SSN 0188-8897

HIDROBIOLÓGICA 2 VOLUMEN Número 3, 2017

Casa abierta al tiempo UNIVERSIDAD AUTÓNOMA **METROPOLITANA**

Unidad Iztapalapa



MIDROBIOLÓGICA

Revista del Departamento de Hidrobiología

VOLUMEN 27

Número 3

Hidrobiológica es una publicación científica cuatrimestral del Departamento de Hidrobiología de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalapa creada desde 1991. *Hidrobiológica* está dirigida a publicar investigaciones originales e inéditas sobre la hidrología, biología, pesquerías, acuicultura, contaminación y ecología de los recursos y sistemas acuáticos, realizados en México y en todo el mundo.

Hidrobiológica (ISSN 0188-8897) pertenece al Índice de Revistas Mexicanas de Investigación Científica y Tecnológica del CONACyT desde 1994. Indizada en:

PERIÓDICA. Índice de Revistas Latinoamericanas en Ciencias.

Latindex. Catálogo-Sistema Regional de Información en Línea para Revistas Científicas de América Latina, El Caribe, España y Portugal.

Redalyc. Red de Revistas Científicas de América Latina, El Caribe, España y Portugal.

SciELO - Scientific Electronic Library Online.

Aquatic Sciences and Fisheries Abstracts (ASFA).

ISI-Thomson: Biological Abstracts y Biosis Previews.

E&M Biology (Elsevier)

Journal Citation Reports - Thomson Reuters (JCR)

Página electrónica: http://hidrobiologica.izt.uam.mx/index.php/revHidro/login

HIDROBIOLÓGICA. Vol. 27 Año 2017, Número 3, septiembre-diciembre de 2017, es una publicación cuatrimestral editada por la Universidad Autónoma Metropolitana, a través de la Unidad Iztapalapa, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Departamento de Hidrobiología. Prolongación Canal de Miramontes 3855, Colonia Ex Hacienda San Juan de Dios, Delegación Tlalpan, C.P. 14387, México, Ciudad de México y Av. San Rafael Atlixco, No. 186, Colonia Vicentina, Delegación Iztapalapa, C.P. 09340, México, Ciudad de México, teléfono: 5804-6475.

Página electrónica de la revista: http://hidrobiologica.izt.uam.mx y dirección electrónica: rehb@xanum.uam.mx. Editora Responsable: María Esther Angélica Meave del Castillo. Certificado de Reserva de Derechos al Uso Exclusivo de Título No. 04-2010-072711181500-203.

ISSN para revista electrónica: 2448-7333, otorgado por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. Responsable de la última actualización del número: María Esther Angélica Meave del Castillo, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, Av. San Rafael Atlixco, No. 186, Colonia Vicentina, Delegación Iztapalapa, C.P. 09340, México, Ciudad de México.

Fecha de última modificación: 15 de diciembre de 2017. Tamaño de archivo: 17.8 MB.

Las opiniones expresadas por los autores no necesariamente reflejan la postura del editor de la publicación.

Queda estrictamente prohibida la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación sin previa autorización de la Universidad Autónoma Metropolitana.

COMITÉ EDITORIAL

Responsable de la edición del número

Editor en Jefe: Dra. Ma. Esther Angélica Meave del Castillo Área de Ficología Comparada, Dpto. de Hidrobiología, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAMI). CDMX, México.

EDITORES ASOCIADOS Y ÁRBITROS DEL NÚMERO ESPECIAL

ÁREA SISTEMÁTICA, MORFOLOGÍA Y FILOGENIA

Dra. Jhoana Díaz Larrea

Área de Manejo integral de Recursos Acuáticos Dpto. de Hidrobiología, División de Ciencias Biológicas y de la Salud Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAMI) CDMX, México.

Dr. Mario Adolfo Espejo Serna

Área de Botánica Estructural y Sistemática Vegetal Dpto. de Biología, División de Ciencias Biológicas y de la Salud Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAMI) CDMX, México.

Dr. Abel Sentíes Ganados

Área de Ficología Comparada, Dpto. de Hidrobiología, División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAMI) CDMX, México.

Dr. Francisco F. Pedroche

Área Biología de la Conservación, Dpto. de Ciencias Ambientales Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Lerma (UAML) Lerma de Villada, Edo. de México, México.

ÁREA MANEJO DE RECURSOS ACUÁTICOS

Dra. Irene de los Ángeles Barriga Sosa

Área de Manejo Integral de Recursos Acuáticos, Dpto. de Hidrobiología, División de Ciencias Biológicas y de la Salud Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAMI) CDMX. México.

Dra. Ana Laura Ibáñez Aguirre

Área de Producción Acuática, Dpto. de Hidrobiología, División de Ciencias Biológicas y de la Salud Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAMI) CDMX. México.

Dra. Alda Rocío Ortiz Muñiz

Área de Biología Celular, Dpto. de Ciencias de la Salud, División de Ciencias Biológicas y de la Salud Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAMI) CDMX. México.

Dr. Carlos Alfonso Álvarez González

Departamento de Biología y Manejo de Organismos Acuáticos División Académica de Ciencias Biológicas Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT) Tabasco, México.

Dr. Norman Mercado Silva

Departamento de Ecología Evolutiva Centro de Investigación en Biodiversidad y Conservación (CIByC) Universidad Autónoma del Estado de Morelos Cuernavaca, Morelos, México.

ÁREA AMBIENTAL

Dra. Guadalupe Barrera Escorcia

Área de Manejo Integral de Recursos Acuáticos, Dpto. de Hidrobiología, División de Ciencias Biológicas y de la Salud Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAMI) CDMX. México.

Dra. Flor de Ma. Cuervo López

Área de Microbiología, Dpto. de Biotecnología, División de Ciencias Biológicas y de la Salud Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAMI) CDMX. México.

Dr. Antonio Márquez García

Área de Geología y Limnología, Dpto. de Hidrobiología, División de Ciencias Biológicas y de la Salud Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAMI) CDMX. México.

Dra. María Teresa Núñez Cardona

Área Estructura y Funcionamiento de los Recursos Naturales Renovables, Dpto. de el Hombre y su Ambiente, División de Ciencias Biológicas y de la Salud Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco (UAMX) CDMX. México.

Dra. Patricia Ramírez Romero

Área de Manejo Integral de Recursos Acuáticos, Dpto. de Hidrobiología, División de Ciencias Biológicas y de la Salud Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAMI) CDMX. México.

Ana Carolina Ruíz Fernández

Departamento de Geoquímica Isotópica y Geocronología Instituto de Ciencias del Mar y Limnología (Unidad Mazatlán) Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) Mazatlán, Sinaloa, México

Dra. Gloria Vilaclara Fatjó

Unidad de Investigación Ínterdisciplinaria en Ciencias de la Salud y la Educación (UIICSE), Facultad de Estudios Superiores Iztcala Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) Edo Mex, Méx.

ÁREA ECOLOGÍA

Dr. Derik Castillo Guajardo

Área Biología de la Conservación, Dpto. de Ciencias Ambientales Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Lerma (UAML) Lerma de Villada, Edo. de México, México.

Dra. Margarita Elizabeth Gallegos Martínez

Área de Ecosistemas Costeros, Dpto. de Hidrobiología, División de Ciencias Biológicas y de la Salud Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAMI) CDMX. México.

Eberto Novelo Maldonado

Laboratorio de Algas Continentales, Área de Ecología y Taxonomía Depto. Biología Comparada Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) CDMX. México.

Dra. Eizabeth Ortega Mayagoitia

Proyecto de Investigación en Limnología Tropical, Unidad de Investigación Interdisciplinaria en Ciencias de la Salud y la Educación (UIICSE) Facultad de Estudios Superiores Iztcala Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) Edo Mex. Méx.

CONSEJO EDITORIAL

Dr. Saúl Álvarez Borrego Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE) Ensenada, México.

Dr. Luis S. Álvarez-Lajonchère Grupo Picimar, La Habana, Cuba.

Dra. Guadalupe Judith De la Lanza Espino Instituto de Biología, UNAM CDMX, México.

Dr. Alfonso Vázquez Botello Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM CDMX, México.

Dr. Gerald J. Bakus Allan Hancock Foundation University of Southern California California, USA.

Dr. Luis Fernando Bückle Ramírez Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE) Ensenada, México.

Dr. Carlos Cáceres Martínez Universidad Autónoma de Baja California Sur La Paz, México.

Dr. Roberto Civera Cerecedo Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste La Paz, México.

Dra. Laura Dávalos Lind Baylor University, Texas Texas, USA.

Dr. Enrique Reyes East Carolina University North Carolina, USA.

Dr. Fernando Díaz Herrera Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE) Ensenada. México.

Dra. Martha E. Ferrario Facultad de Ciencias Naturales y Museo La Plata La Plata, Argentina.

Dr. Francisco J. García de León Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste La Paz, México.

Dr. Efraín Abraham Gutiérrez Galindo Instituo de Investigaciones Oceanológicas Universidad Autónoma de Baja California Ensenada, México.

Dr. Jordi Lleonart Aliberas Institut de Ciències del Mar Barcelona, España.

Dr. Fabio Massa Experto FAO Roma, Italia. Dr. Alejandro Toledo Ocampo Instituto de Ciencias del Mar y Limnología Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) CDMX, México.

Dr. José Vinicio Macías Zamora Instituto de Investigaciones Oceanológicas Universidad Autónoma de Baja California Ensenada, México.

Dra. Marisa Mazari Hiriart Instituto de Ecología Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) CDMX, México.

Dr. Juan José Morrone Lupi Facultad de Ciencias Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) CDMX, México.

Dr. Federico Páez Osuna Instituto de Ciencias del Mar y Limnología Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) Mazatlán, México.

Dra. Gabriela Parra Olea Instituto de Biología Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) CDMX, México.

Dra. Dolores Planas Département des Sciences Biologiques Université du Québec à Montréal Québec, Canadá.

Dr. Víctor H. Rivera Monroy Department of Oceanography and Coastal Sciences Louisiana State University Louisiana, USA.

Dr. Gilbert T. Rowe Texas A&M University Texas, USA.

Dr. Michael J. Smith Simon Fraser University Vancouver, Canadá.

Dra. Mutue Toyota Fujii Instituto de Botânica São Paulo São Paulo, Brasil.

Dr. Martin F. Wojciechowski Arizona State University Arizona, USA.

Dr. Giuseppe C. Zuccarello Vintoria University of Wellington Wellington, Nueva Zelanda.

HIDROBIOLÓGICA

Revista del Departamento de Hidrobiología de la Universidad Autónoma Metropolitana- Iztapalapa

ÍNDICE AL VOLUMEN 27, NÚMERO 3 • 2017

México	281-2
Siqueiros Beltrones D. A., U. Argumedo Hernández y O. U. Hernández Almeida	
Alta diversidad de especies (H´) de diatomeas bentónicas en una laguna costera ubicada dentro de un área natural protegida	293-3
Hernández O. E., A. Sentíes, K. M. Dreckmann, V. Cassano y M. T. Fujii	
Diversidad de especies y patrones biogeográficos de <i>Laurencia sensu</i> stricto (Rhodophyta) en el océano Atlántico	301-3
Palma Ortiz C. A., K. M. Dreckmann, M. L. Núñez Resendiz y A. Sentíes	
Variación genética en <i>Meristotheca cylindrica</i> (Solieriaceae, Rhodophyta) en Campeche, México	315-3
Maceda R., R. Tavera y E. Novelo	
Ecología de cianoprocariontes epífitas que habitan ambientes lóticos de la Cantera Oriente, Ciudad de México	327-3
	ndez
uastino 5. 0., 5. 6. iorres-badajoz, 6. A. Nunez-Golin, v. Pena-Gaballero, 6. H. Herrera Me y J. R. Rodríguez-Núñez	
y J. R. Rodríguez-Núñez Producción de biodiésel a partir de microalgas: avances y perspectivas biotecnológicas	337-3
Vasuno S. O., S. G. Torres-Badajoz, G. A. Nunez-Goin, v. Pena-Gaballero, G. H. Herrera Me y J. R. Rodríguez-Núñez Producción de biodiésel a partir de microalgas: avances y perspectivas biotecnológicas Villarreal-Cavazos D. A., L. E. Cruz-Suárez, M. Tapia-Salazar, M. Nieto-López, J. Gamboa-I A. Lemme y D. Ricque-Marie	337-3 Delgado,
 Villarreal-Cavazos D. A., L. E. Cruz-Suárez, M. Tapia-Salazar, M. Nieto-López, J. Gamboa-I A. Lemme y D. Ricque-Marie Efecto de la lixiviación de heces sobre los coeficientes de digestibilidad aparente en camarón blanco del Pacífico (<i>Litopenaeus vannamei</i>) 	337-3 Delgado, 353-3
 J. R. Rodríguez-Núñez Producción de biodiésel a partir de microalgas: avances y perspectivas biotecnológicas Villarreal-Cavazos D. A., L. E. Cruz-Suárez, M. Tapia-Salazar, M. Nieto-López, J. Gamboa-I A. Lemme y D. Ricque-Marie Efecto de la lixiviación de heces sobre los coeficientes de digestibilidad aparente en camarón blanco del Pacífico (<i>Litopenaeus vannamei</i>) Garduño Dionate M., P. A. Pérez Velázquez, R. M. Lorán Núñez y F. R. Martínez Isunza 	337-3 Delgado, 353-3
 J. R. Rodríguez-Núñez Producción de biodiésel a partir de microalgas: avances y perspectivas biotecnológicas	337-3 Delgado, 353-3
 J. R. Rodríguez-Núñez Producción de biodiésel a partir de microalgas: avances y perspectivas biotecnológicas	337-3 Delgado, 353-3 359-3

Yee-Duarte J. A., B. P. Ceballos-Vázquez, E. Shumilin, K. Kidd y M. Arellano-Martínez	
Evidencia de la salud deteriorada de <i>Megapitaria squalida</i> (Bivalvia: Veneridae) cerca del "hot spot" de un puerto minero. Golfo de California	91-398
	01 000
Urcádiz-Cázares F. J., V. H. Cruz-Escalona, E. H. Nava-Sánchez y A. Ortega-Rubio	
Clasificación de unidades del fondo marino a partir de la distribución espacial de los sedimentos	
superficiales de la Bahía de La Paz, Golfo de California	99-409
Tapia-Salazar M., O. D. García-Pérez, M. G. Nieto-López, D. A. Villarreal-Cavazos, J. Gamboa-D L. E. Cruz-Suárez y D. Ricque-Marie)elgado,
Evaluación de secuestrantes comerciales de aflatoxinas para reducir la aflatoxicosis en camarón blanco Litopenaeus vannamei	11-418
Jesús-Ramirez F., C. A. Álvarez-González, H. G. Nolasco-Soria, E. Peña, R. Martínez-García, S. Camarillo-Coop, K. Conway y C. Pohlenz	
Caracterización parcial de proteasas digestivas del chucumite (Centropomus parallelus)4	19-427
NOTA CIENTÍFICA	
Ortega Tecuatl T. S., R. Arreola Alemón y R. Cuervo González	
Primer registro de Placozoa para el Golfo de México4	29-432
Índice del volumen 274	33-435
Índice de autores4	37-438

HIDROBIOLÓGICA

A Journal from Departamento de Hidrobiología de la Universidad Autónoma Metropolitana- Iztapalapa

VOLUME INDEX 27, NUMBER 3 • 2017

	281-29
Siqueiros Beltrones D. A., U. Argumedo Hernández and O. U. Hernández Almeida	
ligh species diversity (H') of benthic diatoms in a coastal lagoon located within a natural protected are	a293-30
lernández O. E., A. Sentíes, K. M. Dreckmann, V. Cassano and M. T. Fujii	
Species diversity and biogeographical patterns of Laurencia sensu stricto (Rhodophyta) in the Atlantic Oce	an301-31
Palma Ortiz C. A., K. M. Dreckmann, M. L. Núñez Resendiz and A. Sentíes	
Genetic variation of <i>Meristotheca cylindrica</i> (Solieriaceae, Rhodophyta) in Campeche, Mexico	315-32
Maceda R., R. Tavera and E. Novelo	
Ecology of epiphytic cyanoprokaryotes inhabiting lotic environments in Cantera Oriente, Mexico City	327-33
Castillo S. O., S. G. Torres-Badajoz, C. A. Núñez-Colín, V. Peña-Caballero, C. H. Herrera M and J. R. Rodríguez-Núñez	éndez
Biodiesel production from microalgae: progress and biotechnological prospects	337-35
/illarreal-Cavazos D. A., L. E. Cruz-Suárez, M. Tapia-Salazar, M. Nieto-López, J. Gamboa A. Lemme and D. Ricque-Marie	-Delgado,
Effect of feces leaching on apparent digestibility coefficients of Pacific white shrimp	
Litopenaeus vannamei)	353-35
Garduño Dionate M., P. A. Pérez Velázquez, R. M. Lorán Núñez and F. R. Martínez Isunza	
Growth and mortality of <i>Macrobrachium tenellum</i> (Decapoda: Palaemonidae) in the San Pedro Mezquita River, Nayarit, Mexico	al 359-36
De la Lanza-Espino G. and F. J. Gutiérrez-Mendieta	
ntervals of non-conservative parameters in aquatic coastal systems of Mexico	
fee-Duarte J. A., B. P. Ceballos-Vázquez, E. Shumilin, K. Kidd and M. Arellano-Martínez	

Urcádiz-Cázares F. J., V. H. Cruz-Escalona, E. H. Nava-Sánchez and A. Ortega-Rubio

Classification of seafloor units based on the spatial distribution of superficial sediments in La Paz Bay,	
Gulf of California	99-409

Tapia-Salazar M., O. D. García-Pérez, M. G. Nieto-López, D. A. Villarreal-Cavazos, J. Gamboa-Delgado, L. E. Cruz-Suárez and D. Ricque-Marie

Evaluating the efficacy of commercially available	le aflatoxin binders for decreasing the effects of aflatoxicosis
on Pacific white shrimp Litopenaeus vannamei	

Jesús-Ramirez F., C. A. Álvarez-González, H. G. Nolasco-Soria, E. Peña, R. Martínez-García, S. Camarillo-Coop, K. Conway and C. Pohlenz

SCIENTIFIC NOTE

Ortega Tecuatl T. S., R. Arreola Alemón and R. Cuervo González	
First record of Placozoa from the Gulf of Mexico	429-432
Volume 27 index	433-435
Author index	

EDITORIAL (AL NÚMERO ESPECIAL DE SOMFICO)



La Sociedad Mexicana de Ficología, a través de su mesa directiva (2014-2016), organizó y llevó a cabo la III Reunión de la Sociedad Mexicana de Ficología y el Primer Encuentro Activo de Jóvenes Ficólogos, en la Ciudad de México durante los días 13 y 14 de Octubre de 2016. Como resultado de estos eventos, el presente número de la revista HIDROBIOLÓGICA presenta una selección de los trabajos presentados y aceptados que son representativos de las áreas tradicionales y emergentes, que configuran el rostro de la ficología mexicana de este siglo.

La intención, desde un principio, fue publicar alrededor de diez contribuciones complementadas con dos más. Una de ellas, en la que se tratara de sintetizar lo presentado, comentado y discutido en las mesas de trabajo, y en el panel organizado. Esto, bajo la pluma precisamente de dos jóvenes ficólogas, con la finalidad de preservar esa visión fresca y de trabajo colaborativo que, se dio durante estas sesiones.

La segunda, una visión, de los que aquí escriben, del estado que guarda el trabajo ficológico en México en relación con los temas de los trabajos presentados y de los puntos tocados por los asistentes durante las discusiones surgidas durante los eventos. Estos aspectos incluyen por supuesto el estado en el estudio de organismos, ambientes y regiones geográficas; la aproximación metodológica para contestar las preguntas formuladas y la publicación de los resultados de manera inmediata o a largo plazo. Pero también aspectos intrínsecos al trabajo cotidiano y a las visiones prevalecientes en el gremio mexicano que influyen en la formación de nuevos ficólogos. Un tema recurrente fue la ausencia de un Congreso Mexicano de Ficología, como los que se habían venido realizando por las mesas directivas previas (1993-2013).

Sin embargo y a sugerencia de la Editora en Jefe, que consideró que estas dos últimas contribuciones no respondían al formato y perfil de HIDROBIOLÓGICA, decidimos presentar la primera como un Editorial que se muestra a continuación y para la segunda, buscaremos otro foro para difundir estas consideraciones e inquietudes.

De los manuscritos recibidos, solo seis fueron aceptados y se presentan al inicio del presente número. Las ediciones de HIDROBIOLÓGICA están conformadas por una cantidad mayor de contribuciones por lo que este número ha sido complementado con otros artículos no relacionados con el encuentro.

Sirva pues esta recopilación, como un reconocimiento a aquellos que confiaron en que una reunión con el formato utilizado, podía recuperar las inquietudes actuales y futuras de una Ficología mexicana, en donde los jóvenes ficólogos tienen mucho que decir y criticar para reconocer y corregir, en su caso, el camino andado y perfilar una disciplina acorde con el siglo XXI.

Editores asociados del número especial SOMFICO

Francisco F. Pedroche Presidente SOMFICO (UAM, Unidad Lerma)

Abel Sentíes Secretario General-SOMFICO (UAM, Unidad Iztapalapa)

Eberto Novelo Secretario Difusión, Extensión-SOMFICO (Facultad de Ciencias, SOMFICO-UNAM)

EDITORIAL (SOBRE EL ENCUENTRO ACTIVO DE JÓVENES FICÓLOGOS)

Los congresos son espacios en los que se busca la difusión y/o el intercambio de conocimientos, generalmente a través de exposiciones de trabajos en desarrollo o ya concluidos. Usualmente, es asumido que esta difusión o intercambio es suficiente para favorecer un trabajo colectivo que permite potencializar nuestro quehacer ficológico. Sin embargo, las dinámicas mismas de los eventos rara vez generan espacios para una construcción colectiva al ser más importantes las exposiciones que los espacios de participación como los diálogos, los debates o los cuestio-namientos. Esto es muy evidente cuando las sesiones de preguntas son reducidas o eliminadas por "falta de tiempo".

Tras recibir la invitación de la mesa directiva en curso de la Sociedad Mexicana de Ficología (SOMFICO), para proponer y desarrollar una alternativa a los tradicionales Congresos Nacionales de Ficología que centrara la atención en las nuevas generaciones de ficólogos, nos propusimos construir para el evento, un espacio enfocado en fortalecer las bases para el desarrollo del trabajo colectivo, es decir crear un espacio para conocernos, compartir nuestras ideas, opiniones y preocupaciones sobre distintos ejes de la ficología. Paralelamente buscamos que las dinámicas que propusiéramos fueran basadas en los intereses, experiencias y preocupaciones de los participantes.

Aquí presentamos las dinámicas que llevamos a cabo, los resultados inmediatos obtenidos y una breve crítica de lo ocurrido, con el fin de favorecer la reflexión y discusión sobre la forma en que son desarrolladas las actividades académicas en la ficología.

