.W., y G.W. Kraay. 2004. Phytoplankton in the subtropical Atlantic Ocean: towards a better assessment of biomass and composition. *Deep-Sea Research* 51: 507- 530.
- Veldhuis, M.J.W., K.R. Timmermans, P. Croot, y B. Wagt. 2005. Picophytoplankton; a comparative study of their biochemical composition and photosynthetic properties. *Journal of Sea Research* 53: 7-24.
- Vidussi, F., H. Claustre, J. Bustillos-Guzmán, C. Cailliau, y J.C. Marty. 1996. Determination of chlorophylls and carotenoids of marine phytoplankton: separation of chlorophyll *a* from divinyl-chlorophyll *a* and zeaxanthin from lutein. *Journal of Plankton Research* 18: 2377-2382.
- Weisse, T. 1993. Dynamics of autotrophic picoplankton in marine and fresh water ecosystems. In: Gwynfryn, J. (Ed.). *Advances in Microbial Ecology* 13. Plenum Press. p. 327-362.
- Wright, S.W., D.P. Thomas, H.J. Marchant, H.W. Higgins, M.D. Mackey, y D.J. Mackey. 1996. Analysis of phytoplankton of the Australian sector of the Southern Ocean: comparisons of microscopy and size frequency data with interpretations of pigment HPLC data using the CHEMTAX matrix factorization program. *Marine Ecology Progress Series* 144: 285-298.
- Yáñez Arancibia, A., y J.W. Day. 2004. The Gulf of Mexico: towards and integration of costal management with large marine ecosystem management. *Ocean and Coastal Management* 47: 537-563.
- Zavala Hidalgo, J., A. Parés Sierra, y J. Ochoa. 2002. Seasonal variability of the temperature and heat fluxes in the Gulf of México. *Atmósfera* 15: 81-104.
- Zavala Hidalgo, J., S.L. Morey, y J.J. O'Brien. 2003. Cyclonic Eddies Northeast of the Campeche Bank from Altimetry Data. *Journal of Physical Oceanography* 33: 623-629.
- Zubkov, M.V., M.A. Sleight, G. Tarran, P.H. Burkill, y R.J.G. Leakey. 1998. Picoplanktonic community structure on an Atlantic transect from 50° N to 50° S. *Deep-Sea Research I* 45: 1339-1355.



## X. ANEXO I

### Observaciones metodológicas a la citometría de flujo

En este estudio, se aplicó la microscopía de epifluorescencia y la citometría de flujo para cuantificar el PFP y se concluyó que sus resultados (concentraciones) no fueron similares. Por el método de epifluorescencia, los resultados coincidieron con las concentraciones normales del PFP para el ambiente marino y, además, éstas concordaron con observaciones de reportes previos para el mismo ambiente. Sin embargo, esto no ocurrió de la misma manera para los resultados obtenidos por citometría de flujo. En general, la citometría de flujo sobreestimó las concentraciones celulares de las poblaciones del PFP y no logró diferenciar y cuantificar a la población más pequeña del picofitoplancton (*Prochlorococcus*). Debe de destacarse que la citometría de flujo permitió distinguir una población procarionte (*Synechococcus*) y dos poblaciones eucariontes (no determinadas). Por ello, no se descarta la eficiencia del citómetro de flujo para enumerar y caracterizar las poblaciones del PFP, toda vez que se tenga la certeza de que no habrá factores significativos que afecten los conteos.

Las posibles causas que alteraron los resultados por citometría podrían asociarse a los siguientes puntos: (1) una mala alineación (láser) y calibración del instrumento, (2) la concentración total del PFP fue menor a la concentración de microesferas (partículas de referencia) agregadas, (3) el instrumento presentó contaminación de otras células o partículas diferentes a las picofitoplanctónicas, (4) el instrumento presentó ruido electrónico que interfirió con los conteos del PFP, y (5) las fórmulas aplicadas no consideraron las variables necesarias para el cálculo de la densidad del PFP.

(1) Si bien es cierto que el citómetro de flujo puede cuantificar una amplia gama de partículas o células pequeñas (0.5 – 150  $\mu\text{m}$ ), desafortunadamente este instrumento no puede contar los diversos tamaños en una sola adquisición (número total de partículas contadas). Esto se debe a que el láser, que mide los diversos parámetros de las partículas (tamaño, rugosidad, fluorescencias), no puede ajustarse automáticamente a los diversos tamaños de los objetos que pasan por este haz. Por esto, cuando se desea analizar un tamaño de partículas es indispensable alinear y calibrar el instrumento de acuerdo a las dimensiones de las partículas que pasarán por el láser. Este ajuste es imprescindible ya que, entre otras cosas, determinará la precisión con que se cuenten las partículas o células. En este estudio, es probable que estos ajustes (alineación del láser y calibración del instrumento) no hayan sido los adecuados, ya que la población más pequeña del PFP no pudo ser distinguida ni cuantificada. Se ha observado que para obtener buenos conteos del PFP, lo mejor es que el instrumento sólo se utilice para cuantificar este tipo de células, ya que al ingresar otro tipo de partículas, es muy probable que los lentes del citómetro cambien su alineación. Desafortunadamente, en el lugar donde se trabajó, el citómetro de flujo se utilizaba para analizar células más grandes (linfocitos, leucocitos, espermatozoides) que las del PFP; e incluso, muchas de ellas era marcadas con soluciones fluorescentes, mismas que pudieron haber afectado la sensibilidad de los lentes o dejar residuos contaminantes dentro de los conductos del sistema.