Como primera etapa de la organización, decidimos convocar a los ficólogos del país a participar en el encuentro enviando los resúmenes de sus trabajos y contestando una serie de preguntas a través de un formulario de Google. A través de esta encuesta, buscamos iniciar un diálogo con los interesados en participar. Si bien algunas respuestas fueron tomadas por los participantes como un requisito burocrático, la mayoría aportó información que consideramos pertinente subrayar. Los resultados de la encuesta pueden ser consultados en: (https:// doi.org/10.6084/mg-figshare.4645537)

Las primeras preguntas de la encuesta buscaron conocer los conceptos fundamentales para el desarrollo y entendimiento de los trabajos de los ficólogos mexicanos. Las respuestas mostraron que para los asistentes, los conceptos fundamentales más recurrentes de las investigaciones (taxonomía, diversidad, ciclos de vida, morfología, comunidad, crecimiento, diatomeas, especie, fitoplancton y flora) no son entendidos de la misma manera en el conjunto de la comunidad ficológica (ver recuadro). Globalmente, la razón expuesta en la encuesta para esta falta de consenso es que los conceptos dependen del enfoque del investigador y del estudio, incluyendo la forma o método en la que se obtiene la información. Simultáneamente, algunos participantes expusieron que varios conceptos son tomados de otras áreas de investigación o que provienen de trabajos con otros organismos que no son algas, lo que provoca una discrepancia en el entendimiento o la interpretación de los conceptos.

La encuesta incluyó también una pregunta acerca de los retos que los participantes han tenido para el desarrollo de su investigación. Las respuestas fueron diversas y los puntos recurrentes fueron la falta de información e investigación previa sobre su tema de estudio, el cambio constante sobre la taxonomía de las especies, la dificultad de difundir los resultados de las investigaciones, de dominar ciertas técnicas, de explicar los resultados, de integrar distintas disciplinas en los proyectos y de conseguir el financiamiento para los proyectos.

ácidos grasos actividad biológica actividad fotosintética algas rojas abundancia ambiente ambientes dinámicos ambientes subaéreos análisis antimicrobianos antioxidantes aplicación biotecnológica áreas de endemismo asimilación de carbono bentos biodeterioro del patrimonio edificado biodiesel biodiversidad biogeografía biología molecular ciclos de vida bioguímica biotecnología biotoxinas marinas capacidad antioxidante cianobacterias clasificación de las Euglenophytas composición bioquímica composición COMUNIDAD condiciones conocimiento de algas en México conocimiento tradicional conservación contaminación convergencias crecimiento cultivo celular cultivos de microalgas desarrollo del problema diatomea diatomeas psamófilas dinoflagelados nocivos dinoflagelados discriminación isotópica diversidad de especies diversidad de macroalgas en ambientes marinos diversidad ecofisiología ecología especie estirpes estrés oxidativo estructura genética eutrofización expresión enzimática factores ambientales falta de estudios en Zacatecas ficoquímica filogenia fisiología fitoplancton flora florecimientos algales florecimientos algal nocivo florecimientos macroalgales florística fluctuaciones climáticas genética de poblaciones genotipo impacto ambiental importancia ecológica ingeniería genética isótopos estables de carbono láminas macroalgas mareas rojas metafiton metodologías de muestreo métodos de colecta e indentificación microalgas nocivas morfoespecie morfología nomenclatura paleolimnología PCR-DGGE pérdida de cuerpos de agua planteamiento del problema potencialidad producción de ácidos orgánicos que solubilizan la roca productos naturales protistas en ambientes marinos reclutamiento redes haplotípicas región 16S-23S ITS rRNA respuestas fisiológicas riqueza semejanzas entre estados de la República Mexicana sitios de muestreo solución del problema taxonomia toxicidad toxinas toxinología sucesión estacional suceptibilidad magnética taxocenosis variabilidad climática variabilidad variación espacio-temporal variación química de las algas vibrio

Conceptos fundamentales para el entendimiento de las investigaciones de los participantes del encuentro. Las palabras subrayadas corresponden a los conceptos que de acuerdo con al menos un participante no son entendidos de la misma manera en la comunidad de ficólogos mexicanos. El tamaño de fuente corresponde a la frecuencia en que el concepto fue referido en la encuesta.

Las respuestas a la encuesta fueron las bases para proponer los temas de las mesas de discusión durante el encuentro (¿Las diferencias conceptuales entre los ficólogos son explicadas por su perspectiva y por la forma en la que obtienen la información? y Multidisciplinariedad y su integración en el estudio de las algas en México) e invitar a unos participantes (microexpositores) a preparar unmicroensayo oral para aportar insumos a la discusión durante la dinámica. Como la disposición espacial de las personas influye en las relaciones que se construyen entre ellas durante las conversaciones, propusimos durante la dinámica de las mesas de discusión romper la distribución espacial de tipo auditorio acostumbrada en los foros científicos, y situarnos de manera circular y a un mismo nivel para favorecer que todos nos pudiéramos ver y escuchar y por lo tanto tener una participación activa durante la discusión. En el seno de las mesas, la discusión fue facilitada por los cinco o seis microexpositores, dos moderadores, una persona encargada de llevar el turno de palabra, otra el tiempo de participación, y una o dos personas encargadas de realizar la relatoría de la mesa. (Las relatorias pueden ser consultadas en la segunda edición de resúmenes del encuentro, en la página web de la SOMFICO).

Ciertamente este tipo de dinámica colectiva fue difícil en la primera mesa y ciertas personas no tuvieron una percepción favorable hacia ella, pero la segunda mesa causó menos dificultades técnicas y de diálogo, de tal forma que gracias a estas dinámicas pudimos conocernos entre los participantes y surgieron varias propuestas que están siendo trabajadas como un grupo en la red social de Facebook y el Registro nacional de ficólogos a cargo de la doctorante Cristina Landa Cansigno. Con base en estos resultados, consideramos que este tipo de dinámica resulta muy favorable para crear lazos que superen la rigidez con la que comúnmente se desarrollan las exposiciones en los congresos tradicionales, por lo que sugerimos contemplarlas para futuros eventos académicos.

Otra dinámica que desarrollamos fue el panel, que, a diferencia de las mesas de discusión, consistió en la exposición de tres estudiantes de doctorado y de post-doctorado en un espacio con disposición clásica de tipo auditorio. Sin embargo, los panelistas, formados en un área ajena a la ficología, fueron invitados a enfatizar en su exposición algunos aspectos subjetivos de su trabajo: su experiencia personal y los retos frente a los que se han encontrado. Este énfasis permitió que durante las ponencias, la relación entre los expositores y los espectadores fuera holgada y que hubiera un espacio para discutir formas y herramientas de trabajo para el estudio de ciertos grupos de algas como son las diatomeas. Así, consideramos que esta actividad fue útil para comprender mejor la importancia y las dificultades del trabajo multidisciplinario en el estudio de las algas.

Los trabajos de los expositores registrados fueron presentados exclusivamente en modalidad cartel (los resúmenes pueden ser consultados en el libro de resúmenes del encuentro en la página web de la SOMFICO) del tal forma que los participantes pudieran tener más confianza y tiempo para discutir sobre los temas y cuestionamientos particulares de sus proyectos, y por lo tanto favorecer la formación y el fortalecimiento de lazos por afinidades comunes. Simultáneamente, las exposiciones y los carteles fueron evaluados por el conjunto de personas registradas a través un sistema de recompensas mediante etiquetas autoadhesivas que cada asistente otorgó a los trabajos que consideró mejores. Estas dinámicas permitieron hacer que los expositores mostraran su entusiasmo sobre sus trabajos y que todos los participantes fueran atentos y cuidadosos durante las exposiciones (para recompensar adecuadamente los trabajos). Sin embargo, algunos participantes se sintieron defraudados de los resultados de las puntuaciones al haber ganadores dentro del comité organizador y sus colaboradores, por lo que



Evaluación del estado trófico en los sistemas fluvio-lagunares Pom-Atasta y Palizada del Este, Campeche, México

Evaluation of trophic status in the Pom-Atasta and Palizada del Este Fluvial-lagoon systems Campeche, Mexico

Rocío E. Muciño-Márquez¹⁻³, Arturo Aguirre-León² y María Guadalupe Figueroa-Torres³

¹ Posgrado en Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco. Calzada del Hueso, CDMX, 04960. México ² Laboratorio Ecología Costera y Pesquerías, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco. CDMX, 04960. México ³ Laboratorio de Ficología, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco. CDMX, 04960. México e-mail: mucinoelizabeth@gmail.com *Recibido:* 31 de mayo de 2017. *Aceptado:* 10 de noviembre de 2017.

-Muciño-Márquez R. E., A. Aguirre-León y M. G. Figueroa-Torres. 2017. Evaluación del estado trófico en los sistemas fluvio-lagunares Pom-Atasta y Palizada del Este,

RESUMEN

Antecedentes. Uno de los problemas más severos en los sistemas costeros es la eutrofización, proceso de origen antrópico que genera principalmente el aumento de las concentraciones de nitrógeno, fósforo y materia orgánica en cuerpos de agua. En México, el índice más utilizado para determinar el estado trófico de sistemas costeros y marinos es el TRIX. **Objetivos**. Evaluar el estado trófico de los sistemas fluvio-lagunares Pom-Atasta (PA) y Palizada del Este (PE) por medio del índice TRIX. **Métodos**. Se realizó un muestreo en cada sistema fluvio-lagunar en diez sitios, en diferentes meses, entre los años 2005 y 2014, por medio del cual se recolectaron muestras de agua para medir algunas variables físicas (oxígeno disuelto) y químicas (componentes nitrogenados y fósforo reactivo), así como clorofila *a*, tanto en la superficie como en medio fondo. Se midió la transparencia del agua y la profundidad de los sitios. Se utilizó el índice TRIX para analizar el estado trófico de los sistemas. **Resultados**. Los sistemas fluvio-lagunares PA y PE se caracterizaron como sistemas oligotróficos con tendencia mesotrófica. **Conclusiones**. Es necesario continuar con los monitoreos tanto de la calidad del agua de los sistemas POm-Atasta y Palizada del Este como de las concentraciones de clorofila *a* para establecer tendencias estacionales o anuales del estado trófico en que se encuentran estos sistemas.

Palabras clave: Calidad del agua, golfo de México, índice trófico, sistemas fluvio-lagunares.

ABSTRACT

Background. One of the most severe problems in coastal systems is eutrophication. It is a process of anthropic origin that mainly increases the concentrations of nitrogen, organic matter, and/or phosphorus in bodies of water. The trophic index most used in Mexico to determine the state of coastal or marine systems is the TRIX index. **Goals**. To evaluate the trophic state of the Pom-Atasta (PA) and Palizada del Este fluvial-lagoon systems through the TRIX index. **Methods**. During different months from 2005 to 2014, water samples were collected at ten sampling sites for each fluvial-lagoon system to evaluate a number of physical variables (dissolved oxygen), chemicals (nitrogenous components and reactive phosphorus), and chlorophyll *a*, both on the surface andeat middle depths. The TRIX index was used to analyze the trophic state of the systems. **Results**. The PA and PE systems were characterized as oligotrophic systems with mesotrophic tendency. **Conclusions.** We recommend that the water quality and the magnitude of cholorophyll *a* at the Pom-Atasta and Palizadadel Este systems continue to be monitoredain order to establish seasonal or annual trends of the trophic state of these systems.

Key words: Gulf of Mexico, fluvial-lagoon systems, trophic index, water quality.

Campeche, México. Hidrobiológica 27 (3): 281-291.

INTRODUCCIÓN

Uno de los problemas más severos en los sistemas costeros es la eutrofización. Este proceso de origen antrópico genera, principalmente, el aumento de las concentraciones de nitrógeno, fósforo y materia orgánica en los cuerpos de agua (Hallegraeff, 1993; Herrera-Silveira *et al.*, 2011). El resultado de dicho incremento son cambios en la composición específica y abundancia de las comunidades fitoplanctónicas que habitan tales cuerpos (Andersen *et al.*, 2006; Ortega-Murillo *et al.*, 2010).

Para estimar el estado trófico o la calidad del agua de un ecosistema se han utilizado indicadores como la concentración de oxígeno disuelto (Justic, 1991; Viaroli & Christian, 2003), el nitrógeno total (NT), el fósforo total (PT) (Karydis *et al.*, 1996; Ignatides *et al.*, 1992), la clorofila *a* (Carlson, 1977; Contreras-Espinoza *et al.*, 1996) y la productividad primaria (Nixon, 1995). Estos indicadores han sido considerados en el diseño de diferentes índices tróficos, como el TRIX (índice del Estado Trófico) (Vollenweider *et al.*, 1998); el AZCI (Arid Zone Coastal Water Quality Index), también conocido como ICAC (índice de calidad ambiental costero) (Mendoza-Salgado, 2005), y el TWQI (índice de calidad del agua) (Giordani *et al.*, 2009). Estos índices son herramientas que proporcionan información sinóptica sobre el estado trófico de los ecosistemas, lo cual permite generar criterios ecológicos para definir acciones de gestión y conservación de estos ambientes (Pinilla *et al.*, 2010).

En México, los estudios para determinar el estado trófico de sistemas costeros son escasos; la mayoría describe únicamente la distribución de la concentración de nutrientes y sólo algunos usan índices para determinar este estado (Alonso-Rodríguez *et al.*, 2000; López-Cortés *et al.*, 2003; Aranda-Cirerol, 2004; Ayala-Rodríguez, 2008; De la Lanza Espino *et al.*, 2008; Escobedo-Urías, 2010). El índice trófico más utilizado en México para ecosistemas costeros y marinos es el TRIX, el cual incluye variables de presión como nutrientes, oxígeno disuelto y Cl *a*, esta última como un indicador de biomasa fitoplanctónica (Vollenweider *et al.*, 1998; Giovanardi & Vollenweider, 2004; Escobedo-Urías, 2010).

Actualmente, no se cuenta con estudios sobre el estado trófico de los sistemas fluvio-lagunares Pom-Atasta y Palizada del Este (Herrera-Silveira *et al.*, 2011). El objetivo de este trabajo fue evaluar el estado trófico de ambos sistemas utilizando el índice TRIX.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio. El sistema Pom Atasta se encuentra en la porción occidental de la Laguna de Términos, entre los 18°30' y 18°35' N y los 91°50' y 92°20' O. Su ubicación geográfica queda comprendida dentro de la llanura costera del sur del golfo de México, formada por los ríos Grijalva y Usumacinta (Gutiérrez-Estrada *et al.*, 1982). Este sistema, cuya superficie aproximada es de 190 km², presenta un gradiente estuarino con un intervalo de salinidad de O a 28 que varía según la época climática (Aguirre-León & Díaz-Ruiz, 2000). La temperatura del agua oscila entre 25.6 y 32.6 °C, con una transparencia de 20 a 83.3% y una profundidad de 1.2 a 3.5 m. El oxígeno disuelto presenta variaciones amplias, desde 4.2 hasta 8.2 mg·L⁻¹ (Ramos-Miranda *et al.*, 2006; Aguirre-León *et al.*, 2010).

El sistema Palizada del Este se localiza en la porción suroeste de la Laguna de Términos, entre los 18°29'13" y 18°29'04" N y los 91°44'36" y 91°51'31" O (Figs. 1a-c). Su superficie aproximada es de 89 km² y presenta un intervalo de salinidad promedio de 0 a 8, con una tempe-

ratura del agua de 22 a 31 °C, una transparencia de 48 a 66% y una profundidad de 0.8 a 3.0 m. La concentración de oxígeno disuelto es de 1.18 a 9.12 mg·L⁻¹. En su cuenca drenan cuatro ríos perennes (Ayala-Pérez, 2006).

Toma de muestras. Se eligieron diez sitios de muestreo para cada sistema fluvio-lagunar (Figs. 1b-c). Para la selección de cada sitio se consideró su ubicación (en las entradas de agua continental por diferentes aportes de ríos y arroyos), la entrada de agua marina y la mezcla de estas aguas al interior de dichos sistemas, así como el tipo de sedimento, la vegetación acuática, el gradiente fisicoguímico y la conexión con la Laguna de Términos (Figs. 1b-c). Se recolectaron muestras de agua en 2005 (octubre), 2006 y 2007 (febrero y octubre), 2008 (abril y noviembre), 2009 (marzo), 2011 (febrero y octubre), 2012 (febrero), 2013 (febrero y septiembre) y 2014 (febrero), utilizando una botella Van Dorn (muestreador horizontal con una capacidad para 2.2 L), tanto en superficie como a medio fondo; se midió la concentración de oxígeno disuelto mediante un termohalino-conductivímetro modelo YSI 85, y se evaluaron los componentes nitrogenados y el fósforo reactivo. Se midió la transparencia del agua y la profundidad del sitio con un disco de Secchi (30 cm de diámetro), que fue marcado cada 10 cm. En el laboratorio se determinaron las concentraciones de los componentes nitrogenados, fósforo reactivo y clorofila a.

Análisis de nutrientes y clorofila *a*. Para determinar la clorofila *a* se siguió la técnica de Parsons *et al.* (1992), filtrando 250 mL de agua de cada sitio de muestreo con filtros de fibra de vidrio GF-F Whatman, los cuales se congelaron a -20 °C para su posterior análisis. Para la cuantificación de sales nutritivas se utilizó un espectrofotómetro HACH Odyssey DR-2500 y kits de prueba para fósforo reactivo (Método 8178), nitritos (Método 10019), nitratos (Método 8171) y amonio (Método 8155) (Water Analysis Handbook, 2015).

Índice del estado trófico (TRIX). Para la estimación del estado trófico de los sistemas PA y PE se utilizó el índice TRIX (Vollenweider *et al.*, 1998) con la finalidad de analizar su condición ambiental y estimar el grado de deterioro en que se encontraban dichos sistemas durante el periodo de estudio. Este índice combina logaritmos de cuatro variables: Cl *a*, NID ($NO_2+NO_3+NH_4$), PT (fósforo total) y el valor absoluto de la desviación del porcentaje de saturación de oxígeno disuelto.

La fórmula del índice TRIX es:

TRIX = (Log 10 (Cl $a \times aD\%0 \times NID \times PT$) + k) / m

Donde cada uno de los cuatro componentes representa un estado trófico variable, e incluye los siguientes factores:

- a) Factores que son expresión directa de la productividad: Cl a = concentración de clorofila a, en μg·L⁻¹ aD%0 = valor absoluto de la desviación del porcentaje de saturación de oxígeno disuelto, esto es, 100 - %0D.
- b) Factores nutricionales:
 NID = nitrógeno inorgánico disuelto, en μg·L⁻¹
 PT = concentraciones de fósforo, en μg·L⁻¹.

Las constantes k = 1.5 y m = 12/10 = 1.2 son valores de escala introducidos para ajustar el valor límite más bajo del índice y la extensión de la escala trófica relacionada; es decir, el índice TRIX tiene valores entre 0 y 10 y cubre cuatro estados tróficos y de la calidad del agua: alta, buena, pobre y mala (Tabla 1) (Vollenweider *et al.*, 1998; Penna *et al.*, 2004; Salas *et al.*, 2008; Barraza-Guardado *et al.*, 2014).



Figuras 1a-c. Localización geográfica de los sistemas fluvio-lagunares en el sur del golfo de México, en las inmediaciones de la Laguna de Términos, Campeche, México. b) Laguna Pom Atasta (PA). c) Laguna Palizada del Este (PE).

Escala TRIX	Nivel de estado trófico	Estado de la calidad del agua	Características del agua
0-4	Oligotrófico	Alta	Aguas poco productivas, nivel trófico bajo
4-5	Mesotrófico	Buena	Agua moderadamente productiva, nivel trófico medio
5-6	Eutrófico	Mala	Agua entre moderada y altamente productiva, nivel trófico alto
6-10	Hipertrófico	Pobre	Agua altamente productiva, nivel trófico más alto

Tabla 1. Nivel trófico y calidad del agua asociado con el índice TRIX.

Análisis estadístico. Para estimar diferencias estadísticas entre los diferentes sitios, los dos niveles de profundidad, los diferentes meses y años, y entre ambos sistemas, se utilizó el análisis de varianza no paramétrico de Mann-Whitney (Bland & Altman, 1994) mediante el programa STATISTICA 9.

RESULTADOS

Profundidad y transparencia. En el sistema PA la profundidad promedio durante el periodo de estudio fue de 2.04 \pm 0.4 m, y la máxima, de 3.5 m en octubre de 2006 en el sitio 8, y la mínima, de 1.25 m en febrero de 2007 en el sitio 1 (Fig. 2a). Los sitios 8 a 10 son los más profundos en octubre, y los menos profundos abarcan los sitios 1 a 6 en febrero. En PE, la profundidad promedio fue de 2.0 \pm 0.3 m; en el sitio 9 en octubre de 2008 se reporta la profundidad máxima de 3 m y la mínima de 0.3 m en el sitio 1 en febrero de 2007 (Fig. 2a). En febrero, marzo y abril los sitios 3 a 5 fueron los más profundos en ambos sistemas. En septiembre, octubre y noviembre los sitios más profundos fueron 7 a 10. La profundidad no mostró diferencias significativas entre sitios, meses, años ni sistemas (p > 0.05).

En el sistema PA la transparencia del agua, medida como la profundidad de desaparición del disco de Secchi, presentó un promedio de 0.75 ± 0.3 m. El valor máximo fue de 2.16 m en el sitio 9, y el mínimo, de 0.2 m en el sitio 1 en abril de 2008 (Fig. 2a). El sistema PE presenta un promedio de 1.0 ± 0.23 m. El valor máximo de 1.3 m se alcanzó en octubre de 2005 en el sitio 8 y en el sitio 9 en 2011, y el mínimo de 0.1 m en el sitio 1 en octubre de 2005 (Fig. 2a). Se observó que los sitios 1 a 6 fueron los más turbios en ambos sistemas; sin embargo, en PE todos los sitios fueron turbios en octubre de 2007. La transparencia no mostró diferencias significativas entre sitios, meses, años ni sistemas (p > 0.05).

Porcentaje de saturación de oxígeno disuelto. En el sistema PA el porcentaje de saturación de oxígeno durante el periodo de estudio (2005-2014) fue de $93 \pm 1.5\%$. En febrero de 2011 se registró el máximo valor (93%) en la estación 5 en superficie, y en enero de 2007 el mínimo (1.5%) en la estación 1 en medio fondo (Fig. 2b). En el sistema PE el porcentaje de saturación de oxígeno fue de $91 \pm 1.1\%$. En abril de 2008 se reportó el máximo valor (93%) en la estación 3 en superficie, y en octubre de 2005 el mínimo (1.1%) en las estacions 3 y 7 a medio fondo (Fig. 2b). Las concentraciones de oxígeno no mostraron diferencias significativas entre sitios, meses, años ni sistemas (p > 0.05), pero sí entre las dos profundidades (p < 0.05), lo cual significa degradación de materia orgánica en las zonas más cercanas al sedimento. En ambos sistemas se registraron las concentraciones mínimas en medio fondo, hasta llegar a valores que indicaron un proceso de hipoxia (<2 mg·L⁻¹ 0,).

Nitrógeno inorgánico disuelto (NID). En los sistemas PA y PE, en octubre de 2006 y febrero de 2007 fueron registradas las máximas concentraciones (4 a 7 μ M) en medio fondo. En PA el valor promedio fue de 0.9 \pm 0.3 μ M entre 2005 y 2014. En febrero de 2007 se registró el máximo valor (5.6 μ M) en la estación 7 en medio fondo, y en noviembre de 2008 se registraron los valores mínimos (0.1 μ M) en todas las estaciones en ambos niveles (Fig. 2c). En PE el promedio de NID fue de 1.3 \pm 0.4 μ M. En octubre de 2006 se registró el máximo valor (7.2 μ M) en la estación 3 en medio fondo, y en noviembre de 2008 se registraron los mínimos (0.1 μ M) en la estación 4 μ M. En octubre de 2006 se registró el máximo valor (7.2 μ M) en la estación 3 en medio fondo, y en noviembre de 2008 se registraron los mínimos (0.1 μ M) en todas las estaciones en medio fondo. Del 2008 al 2014, se registraron valores mínimos (0.1 a 1.2 μ M) en la columna de agua, siendo similares en ambos sistemas (Fig. 2c). El (NID no presentó diferencias significativas (p >0.05) entre sitios, estratos, meses, años ni sistemas.

Componentes del NID. Durante el periodo de estudio en ambos sistema, se observó que el amonio fue el que más contribuyó, al aportar dl 56 a 98% (Tabla 2); los mayores valores (6.8 a 1.1 μ M) de este nutriente se registraron en octubre de 2006 y febrero y octubre de 2007. No obstante, los valores máximos, sólo se encontraron en medio fondo. En PA el máximo valor (4.9 μ M) se registró en febrero de 2007 en la estación 7 (Fig. 2d). En PE el máximo valor (6.8 μ M) se registró en octubre de 2006 en la estación 3 (Fig. 2d). Los mínimos valores (0.1 a 1.2 μ M) en la columna de agua en ambos sistemas fueron similares de noviembre de 2008 a febrero de 2013 (Fig. 2d). El análisis estadístico no indicó diferencias significativas entre sitios, estratos, meses, años ni sistemas (p > 0.05).

Otro componente del NID fue el nitrato. En PA y PE las máximas aportaciones fueron del 71 a 91% en noviembre de 2008, marzo de 2009 y febrero de 2013 (Tabla 2). En marzo de 2009 se registraron los máximos valores (0.4 a 0.9 μ M) para todos los sitios de PA (Fig. 3a). En PE en noviembre de 2008 se registró el máximo valor (1.5 μ M) para la estación 7 en superficie (Fig. 3a). En octubre de 2007 no se detectó este nutriente En ambos sistemae. El análisis estadístico no indicó diferencias significativas entre sitios, estratos, meses, años ni sistemas (p > 0.05).

El tercer componente del NID, el nitrito, presentó concentraciones constantes y bajas con respecto al nitrato y amonio (Tabla 2). En ambos sistemas los mayores valores (0.3 a 0.6 μ M) de este nutriente se registraron en octubre de 2006 y febrero de 2007. En PA el máximo valor (0.5 μ M) se registró en octubre de 2006, en el sitio 8 en ambos estratos (Fig. 3b). En PE se registró el máximo valor (0.6 μ M) en la estación 3 en medio fondo (Fig. 3b). Este nutriente no se detectó en PE en abril y noviembre de 2008 y en PA en 2011, 2013 y 2014 (Fig. 3b). El análisis estadístico no indicó diferencias significativas entre sitios, estratos, meses, años ni sistemas (p > 0.05).



Figuras 2a-d. Variación de parámetros fisicoquímicos de la columna de agua en los sitios de muestreo de los sistemas lagunares de Campeche, México, Laguna Pom-Atasta (PA) y Laguna Palizada del Este (PE), de 2005 a 2014. a) Profundidad y transparencia del agua. b) Porcentaje de saturación de oxígeno disuelto. c) Concentración de nitrógeno inorgánico disuelto (NID). d) Concentración de amonio.







Figuras 4a-b. Variación mensual del índice del estado trófico TRIX en la columna de agua de los sistemas fluvio-lagunares de Campeche, México, de 2005 a 2014. a) Laguna Pom-Atasta (PA). b) Laguna Palizada del Este (PE).

Tabla 2. Porcentaje total de las formas nitrogenadas (nitritos (NO_2), nitratos (NO_3) y amonio (NH_4) de los años 2005 a 2014 en los sistemas Pom-Atasta (PA) y Palizada del Este (PE) de Campeche, México.

		Nitr	itos			Nitr	atos			Am	onio	
Profundidad / Fecha	S	5	I	F	;	S	I	F	:	S		F
	PA	PE	PA	PE	PA	PE	PA	PE	PA	PE	PA	PE
Octubre 2005	9	8	4	4	29	19	27	18	62	73	68	78
Febrero 2006	6	4	5	4	33	27	30	25	61	69	66	71
Octubre 2006	24	16	7	5	52	21	43	20	23	63	50	75
Febrero 2007	10	4	4	5	22	19	17	17	69	77	79	78
Octubre 2007	1	0,2	3	1	1	0,6	1	1	98	99	96	98
Abril 2008	1	1	1	1	10	3	8	2	90	96	91	96
Noviembre 2008	9	43	10	22	79	36	79	56	12	22	11	22
Marzo 2009	5	9	6	4	89	86	91	92	6	4	3	3
Febrero 2011	4	3	10	7	34	49	33	35	62	48	56	59
Octubre 2011	9	4	4	4	44	52	55	51	47	44	41	45
Febrero 2012	11	24	31	7	50	50	42	51	39	27	26	42
Febrero 2013	13	7	5	5	71	82	80	83	15	11	15	12
Septiembre 2013	2	1	2	2	19	29	20	32	79	69	78	66
Febrero 2014	3	1	2	2	30	26	31	33	63	73	67	64

S = Superficie, F = Medio fondo.

Fósforo Reactivo: De este nutriente se observaron pulsos evidentes en ambos sistemas. En PA se registraron en octubre de 2007 para las estaciones 1 y 4 (7.1 μ M). En el mismo mes, pero de 2006, se obtuvieron mínimos valores en todos los sitios a nivel superficie (Fig. 3c). En PE los pulsos se registraron en octubre de 2007 para las estaciones 1 y 4 (7.1 μ M) en superficie y en febrero de 2012 para la estación 1 (5 μ M) en superficie y (4.3 μ M) para medio fondo (Fig. 3c). Las concentraciones de fósforo reactivo no mostraron diferencias significativas entre sitios, estratos, meses, años y ni sistemas (p > 0.05).

Clorofila *a*: En el sistema PA se registró el valor más alto en febrero de 2012, con 43 mg·m⁻³ en la estación 3 en superficie (Fig. 3d). En PE el máximo valor se registró en marzo de 2009 en la estación 7, con 37.9 mg·m⁻³ en superficie (Fig. 3d). En ambos sistemas fueron registradas concentraciones bajas de 0.1 - 2 mg·m⁻³ en octubre de 2008, abril de 2009, febrero de 2011, septiembre de 2013 y febrero de 2014 (Fig. 3d). Las concentraciones de clorofila *a* mostraron diferencias significativas entre sitios, estratos, años y sistemas (p > 0.05).

Índice TRIX: Los valores obtenidos mediante este índice (0. a 3.9) en ambos sistemas permitieron clasificarlos como oligotróficos (Fig. 4). Sin embargo, se observó que en octubre de 2005, febrero y octubre de 2006 y febrero de 2007, valores de 4, tendieron a un estado mesotrófico en ambos niveles (Fig. 4).

DISCUSIÓN

Con base en la aplicación del índice trófico TRIX en los sistemas fluviodeltáicos Pom-Atasta y Palizada del Este, se determinó que ambos se caracterizaron como oligotróficos con tendencia a ser mesotróficos, dado el estado trófico en el que se encontraron durante el periodo de estudio. El estado oligotrófico corresponde a una baja productividad en biomasa fitoplanctónica, poca concentración de nutrientes y alta transparencia del agua (Glibert & Burkholder, 2006). Al respecto, Herrera-Silveira *et al.* (2011) estimaron el estado trófico de Pom-Atasta, indicaron que tiende a ser meso-eutrófico debido a que presenta altas concentraciones de nutrientes, principalmente fósforo; sin embargo, los autores utilizaron datos de otros trabajos para evaluar el estado trófico de este sistema y no mencionan fechas ni temporadas de análisis, por lo cual sus resultados no son del todo comparables con los del presente estudio.

De acuerdo con los valores de nutrientes obtenidos en los sistemas PA y PE ambos quedan incluidos en el intervalo establecido en los criterios ecológicos de calidad del agua de la norma CE-CCA-001/89. Esta norma establece tales criterio con base en las concentraciones de nutrientes permitidas en los cuerpos de agua aptos para ser utilizados como fuente de abastecimiento de agua potable, para riego agrícola, acuacultura, o la protección de la vida acuática (SEDUE, 1989). Al respecto, Ruiz-Marín et al. (2009) reportaron que en Pom-Atasta hay niveles de fósforo mayores (2.0-3.5 mg·L-1), que no son considerados seguros para el ambiente. Además, detectaron concentraciones altas de coliformes fecales (1.3-26.0 MPN 100 m) originadas por las aguas residuales urbanas que se descargan, sin tratamiento, hacia dicho sistema. En el río Palizada y en los jagüeyes se han detectado descargas de aguas residuales urbanas, y reporando concentraciones altas de coliformes fecales (2-2400 MPN 100 Ll), por lo que sus aguas no son aptas para consumo humao, ni para actividades como la natación y la pesca (Mendoza-Vega et al., 2015). De acuerdo con el criterio de Crites

y Tchobanoglous (2001), los valores bajos en las relaciones nitrógeno y fósforo encontradas en este estudio, son indicadores de entrada de aguas residuales urbanas al cuerpo acuático, como están sujetos los sistemas PA y PE (Ruiz-Marín et al., 2009; Mendoza-Vega et al., 2015). La presencia de aguas residuales urbanas genera menores niveles de oxígeno por acción bacteriana a causa de la degradación del material orgánico, creando altos valores redox negativos que resultan en niveles bajos de nitritos y altos valores de amonio (Masters & Ela, 2007), como lo encontrado en los sistemas estudiados, los cuales, en ciertos meses, tuvieros valores menores a 2 µM de los compuestos nitrogenados y del fósforo reactivo. Los valores promedio observados de nitrito, nitrato y amonio registrados en diferentes meses del año en PA y PE son inferiores a los reportados por Contreras-Espinoza et al. (1996), Herrera-Silveira et al. (2002) y Ramos-Miranda et al. (2006) en lagunas costeras del sur del golfo de México. Estos autores mencionan que hay una entrada importante de compuestos nitrogenados de origen antropogénico. Los valores de nutrientes registrados de este trabajo son similares a los reportados en otros estudios para la Laguna de Términos (Yáñez-Arancibia & Day, 2005; Ramos-Miranda et al., 2006; Poot-Delgado, 2016).

La concentración de oxígeno disuelto queda incluida en el intervalo permitido por los criterios de la NOM-001-ECOL-1996; sin embargo, en PA y PE se registraron valores que indican un proceso de hipoxia (<2 mg·L⁻¹ 0₂) (Drabrowski *et al.*, 2004). No obstante, la saturación de oxígeno sugiere una alta actividad de los productores primarios en la columna de agua que provoca cambios en la calidad de ésta (Justic, 1991; López-Cortés *et al.*, 2003), relacionados con los florecimientos fitoplanctónicos (Martínez-López *et al.*, 2006; Hakspiel-Segura, 2009; De la Lanza Espino *et al.*, 2008; Escobedo-Urías, 2010). Esta podría ser una de las causas de los altos valores de oxígeno disuelto, ya que se estimaron altas concentraciones de clorofila *a* (43 mg m⁻³) en los sistemas PA y PE.

La clorofila *a* permite determinar la cantidad total de biomasa fitoplanctónica presente en un momento dado, lo cual refleja la calidad determinada de agua; además, es empleada como un indicador del estado trófico de un ecosistema acuático. Asimismo, la concentración de clorofila *a* es un indicativo confiable para la cuantificación y el seguimiento de las variaciones de dicha biomasa, que permite determinar la calidad del agua y la salud del ecosistema (Contreras *et al.*, 1994; De la Lanza Espino *et al.*, 2008). De acuerdo con el intervalo establecido por los criterios ecológicos de calidad del agua CE-CCA-001/89 y las concentraciones de clorofila *a* observadas en sistemas costeros del golfo de México (EPA, 1999), los valores observados en PA y PE durante el periodo de estudio no tienden a ser altos, como los reportados en zonas eutróficas (EPA, 1999; Herrera-Silveira *et al.*, 2011). En este sentido, Barreiro-Güemes & Aguirre-León (1999) reportaron para PA concentraciones que variaron de 10 a 26.4 mg·m⁻³ a lo largo del año.

La respuesta de los ecosistemas al enriquecimiento por nutrientes es un proceso continuo más que una condición estática o estado trófico (Cloern, 2001; Smayda, 2005; Glibert & Burkholder, 2006). Los resultados presentados en este estudio representan un nivel de avance; no obstante, es necesario seguir desarrollando estudios de largo plazo con la finalidad de observar los cambios en la variabilidad de las condiciones espaciales y temporales de los factores que determinan el estado trófico como el de los sistemas PA y PE en particular, considerando lo sugerido por Coelho *et al.* (2007).

Por otra parte, la alta variabilidad espacial y temporal de los parámetros analizados en ambos sistemas indican la importancia de desarrollar valores de referencia específicos como indicadores de eutrofización para cada tipo de ecosistema, considerando sus tendencias en escalas de tiempo para periodos de al menos 10 años, por lo que la normativa en materia de calidad del agua costera en México podría ser revisada y adecuada. Se sugiere que sea a nivel de los estados tróficos en los sistemas costeros donde se desarrollen los criterios específicos. Este criterio es una estrategia aplicada en Estados Unidos y en la Unión Europea (EEA, 2001; Herrera-Silveira *et al.*, 2002; Cervantes-Martínez *et al.*, 2015), por lo que, si se utilizaran los criterios de la EEA (2001), el estado trófico de los sistemas PA y PE correspondería a una calidad de agua pobre en producción primaria.

En este estudio sólo se utilizó el índice TRIX; sin embargo, es indispensable utilizar otros índices tróficos que incluyan variables diferentes a las consideradas, como la transparencia, el pH, la salinidad o la composición fitoplanctónica. Al respecto, en PA y PE se ha reportado la presencia de *Pseudanabaena catenata* Lauterborn, *P. limnetica* (Lemmermann) Komárek, *Anabaenopsis circularis* (G.S.West) Woloszynska *et Miller, A. elenkinii Miller, Aphanizomenon* cf. *ovalisporum* Forti, *A. schindleri* Kling, Findlay *et* Komárek, *Dolichospermum circinalis* (Rabenhorst ex Bornet *et* Flahault) Wacklin, Hoffmann *et* Komárek, *Akashiwo sanguinea* (K.Hirasaka) G.Hansen *et* Moestrup, *Karenia* cf. *mikimotoi* (Miyake *et* Kominami ex Oda) Gert Hansen *et* Moestrup, *Pyrodinium bahamense* var. *bahamense* Plate, *Prorocentrum mexicanum* Osorio-Tafall y *P. minimum* (Pavillard) J. Schiller (Poot-Delgado *et al.*, 2013, 2014, 2015a, b, 2016; Muciño-Márquez *et al.*, 2014, 2015), factor que puede afectar la condición trófica de estos sistemas.

Debido a que las zonas costeras presentan características complejas, éstas no pueden ser analizadas por unos cuantos parámetros o variables, por lo que el uso de algún índice sólo permite comprender de manera parcial el comportamiento trófico de los sistemas. Por lo tanto, este estudio no sólo representa un avance en el conocimiento ecológico de PA y PE, sino que aporta evidencia empírica que sugiere considerar otros índices y otras variables que tomen en cuenta las características intrínsecas de cada sistema para evaluar su comportamiento espaciotemporal y proponer métodos adecuados para su manejo (Pachés-Giner, 2010; Barraza-Guardado et al., 2014; Cervantes-Martínez et al., 2015). Las acciones para prevenir la eutrofización son, en última instancia, menos costosas que la rehabilitación y la restauración, ya que permiten prevenir los florecimientos algales nocivos (Wang et al., 2016). Para la conservación de los ecosistemas y la gestión de los recursos se requieren conocimientos que ayuden a detectar tendencias. De igual importancia es comunicar ese conocimiento a los sectores involucrados, para que pueda utilizarse como línea base para la toma de decisiones (Pinilla et al., 2010; Barraza-Guardado et al., 2014; Cervantes-Martínez et al., 2015).

Con base en los valores del índice TRIX y en los criterios ecológicos de la norma de calidad del agua CE-CCA-001/89, los sistemas PA y PE presentan un estado oligotrófico con tendencia a uno mesotrófico. Sin embargo, es necesario continuar con los estudios en estos sistemas con la finalidad de determinar una tendencia estacional o anual de su estado trófico, e incrementar los datos sobre los factores físicos y químicos, y de la biomasa del fitoplancton (clorofila *a*). Por lo tanto, es prioritario seguir monitoreando la calidad del agua de los sistemas costeros para generar bases de datos más completas, determinar las

concentraciones de nutrientes presentes en el sedimento para estimar su magnitud de almacenamiento y generar otros índices tróficos para prevenir la presencia de florecimientos algales nocivos (FAN).

AGRADECIMIENTOS

El primer autor agradece al CONACyT por la beca otorgada por medio del Doctorado en Ciencias Biológicas y de Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana (UAM), así como el apoyo institucional de la UAM-Xochimilco, a través de los proyectos "Ecología y evaluación de comunidades de peces en sistemas costeros de Veracruz y Campeche, golfo de México y sistemas coralinos de Quintana Roo, Caribe Mexicano" y "Mareas rojas emergentes de México".

REFERENCIAS

- AGUIRRE-CORDÓN, M. R., E. A. VANEGAS-CHACÓN & N. GARCÍA-ÁLVAREZ. 2016. Aplicación del Índice de Calidad del Agua (ICA). Caso de estudio: Lago de Izabal, Guatemala. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias* 25 (2): 39-43.
- AGUIRRE-LEÓN, A. & S. DÍAZ-RUIZ. 2000. Estructura poblacional, madurez gonádica y alimentación de *Eugerres plumieri* (Gerreidae) en sistema fluvio-deltáico Pom-Atasta, México. *Ciencias del Mar* 26 (2): 253-273.
- AGUIRRE-LEÓN, A., S. DÍAZ-RUIZ & A. RAMÍREZ-HUERTA. 2010. Ecología de peces dominantes costeros tropicales. Estudio para el sistema fluviodeltáico Pom Atasta, Campeche. Serie Académicos No. 96. México: CBS, UAM-Xochimilco. 136 p.
- ALONSO-RODRIGUEZ, R., F. PÁEZ-OSUNA & R. CORTÉS-ALTAMIRANO. 2000. Trophic Conditions and Stoichiometric Nutrient Balance in Subtropical Waters Influenced by Municipal Sewage Events in Mazatlan Bay (SE Gulf of California). *Marine Pollution Bulletin* 40 (4): 331-339. DOI: 10.1016/S0025-326X(99)00225-8
- ANDERSEN, J. H., L. SCHLÜTER & G. ÆRTEBJERG. 2006. Coastal eutrophication: Recent developments in definitions and implications for monitoring strategies. *Journal of Plankton Research* 28: 621-628. DOI: 10.1093/plankt/fbl001
- ARANDA-CIREROL, N. 2004. Eutrofización y calidad del agua de una zona costera tropical. Tesis de Doctorado. Universidad de Barcelona. Madrid, España. 230 p.
- AYALA-PÉREZ, L. A. 2006. Modelo de simulación de la comunidad de peces en el área natural protegida Laguna de Términos, Campeche, México. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco. México, D.F., 208 p.
- AYALA-RODRIGUEZ, G. 2008. Grupos funcionales del fitoplancton y estado trófico del Sistema Lagunar Topolobampo-Ohuira-Santa María. Tesis de Maestría. IPN-CICIMAR, La Paz, B.C.S., México. 149 p.
- BARRAZA-GUARDADO, R.H, L.R. MARTÍNEZ-CÓRDOVA, L.F. ENRÍQUEZ-OCAÑA, M. MAR-TÍNEZ-PORCHAS, A. MIRANDA-BAEZA & A. PORCHAS-CORNEJO. 2014. Efecto de efluentes de granjas camaronícolas sobre parámetros de la calidad del agua y del sedimento frente a la costa de Sonora, México. *Ciencias Marinas* 40 (4): 221-235. DOI: 10.7773/cm.v40i4.2424

- BARREIRO-GÜEMES, M. T. & A. AGUIRRE-LEÓN. 1999. Distribución espaciotemporal de la biomasa fitoplanctónica en el sistema Lagunar Pom-Atasta, Campeche, México. *Revista de Biología Tropical* 47 (1): 27-35.
- BLAND, J. M. & D. G. ALTMAN. 1994. Statistics notes. Correlation, regression and repeated data. *BMJ* 308: 896. DOI: 10.1136/bmj.308.6933.896
- CARLSON, R. E. 1977. A trophic state index for lake. *Limnology and Ocea*nography 22 (2): 361-369. DOI: 10.4319/lo.1977.22.2.0361
- CERVANTES-MARTÍNEZ, A., M. A. GUTIÉRREZ-AGUIRRE & T. ÁLVAREZ-LEGORRETA. 2015. Indicadores de calidad del agua en lagunas insulares costeras con influencia turística: Cozumel e Isla Mujeres, Quintana Roo, México. *Teoría y Praxis* 63: 60-83.
- CLOERN, J. E. 2001. Our evolving conceptual model of the coastal eutrophication problem. *Marine Ecology Progress Series* 210: 223-253.
- COELHO, S., S. GAMITO & A. PÉREZ-RUZAFA. 2007. Trophic state of Foz de Almargem coastal lagoon (Algarve, South Portugal) based on the water quality and the phytoplankton community. *Estuarine, Coastal* and Shelf Science 71: 218-231. DOI: 10.1016/j.ecss.2006.07.017
- CONTRERAS-ESPINOZA, F., O. CASTAÑEDA-LÓPEZ, R. TORRES-ALVARADO & F. GUTIÉRREZ. 1996. Nutrientes en 39 lagunas costeras mexicanas. *Revista de Biología Tropical* 44 (2): 417-425.
- CRITES, R. & G. TCHOBANOGLOUS. 2001. Tratamiento de aguas residuales en pequeñas poblaciones. Mc Graw Hill. Bogotá, Colombia, pp. 23-226.
- DE LA LANZA-ESPINO, G., J. ALCOCER-DURAND, J. L. MORENO-RUIZ & S. HERNÁNDEZ-PULIDO. 2008. Análisis químico-biológico para determinar el estatus trófico de la Laguna de Tres Palos, Guerrero, México. *Hidrobiológica* 18 (1): 21-30.
- DRABROSWSKI, K. L., K. L. GUZ, L. VERHAC & V. GABAUDAN. 2004. Effects of dietary ascorbic acid on oxygen stress (hypoxia o hyperoxia), growth and tissue vitamin concentrations in juvenile rainbow trout. *Aquaculture* 233: 382-392.
- EEA (EUROPEAN ENVIRONMENT AGENCY). 2001. Eutrophication in Europe's coastal waters. Topic report No. 7, Copenhagen.
- EPA (ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY). 1999. Ecological Condition of Estuaries in the Gulf of Mexico. EPA 620-R-98-004. EE.UU. Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, National Health and Environmental Effects. Research Laboratory, Gulf Ecology Division, Gulf Breeze, Florida.
- Escobedo-URIAS, D. 2010. Diagnóstico y descripción del proceso de eutrofización en lagunas costeras del norte de Sinaloa. Tesis Doctoral. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas-Instituto Politécnico Nacional. La Paz, B.C.S. 298 p.
- GIORDANI, G., J.M. ZALDIVAR, & P. VIAROLI. 2009. Simple tools for assessing water quality and trophic status transitional waters ecosystems. *Ecological Indicators* 9: 982-991. DOI: 10.1016/j.ecolind.2008.11.007
- GIOVANARDI, F. & R. A. VOLLENWEIDER. 2004. Trophic conditions of marine coastal waters: experience in applying the Trophic Index TRIX to two areas of the Adriatic and Tyrrhenian seas. *Journal of Limnology* 63 (2): 199-218. DOI: 10.4081/jlimnol.2004.199