(2) Cuando se van a analizar células del PFP, es necesario ajustar el láser al tamaño de las partículas de la muestra. Para esto, se utilizan microesferas fluorescentes (partículas de referencia) que presentan características similares en tamaño y fluorescencia a las del PFP. Estas microesferas, además de ubicar las regiones donde se contarán las células del PFP, son un parámetro de referencia para conocer la concentración total de células en una muestra. En una muestra planctónica, cuando se agregan más microesferas que la concentración de las células a contar, es muy probable que los conteos salgan alterados, ya que podría haber una subestimación de las células de interés o viceversa. Es posible que ésta haya sido una de las causas que alteró los resultados de este estudio, ya que hubo muestras que no tuvieron la suficiente concentración de microesferas o, bien, las tuvieron pero en exceso.

(3) Antes de contar células del PFP por citometría, uno de los mayores cuidados que hay que tener es la limpieza del instrumento. Esto es importante señalarlo ya que durante los análisis por citometría siempre quedan restos de células o colorantes que se adhieren a los conductos del sistema. Por esto, para evitar contaminación entre diferentes estudios es imprescindible hacer una adecuada limpieza. Existen algunas soluciones (marcadores fluorescentes) que se utilizan en citometría que no son tan fáciles de remover de los conductos; por lo cual, en algunas ocasiones, se pueden llegar a contaminar las muestras con residuos de otros análisis.

(4) Durante los análisis por citometría, es normal que el citómetro de flujo emita una señal que se conoce como ruido electrónico. En algunas ocasiones, este ruido electrónico llega a interferir en los conteos de ciertas partículas, de tal manera que impide una adecuada cuantificación. Afortunadamente este ruido electrónico es posible evitarlo, para lo cual, deben de ajustarse los fotomultiplicadores (adaptadores para aumentar o disminuir una señal) de manera que el ruido electrónico se aparte de las regiones donde se cuentan las partículas de interés. Sin embargo, cuando el citómetro tiene una mala alineación y calibración, es muy probable que el ruido electrónico se mezcle con otras señales, y que no sea tan fácil separarlo de algunas regiones donde se ubican ciertas poblaciones de interés. En este estudio, se cree que esta fue una de las causas que impidió distinguir y cuantificar a la población más pequeña del PFP (*Prochlorococcus*).

(5) Si bien es cierto que la densidad de microesferas se utiliza para calcular la concentración de células en una muestra, también es posible emplear otras variables, que se basan en el tiempo de adquisición (tiempo en que pasa un determinado volumen de la muestra) y la tasa de flujo de la muestra (velocidad con la que fluye un determinado volumen de la muestra) para el mismo propósito. En este estudio se aplicó la fórmula que considera la concentración de microesferas por mililitro (estándar de referencia o stock), la cual dice lo siguiente:

$$\text{Céls ml}^{-1} = \frac{\text{Células contadas}}{\text{Microesferas contadas}} \times \text{Concentración de microesferas ml}^{-1}$$

Donde:

Células ml<sup>-1</sup> = es la concentración total de una población (células) en un mililitro.

Células contadas = es el total de células contadas de una población (o región)

Microesferas contadas= es el total de microesferas contadas en toda la adquisición (total de partículas contadas).

Concentración de microesferas  $\text{ml}^{-1}$ = es la concentración de microesferas en un mililitro.

Al agregar una concentración determinada de microesferas a un volumen de la muestra (típicamente un mililitro), teóricamente se establece una proporción entre las microesferas y las células biológicas. Por lo tanto, el volumen adquirido de microesferas será proporcional a la adquisición de células biológicas.

En este estudio es posible que esta relación teórica no se haya cumplido bien, o probablemente esta fórmula no fue la adecuada para el tipo de partículas que se analizaron. Esto se señala ya que en otras investigaciones (Marie *et al.*, 1999) los cálculos se basan en el tiempo de adquisición y la tasa de flujo de la muestra. La fórmula que considera estas variables dice lo siguiente:

$$C_{pop} = \frac{N^{\circ} \times 1000}{T \times R} \times \frac{V_{total}}{V_{muestra}}$$

Donde:

$C_{pop}$  = es la concentración de la población en células por  $\text{ml}^{-1}$ .

$N^{\circ}$  = es el número de células adquiridas en una región

T = es el tiempo de adquisición (minutos)

R = es la tasa de flujo de la muestra ( $\mu\text{l min}^{-1}$ )

$V_{total}$  = es el volumen total de la muestra más el volumen del fijador (paraformaldehído)

$V_{muestra}$  = es el volumen de la muestra a analizar.

En este caso el tiempo de adquisición y la tasa de flujo van a tener una relación proporcional al número de células adquiridas en una muestra; el resto de la fórmula, son los cálculos necesarios para obtener la concentración en células por mililitro. Al parecer esta es la fórmula más recomendable para calcular las concentraciones de las células del PFP, ya que en este caso se estima una concentración de las células picofitoplanctónicas que van fluyendo en un volumen y tiempo determinado (Marie *et al.*, 1999); por lo tanto, es posible que esta fórmula sea más precisa que aquella donde se aplica la concentración de las microesferas.