- GLIBERT, P. M. & J. M. BURKHOLDER. 2006. The complex relationships between increasing fertilization of the Earth, coastal eutrophication, and HAB proliferation. *In:* Graneli, E., Turner, J. (Eds.). *The Ecology of Harmful Algae*. Springer-Verlag, New York, pp. 341-354.
- GUTIÉRREZ-ESTRADA, M., V.M. MALPICA-CRUZ &J. MARTÍNEZ-REYES. 1982. Geomorfología y sedimentos recientes del sistema Lagunar Pom-Atasta, Campeche, México. *Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología* 9 (1): 89-100.
- HAKSPIEL-SEGURA, C. 2009. Variación estacional de la trama trófica microbiana en la laguna de Macapule, Sinaloa. Tesis de Maestría. IPN-CICIMAR. La Paz, B.C.S. 189 p.
- HALLEGRAEFF, G. M. 1993. A review of harmful algal blooms and their apparent global increase. *Phycology* 32: 79-99. DOI: 10.2216/ i0031-8884-32-2-79.1
- HERRERA-SILVEIRA, J. 2006. Lagunas costeras de Yucatán (SE, México): Investigación, Diagnóstico y Manejo. *Ecotrópicos* 19 (2): 94-108.
- HERRERA-SILVEIRA, J. A., I. MEDINA-GÓMEZ, N. ARANDA-CIREROL, A. ZALDIVAR, J. RAMÍREZ, & J. TREJO. 2002. Trophic status in coastal waters of the Yucatán Peninsula (SE, México) using water quality indicators. *In:* Brebia, C.A. (Ed.). *Environment Problems in Coastal Regions IV*. Wit-Press, Southampton, Boston. Fourth International Conference on Environmental Problems in Coastal Regions. pp: 351-359.
- HERRERA-SILVEIRA, J. A., S. M. MORALES-OJEDA & T. O. CORTES-BALAN. 2011. Eutrofización en los ecosistemas costeros del Golfo de México. SEMARNAT-NOAA-GEF-UNIDO. 88 p.
- ICRAM (INSTITUTO CENTRALE PER LA RICERCA SCIENTIFICA E TECNOLOGICA APPLICATA AL MARE). 2000. Qualitá Degli Ambienti Marini Costier iltaliani. 1996-1999. Valutazione Preliminare del Monitoraggio Realizzato in Cnvezione con le Rewgioni Costieri. Ministero dell' Ambiente. Sevizio Difesa Mare, Italia.
- IGNATIDES, L., M. KARYDIS & P. VOUNATSOU.1992. A possible method for evaluating oligotrophic and eutrophication based on nutrient concentration scales. *Marine Pollution Bulletin* 24 (5): 238-243. DOI: 10.1016/0025-326X(92)90561-J
- JUSTIC, D. 1991. A simple oxygen index for trophic state description. *Marine* Pollution Bulletin 22: 201-204. DOI: 10.1016/0025-326X(91)90471-4
- KARYDIS, M. & G. TSIRTSIS. 1996. Ecological indices: a biometric approach for assessing eutrophication levels in the marine environment. *Science of the Total Environment* 186: 209-219. DOI: 10.1016/0048-9697(96)05114-5
- LÓPEZ-CORTÉS, D., I. GÁRATE-LIZÁRRAGA, J. BUSTILLOS-GUZMÁN, R. ALONSO-RODRÍ-GUEZ &I. MURILLO-MURILLO. 2003. Variabilidad del estado trófico y la biomasa del fitoplancton de Bahía Concepción, Golfo de California (1997-1999). *Hidrobiológica* 13:195-206.
- MARTÍNEZ-LÓPEZ A., D. ESCOBEDO-URÍAS, A.E. ULLOA-PÉREZ &C. BAND-SCHMIDT. 2006. Bloom of *Chattonella subsalsa* in an impacted coastal lagoon in the Gulf of California. *Harmful Algae News* 31(1): 4-5.
- MASTERS, G. & W. ELA. 2007. *Environmental Engineering and Science*. 3rd Edition. Prentice Hall. Arizona, USA. 350 p.

- MENDOZA-SALGADO, R.A., C.H. LECHUGA-DEVÉZE & A. ORTEGA-RUBIO.2005. First approach of a method to assess water quality for arid climate bay in the. Gulf of California. *Science of the Total Environment* 347: 208-216.
- MENDOZA-VEGA, Y., V. KÚ-QUEJ, L. POOL-NOVELO & E. AGUIRRE-CORTÉS. 2015. El impacto de prácticas agropecuarias en los recursos naturales del Área de Protección de Flora y Fauna Laguna de Términos, Campeche. El caso de Palizada y Sabancuy. 2015. *In:* Ramos-Miranda, J. & G. J. Villalobos-Zapata (Eds.). *Aspectos socio ambientales de la región de la laguna de Términos, Campeche*. Universidad Autónoma de Campeche. 210 p.
- MUCIÑO-MÁRQUEZ, R. E., M. G. FIGUEROA-TORRES & A. AGUIRRE-LEÓN. 2014. Composición fitoplanctónica en los sistemas fluvio-Lagunares Pom-Atasta y Palizada del Este, adyacentes a la Laguna de Términos Campeche, México. Acta Biológica Colombiana 19 (1): 63-84.
- MUCIÑO-MÁRQUEZ, R.E., M.G. FIGUEROA-TORRES & A. AGUIRRE-LEÓN. 2015. Cianofitas de los sistemas fluvio-Lagunares Pom-Atasta y Palizada del Este, adyacentes a la Laguna de Términos, Campeche, México. *Polibotánica* 39: 49-78.
- NIXON, S. W. 1995. Coastal marine eutrophication: a definition, social causes, and future concerns. *Ophelia* 41: 199-219. DOI: 10.1080/00785236.1995.10422044
- ORTEGA-MURILLO, M. R., R. ALVARADO-VILLANUEVA, R. HERNÁNDEZ-MORALES & J. D. SÁNCHEZ-HEREDIA. 2010. Evolución trófica de un lago tropical hiosalino con base al fitoplancton. *Biológicas* 12 (2): 75-81
- PACHÉS-GINER, M. A. V. 2010. PHYMED: Un sistema de indicadores ecológicos para la Directiva Marco del Agua basado en la composición de la comunidad fitoplanctónica. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia. Valencia, España. 220 p.
- PARSONS, T. R., Y. MAITA, & C. M. LALLI.1992. A Manual of Chemical and Biological Methods for Seawater Analysis. Pergamon Press, New York, USA. 344 p.
- PENNA, N., S. CAPELLACCI & F. RICCI. 2004. The influence of the Po River discharge on phytoplankton bloom dynamics along the coastline of Pesaro (Italy) in the Adriatic Sea. *Marine Pollution Bulletin* 48: 321-326. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2003.08.007
- PINILLA G. A., J. DUARTE-COY & L. VEGA-MORA. 2010. Índice de estado limnológico (IEL) para evaluar las condiciones ecológicas de las ciénagas del canal del dique, Colombia. *Acta Biológica Colombiana* 15 (2): 169-188.
- POOT-DELGADO, C. A. 2016. Microalgas como indicadoras de la calidad del agua en los bancos ostrícolas de la Laguna de Términos, Golfo de México. Tesis de Doctorado en Ecología y Pesquería. Universidad Veracruzana. 163 p.
- POOT-DELGADO, C. A., Y. B. OKOLODKOV, J. A. AKÉ-CASTILLO & J. RENDÓN-VON OS-TEN. 2013. Microalgas potencialmente nocivas en bancos ostrícolas de la Laguna de Términos, Golfo de México. XX Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología del Mar. Octubre 1-5, Los Cabos, B.C.S., México.
- POOT-DELGADO, C. A., P. I. ROSADO-GARCÍA & Y. A. GUZMÁN-NOZ. 2014. Fitoplancton marino potencialmente nocivo en las aguas costeras de Campeche. *In:* Botello, A. V., J. Rendón von Osten, J. A. Benítez & G. Gold-Bouchot (Eds.). *Golfo de México. Contaminación e impac*-

to ambiental: diagnóstico y tendencias. UAC, UNAM-ICMYL, CIN-VESTAV-Unidad Mérida. pp. 17-132.

- POOT-DELGADO, C. A., Y. B. OKOLODKOV, J. A. AKÉ-CASTILLO & J. RENDÓN-VON OSTEN. 2015a. Annual cycle of phytoplankton with emphasis on potentially harmful species in oyster beds of Terminos Lagoon, southeastern Gulf of Mexico. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 50 (3): 465-477.DOI: 10.4067/S0718-19572015000400006
- POOT-DELGADO, C. A., Y. B. OKOLODKOV, J. A. AKÉ-CASTILLO & J. RENDÓN-VON OSTEN. 2015b. Fitoplancton potencialmente nocivo en el muelle la Puntilla, Laguna de Términos, sureste del Golfo de México. *BIOCYT* 8 (32): 540-552.
- RAMOS-MIRANDA, J., D. FLORES-HERNÁNDEZ, L.A. AYALA-PÉREZ, J. RENDÓN-VON OSTEN, G. VILLALOBOS-ZAPATA & A. SOSA-LÓPEZ. 2006. Atlas hidrológico e ictiológico de la Laguna de Términos. Universidad Autónoma de Campeche. 173 p.
- Ruiz-Marin, A., S. CAMPOS-GARCÍA, J. ZAVALA-LORÍA & Y. CANEDO-LÓPEZ. 2009. Hydrological aspects of the lagoons of Atasta and Pom, Mexico. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 10 (1): 63-74.
- SALAS, F., H. TEIXEIRA, C. MARCOS, J. C. MAROUÉS, & A. PÉREZ-RUZAFA. 2008. Applicability of the trophic index TRIX in two transitional ecosystems: the Mar Menor lagoon (Spain) and the Mondego estuary (Portugal). *ICES Journal of Marine Science* 65: 1442-1448. DOI: 10.1093/icesjms/fsn123
- SEDUE (SECRETARIA DE DESARROLLO URBANO Y ECOLOGIA). 1989. Acuerdo por el que se establecen los Criterios Ecológicos de Calidad del Agua CE-CCA-001/1989. Diario Oficial de la Federación, órgano del Gobierno Constitucional de los Estados Unidos Mexicanos, México, D.F., tomo CDXXXV, No. 9, Miércoles 13 de Diciembre de 1989, 7-23 p. http:// www2.ine.gob.mx/publicaciones/gacetas/191/criterios.html (consultado el 23 de enero 2017).
- SMAYDA, T. J. 2005. Eutrophication and phytoplankton. *In:* Wassmann. P. & K. Olli (Eds). *Drainage Basin Nutrient Inputs and Eutrophication: An Integrated Approach*. Norway. pp. 89-98.
- VOLLENWEIDER, R. A., F. GIOVANARDI, G. MONTANARI, & A. RINALDI. 1998. Characterization of the Trophic Conditions of Marine Coastal Waters with Special Reference to the NW Adriatic Sea: Proposal for a trophic scale, turbidity and generalize dater quality index. *Environmetrics* 9: 329-357. DOI: 10.1.1.473.7203&rep=rep1&type=pdf
- WANG, C., Z. WANG, P. WANG & S. ZHANG. 2016. Multiple effects of environmental factors on algal growth an nutrient thresholds for harmful algal blooms: Application of response surface methodology. *Environ Model Assess* 21: 247-259. DOI: 10.1007/s10666-015-9481-3
- WATER ANALYSIS HANDBOOK. 2015. HACH. Disponible en línea en: www.hach. com/water-analysishandbook-5th-edition (consultado el 10 de diciembre del 2015).
- Yáñez-ARANCIBIA, A. & J. W. DAY. 2005. Ecosystem functioning: the basis for sustainable management of Terminos Lagoon, Campeche, Mexico. The Nature Conservancy Narragansett, RI: Coastal Resources Center, University of Rhode Island. 77 p.
- VIAROLI, P. & R. R. CHRISTIAN. 2003. Description of trophic status of and eutrophic coastal lagoon through potential oxygen production and consumption: defining hyperautotrophy and dystrophy. *Ecological Indicators* 3: 237-250. DOI: 10.1016/j.ecolind.2003.11.001

High species diversity (H') of benthic diatoms in a coastal lagoon located within a natural protected area

Alta diversidad de especies (H') de diatomeas bentónicas en una laguna costera ubicada dentro de un área natural protegida

David A. Siqueiros Beltrones¹, Uri Argumedo Hernández² and Oscar U. Hernández Almeida³

¹ Departamento de Plancton y Ecología Marina, Instituto Politécnico Nacional- Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. Av. IPN s/n, Col. Playa Palo de Santa Rita, La Paz, Baja California Sur, 23096.México ² Departamento de Economía, Universidad Autónoma de B.C.S., Km 5.5. Carretera al Sur, La Paz, BCS.,23080. México

³Laboratorio de Oceanografía Biológica, Universidad Autónoma de Nayarit, Edificio CEMIC 01, Ciudad de la Cultura "Amado Nervo". Tepic, Nayarit, 63000. México e-mail:dsiquei@gmail.com

Recibido: 15 de mayo de 2017. Aceptado: 04 de noviembre de 2017.

Siqueiros Beltrones D. A., U. Argumedo Hernández and O. U. Hernández Almeida. 2017. High species diversity (H') of benthic diatoms in a coastal lagoon located within a natural protected area. *Hidrobiológica* 27 (3): 293-300.

ABSTRACT

Background. The structure of benthic diatom assemblages (diversity, equitability, dominance) may be useful in assessing their ecological status in natural protected areas. **Goals.** To describe the structure of epipelic diatom assemblages from Laguna Guerrero Negro (LGN), a protected coastal lagoon, and test the hypothesis that H'diversity values would be higher for diatom assemblages in LGN sediments than in typical benthic diatom assemblages. **Methods**. Sediment samples were collected in the lagoon on November 2013, and January, March, and July 2014. Diatoms were mounted on permanent slides and examined at 1000× using phase contrast microscopy. In each slide, 500 valves were counted to compute relative abundances of each taxon, and species diversity, equitability, and dominance, using Shannon (H'), Pielou (J'), and Simpson (λ) indices, respectively. Likewise, similarity between samples was measured. The calculated median value of H' from LGN was compared to previously recorded median values to test the hypothesis that significant differences exist. **Results**. A total 225 diatom taxa were counted. With few exceptions, the similarity between samples was <60%. Relative abundances depict typical benthic diatom assemblages, with an average H'= 4.96 bits/taxon, and corresponding values of equitability and dominance. The median value of H' (*Md* = 4.9) was significantly higher than the median value (*Md* = 3.7) found in previous studies. **Conclusions.** The structure of the epipelic diatom assemblages from LGN and their patchy distribution are similar to that of typical diatom assemblages, but with unusually high values of H' that lead us to reject the statistical null hypothesis and thus sustain our research hypothesis.

Key words: Biodiversity, diatom assemblages, Laguna Guerrero Negro, natural protected area, species richness.

RESUMEN

Antecedentes. La estructura de asociaciones de diatomeas bentónicas (diversidad, equidad, dominancia) puede servir de referencia para evaluar su estado ecológico en áreas naturales protegidas. **Objetivos.** Describir la estructura de asociaciones de diatomeas epipélicas de Laguna Guerrero Negro (LGN), una laguna costera protegida, contrastando la hipótesis de que la diversidad (H') sería más alta que en asociaciones típicas de diatomeas bentónicas. **Métodos.** Se recolectaron sedimentos de LGN en noviembre, 2013, enero, marzo, y julio, 2014. Las diatomeas se montaron en preparaciones permanentes y se examinaron bajo microscopía concontraste de fases a 1000×. Por muestra se contaron 500 valvas para estimar abundancias relativas de los taxa y calcular diversidad de especies, equidad y dominancia,utilizando los índices de Shannon (H'), Pielou (J') y Simpson (λ). Asimismo, se midió la similitud entre muestras. El valor mediano calculado de H' para LGN se comparó con la H' mediana de estudios previos contrastando la hipótesis de que existirían diferencias significativas entre estas. **Resultados.** Se contaron 225 taxa de diatomeas para LGN. Salvo excepciones, la similitud entre muestras fue <60%. Se describen asociaciones de diatomeas bentónicas con diversidad promedio de H' =4.96 bits/taxón, y equidad y dominancia correspondientes. El valor mediano de H' (Md = 4.9) fue significativamente mayor que el valor mediano (Md = 3.7) de estudios previos. **Conclusiones.** La estructura de asociaciones de diatomeas epipélicas de LGN es similar a la de asociaciones típicas de diatomeas bentónicas y su distribución en parches, pero con valores inusualmente altos de H' que rechazan la hipótesis nula estadística, y respaldan la hipótesis de investigación.

Palabras clave: Área natural protegida, asociaciones de diatomeas, biodiversidad, Laguna Guerrero Negro, riqueza de especies.

INTRODUCTION

Although protected areas are strategic for the conservation of species and their habitats, there are still doubts regarding their effectiveness. Thus, the premise that such measures are effective in conserving species was recently put to the test (Gray et al., 2016). These authors observed that within-sample species richness could be significantly higher inside than outside protected areas. Laguna Guerrero Negro, Baja California - Baja California Sur, Mexico (LGN) is a protected coastal lagoon for which very few ecological studies are available. Since the survey by Eberhard (1966), only recently has an interest in describing benthic biocenoses emerged, including macrobenthos (Morales-Zárate et al., 2016) and microbenthos focusing on diatoms (Sigueiros Beltrones et al., 2017a, b). Considering that benthic diatoms are an important food source for bivalve mollusks (Sigueiros Beltrones, 2002a), and several species of clams and oysters sustain important fisheries in LGN (Morales-Zárate et al., 2016), ecological studies on these microalgae are needed in order to generate baseline data for their management.

In addition, benthic diatoms are an adequate reference for measuring biodiversity, in part because of their high species richness. In LGN, high species richness of benthic diatoms was estimated for subtidal sediments, which included 14 new species records and 24 unidentified species (Sigueiros Beltrones et al., 2017a), plus the highest number of Lyrella species for a locality in the Mexican NW region (Sigueiros Beltrones et al., 2017b). The generated species list is a baseline for further ecological and biogeographical studies that are indispensable for protecting areas in order to preserve biodiversity and support decision making. By using the available diatom floristics as a reliable reference for estimating the relative or proportional abundances of the taxa, calculation of ecological parameters can follow to better describe the assemblages, inasmuch as community studies through joint analyses of classical parameters such as species richness, diversity, dominance and equitability, can help to detect patterns in taxocoenoses that can reflect ecological status such as in assemblages from extreme environments or that reflect environmental impact (Sigueiros Beltrones, 2002b). Based on these parameters, however, few attempts have been made to detect environmental impact, (e.g., due to potentially toxic elements), by examining the structure of the diatom associations allegedly exposed to the former (Siqueiros Beltrones et al., 2014). Also, a comparison of the structure of benthic diatom assemblages can be used as a reference for assessing environmental conditions in protected areas.

Typical diatom assemblages are characteristically composed of a few abundant and very common species, and many rare and uncommon species. This situation is reflected in the mathematical diversity values derived from information theory calculated with Shannon's index (H'), which has been observed to vary, mainly between modal values of 2.6 - 3.8 bits/taxon (median, 2.4-4.6) for microphytobenthic assemblages (Siqueiros Beltrones, 1998). These have been interpreted as usual or moderately high values of diversity that depict stability of the assemblages and, although higher (H' \leq 5) and lower (H'<2) values are not uncommon, these in turn have been interpreted as indicative of a tendency towards an improbable and thus unstable state of the assemblages in nature (Siqueiros Beltrones, 2005).

However, more recent studies on the structure of benthic diatom assemblages for the Mexican NW region have yielded further reference values, e.g., extreme low (uncommon) values (H' < 2) were recorded for epiphytic diatom assemblages living on blades of the kelp *Eisenia ar*-

borea J.E. Areschoug (Siqueiros Beltrones *et al.*, 2016); and previously, similar values (average H'= 2.1) were estimated for diatom epiphytes living on blades of another kelp, *Macrocystis pyrifera* (Linnaeus) C. Agardh (Argumedo Hernández & Siqueiros Beltrones, 2008). As a comparison, other studies in the region have produced mean values of diversity of up to H = 4.76 in diatom assemblages from mangrove sediments (López Fuerte & Siqueiros Beltrones, 2006), and, later, from H' = 4.58 to H' = 5.13 for different substrata (Hernández Almeida & Siqueiros Beltrones, 2008, 2012). All of the above apply to undisturbed coastal environments.

In the case of LGN, the observed high number of species and subspecies taxa (S) of epipelic diatoms is considered typical of highly productive environments (Siqueiros Beltrones *et al.*, 2017a), where the values of species diversity based on proportional abundances, e.g., H' are also usually high (Siqueiros Beltrones, 2002a).

Based on the above, the aim of this study was to describe the structure of the epipelic diatom assemblages living in subtidal sediments of LGN, and contrast the hypothesis that diversity values estimated on the basis of information theory (H') would be higher than the median value of H' calculated for benthic diatom assemblages from other localities (Siqueiros Beltrones, 2005), and at least as high as the upper values recorded in the more recent studies cited above.

MATERIALS AND METHODS

Study area. Laguna Guerrero Negro (LGN) is part of a lagoon complex together with Laguna Ojo de Liebre (Fig.1) located (27° 35′ and 27° 52′ N and 113° 58′ 114°10′ W) on the Baja California peninsula, between B.C. and B.C.S., Mexico within the El Vizcaino Biosphere Reserve (Arellano Martinez *et al.*, 1996). Its maximum length is13 km and maximum width is 8 km (Contreras, 1985), with a shallow bottom that varies in depth between 2-12 m (Lluch *et al.*, 1993). Eelgrass (*Zostera marina* Linnaeus) is widely distributed from six meters deep up to the high tide mark (Eberhard, 1966). Lagoon sediments are mainly grey sand and organic alluvial deposits. Normal and hypersaline salinity gradients have been recorded (Lankford, 1977), although it has been considered an isohaline lagoon with salinities between 35.5-37.5 in winter, and 34.7-35.6 in summer (Phleger & Ewing, 1962).

Sample processing. During November 2013, January, March, and July 2014, sediment samples (150 g each) were collected by scuba divers using plastic bags at twelve sites in the subtidal bottom of Laguna Guerrero Negro (1-13); site 11 was not considered because of logistic difficulties but numeration was kept in reference to other studies. (Fig. 1). Samples were then processed and mounted with Pleuraxon 48 permanent slides. These were used to prepare a floristic list of epipelic diatoms (Sigueiros Beltrones et al., 2017a). The slides were then examined under a compound microscope with phase contrast at 1000× for a quantitative analysis. New taxa were identified (Peragallo & Peragallo, 1897). Their taxonomic status was updated according to the Algaebase web site (http://algaebase.org/search/species/ (Guiry & Guiry, 2017). and the Fourtanier & Kociolek (2017) Catalogue of Diatom Names of the California Academy of Sciences (CAS) web site http://researcharchive. calacademy.org/research/diatoms/names/. These, together with the previous floristic list, were used as a reference to count 500 diatom valves (n) in each slide in order to determine the relative abundance (RA) of each taxon. Said abundance was used to estimate community

parameters of the assemblages, such as species diversity, equitability, and dominance. Species diversity values were calculated based on information theory using Shannon's H' and Pielou's J', both with \log_2 (Brower *et al.*, 1998). We thus used bits/taxon (not bits/individual) as units, as a measure of uncertainty for a randomly collected specimen in a taxocoenosis, for it to belong to a certain (specific or infra-specific) taxon (Siqueiros Beltrones, 2005). Simpson's indices of dominance and diversity (λ , 1- λ) were also used; these measure the probability that two specimens collected at random belong to the same or different species (Brower *et al.*, 1998).

To test our hypothesis, two approaches were followed: 1) a 99% bias-corrected and accelerated (BCA) bootstrap confidence interval was constructed for the median H' value of benthic diatom assemblages compiled in Siqueiros-Beltrones (1998); and 2) we compared the median values of said data vs. the median value of H' calculated for Laguna Guerrero Negro. Because of the high dispersion shown by the H' values and common occurrence of outliers, we chose to use the median and thereafter non-parametric statistical techniques. This confidence interval and the Kruskal-Wallis test for significance were done using the statistical IBM[©] SPSS[©] 23 software, and a Mann-Whitney test, using Origin Pro[©] 9 software. For the Mann-Whitney test, the null hypothesis was that LGN H' median values were not significantly different than those of typical microphytobenthos assemblages. Both the Kruskall-Wallis and Mann-Whitney tests were performed at an α = 0.01. A similarity matrix between samples was also computed using presence/absence of species (Jaccard index) and another also using their relative abundances (Bray-Curtis index).

RESULTS

A total (N) of 23,325 diatom valves were counted. These included 225 taxa, out of which 52 are new additions to the LGN diatom flora (Table 1), 46 were previously recorded elsewhere for the Mexican NW region, and six were new records for Mexican littorals (Siqueiros Beltrones & Argumedo Hernández, 2017). Thus, species richness for the LGN sediments rises to 285 taxa, with 117 of these comprising 95% of the total relative abundance. Five samples could not be quantified because of the low valve abundance in the slides (Table 2). Relative abundances of the identified diatom taxa were distributed as expected with few abundant and common taxa, and many rare and uncommon species. The pennate forms Amphora exilitata Giffen and Navicula bipustulata A. Mann were the most abundant taxa (>1000 valves); 29 taxa were very common (\geq 200); 57 taxa were considered common <200 \geq 50; and 137 were considered rare (<50). Rare species in this study represent >60% of the taxa accounted for (Table 1); these, plus the 52 not recorded in the previous floristics, total to 189 rare taxa for the LGN over all benthic diatom taxocenoses.

Species richness (S) among the samples varied between 50 and 100 taxa, with over 70% of the samples having a S > 60; which can be considered a high species number for benthic diatoms assemblages. Overall, 46 % of the samples showed H' values higher than 5 bits/taxon (Table 2), with an average value of 4.96 and a median of 4.9. Values ranged from 3.7 - 5.9, the former being the only calculated H' value under 4 (Table 2), vs. the calculated median value for the microphytobenthic assemblages (Md = 3.7) used as a reference. Although values of H' > 5 were frequent, in January we found the highest diversity (H'=

295

5.9) twice, which is much higher than the mean value for the whole lagoon (Table 3). Even though such frequency seemed more characteristic of the cool season (November-January) than for the warm season (March-July), the Kruskal-Wallis test did not detect significant differences between the monthly median values of H' in LGN ($\chi^2(3) = 3.842$, p>0.01). Thus, differences in the calculated values of H' are considered within the range of random variations

On the other hand, the monthly median values of H['] for LGN benthic diatom assemblages (Table 3) surpassed the 99 % bootstrap CI [3.52 - 3.81] constructed for the H['] median value of microphytobenthic assemblages. Therefore, we see that monthly median diversity estimated for the LGN assemblages is indeed higher. These results were confirmed by the Mann-Whitney test which indicates that H['] values were significantly higher for LGN (Md = 4.9) than for typical microphytobenthos assemblages (Md = 3.7), U=10935.5, p < 0.01, thus confirming our hypothesis.

The overall high values of H' correspond to the high number of species (S) in most of the samples, but there is also a correspondence with high values of equitability, and with the values of Simpson's indices (diversity and dominance), which are less sensitive to rare taxa. This indicates that the high diversity values were due to a higher number of



Figure 1. Location of the twelve sampling sites in Laguna Guerrero Negro, B.C. -B.C.S., Mexico. No site 11.

Table 1. New (52) subtidal epipelic diatom taxa and their relative abundances (RA) and percentage RA (%) in Laguna Guerrero Negro, B.C.-B.C.S., Mexico (N=23,325).

Taxón	RA	%
Cocconeis molesta var. crucifera Grunow	464	1.997
Amphora graeffi var. minor Peragallo	151	0.650
Thalassiosira eccentrica (Ehrenberg) Cleve	80	0.344
Cocconeis scutellum var. parva (Grunow) Cleve	66	0.284
Tropidoneis pusilla (Greg.) Cleve	66	0.284
Gyrosigma balticum (Ehrenberg) Rabenhorst	50	0.215
Hantzschia marina (Donkin) Grunow	48	0.207
Diploneis muscaeformis var. constricta (Grunow in Schmidt et al.) Cleve	46	0.198
Campylo discussimulans Gregory	44	0.189
Cocconeis heteroidea Hantzsch	42	0.181
Cocconeis dirupta Gregory	39	0.168
Nitzschia insignis Gregory	36	0.155
Amphora angusta Gregory	36	0.155
Astartiella punctifera (Hustedt) Witkowski et Lange-Bertalot	34	0.146
Cocconeis disculus (Schumann) Cleve	33	0.142
Cocconeis scutellum Ehrenberg	33	0.142
Cymbellonitzschia cf. minima Hustedt	33	0.142
Diploneis chersonensis (Grunow) Cleve	28	0.121
Cocconeiopsis fraudulenta (A. W. F. Schmidt) Witkowski	26	0.112
Grammatophora oceanica Ehrenberg	25	0.108
Pleurosigma formosum W. Smith	25	0.108
Odontella aurita (Lyngbye) Agardh	24	0.103
Coscinodiscus oculus-iridis Ehrenberg	23	0.099
Donkinia carinata (Donkin) Ralfs in Pritchard	19	0.082
Halamphora costata (W. Smith) Levkov	17	0.073
Navicula cf. atomus (Kützing) Grunow	11	0.047
Podosira stelligera (J. W. Bailey) A. Mann	11	0.047
Amphora tenuissima Hustedt	8	0.034
Pleurosigmapulchrum Grunow	8	0.034
Pleurosigma cf. affine Grunow	7	0.030
Campylodiscus crebrecostatus var. speciosa T.Eulenstein	6	0.026
Achnanthes citronella (A. Mann) Hustedt in Schmidt et al.	5	0.022
Cocconeis contermina A. W. F. Schmidt	5	0.022
Grammatophora gibberula Kützing	5	0.022
Synedra crystallina (Agardh) Kützing	4	0.017
Fallacia diploneoides (Hustedt) D. G.Mann	4	0.017
Nitzschia martiana (Agardh) Van Heurck	4	0.017
Bacillaria paxillifera (0. F. Müller) T.Marsson	3	0.013
Nitzschia perminuta (Grunow) Peragallo	3	0.013
Achnanthes javanica Grunow	2	0.009
Amphora aspera Petit	2	0.009
Grammatophora marina (Lyngbye) Kützing	2	0.009
Nitzschia filiformis (W. Smith) Van Heurck	2	0.009
Actinoptychus vulgaris Schumann	1	0.004
Halamphora dusenii (Brun) Levkov	1	0.004
Anaulus birostratus (Grunow) Grunow	1	0.004
Diploneis nitescens (W. Gregory) Cleve	1	0.004
Gyrosigmatenuissimum (W. Smith) Griffith et Henfrey	1	0.004
Mastogloia angulata Lewis	1	0.004
Navicula johanrossi Giffen	1	0.004
Nitzschia microcephala var. bicapitellata Cleve	1	0.004
,		-



Figure 2. Jaccard similarity values in benthic diatom species composition between all samples collected at Laguna Guerrero Negro, B.C. -B.C.S., Mexico. The low values suggest the typical patchy distribution of the taxa in benthic diatom assemblages.



Figure 3. Bray-Curtis similarity values in benthic diatom species composition between all samples collected at Laguna Guerrero Negro, B.C. - B.C.S., Mexico. The patchy distribution of benthic diatom taxa suggested in general by low values (although higher than with Jaccard) combines with high values that are caused by the shared presence of taxa with high relative abundances in several sites, e.g. 6, 12, 13.

Table 2. Estimated community parameter values for benthic diatom assemblages from Laguna Guerrero Negro (G), BC-BCS, Mexico. N = November; E = January; M = March; J = July; S = species richness; n = sample size; J['] = equitability (bits/taxon); H['] = Shannon's diversity (bits/taxon); λ = Simpson's dominance (probability); 1- λ = Simpson's diversity. ND = not determined. No site 11.

Sample	S	n	J'	H'	λ	1-λ		
NOVEMBER (2103)								
NG1 NG2 NG3 NG4	83 ND 78	539 ND 560	0.86 ND 0.84	5.5 ND 5.3	0.04 ND 0.04	0.96 ND 0.96		
NG5 NG6 NG7 NG8 NG9	64 85 69 76 53	521 509 515 558 490	0.83 0.89 0.83 0.86 0.78	5.1 5.7 5.1 5.4 4 5	0.00 0.02 0.05 0.04 0.08	0.96 0.98 0.95 0.96 0.92		
NG10 NG12 NG13	71 50 63	550 528 498	0.79 0.76 0.82	4.8 4.3 4.9	0.07 0.09 0.05	0.92 0.93 0.91 0.95		
JANUARY	' (2014)							
EG1 EG2 EG3 EG4 EG5 EG6 EG7 EG8 EG9 EG10 EG12 EG13	100 ND 73 87 ND 95 74 89 61 84 52 59	551 ND 515 526 ND 594 569 617 515 560 534 522	0.89 ND 0.85 0.88 ND 0.89 0.76 0.86 0.83 0.84 0.74 0.76	5.9 ND 5.3 5.7 ND 5.9 4.7 5.6 4.9 5.4 4.2 4.5	0.02 ND 0.04 0.03 ND 0.02 0.08 0.03 0.03 0.03 0.03 0.11 0.10	0.98 ND 0.96 0.97 ND 0.98 0.92 0.97 0.95 0.97 0.89 0.90		
MARCH (2	2014)							
MG1 MG2 MG3 MG4 MG5 MG6 MG7 MG8 MG9 MG10 MG12 MG13	ND 75 61 55 87 74 62 95 54 76 39 43	ND 617 507 575 563 491 514 576 576 597 438 539	ND 0.83 0.79 0.81 0.86 0.79 0.87 0.80 0.80 0.80 0.69 0.77	ND 5.1 4.7 5.2 5.3 4.7 5.7 4.6 4.9 3.7 4.2	ND 0.05 0.06 0.05 0.04 0.06 0.03 0.07 0.06 0.13 0.09	ND 0.95 0.94 0.95 0.96 0.94 0.97 0.93 0.94 0.87 0.91		
JULY (20	14)							
JG1 JG2 JG3 JG4 JG5 JG6 JG7 JG8 JG9 JG10 JG12 JG13	62 ND 56 46 70 83 71 83 63 52 56 69	526 ND 535 534 587 486 571 525 512 522 564 526	0.84 ND 0.81 0.81 0.88 0.88 0.88 0.73 0.75 0.76 0.73	5.0 ND 4.7 4.5 5.6 5.3 5.6 4.4 4.3 4.4 4.5	0.05 ND 0.06 0.07 0.05 0.03 0.04 0.03 0.12 0.11 0.07 0.11	0.95 ND 0.94 0.93 0.95 0.97 0.96 0.97 0.88 0.89 0.93 0.89		

more common taxa rather than to rare species. All this is in accordance with the proposed hypothesis.

Measurements with both similarity indices ranged between 45% and 60% that comprised most of the samples (Figs. 2-3). No patterns were apparent within dendrograms, confirming a lack of statistical differences between monthly H' values. The only exception is the group of four samples from site 6 with Bray-Curtis. However, when compared with Jaccard values, it is evident that the same (few) abundant species were present at this site during all dates, while also sharing high values of equitability, which confirms that a significant number of common taxa were similarly distributed at these sites. Spatially, however, sites differed in overall species composition at around 50%. All these observationsfrom the similarity analysis corresponds to the typical patchy distribution of taxa usually observed in benthic diatom assemblages.

DISCUSSION

Almost as many taxa (225) were included in this quantitative analysis of the epipelic diatom assemblages of LGN as those recorded (232) in the supporting floristic study (Siqueiros Beltrones *et al.*, 2017a). Of the 52 additions to the LGN diatom flora, 46 taxa were previously recorded elsewhere for the Mexican NW region, while six taxa turned out to be new records for the Mexican littorals: *Achnanthes citronella* (A. Mann) Hustedt; *Amphora graeffi* var. *minor* Peragallo; *Navicula (Cocconeiopsis?) aspersa* Hustedt; *Diploneis muscaeformis* var. *constricta* (Grunow in Schmidt *et al.*) Cleve, *Pleurosigma affine* Grunow; *Pleurosigma pulchrum* Grunow (Siqueiros Beltrones & Argumedo Hernández, 2017). This, along with the low similarity values demonstrates the typical patchy distribution of benthic diatoms that causes floristics in discrete surveys to be underestimated.

On the other hand, the high number of diatom species (S) per sample and their proportions (J') are reflected in the estimated mean values of diversity (H') in sediments of LGN, some of which are among the highest ever recorded in the Mexican NW region (Jan H' = 5.2 bits/taxon), and much higher than the afor mentioned median values that allegedly reflect stability (Siqueiros Beltrones, 2005), and higher than those within the confidence interval constructed in this paper. Although this could suggest that the LGN assemblages may not be stable (Siqueiros Beltrones, 2005), recent studies in undisturbed coastal localities report similar mean values of diversity (H' = 4.76 bits/taxon) in mangrove sediments from Bahía Magdalena (López Fuerte & Siqueiros Beltrones, 2006). Besides, these authors recorded the most taxa hitherto for a single locality in NW Mexico (S = 325) in a previous floristic phase, while in the quantitative phase, the number of taxa per sample ranged

Table 3. Statistical parameters for the calculated values of H ${\rm \acute{o}}$ of benthic diatom assemblages from Laguna Guerrero Negro (LGN), Mexico. N = number of samples.

	N total	Mean	Median	Mode	Minimum	Maximum
Nov.	11	5.03	5.1	4.8	4.3	5.7
Jan.	10	5.21	5.35	5.9	4.2	5.9
Mar.	11	4.8	4.7	4.7	3.7	5.7
Jun.	11	4.83	4.7	4.4	4.3	5.6
LGN	43	4.96	4.9	4.7	3.7	5.9

from 64 to 119 in 11 of their 12 samples (S = 251). They attributed the high estimated values of species diversity (H') to the better represented taxa, rather than to overall species richness, although they did record a larger proportion (68.5%) of rare species (172), with 83 taxa accounting for 95% of the relative abundances. Also, Hernández Almeida and Siqueiros Beltrones (2008; 2012) estimated high mean values of H' =4.58 and H'= 5.13 for epilithic and epiphytic assemblages, respectively. In the former case, 55 epiphytic taxa on macroalgae comprised 95% (N=211) of the RA. In contrast, in seagrass epiphytes, 25 taxa (S =115) comprised 95% of the RA, with corresponding H' values of 3.42-4.15 Siqueiros Beltrones et al. (1985). Compared with the 117 taxa in this study, it seems evident why the values of H' in LGN were significantly higher. The above values, coupled with the distribution of relative abundances, species richness, the patchy distribution suggested by the new taxa, and the similarity values are typical of benthic diatom taxocoenoses from undisturbed environments. The high species diversity of benthic diatom assemblages observed for LGN is what we would expect to find in a protected area. However, Gray et al. (2106) observed that within-sample species richness could be significantly higher inside than outside protected areas, but they did not find consistency in their observations when using rarefaction-based species richness. In our study, the high number of benthic diatom taxa and their proportions suggest that analyzing the structure of benthic diatom taxocoenoses may prove useful as an alternative for direct rarefaction techniques that permits reliable comparison between different taxocoenoses. Moreover, community parameter values could be used for assessing environmental impact or as a reference for characterizing undisturbed conditions in marine environments (Siqueiros Beltrones et al., 2014). Thus, on the basis of the present structure of the benthic diatom assemblages from LGN, no environmental impact, either natural or anthropogenic, is suspected at this lagoon, and we expect these characteristics to be similar for benthic diatom assemblages in other undisturbed subtropical coastal lagoons.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by Project SIP-20150537 of the IPN where DASB is fellow of the Comisión de Operación y Fomento de Actividades Académicas (COFAA) and Estímulos al Desempeño de los Investigadores (EDI). We thank Víctor Cruz Escalona for his thorough review of an earlier manuscript. We also acknowledge the reviews of two anonymous referees.

REFERENCES

- ARELLANO MARTÍNEZ, M., J. DE LA CRUZ AGÜERO&V. COTA GÓMEZ.1996. Lista sistemática de los peces marinos de las lagunas Ojo de Liebre y Guerrero Negro, BCS y BC, México. *Ciencias Marinas* 22: 111-128.
- ARGUMEDO HERNÁNDEZ, U. & D. A. SIQUEIROS BELTRONES. 2008. Cambios en la estructura de la asociación de diatomeas epífitas de *Macrocystis pyrifera* (L.) C. Ag. *Acta Botánica Mexicana* 82: 43-66.
- BROWER, J. E., J. H. ZAR & C. N. VON ENDE. 1998. Field and Laboratory Methods for General Ecology. 4th. Ed. WCB-McGraw-Hill. Boston. 273 p.
- CONTRERAS, F. 1985. *Las lagunas costeras mexicanas*. Centro de Ecodesarrollo, Secretaría de Pesca, CDMX, México. 265 p.

- EBERHARD, R. L. 1966. Litoral biota of laguna Guerrero Negro, Baja California, México. *Bulletin of the Southern California Academy of Sciences* 65:160-163.
- FOURTANIER, E. & J. P. KOCIOLEK. 2017. Catalogue of Diatom Names of the California Academy of Sciences (CAS) Disponible en línea en: http:// researcharchive.calacademy.org/, accessedon February, 2017.
- GUIRY, M. D. & G. M. GUIRY. 2017. *Algaebase*. World-wide electronic publication. National University of Ireland, Galway: http://www.algaebase.org/, accessed on February, 2017.
- HERNÁNDEZ ALMEIDA, O. U. & D. A. SIQUEIROS BELTRONES. 2008. Variaciones en asociaciones de diatomeas epifitas de macroalgas en una zona subtropical. *Hidrobiológica* 18: 51-61.
- HERNÁNDEZ ALMEIDA, O. U. & D. A. SIQUEIROS BELTRONES. 2012. Substrate dependent differences in the structure of epiphytic vs. epilithic diatom assemblages from the southwestern coast of the Gulf of California. *Botanica Marina* 55: 149-159.
- LANKFORD, R. R. 1977. Coastal lagoons of Mexico. Their origin and classification. *In:* Wiley, M. (Ed.). *Estuarine Processes*. Academic Press Inc. New York. pp. 182-215
- LÓPEZ FUERTE, F. O. & D. A. SIQUEIROS-BELTRONES. 2006. Distribución y estructura de asociaciones de diatomeas en sedimentos de un sistema de manglar. *Hidrobiológica* 16: 23-33.
- MORALES-ZÁRATE, M. V., A. ZAYAS-ÁLVAREZ, C. A. SALINAS-ZAVALA & A. MEJÍA-REBOLLO. 2016. Biocenosis de la comunidad bentónica en la Laguna Guerrero Negro, Baja California Sur, México: caracterización espacio-temporal. *Latin American Journal of Aquatic Research* 44: 726-741.
- Peragallo, H. & M. Peragallo. 1897. *Diatomees marines de France et des districts marines voisins*. M. J. Tempere. Grez sur Loing.491 p.
- PHLEGER, F. B. & EWING, G. C. 1962. Sedimentology and oceanography of coastal lagoons in Baja California, México. *Bulletin of the Geological Society of America* 73: 145-182.
- SIQUEIROS-BELTRONES, D. A. 1998. Statistical treatment of Shannon-Wiener's diversity index (H'); test of normality for sample values of diatom assemblages. *CICIMAR Oceánides* 13 (1): 1-11.
- SIQUEIROS BELTRONES, D. A. 2002a. *Diatomeas bentónicas de la Península de Baja California; diversidad y potencial ecológico*. Oceánides/ CICIMAR-IPN/UABCS. La Paz, México. 102 p.
- SIQUEIROS-BELTRONES, D. A. 2002b. Succession in benthic diatom assemblages growing in culture buckets for abalone (*Haliotis* spp.) poslarvae. *In:* Proceedings of the 15th International Diatom Symposium. Perth, Australia (Sep.-Oct./1998). Koeltz Sci. Pub. pp. 421- 441
- SIQUEIROS-BELTRONES, D. A. 2005. Una paradoja sobre uniformidad *vs.* orden y estabilidad en la mediad de la diversidad de esepcies según la teoría de la información. *Ludusvitalis* 13 (24): 83-92.
- SIQUEIROS BELTRONES, D. A. & U. ARGUMEDO HERNÁNDEZ. 2014. Quasimonospecific proliferation of *Pteroncola inane* (Giffen) Round (Fragilariales; Bacillariophyceae) on blades of *Eisenia arborea* Areschoug. *CICI-MAR Oceánides* 29: 57-62.

- SIQUEIROS BELTRONES, D. A. & U. ARGUMEDO HERNÁNDEZ. 2107. New records of benthic marine diatom taxa for Mexican littorals. *CICIMAR Oceánides* 32 (1): 59-62.
- SIQUEIROS BELTRONES, D. A., U. ARGUMEDO HERNÁNDEZ, J. M. MURILLO JIMÉNEZ & A. J. MARMOLEJO RODRÍGUEZ. 2014. Diversidad de diatomeas bentónicas marinas en un ambiente ligeramente enriquecido con elementos potencialmente tóxicos. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 85: 1065-1085.
- Siqueiros Beltrones, D. A., U. Argumedo Hernández & C. Landa Cansigno. 2016. Uncommon species diversity values in epiphytic diatom assemblages of the kelp *Eisenia arborea* J. E. Areschoug. *Hidrobiológica* 26: 61-76
- SIQUEIROS BELTRONES, D. A., U. ARGUMEDO HERNÁNDEZ & F. O. LÓPEZ FUERTE. 2017a. Diversity of benthicdiatoms in Laguna Guerrero Negro (El Vizcaíno Biosphere Reserve), Baja California Peninsula, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 88: 21-35. DOI: 10.1016/j. rmb.2017.01.026
- SIQUEIROS BELTRONES, D. A., U. ARGUMEDO HERNÁNDEZ & F. O. LÓPEZ FUERTE. 2017b.New records and combinations of *Lyrella* (Bacillariophyceae; Lyrellales) from a protected coastal lagoon of the NW Mexican Pacific. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 88: 1-20. DOI: 10.1016/j. rmb.2017.01.017

Species diversity and biogeographical patterns of Laurencia sensu stricto (Rhodophyta) in the Atlantic Ocean

Diversidad de especies y patrones biogeográficos de Laurencia sensu stricto (Rhodophyta) en el océano Atlántico

Oscar E. Hernández^{1, 2}, Abel Sentíes², Kurt M. Dreckmann², Valéria Cassano³ and Mutue T. Fujii⁴

¹ Estudiante del Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa. A.P. 55-535, CDMX, 09340, México ² Departamento de Hidrobiología, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, A.P. 55-535, CDMX, 09340, México ³ Departamento de Botânica, Universidade de São Paulo, Rua do Matão 277, São Paulo 05508-090, Brazil ⁴ Núcleo de Pesquisa em Ficologia, Instituto de Botânica, Av. Miguel Estéfano, 3687-04301-902 São Paulo, Brazil e-mail: oehc90@gmail.com

Recibido: 31 de mayo de 2017. Aceptado: 30 de octubre de 2017.

Hernández O. E., A. Sentíes, K. M. Dreckmann, V. Cassano and M. T. Fujii. 2017. Species diversity and biogeographical patterns of *Laurencia* sensu stricto (Rhodophyta) in the Atlantic Ocean. *Hidrobiológica* 27 (3): 301-314.

ABSTRACT

Background. Recent morphological and phylogenetic studies of *Laurencia* in the Atlantic Ocean have modified our current knowledge of the group. Approximately 23% of the worldwide generic diversity has been recorded in this region. **Goals**. Update the checklist of the *Laurencia* species in the Atlantic and describe the distribution patterns within the genus. **Methods**. We obtained records of *Laurencia* species in the Atlantic from a review of the literature and distributional data were used to define areas of endemism through a PAE (Parsimony of Areas of Endemism) analysis. **Results**. We propose an updated checklist of the 30 currently recognized species of *Laurencia* in the Atlantic Ocean; this checklist also includes taxonomic synonyms, nomenclatural remarks, and a detailed distribution for each species. The distributional range for the genus in the Atlantic extends from Bermuda and Northern Europe in the North Atlantic to Brazil and South Africa in the South Atlantic. We were able to define four areas of endemism: Brazil with four endemic species, the Gulf of Guinea with four endemic species, the northeastern Atlantic with three endemic species, and South Africa with four endemic species of the 30 species of the Atlantic are also distributed in the Indo-Pacific, of which five are amphi-Atlantic species. **Conclusions.** The patterns found are related to geological events that occurred in the past, a fact that allows us to formulate a vicariance hypothesis about these species biogeographic history. Therefore, future work that will document new species and the clarification of taxonomic problems will allow researchers to continue enriching this hypothesis.

Key words: Area of endemism, biogeography, PAE analysis, red algae.

RESUMEN

Antecedentes. Los recientes estudios morfológicos y filogenéticos de Laurencia para el océano Atlántico han modificado el conocimiento actual sobre la diversidad del grupo, registrándose para esta región, aproximadamente el 23% de la diversidad del género a nivel mundial. Objetivos. Actualizar el listado de especies de Laurencia presentes en el Océano Atlántico y definir sus patrones de distribución. Métodos. Se obtuvieron los registros de las especies del género a partir de una revisión bibliográfica, utilizando los datos de distribución para la definición de patrones biogeográficos mediante un análisis de PAE. Resultados. Se propone un listado actualizado que contiene 30 especies de Laurencia reconocidas taxonómicamente para el Océano Atlántico; además se incluyen sinónimos, notas nomenclaturales y la distribución a detalle de cada una de las especies. El intervalo de distribución del género se extiende desde Bermuda y el norte de Europa para el Atlántico Norte, hasta Brasil y Sudáfrica en el Atlántico Sur. Se definieron cuatro áreas de endemismo: Brasil con cuatro especies endémicas, Golfo de Guinea con cuatro especies restringidas, Noreste del Atlántico con tres especies endémicas y Sudáfrica con cuatro especies endémicas; además de un área secundaria (Islas de la Macaronesia) con L. viridis como especie endémica. Por otro lado, 17 de las 30 especies registradas para el Atlántico se distribuyen también en el Indo-Pacífico, de las cuales cinco son especies anfi-Atlánticas. Conclusiones. Los patrones encontrados han sido relacionados con eventos geológicos que han ocurrido en el pasado, permitiendo ofrecer una hipótesis de vicarianza sobre su historia biogeográfica. Por lo tanto, trabajos futuros sobre el reconocimiento de nuevas especies y el esclarecimiento de problemas taxonómicos permitirá continuar enriqueciendo dicha hipótesis.

Palabras clave: Áreas de endemismo, biogeografía, Análisis de PAE, algas rojas.

INTRODUCTION

There is a need for an updated checklist of Laurencia (Rhodophyta, Ceramiales) in the Atlantic Ocean that accounts for recent morphological and phylogenetic studies that have modified our current knowledge of the group. For instance, the "Laurencia complex" has replaced the former concept of Laurencia sensu lato. The genus Laurencia sensu stricto (s.s.) (Garbary & Harper, 1998; Nam, 2006; Gil-Rodríguez et al., 2012), and the following seven genera belonging to the complex (mentioned above): Osmundea Stackhouse, Chondrophycus (Tokida et Saito) Garbary et J. T. Harper, Palisada K. W. Nam, Yuzurua (K.W. Nam) Martin-Lescanne, Laurenciella Cassano, Gil-Rodríguez, Sentíes, Díaz-Larrea, M. C. Oliveira et M. T. Fujii. Coronaphycus Metti and Ohelopapa F. Rousseau, Martin-Lescanne, Payri et L. Le Gall. These genera differ in the number of pericentral cells cut off by the vegetative axial segments, the origin of spermatangial branches, and the origin of tetrasporangia from determined cells (Saito, 1967; Nam et al., 1994; Garbary & Harper, 1998; Nam, 1999, 2006, 2007). Molecular phylogenetic data also support distinction among them (Martin-Lescanne et al., 2010; Cassano et al., 2012a; Metti et al., 2015; Rousseau et al., 2017).

Laurencia comprises 130 taxonomically recognized species worldwide (Guiry & Guiry, 2017). In particular, 18 species of the genus have been recorded for the Western Atlantic (from North Carolina to Brazil) and 21 for the Eastern Atlantic (Europe and Africa). These represent 23% of the species richness worldwide. Phylogenetic studies of some *Laurencia* species in the Atlantic have shown the artificiality of the wide ranges of distribution of some species, such as *L. microcladia* and *L. obtusa* (Cassano *et al.*, 2012a) that have been eliminated from the Brazilian flora. The area of endemism is defined as the sympatric congruence between two or more endemic species, based on the fact that these species share a common spatial history (Platnick, 1991; Morrone, 2007). Other areas that can be documented are the secondary areas, which have only one endemic species or the so-called relic species that are important because these areas may be later isolations where species radiation has not yet occurred (lppi & Flores, 2001; Vargas *et al.*, 2008). The PAE (Parsimony Areas of Endemism) analysis is a method that allows us to identify areas of endemism from area cladograms. In a manner similar to phylogenetic systematics, at least two synapomorphic characters (restricted species) will define areas of endemism (Morrone, 2013).

One important outcome of this taxonomic updating is to provide a better understanding of the biogeographical patterns. With the present updated checklist, we will discuss endemism and the widespread geographic distribution of *Laurencia* species in the Atlantic.

MATERIALS AND METHODS

Records for *Laurencia* for the Atlantic Ocean were obtained from primary sources (these sources are indicated for each species in Results section). We complemented information with the online database Algae Base (Guiry & Guiry, 2017). Parsimony Analysis of Endemicity (PAE; Rosen, 1988) was used in a biogeographical analysis. For this analysis, an *r* x *c* binary matrix (presence and absence) was constructed, where *r* (rows) displays the 17 Atlantic ecoregions proposed by Spalding *et al.* (2007) (Fig. 1) and *c* (columns) contains 24 of the 30 species recorded for the Atlantic Ocean. Because they could be found practically all over



Figure 1. Marine ecoregions used in the PAE analysis, modified from Spalding *et al.*, (2007): Adriatic Sea (AdS), Aghulas Bank (AghB), Bermuda (Ber), Eastern Brazil (EBr), Eastern Caribbean (Eca), Greater Antilles (GA), Gulf of Guinea Central (GGC), Gulf of Guinea Upwelling (GGU), Gulf of Guinea Western (GGW), Levantine Sea (LevS), Northeastern Brazil (NEBr), Southern Caribbean (Sca), South European Atlantic Shelf (SEAS), Southeastern Brazil (SEBr), St. Helena and Ascension Islands (SHAI), Western Caribbean (WCa), and Western Mediterranean (WMe).

the Atlantic, we did not include *L. brongniartii* J. Agardh, *L. caduciramulosa* Masuda *et* S. Kawaguchi, *L. dendroidea* J. Agardh, *L. intricata* J. V. Lamouroux, *L. microcladia* Kützing, and *L. obtusa* (Hudson) J.V. Lamouroux. In addition, the Macaronesian Islands were excluded from the analysis because they are considered to be a transition zone with species from other areas of Atlantic (see Haroun & Prud'homme van Reine, 1993; Tuya & Haroun, 2009), and may affect our distributional patterns (Medina, 2007). Parsimony analysis was done through a heuristic search using TBR+TBR routines with the NONA program, using the WinClada software (Nixon, 1999). A strict consensus tree was built from the most parsimonious trees.

Six "species *inquirenda*" (*L. alsidiidormis* Zanardini ex Fraudenfeld, *L. alsidioides* P. L. Crouan *et* H.M. Crouan, *L. botryocephala* Kützing, *L. canariensis* Montagne ex Kützing, *L. moriformis* Kützing and *L. trifaria* Kützing) did not provide information about their geographical distribution and were recorded only once by their respective authors. Null or limited herbarium material prevented us from being totally certain about these taxa. Categories of areas (patterns) were defined: Those containing an endemic species (Secondary Area); those with congruence in geographical distribution of two or more endemic species (Area of Endemism), that is, clades defined by two or more synapomorphies; and widespread species (amphi-Atlantic Areas). In addition, we defined areas containing two or more endemic species without total congruence in the geographic distribution of these, known as areas of Partial Congruence.

RESULTS

Checklist of Laurencia species

Laurencia aldingensis Saito et Womersley

Type locality: Aldinga Reef, South Australia.

Distribution: Tropical Southwestern Atlantic: BRAZIL: Espírito Santo (Carvalho *et al.*, 2006; Fujii *et al.*, 2011) and Rio de Janeiro (Fujii*et al.*, 2011).

Laurencia brachyclados Pilger

Type locality: Annobon Island, Equatorial Guinea, West Africa.

Distribution: Gulf of Guinea: Equatorial Guinea: Annobon Island (John *et al.*, 2004).

St. Helena and Ascension Islands: Ascension Island (John *et al.*, 2004).

Laurencia brongniartii J.Agardh

Type locality: Martinique, West Indies.

Remarks: Dizerbo & Herpe (2007) and Stokes *et al.* (2004) considered this an introduced species in southeast France and Ireland, respectively.

Distribution: Gulf of Guinea: GHANA (John et al., 2004).

Luisitanian: Canary Islands: El Hierro and Lanzarote (uncertain record) (Gil-Rodríguez *et al.,* 2012). FRANCE: Brest (Dizerbo & Herpe, 2007).

Tropical Northwestern Atlantic: Costa Rica: Punta Coclas (Fernández & Alvarado, 2004). Cuba: Havana (Suárez, 2005). MARTINIQUE (Womersley, 2003). MEXICO: Quintana Roo (Sentíes & Fujii, 2002).

Northern European Seas: IRELAND (Stokes et al., 2004).

Laurencia caduciramulosa Masuda et Kawaguchi

Type locality: Hon Tre Island, Tien Hai Islands, Hatien, Kien-Giang Province, Vietnam.

Distribution: Lusitanian: CANARY ISLANDS: Tenerife (Gil-Rodríguez et al., 2012).

Mediterranean Sea: FRANCE: Mediterranean coast (Klein & Verlaque, 2005). GREECE: Zakynthos Island (Tsikira & Haritonidis, 2005). ITALY: Linosa Island (Furnari *et al.*, 2001; Serio *et al.*, 2006).

St. Helena and Ascension Islands: Ascension Island (Tsiamis *et al.*, 2014a).

Tropical Northwestern Atlantic: CUBA: Havana (Sentíes *et al.*, 2010) and Rincón del Guanabo (Suárez *et al.*, 2015). USA: Florida (Collado-Vides *et al.*, 2014).

Tropical Southwestern Atlantic: BRAZIL: Bahia (Torrano-Silva & Oliveira, 2013) and Rio de Janeiro (Cassano *et al.*, 2006).

Laurencia caraibica P.C. Silva

Type Locality: Abraham Bay, Mariguana (Mayaguana), Bahamas.

Distribution: Tropical Northwestern Atlantic: BAHAMAS: Abraham Bay (Schneider *et al.*, 2010). BELIZE: Carry Bow Cay (Norris & Bucher, 1982) and Pelican Cays (Littler & Littler, 1997). CUBA: Bucunayagua, Guanahacabibes and Havana (Suarez, 2005). JAMAICA (Taylor, 1960). LESSER ANTILLES (Taylor, 1969). MÉXICO: Campeche, Quintana Roo, Tamaulipas, and Veracruz (Ortega *et al.*, 2001; Sentíes & Fujii, 2002). VENEZUELA (Ganesan, 1990).

Tropical Southwestern Atlantic: BRAZIL: Rio Grande do Norte (Villaça *et al.*, 2010) and Bahia (Creed *et al.*, 2010).

Warm Temperate Northwest Atlantic: BERMUDA: Bermuda Island, Gibbet Island, and Somerset Island (Schneider *et al.*, 2010).

Laurencia catarinensis Cordeiro-Marino et M.T. Fujii

Type locality: Mole Beach, Santa Catarina Island, Brazil.

Distribution: Lusitanian: CANARY ISLANDS: El Hierro, Fuerteventura, Gran Canaria, La Gomera, La Palma, Lanzarote and Tenerife (Machín-Sánchez *et al.*, 2012).

WarmTemperate Southwestern Atlantic: BRAZIL: Santa Catarina (Fujii & Sentíes, 2005; Machín-Sánchez *et al.*, 2012) and São Paulo (Fujii *et al.*, 2006).

Tropical Southwestern Atlantic: BRAZIL: Rio Grande do Norte (Fujii & Sentíes, 2005; Machín-Sánchez *et al.*, 2012), Espírito Santo (Machín-Sánchez *et al.*, 2012) and Rio de Janeiro (Fujii & Sentíes, 2005).
Laurencia chondrioides Børgesen

Type locality: Saint John Island, U. S. Virgin Islands.

Remarks: Only one record outside the Atlantic (Philippines) by Silva *et al.*, (1987). In the Mediterranean Sea (France and Israel) it is regarded as an invasive species (Klein & Verlaque 2011; Hoffman *et al.*, 2014).

Distribution: Lusitanian: CANARY ISLANDS: Lanzarote (Gil-Rodríguez et al., 2012).

Mediterranean Sea: FRANCE: Hyères and Porquerolles Island (Klein & Verlaque, 2011). GREECE: Zakynthos Island (Tsirika & Haritonidis, 2005). IsRAEL: Achziv Beach, Achziv Reserve, Hai-fa-Bat Galim Beach, Rosh Hanika and Shavei Zion (Hoffman *et al.*, 2014). ITALY: Aeolian Islands, Lachea Island (Gómez-Garreta *et al.*, 2001), Linosa Island (Serio *et al.*, 2006), Tremiti Islands (Gómez-Garreta *et al.*, 2001) and Tuscany (Rindi *et al.*, 2002). SPAIN: Balearic Islands and Columbretes Island (Gómez-Garreta *et al.*, 2001).

Tropical Northwestern Atlantic: CUBA: Canarreos Archipelago and Alonzo Cay (Suárez, 2005). MEXICO: Quintana Roo (Ortega *et al.*, 2001). VIRGIN ISLANDS: St John (Klein & Verlaque, 2011).

Laurencia coronopus J. Agardh

Type locality: "in mare Nigro ad littusTauriae" (Black Sea).

Remarks: Gómez-Garreta *et al.*, (2001) suggested that a revision using recent taxonomic criteria should be made to corroborate if this species actually belongs to *Laurencia* or whether it belongs to *Chondrophycus* or *Osmundea*.

Distribution: Black Sea: Bulgaria: Athopol (Gómez-Garreta *et al.,* 2001; Kamenarska *et al.,* 2006; Kamenarska *et al.,* 2009). Romania Littoral: (Caraus, 2012; Gómez-Garreta *et al.,* 2001).

Mediterranean Sea: FRANCE: Herault (Gómez-Garreta *et al.,* 2001).

Laurencia corymbosa J. Agardh

Type locality: Cape of Good Hope, South Africa.

Distribution: South Africa: CAPE OF GOOD HOPE (Silva *et al.*, 1996).

Laurencia decumbens Kützing

Type locality: New Caledonia.

Distribution: Tropical Northwestern Atlantic: Bermuda: Bermuda Island (Schneider & Lane, 2005). VENEZUELA (Ganesan, 1990).

Tropical Southwestern Atlantic: BRAZIL: Atol das Rocas (Villaça *et al.*, 2010).

Laurencia dendroidea J.Agardh

Type locality: Brazil.

Remarks: According to Cassano *et al.* (2012b), using molecular and morphological characters, the taxa that have been identified as *L. filiformis, L. majuscula,* and *L. obtusa* in Brazil correspond to *L. dendroidea*. Similarly, *L. majuscula* in the Canary Islands corresponds to *L. dendroidea*.

Distribution: Gulf of Guinea: CAMEROON, GABON, and GHANA (John *et al.*, 2004).

Lusitanian: CANARY ISLANDS: Fuerteventura, Gran Canaria, La Palma, Lanzarote, and Tenerife (Gil-Rodríguez *et al.*, 2012). MADEIRA ARCHIPELAGO: Madeira (John *et al.*, 2004). Mediterranean Sea: FRANCE [uncertain record (Gómez-Garreta *et al.*, 2001)]. GREECE: Zakynthos Island (Tsikira & Haritonidis, 2005). ITALY: Lecce and Linosa Island (Gómez-Garreta *et al.*, 2001; Serio *et al.*, 2006).

Tropical Northwestern Atlantic: Barbados (Taylor, 1960, Wynne *et al.*, 2014). Bermuda (Taylor, 1960). Costa Rica (Taylor, 1960). Jamaica (Taylor, 1960). Lesser Antilles (Taylor, 1960). Netherlands Antilles, Trinidad and Tobago, and Venezuela (Taylor, 1960).

Tropical Southwestern Atlantic: BRAZIL: Bahia (Oliveira *et al.*, 2013). Espírito Santo (Oliveira *et al.*, 2013; Fujii *et al.*, 2006) and Rio de Janeiro (Cassano *et al.*, 2012b, Oliveira *et al.*, 2013)

West African Transition Zone: Cape Verde Islands and Salvage Islands (John *et al.*, 2004), Gambia (John *et al.*, 2004). Senegal: North of Senegal (John *et al.*, 2004).

Warm Temperate Northwest Atlantic: USA: North Carolina (Taylor, 1960).

Warm Temperate Southwestern Atlantic: BRAZIL: Santa Catarina (Creed *et al.*, 2010) and São Paulo (Cassano *et al.*, 2012b).

Laurencia epiphylla F. Boisset et J. C. Lino

Type locality: Alicante: La Granadella, Jávea, the Mediterranean coast of Spain.

Distribution: Mediterranean Sea: SPAIN: Alicante (Gómez-Garreta *et al.*, 2001).

Laurencia flexuosa Kützing

Type locality: "Ad Caput Bonae Spei", South Africa.

Distribution: South Africa: CAPE TOWN (Stegenga et al., 1997).

West African Transition: MAURITANIA [uncertain record (John *et al.*, 2004)].

Laurencia foldatsii N. Rodríguez de Rios

Type locality: Taguao, Distrito Federal, Venezuela

Distribution: Tropical Northwestern Atlantic: VENEZUELA (Ganesan, 1990).

Laurencia galtsoffii M. Howe

Type locality: Pearl and Hermes Reef, Hawaiian Archipelago.

Distribution: Gulf of Guinea: GABON, GHANA, and LIBERIA (John *et al.*, 2004).

West African Transition: CAPE VERDE ISLANDS (John et al., 2004).

Laurencia griseaviolacea M.J. Wynne

Type locality: Clovelly, Cape Peninsula, South Africa.

Distribution: South Africa: CAPE TOWN (Stegenga *et al.*, 1997, as *Laurencia peninsularis* H. Stegenga, J. J. Bolton *et* R. J. Anderson not *L. peninsularis* Taylor).

Laurencia intricata J.V. Lamouroux

Type locality: Antilles.

Remarks: According to Machín-Sánchez *et al.* (2012), records of *L. intricata* from the Canary Islands correspond to *L. catarinensis.* Therefore, we believe that a taxonomic study of this species from the rest of Macaronesian Archipelago and Western Africa is needed to verify the identity of *L. intricata* from these areas.

Distribution: Gulf of Guinea: Sao Tomé and Principe, and Sierra Leone (John *et al.*, 2004).

Mediterranean Sea: GREECE: Messolonghi (Christia *et al.*, 2011) and Zakynthos Island (Tsikira & Haritonidis, 2005). ITALY. Linosa Island (Furnari *et al.*, 2001; Gómez-Garreta *et al.*, 2001). LIBYA: Cyrenaica (Gómez-Garreta *et al.*, 2001).

Tropical Northwestern Atlantic: BAHAMAS (Taylor, 1960). BELIZE: Carrie Bow Cays (Norris & Bucher, 1992) and Pelican Cays (Littler & Littler, 1997). BERMUDA: (Taylor, 1960). CAYMAN ISLAND AND COSTA RICA (Taylor, 1960). CUBA: Canarreos Archipelago, Sabana-Camagüey Archipelago, Nuevitas Bay, Bocas de Alonzo, Coco, Gulf of Batabanó, Guanacahabites, Guardalavaca, Havana, Matanzas, and Villa Clara (Suárez, 2005; Gil-Rodriguez *et al.*, 2010). HISPANIOLA ISLAND and JAMAICA (Taylor, 1960). MARTINIQUE (Rodriguez-Prieto *et al.*, 1999). MEXICO: Campeche (Fujii *et al.*, 2006) and Quintana Roo (Sentíes & Fujii, 2002, Cassano *et al.*, 2010; Gil-Rodríguez *et al.*, 2010). PANAMA (Taylor, 1960). TRINIDAD AND TOBAGO (Duncan & Lee-Lum, 2006). USA: Florida (Collado-Vides *et al.*, 2011; Fujii *et al.*, 2006). VENEZUELA: Miranda State (Wynne, 2017). VIRGEN ISLANDS: St. Croix (Taylor, 1960).

West African Transition: CAPE VERDE ISLANDS [Uncertain record (John *et al.*, 2004)] and SENEGAL (John *et al.*, 2004).

Warm Temperate Northwest Atlantic: USA: Texas (Wynne, 2008).

Laurencia laurahuertana Mateo-Cid, Mendoza-González, Sentíes et Díaz-Larrea

Type locality: Punta Herrero, Quintana Roo. México

Distribution: Caribbean Sea and Gulf of Mexico. MEXICO: Quintana Roo (Mateo-Cid *et al.*, 2014).

Laurencia microcladia Kützing

Type locality: West Indies

Remarks: Records of *L. microcladia* from Brazil containa misapplied name, which correspond to *L. dendroidea* Cassano *et al.* (2012a).

Distribution: Lusitania: Azores Islands: Santa María Island and Pico (Tittley *et al.*, 2009). CANARY Islands: El Hierro, Fuerteventura, Gran Canaria, La Palma, Lanzarote, and Tenerife (GilRodríguez *et al.*, 2012). Madeira Archipelago: Porto Santo (Neto *et al.*, 2001). Salvages Islands (John *et al.*, 2004).

Mediterranean Sea: ALGERIA: Alger (Gómez-Garreta et al., 2001; Gil-Rodríguez et al., 2012). CYPRUS: Akamas, GaziMağusa, Girne, Karpasia, Liopetri, and Salamis (Taskin et al., 2013; Tsiamiset al., 2014b). Egypt: El Dabaa (Gómez-Garreta et al., 2001). FRANCE: Corsica (Gómez-Garreta et al., 2001) and Hérault (Verlaque, 2001). GREECE: Zakynthos Island (Tsikira & Haritonidis, 2005). ITALY: Linosa Island (Serio et al., 2006), Sicilia (Gómez-Garreta et al., 2001), Tuscan Archipelago (Ridi et al., 2002), Italian Adriatic Sea (Gómez-Garreta et al., 2001), Gulfof Taranto (Gómez-Garreta et al., 2001), Cherad ilslands, and Sardinia (Gómez-Garreta et al., 2001). MALTA: Gozo Island and Malta Island (Comarci et al., 1997). MOROCCO: Alhucemas, Cabo de Agua, Karia Arkemanne, Muelle Colorado, Punta Negri, Punta de Rostrogordo, and Punta de Sabinilla (Gómez-Garreta et al., 2001). SPAIN: Almería (Soto & Conde, 1989), Balearic Islands (Gómez-Garreta et al., 2001), Catalunya (Gómez-Garreta et al., 2001), and Murcia (Gil-Rodríguez et al., 2012). TURKEY: Akdeniz, İzmir Bay, Gulf of Gökova, Karadeiz and Mersin (Taskin et al., 2008).

Tropical Northwestern Atlantic: BAHAMAS (Taylor, 1960). BELIZE: Carrie Bow Cays (Norris & Bucher, 1982) and Pelican Cays (Littler & Littler, 1997). BERMUDA (Taylor, 1960). CAICOS ISLANDS, CAYMAN ISLANDS, COSTA RICA, JAMAICA, LESSER ANTILLES, NETHERLANDS ANTILLES, and PANAMA (Taylor, 1960). CUBA: Gulf of Batabanó (Suárez, 2005). PUERTO RICO: Arecibo and Santiago Cay (Gíl-Rodríguez *et al.*, 2012). TRINIDAD AND TOBAGO (DUNCAN & LUM-Lee, 2006). USA: Florida (Taylor, 1960). VENEZUELA: Aves Island (Taylor, 1960) and Cumana (Gil-Rodríguez *et al.*, 2012). VIRGIN ISLANDS (Taylor, 1960).

West African Transition: CAPE VERDE ISLANDS: Ilheu Branco and San Nicolau (John *et al.*, 2004, Gil-Rodríguez *et al.*, 2012). MAURITANIA (John *et al.*, 2004). SENEGAL: North of Senegal (John *et al.*, 2004).

Laurencia minuscula Schnetter

Type locality: Puerto López (Alta Guajira), Guajira Department, Colombia.

Distribution: Tropical Northwestern Atlantic: Colombia: Guajira (Schnetter, 1976). Cuba: Havana (Sentíes *et al.*, 2010).

Laurencia minuta Vandermeulen, Garbary et Guiry

Type locality: Eilat, Israel.

Distribution: Lusitanian: CANARY ISLANDS: Tenerife (*"taxa inquirenda"* Haroun *et al.*, 2002; John *et al.*, 2004). SPAIN: Galicia (Bárbara *et al.*, 2005).

Mediterranean Sea: CYPRUS: Girne (Taskin *et al.*, 2013). SPAIN: Alicante (Gómez-Garreta *et al.*, 2001). GREECE: Zakynthos Island (Tsikira & Haritonidis, 2005). ITALY: Apulia, Gulf Taranto, NorwesternItaly, and Sicily (Gómez-Garreta *et al.*, 2001), Linosa Island (Serio *et al.*, 2006), and Tuscany (Rindi *et al.*, 2002). MALTA: Malta Island (Gómez-Garreta *et al.*, 2001).

Laurencia natalensis Kylin

Type locality: Isipingo Beach, near Durban, South Africa

Distribution: South Africa: Pearly Beach to Agulhas (Stegenga *et al.*, 1997)

Laurencia nidifica J. Agardh

Type locality: Hawaiian Islands

Distribution: Gulf of Guinea: Ivory Coast, Ghana, and Liberia (John *et al.*, 2004).

Lusitania: MADEIRA ARCHIPELAGO: Deserta Grande [uncertain record (Neto *et al.*, 2001)].

St. Helena and Ascension Islands: St. Helena (John et al., 2004).

West African Transition: Cape Verde Islands (John et al., 2004).

Laurencia obtusa (Hudson) J. V. Lamouroux

Type locality: England.

Remarks: Cassano *et al.* (2012b) confirmed through molecular and morphological characters that records of *L. obtusa* from Brazil correspond to *L. dendroidea*.

Distribution: Black Sea: BULGARIA: Ahtopol area (Dimitrova-Konaklieva, 1981). ROMANIA: Romanian Littoral (Caraus, 2012). TURKEY: Antalya, Dikili Gelibolu, Gokçeada Island, Izmir Bay, Kirklareli, Korfezi, Mersin, and Zonguldak (Gómez-Garreta *et al.*, 2001; Taskin *et al.*, 2008).

Gulf of Guinea: Cameroon. Equatorial Guinean: Annobon Island. Ghana. Sao Tome and Principe. Sierra Leone (John *et al.*, 2004).

Lusitania: Azores Islands: Faial, Pico, Sao Miguel, Terceira, and Santa Maria (Neto, 1994; Tittley & Neto, 1994). CANARY Islands: El Hierro, Fuerteaventura, Gomera, Gran Canaria, La Palma, Lanzarote Island, and Tenerife (John *et al.*, 2004; Gil-Rodríguez *et al.*, 2012). FRANCE: Britanny (Feldmann,1954), Guernsey (Sentíes & Fujii, 2002), Herault (Ben Maiz*et al.*, 1988), and Normandia (Dixon, 1961; Dizerbo & Herpe, 2007). MADEIRA ARCHIPIELAGO: Deserta Grande, Ilhéu de Fora, Madeira, Porto Santo, Selvagem Grande, and Selvagem Pequena (John *et al.*, 2004). Salvaget Islands (John *et al.*, 2004). MAURITANIA (John *et al.*, 2004). PORTUGAL: Beira Litoral, Douro Litoral, and Minho (Araujo *et al*, 2009). SPAIN: Asturias (Cires-Rodríguez & Cuesta-Moliner, 2010), Basquecoast (Gorostiaga *et al.*, 2004), Cantabria (Martínez-Gil *et al.*, 2007), Galicia (Bárbara *et al.*, 2005; Peña & Bárbara, 2008), and Vigo (Hamel, 1928).

Mediterranean Sea: ALGERIA: Alger, Annaba, Bab El Oued, Bologhine, El Marsa, Rais Hamidou, Sidi Fredj, Southwest of Cap Bordj El Bahri, and Tipaza (Gómez-Garreta *et al.*, 2001). CROATIA: Istria Coast (Munda, 1979). CYPRUS: Dip Karpaz, Farmagusta, Gazi Mağusa, Girne, Karpasia, Kumyali, Koruçaim, Kyrenia, Liopetri, Salamis, and Yeşilirmak (Taskin *et al.*, 2013; Tsiamis *et al.*, 2014b). EGYPT: Alexandria (Gómez-Garreta *et al.*, 2001). FRANCE: Corsica (Gómez-Garreta *et al.*, 2001; Sales & Ballesteros, 2010), Hyéres (Augier *et al.*, 1971), Pyrenees Orientales (Gómez-Garreta *et al.*, 2001), and Var (Coppejans, 1972). GREECE: Ionan Islands (Tsikira & Haritonidis, 2005), Kleisova (Gómez.Garreta et al., 2001; Christia et al., 2011), Rhodos Island (Diapoulis et al., 1986), and Sporades du Nord (Diannelidis, 1953). ISRAEL: Habonim (Gómez-Garreta et al., 2001). ITALY: Adriatic Sea (Furnari et al., 1999; Gómez-Garreta et al., 2001), Gulf of Taranto (Cecere et al., 1996), Napoli (Cinelli, 1971; Feoli & Bressan, 1972), Salerno (Edwards et al., 1975), Sicilia (Serio et al., 2006; Gómez-Garreta et al., 2001), Tuscany (Rindi et al., 2002), and Sardinia (Furnari et al., 2003). LIBYA: Bengazi-Sabri, Cyrenaica, Derna, and Tripoli (Gómez-Garreta et al., 2001). MALTA: Gozo Island (Cormaci et al., 1997). MOROCCO: Cabo de Agua, Cabo Quilates, Cal Iris, Cala Bonita, Cala Charranes, Cala Viñas, Cazaza, Chafarinas Islands, Karia Arkemanne, Mar Chica, Playa del Quemado, Punta Negri, Punta de Rostrogordo, and Sammar (Gómez-Garreta et al., 2001). Spain: Andalusia (Conde et al., 1996; Conde & Flores-Maya, 2000), Balearic Islands (Gómez-Garreta et al., 2001), Catalunya (Ballesteros, 1981; Rodríguez-Prieto & Polo-Albertí, 1988, 1998), Murcia (Pérez-Ruzafa & Honrubia, 1984; Pérez-Ruzafa, 1990), and Valencia (Barcelo & Seoane, 1982). TUNISIA: Bahiret, Bechateur, Bizerte, Cap Blanc, Cap Farina, Cap Serrat, Cathage, Djerba, El Bibane, Gabès, Gammarth, Ghar El Khebir, Gulf of Gabès, Iles Cani, Kelibia, Kerkennah, Korba, Korbous, La Goulette, La Marsa, Mer de Bou Grara, Monastir, Le Galiton, Raf Raf, Raouad, Ras el Fartass, Salambô, Sidi Bou Said, Sfax, Sídi Raïs, Tabarka, Zarzis, and Zembra (Gómez-Garreta et al., 2001).

Northern European Seas: ENGLAND: Sussex and Devon (Lipkin & Silva, 2002). IRELAND: Antrim (Morton, 1994), Clare (De Valéra *et al.*, 1979), Derry (Morton, 1994), Donegal (Morton, 2003), Down (Morton, 1994), Cork, Dublin, Galway, Kerry, Leitrim, Mayo, and Wexford (Guiry, 1978). Sweden (Athanasiadis, 1996).

Tropical Northwestern Atlantic: BAHAMAS: Berry Island (Sentíes & Fujii, 2002). BARBADOS (Wynne et al., 2014). BELIZE: Carrie Bow Cay (Norris & Bucher, 1982) and Pelican Cays (Littler & Littler, 1997). BERMUDA: St. Georges Island (Sentíes & Fujii, 2002; Taylor, 1960). Caicos Island, Cayman Islands, and Colombia (Taylor, 1960). Cuba: Havana City (Sentíes & Fujii, 2002), Camagüev, Juventud Island, and Matanzas, and Villa Clara (Suárez, 2005). Dominican Republic: Santo Domingo (Sentíes & Fujii, 2002). GUADELOUPE: Pointe de la Verdure (Fujii et al., 2006). JAMAICA (Taylor, 1960). MARTINIQUE: Pointe des Salines and Ste. Anne (Rodríguez-Prieto & Michanek, 1999). MEXICO: Campeche, Quintana Roo, and Tamaulipas (Ortega et al., 2001; Sentíes & Fujii, 2002), Veracruz and Yucatán (Ortega et al., 2001). Netherlands Antilles: Bonaire and Curaçao (Sentíes & Fujii, 2002). PANAMA: Galeta Point (Sentíes & Fujii, 2002). PUER-TO RICO: Guanica and Jaobos (Sentíes & Fujii, 2002). TRINIDAD AND TOBAGO: Tobago (Taylor, 1960; Sentíes & Fujii, 2002). USA: Florida (Littler et al., 2008). VENEZUELA: Aves Island, Cabagua, Margarita Island, and Pelona Island (Taylor, 1960; Sentíes & Fujii, 2002; Fujii et al., 2006). Virgin Islands (Taylor, 1960).

Warm Temperature Northwestern Atlantic: USA: Texas (Wynne, 2008).

West African Transition: CAPE VERDE ARCHIPIELAGO (John *et al.*, 2004). GAMBIA (John *et al.*, 2004). SENEGAL: North Senegal (John *et al.*, 2004).

Laurencia oliveirana Yoneshigue

Type locality: Ponta da Cabeça, Cabo Frio, Rio de Janeiro State, Brazil.

Distribution: Tropical Southwestern Atlantic: BRAZIL: Rio de Janeiro (Fujii *et al.*, 2012) and Bahia (Fujii & Sentíes, 2005).

Warm Temperate Southwestern Atlantic: BRAZIL: Rio Grande do Sul and São Paulo (Fujii & Sentíes, 2005).

Laurencia pyramidalis Bory ex Kützing

Type locality: Granville, Normandy, France.

Distribution: Lusitania: Azores: Pico, Santa Maria, and Sao Miguel (Machín-Sánchez *et al.*, 2014). CANARY ISLANDS: Fuerteventura, La Gomera, Lanzarote, and Tenerife (Machín-Sánchez *et al.*, 2014). FRANCE: Finistère (Bouxin & Dizerbo, 1971) and Normandy (Machín-Sánchez *et al.*, 2014). MADEIRA ARCHI-PELAGO: Ponta de São Jorge-Casi, Porto Moniz-Piscinas, and Seixal-Praia da Laje (Machín-Sánchez *et al.*, 2014). PORTUGAL: Minho (Araujo *et al.*, 2009). SPAIN: Asturias (Cires-Rodríguez & Cuesta-Moliner, 2010; Díaz *et al.*, 2008), BasqueCoast (Gorostiaga *et al.*, 2004), Cantabria (Martínez-Gil *et al.*, 2007), Galicia (Bárbara *et al.*, 2005) and Sisargas Island (Veiga *et al.*, 1998).

Mediterranean Sea: CYPRUS: Dip Karpaz and Gazi Mağusa (Taskin *et al.*,2013). ITALY: Adriatic Sea (Furnari *et al.*, 1999) and Sardinia Island (Serio *et al.*, 2004). SPAIN: Andalusia (Conde *et al.*, 1996), Catalunya (Ballesteros, 1981), and Murcia (Pérez-Ruzafa & Honrubia, 1984).

Nothern European Seas: Great Britain and Ireland (Hardy & Guiry, 2003).

Laurencia tenera C. K. Tseng

Type locality: Shek-O, Hong Kong.

Distribution: Gulf of Guinea: Ivory coast, Ghana, Liberia, Sierra Leone, and Togo (John *et al.*, 2004).

West African Transition: Cape Verde Islands, Gambia, Mauritania, and Senegal (John *et al.*, 2004).

St Helena and Ascension Islands: St. Helena (John *et al.*, 2004).

Laurencia translucida M. T. Fujii et Cordeiro-Marino

Type locality: Padres beach, Aracruz, Espírito Santo State, Brazil.

Distribution: Warm Temperate Southwesern Atlantic: BRAZIL: São Paulo (Creed *et al.*, 2010).

Tropical Southwestern Atlantic: BRAZIL: Bahia, Ceará, and Pernambuco Espírito Santo (Fujii *et al.*, 2006), Rio de Janeiro (Creed *et al.*, 2010).

Laurencia venusta Yamada

Type locality: Koshiki-jima, Kagoshima Prefecture and Gotoretto, Nagasaki Prefecture, Japan. Distribution: Tropical Northwestern Atlantic: México: Quintana Roo (Sentíes & Fujii, 2002).

Tropical Southwestern Atlantic: BRAZIL: Espírito Santo (Fujii & Sentíes, 2005).

Laurencia viridis Gil-Rodríguez et Haroun

Type locality: Canary Isands: Tenerife: Punta Hidalgo-Baja Negra.

Distribution: West African Transition: CAPE VERDE ISLANDS (John *et al.*, 2004).

Macaronesian Archipelago. Azores: Santa María (Machín-Sánchez *et al.*, 2014). CANARY ISLANDS: El Hierro, Fuerteventura, Gran Canaria, La Gomera, La Palma, Lanzarote, and Tenerife (John *et al.*, 2004; Gil-Rodríguez *et al.*, 2012; Machín-Sán-chez *et al.*, 2014). MADEIRA ARCHIPELAGO: Ilhéu de Fora, Ponta de Sao Jorge, Porto Santo, and Salvagem Pequena (John *et al.*, 2004; Machín-Sánchez *et al.*, 2014).

Species inquirenda

Laurencia alsidiiformis Zanardini ex Fraudenfeld

Type locality: Spalato, Dalmatian coast.

Laurencia alsidioides P. L. Crouan et H.M. Crouan

Type locality: I. Guadeloupe, Caribbean Sea.

Laurencia botryocephala Kützing

Type locality:"Ad Caput Bonae Spei" Cape of Good Hope.

Laurencia canariensis Montagne ex Kützing

Remarks: Gil Rodríguez *et al.* (2012) suggested that it should be considered an uncertain species. According to John *et al.* (1994), *L. canariensis* and *L. caespitosa* are synonyms of *Osmundea hybrida* (De Candolle) K. W. Nam.

Type locality: Canary Islands.

Laurencia moriformis Kützing

Type locality: Cape of Good Hope.

Laurencia trifaria Kützing

Type locality: Cape of Good Hope.

PAE Analysis. The area cladogram obtained had the following parameters: Length = 28, Consistency Index=0.85 and Retention Index=0.88. The strict consensus tree of the 3 equally parsimonious trees is presented (Fig. 2). Cladogram topology suggests four areas of endemism: South Africa (AghB) with four restricted species, Brazil (EB, NEB, and SEB) with four restricted species, Northeastern Atlantic (WMe, SEAS, LevS, and AdS) with three restricted species, and Gulf of Guinea (SHAI, GGU, CV, GGW, and GGC) with four restricted species (Fig. 3). Some of these species, however, are also distributed in the Indo-Pacific (see Table 1). In addition, we have defined three categories of areas: partial congruence (areas with partial congruence between the areas of distribution) composed by GA, ECa, WCa, and SCa (Fig. 2), secondary areas (area with an endemic species, Ippi & Flores, 2001) and widespread species (Table 1).



Figure 2. Areas of endemism defined in the PAE analysis. 1) Northwestern Atlantic, 2) South Africa, 3) Gulf of Guinea, and 4) Brazil. The black dots represent restricted species or synapomorphies and the white dots represent homoplasies.

DISCUSSION

The nomenclature from genus to species, valid names, and taxonomic synonyms of *Laurencia* are a fundamental part of the checklist here proposed and a topic of continuing discussion among taxonomists. Checklists allow for the documentation of species distributions, the biodiversity within certain areas, and offer the possibility of using this information to carry out a biogeographical analysis; thus, considering the taxonomic remarks, uncertain records, reports of invasion, and introduction of species allows us to obtain biogeographical natural patterns or approximate reality. Taxonomic validity of the records and the recognition of the distribution limits of the species area are essential requirements in biogeographic works (Morrone, 2013). In turn, areas of

endemism and secondary areas can be defined, and widespread species identified.

On endemism. Areas of endemism (non-endemic species) are defined as the sympatric distribution congruence of two or more taxa belonging to a given category (e.g., order, family, genus or species) (Morrone, 2013). However, when we take *Laurencia*, the Caribbean Sea is defined by partial congruence in the distribution of two or more species (group GA, ECa, WCa, and SCa; see Fig. 2). Endemic species inhabit this region, such as *L. laurahuertana* in the western Caribbean, *L. foldatsii* in the southern Caribbean, *L. chondrioides*, and *L. minuscula* in the Caribbean Sea in general, but their distributional congruence is not total, and the PAE analysis does not define this area for two or more synapormorphies. Furthermore, the Caribbean Sea is the Atlantic biotic area with the highest species richness of *Laurencia* (13 spp). This biogeographic pattern is also shared by the distributional diversity of several unrelated taxa, such as coastal fishes, mangroves, coral reefs, and seagrasses in the Atlantic Ocean (Tittensor *et al., 2010*).

According to Tapia-Silva *et al.* (2015), a mathematical analysis of the geographic distribution of the macroalgal species richness can reveal high diversity spots that, in the case of macroalgae, coincide well with the major distribution of the great marine environments in the area (mangroves, coral reefs and seagrasses): the Mexican Caribbean barrier reef, the Veracruz reef system, and the Alacran reef system at Puerto Progreso, Yucatan (Vilchis *et al.*, in press). Studies have shown higher macroalgal diversity in the Indo-Pacific area than in the Atlantic (Kerswell, 2006), and when comparing worldwide *Laurencia* data (Tapia *et al.*, 2015) this pattern is confirmed. Areas of endemism in the south Atlantic were also found in Brazil, Gulf of Guinea, and South Africa, which are also reported to contain endemic species (Brown & Lomolino, 1998); furthermore, it was found that the Gondwana breakup is the geological process that explains this endemism.

Other areas such as the Northwestern Atlantic, Europe, and the Caribbean Sea share *Laurencia* species with other regions (i.e., the Indo-Pacific), and the influence of vicariance events such as the closing of Isthmus of Panama and the final closure of the Tethys seaway in the Eastern Atlantic (Cowman & Bellwood, 2013) has not been studied.

Secondary areas. These areas are defined by the presence of one endemic species. When this happens, for example, in the Macaronesian Archipelago with *L. viridis*, the area is inhabited mostly by species that are also distributed in other places (9 spp.), and the number of endemic species is smaller compared to the defined areas of endemism. In the Macaronesian Archipelago, the phycofloristic composition reveals elements in common with the littoral of continental Europe and the North of Africa (Haroun and Prud'Homme van Reine, 1993; Tuya & Haroun, 2009). This is because the geological origin of the Macaronesian islands dates to the early Miocene (20 my) (Brown & Lomolino, 1998), allowing the colonization of species from other areas. Thus, this region is a special biotic area that could be researched using an island-biogeography approach.

Widespread species. The genus *Laurencia* in the Atlantic Ocean extends from the coast of Ireland to South Africa, including the Mediterranean Sea and Black Sea; in the western Atlantic, the genus extends from North Carolina, USA, to southern Brazil. Seventeen of these species are also distributed in the Indo-Pacific, of which five are widely distributed in the Atlantic Ocean.

Categories	Defined Area	Species
Areas of Endemism	Atlantic Northeastern Ocean	L. coronopus, L. minuta*, L. pyramidalis⁺.
	Brazil	L. aldingensis*, L. catarinensis⁺, L. oliveirana, L. translucida.
	Gulf of Guinea	L. brachyclados*, L. galtsoffii*, L. nidifica*, L. tenera*.
	South Africa	L. corymbosa*, L. flexuosa, L. griseaviolacea, L. natalensis*
Partial Congruence	Caribbean Sea	L. chondrioides, L. epiphylla, L. foldatsii, L. laurahuertana, L. minuscula*
Secondary Areas	Macaronesian Islands	L. viridis
	American Atlantic	L. caraibica*, L. decumbens*, L venusta*
Amphi-Atlantic	Northern Atlantic	L. microcladia*+
	Widespread in the Atlantic Ocean	L. brongniartii*, L. caduciramulosa*+, L. dendroidea*+, L. intricata* , L. obtusa*+

Table 1. Categories of areas defined for *Laurencia* in the Atlantic Ocean.

*Species also distributed in the Indo-Pacific. *Species also distributed in the Macaronesian Archipelago.



Figure 3. Map of the areas of endemism of *Laurencia* in the Atlantic Ocean.

Recent phylogenetic studies have been useful in detecting misidentifications in the Atlantic, especially in records from Macaronesia, Brazil, and the Mexican Caribbean, although only nine widespread species of *Laurencia* in the Atlantic have a molecular characterization in these places. The use of the molecular-phylogenetic approach on these species in the Atlantic Ocean should allow us to identify new lineages over a wide distribution range, as has happened with other groups of red algae (Skage *et al.*, 2005; Nuñez-Resendiz *et al.*, 2015), and achieve a much better understanding of the historical biogeography of *Laurencia* in the Atlantic Ocean.

According to Miranda and Marques (2011), the two principal obstacles in the biogeographical works are (1) the reliability of species identifications and the consequent uncertainty of the presence of species in a given area, and (2) the difficulty in producing reliable cladograms from phylogenies. In conclusion, it has been possible to establish a biogeographic pattern in *Laurencia* from the definition of areas of endemism and partial and secondary areas. This pattern has been linked to geological events that occurred in the past. Therefore, the recognition of new species from systematics studies and the clarification of taxonomic problems will allow researchers to continue developing a biogeographic hypothesis for the genus in the Atlantic Ocean.

ACKNOWLEDGEMENTS

The first author wishes to thank the Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa and CONACyT. We also thank the following projects: UAMI, Consejo de la Div. C.B.S., (Sesión 15.14-131014) and Secretaría de Educación Pública-PROMEP (UAMI-CA-117), the São Paulo Research Foundation (FAPESP, 2014/00012-1), and CONACyT. Finally, we thank Michael Wynne for his comments on the manuscript.

REFERENCES

- ARAUJO, R., I. BÁRBARA, M. TIBALDO, E. BERECIBAR, P. DÍAZ-TAPIA, R. PEREIRA, R. SANTOS & I. SOUSA-PINTO. 2009. Checklist of benthic marine algae and cyanobacteria of Northern Portugal. *Botanica Marina* 52 (1): 24-46. DOI: 10.1515/BOT.2009.026
- ATHANASIADIS, A. 1996. Taxonomisk litteratur och biogeografi av Skandinaviska rödalger och brunalger. Göteborg. Algologia, Göteborg. 280 p.
- AUGIER, H., C.F. BOUDOURESQUE & J. LABOREL. 1971. Végétation marine de l'Île de Port Cros (Parc National). VII. — Les peuplements sciaphiles profonds sur substrat dur. *Bulletin du Museum d'Histoire Naturelle de Marseille* 31: 153-183.
- BALLESTEROS, E. 1981. Contribució al coneixement algològic de la Mediterrània Espanyola: algues bentòniques i litorales de Tossa de Mar (Girona). Bulletí de la Institució Catalana d'Història Natural 46 (Sec. Bot. 4): 55-73. Avaliable online at: http://www.raco.cat/index.php/ ButlletilCHN/article/view/235801/318064.
- BÁRBARA, I., J. CREMADES, S. CALVO, M.C. LÓPEZ-RODRÍGUEZ & J. DOSIL. 2005. Checklist of the benthic marine and brackish Galician algae (NW Spain). Anales del Jardín Botánico de Madrid 62 (1): 69-100.
- BARCELO, M. C. & J. A. SEOANE. 1982. Aportació al coneixement de las algues marines de les costes del Pais Valencià. *Collectanea Botanica* 13 (2): 767-775.
- BEN MAIZ, N., C. F. BOUDOURESQUE, M. LAURENT & R. RIOUALL. 1988. Inventaire bibliographique des macrophytes (Algues, Phanérogames) signales dans l'Etang de Thau (Herault, France). *Naturalia Monspeliensia. Série Botanique* 52: 71-84.
- BOUXIN, H. & A. H. DIZERBO. 1971. Les algues de l'Archipel des Glenan (Finistere). *Botanica Rhedonica*. Serie A (10): 199-226.
- BROWN J. H. & M. V. LOMOLINO. 1998. Biogeography, 2nd edition. Sinauer Associates, Massachusetts. 691 p.
- CARAUS, I. 2012. Algae of Romania: A distributional checklist of actual algae version 2.3, 3rd revision. University of Bacau, Bacau. 809 p.
- CARVALHO, L. R., M. T. FUJII, N. F. ROQUE & J. H. G. LAGO. 2006. Aldingenin derivates from the red alga *Laurencia aldingensis*. *Phytochemistry* 67 (13): 1331-1335. DOI: 10.1016/j.phytochem.2006.04.020
- CASSANO, V., M. T. M. DE SZÉCHY & M. T. FUJII. 2006. Laurencia caduciramulosa (Ceramiales, Rhodophyta) from Ilha Grande Bay, Rio de Janeiro, Brazil: a recent introduction into the Atlantic Ocean? Cryptogamie Algologie 27 (3): 265-277.
- CASSANO, V., M. C. GIL-RODRIGUEZ, A. SENTIES & M. T. FUJII. 2008. Laurencia caduciramulosa (Ceramiales, Rhodophyta) from the Canary Islands, Spain: a new record for the eastern Atlantic Ocean. Botanica Marina 51 (2): 156-158. DOI: 10.1515/BOT.2008.021
- CASSANO, V., M. C. OLIVEIRA, M. C. GIL-RODRÍGUEZ, A. SENTÍES, J. DÍAZ-LARREA & M. T. FUJII. 2012a. Molecular support for the establishment of the new genus *Laurenciella* within the *Laurencia* complex (Ceramiales, Rhodophyta). *Botanica Marina* 55 (4): 349-357. DOI: 10.1515/bot-2012-0133
- Cassano, V., Y. Metti, A.J.K. Millar, M.C. Gil-Rodriguez, A. Senties, J. Diaz-Larrea, M.C. Oliveira & M.T. Fujii. 2012b. Redefining the taxonomic

status of *Laurencia dendroidea* (Ceramiales, Rhodophyta) from Brazil and the Canary Islands. *European Journal of Phycology* 47 (1): 67-81. DOI: 10.1080/09670262.2011.647334

- CECERE, E., M. COMARCI, G. FURNARI, A. PETROCELLI, O. SARACINO & D. SERIO. 1996. Benthic algal flora of Cheradi Islands (Gulf of Taranto, Mediterranean Sea). *Nova Hedwigia* 62 (1): 191-214.
- CHRISTIA, C., I. TZIORTZIS, G. FYTTIS, L. KASHTA & E. PASTERGIADOU. 2011. A survey of the benthic aquatic flora in transitional water systems of Greece and Cyprus (Mediterranean Sea). *Botanica Marina* 54 (2): 169-178. DOI: 10.1515/bot.2011.016
- CINELLI, F. 1971. Alghe bentoniche di profundità raccolte alla punta S. Pancrazio nell'Isola di Ischia (Golfo di Napoli). *Giornale Botanico Ita*liano 105: 207-236. DOI: 10.1080/11263507109426526
- CIRES-RODRIGUEZ, E. & C. CUESTA-MOLINER. 2010. Checklist of benthic algae from the Asturias coast (North of Spain). *Boletín Ciencias Naturales RIDEA* 51: 135-212.
- ColLado-Vides, L., V. Mazzeí, T. THyberg & D. LIRMAN. 2011. Spatio-temporal patterns and nutrient status of macroalgae in a heavily managed region of Biscayne Bay, Florida, USA. *Botanica Marina* 54 (4): 377-390. DOI: 10.1515/bot.2011.046
- COLLADO-VIDES, L., V. CASSANO, J. DÍAZ-LARREA, A. DURAN, A. DA-SILVA-MEDEIROS, A. SENTIES & M. TOYOTA-FUJII. 2014. Spread of the introduced species *Laurencia caduciramulosa* (Rhodomelaceae, Rhodophyta) to t,he northwest Atlantic: A morphological and molecular analysis. Phytotaxa 183 (2): 93-107. DOI: 10.11646/phytotaxa.183.2.2
- CORMACI, M., E. LANFRANCO, J.A. BORG, S. BUTTIGIEG, G. FURNARI, S.A. MICALLEF, C. MIFSUD, F. PIZZUTO, B. SCAMMACCA & D. SERIO. 1997. Contribution to the knowledge of benthic marine algae on rocky substrata of the Maltese Islands (Mediterranean Sea). *Botanica Marina* 40 (1-6): 203-205. DOI: 10.1515/botm.1997.40.1-6.203
- CONDE, F., A. FLORES-MAYA, J. SOTO, M. ALTAMIRANO & A. SÁNCHEZ. 1996. Checklist of Andalusia (S. Spain) seaweeds III. Rhodophyceae. Acta Botánica Malacitana 21: 7-33.
- CONDE, F. & A. FLORES-MAYA. 2000. Nuevas adiciones al conocimiento de las macroalgas marinas de la isla de Alborán (Mediterráneo Occidental). Acta Botánica Malacitana 25: 180-184.
- COPPEJANS, E. 1972. Resultats d'une étude systématique et écologique de la population algale des côtes rocheuses du Dramont, St Raphael (Var, France). *Biologisch Jaarboek Dodonaea* 40: 153-180.
- COWMAN, P.E & D.R. BELLWOOD. 2013. Vicariance across major marine biogeographic barriers: temporal concordance and the relative intensity of hard versus soft barriers. *Porceeding of The Royal Society* B 280 (1768): 1-8. DOI: 10.1098%2Frspb.2013.1541
- CREED, M., M. T. FUJII, M. B. DE B. BARRETO, S.M.P. DE B. GUIMARÃES, V. CASSANO, S. M. B. PEREIRA, M. DE F. DE O. CARVALHO & S. KHADER. 2010. *In:* FOTZZA, R.C. (Eds.). *Catálogo de plantas e fungos do Brasil 1. Rhodophyceae.* Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, pp. 426-436.
- DE VALÉRA, M., C. PYBUS, B. CASLEY & A. WEBSTER. 1979. Littoral and benthic investigations on the west coast of Ireland X. Marine algae of the northern shores of the Burren, Co. Clare. *Proceedings of the Royal Irish Academy* 79B: 259-269.

- DIANNELIDIS, T. 1953. Contribution à la connaissance des algues marines des Sporades du Nord (Cyanophyceae, Chlorophyceae, Phaeophyceae, Rhodophyceae). *Praktika Hellenic Hydrobiology Institute* 6: 41-84.
- DIAPOULIS, A., S. HARITONIDIS & T. KOUSSOURIS. 1986. Spring benthic flora of Rhodos Island, Greece. *Thalassographica* 9: 49-57.
- Díaz, P., I. BÁRBARA, A. SECILIA, C. PETEIRO, S. CALVO, N. SÁNCHEZ, A. SANTOLARIA, I. DÍEZ, T. GALLARDO, J. CREMADES & J. M. GOROSTIAGA. 2008. Adiciones corológicas a la flora bentónica marina del Cantábrico. *Nova Acta Científica Compostelana (Bioloxía)* 17: 177-189.
- DIMITROVA-KONAKLIEVA, S.D. 1981. Geographical analysis on the marine algae of the Black Sea in the Ahtopol area. *Phytology* 18: 22-35.
- DIXON, P. S. 1961. List of marine algae collected in the Channel Islands during the joint meeting of the British Phycological Society and the Société Phycologique de France September 1960. *British Phycological Bulletin* 2 (2): 71-80. DOI: 10.1080/00071616100650061
- DIZERBO, A. H. & E. HERPE. 2007. Liste et répartition des algues marines des côtes françaises de la Manche et de l'Atlantique, îles Normandes incluses. Éditions Anaximandre, Landerneau. 315 p.
- DUNCAN, E. J. & L. M. LEE-LUM. 2006. A checklist of the marine macroalgae of the Republic of Trinidad and Tobago. *Caribbean Marine Studies* 7: 1-96.
- EDWARDS, P., E. BIRD, B. COTGREAVE, A. COSSINS, K. CROMPTON, K. FOWLER, D. HERD-SON & J. HUDSON. 1975. Marine phytobenthos of the Castellabate (Cilento) Natural Park, Salerno, Italy. *Phytocoenologia* 1 (4): 403-246.
- FELDMANN, J. 1954. Inventaire de la flore marine de Roscoff. Algues, champignons, lichens et spermatophytes. *Travaux Station Biologique de Roscoff. Nouvelle Série* (Supplement 6): 152 p.
- FEOLI, E. & G. BRESSAN. 1972. Affinità florística dei tipi di vegetazione bentonica della Cala di Mitigliano (Massa Lubrense, Napoli). Giornale Botanico Italiano 106 (5): 245-256. DOI: 10.1080/11263507209426553
- FERNÁNDEZ, C. & J. J. ALVARADO. 2004. El arrecife coralino de Punta Coclas, costa Caribe de Costa Rica. *Revista Biología Tropical* 52 (Supplement 2): 121-129.
- FUJII, M. T. & A. SENTIES. 2005. Taxonomia do complexo Laurencia (Rhodomelaceae, Rhodophyta) do Brasil, com ênfase nas especies dos estados de Sao Paulo e do Espíritu Santo. In: Sentíes, A. & K.M. Dreckmann (Eds.). Monografías Ficológicas 2. UAM-Iztapalapa and Red Latinoamericana de Botánica, Cd. de Mexico. pp. 69-135,
- FUJII, M. T., S. M. P. B. GUIMARAES, C. F. D. GURGEL & S. FREDERICO. 2006. Characterization and phylogenetic affinities of the red algae *Chondrophycus flagelliferus* (Rhodomelaceae, Ceramiales) from Brazil on the basis of morphological and molecular evidence. *Phycologia* 45 (4): 432-441. DOI: 10.2216/04-33.1
- FUJII, M. T., V. CASSANO, E. M. STEIN & L. R. CARVALHO. 2011. Overview of the taxonomy and of the major secondary metabolites and their biological activities related to human health of the *Laurencia* complex (Ceramiales, Rhodophyta) from Brazil. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 21 (2): 268-282. DOI: 10.1590/S0102-695X2011005000064

- FURNARI, G., M. COMARCI & D. SERIO. 1999. Catalogue of the benthic marine macroalgae of the Italian coast of the Adriatic Sea. *Bocconea* 12: 5-214.
- FURNARI, G., M. CORMACI & D. SERIO. 2001. The Laurencia complex (Rhodophyta, Rhodomelaceae) in the Mediterranean Sea: an overview. *Cryptogamie, Algologie* 22 (4): 331-373.
- FURNARI, G., G. GIACCONE, M. COMARCI, G. ALONGI & D. SERIO. 2003. Biodiversità marina delle coste italiane: catálogo de macrofitobenthos. *Biologia Marina Mediterranea* 10(1): 1-482.
- GANESAN, E. K. 1990. A catalog of benthic marine algae and seagrasses of Venezuela. Fondo Editorial Conicit, Caracas. 237 p.
- GARBARY, D. J. & J. T. HARPER. 1998. A phylogenetic analysis of the Laurencia complex (Rhodomelaceae) of the red algae. *Cryptogamie, Algologie* 19(3): 185-200.
- GIL-RODRÍGUEZ, M. C., V. CASSANO, E. AYLAGAS, A. SENTÍES, J. DÍAZ-LARREA, M.C. OLIVEIRA & M. T. FUJII. 2010. *Palisada flagellifera* (Ceramiales, Rhodophyta) from the Canary Islands, Spain: a new record for the eastern Atlantic Ocean based on morphological and molecular evidence. *Botanica Marina* 53 (1): 31-40. DOI: 10.1515/BOT.2010.010
- GIL-RODRÍGUEZ M. C., M. T. FUJII, V. CASSANO, M. MACHÍN-SÁNCHEZ, E. AYLAGAS & A. SENTÍES. 2012. Los géneros Laurencia, Laurenciella y Palisada (Rhodomelaceae, Rhodophyta) en las Islas Canarias. In: A Sentíes & K.M. Dreckmann (Eds.). Monografías Ficológicas 4. M: UAM-Iztapalapa and Universidad de La Laguna, Cd. de México. pp. 43-116
- GÓMEZ-GARRETA, A., T. GALLARDO, M. A. RIBERA, M. CORMACI, G. FURNARI, G. GIACCONE & C. F. BOUDOURESQUE. 2001. Checklist of the Mediterranean seaweeds III. Rhodophyceae Rabenh. 1. Ceramiales Oltm. *Botanica Marina* 44 (5): 425-460. DOI: 10.1515/BOT.2001.051
- GOROSTIAGA, J. M., A. SANTOLARIA, A. SECILIA, C. CASARES & I. DIEZ. 2004. Checklist of the Basque coast benthic algae (North of Spain). *Anales Jardín Botánico de Madrid* 61 (2): 155-180.
- GUIRY, M. D. 1978. A consensus and bibliography of Irish Seaweeds. Cramer, Vaduz. 287 p.
- GUIRY, M. D. & G. M. GUIRY. 2017. AlgaeBase. World-wide electronic publication. National University of Ireland, Ireland. Avaible online at: http://www.algaebase.org (downloaded March 25, 2017).
- HAMEL, C. 1928. Les algues de Vigo. Revue Algologique 4: 81-95.
- HARDY, F. G. & M. D. GUIRY. 2003. A check-list and atlas of the seaweeds of Britain and Ireland. British Phycological Society, London. 435 p.
- HAROUN, R. & W. F. PRUD'HOMME VAN REINE. 1993. A biogeographical study of "Laurencia" and "Hypnea" species of the Macaronesian region. Courier Forshungsinstitut Senckenberg 159: 119-125.
- HAROUN, R.J., M.C. GIL-RODRÍGUEZ, J. DÍAZ DE CASTRO & W.F. PRUD'HOMME VAN REINE. 2002. A checklist of the marine plants from the Canary Islands (central eastern Atlantic Ocean). *Botanica Marina* 45 (2): 139-69.
- HOFFMAN, R., M. STERNBERG & D. SERIO. 2014. First report of *Laurencia chondrioides* (Ceramiales, Rhodophyta) and its potential to be an invasive in the eastern Mediterranean Sea. *Botanica Marina* 57 (6): 449-457. DOI: 10.1515/bot-2014-0053

- IPPI, S. & V. FLORES, 2001. Las tortugas neotropicales y sus áreas de endemismo. Acta Zooogica Mexicana 84: 49-63.
- JOHN, D. M., W. F. PRUD>HOMME VAN REINE, G. W. LAWSON, T. B. KOSTERMANS & J. H. PRICE. 2004. A taxonomic and geographical catalogue of the seaweeds of the western coast of Africa and adjacent islands. *Beihefte zur Nova Hedwigia* 127: 1-339.
- KAMENARSKA, Z., A. IVANOVA, R. STANCHEVA, M. STOYNEVA, K. STEFANOV, S. DIMITRO-VA-KONAKLIEVA & S. POPOV. 2006. Volatile compounds from some Black Sea red algae and their chemotaxonomic application. *Botanica Marina* 49 (1): 47-56. DOI: 10.1515/BOT.2006.006
- KAMENARSKA, Z., J. SERKEDJIEVA, H. NAJDENSKI, K, STEFANOV, I. TSVETKOVA, S. DIMI-TROVA-KONAKLIEVA & S. POPOV. 2009. Antibacterial, antiviral, and cytotoxic activities of some red and brown seaweeds from Black Sea. *Botanica Marina* 52 (1): 80-86. DOI: 10.1515/BOT.2009.030
- KERSWELL, A. P. 2006. Global biodiversity patterns of benthic marine algae. *Ecology* 87 (10): 2479-2488. DOI: 10.1890/0012-9658(2006)87[2479:GBP0BM]2.0.C0;2
- KLEIN, J. & M. VERLAQUE. 2005. Laurencia caduciramulosa Masuda et Kawaguichi (Ceramiales, Rhodophyta), first record for the Mediterranean coast of France. *Cryptogamie Algologie* 26: 209-216.
- KLEIN, J. C. & M. VERLAQUE. 2011. Macroalgae newly recorded, rare or introduced to the French Mediterranean coast. *Cryptogamie Algologie* 31 (2): 111-130. DOI: 10.7872/crya.v32.iss2.2011.111
- LIPKIN, Y. & P. C. SILVA. 2002. Marine algae and seagrasses of the Dahlak Archipielago, southern Red Sea. *Nova Hedwigia* 75 (1-2): 1-90. DOI: 10.1127/0029-5035/2002/0075-0001.
- LITTLER, D. S. & M. M. LITTLER. 1997. An illustrated flora of Pelican Cays, Belize. *Bulletin of the Biological Society of Washington* 9: 1-149.
- LITTLER, D. S., M. M. LITTLER & M. D. HANISAK. 2008. Submersed plants of the Indian River Lagoon. OffShore Graphics, Washington, D.C. 286 p.
- Machin-Sánchez, M., V. Cassano, J. Díaz-Larrea, A. Sentíes, M.T. Fujil & M.C. Gil-Rodriguez. 2012. Morphological and molecular evidence demonstrate the amphi-Atlantic distribution of *Laurencia catarinensis* (Ceramiales, Rhodophyta). *Botanica Marina* 55 (3): 241-252. DOI: 10.1515/bot-2011-0049
- MACHÍN-SÁNCHEZ, M., L. LE GALL, A.I. NETO, F. ROUSSEAU, V. CASSANO, A. SENTÍES, M.T. FUJII, J. DÍAZ-LARREA, W.F. PRUD'HOMME VAN REINE, C. BONILLO & M.C. Gill-RODRÍGUEZ. 2014. A combined barcode and morphological approach to the systematics and biogeography of *Laurencia pyramidalis* and *Laurencia marilzae* (Rhodophyta). *European Journal of Phycology* 49 (1): 115-127. DOI: 10.1080/09670262.2014.893017
- MARTIN-LESCANNE, J., F. ROUSSEAU, B. DE REVIERS, C. PAYRI, A. COULOUX, C. CRUAUD & L. LE GALL. 2010. Phylogenetic analyses of the *Laurencia* complex (Rhodomelaceae, Ceramiales) support recognition of five genera: *Chondrophycus, Laurencia, Osmundea, Palisada* and *Yuzurua* stat. nov. *European Journal of Phycology* 45 (1): 51-61. DOI: 10.1080/09670260903314292
- MARTÍNEZ-GIL, M., T. GALLARDO, P. DÍAZ & I. BÁRBARA. 2007. Aportación al conocimiento de las algas marinas bentónicas del litoral comprendido entre el estuario del Rio Quejo y Punta de la Mesa, Noja, Cantabria, España. *Botánica Complutense* 31: 41-53.

- MATEO-CID, L.E., A. C. MÉNDOZA-GONZÁLEZ, A. SENTÍES, J. DÍAZ-LARREA & J. A. A. CALDERON. 2014. Laurencia laurauertana sp. nov. (Rhodomelaceae, Rhodophyta): an epiphytic species from the Mexican Caribbean. *Phycological Research* 62 (2): 94-101. DOI: 10.1111/pre.12043
- MEDINA. 2007. Empleo de herramientas panbiogeográficas para detectar áreas para conservar: Un ejemplo con taxones dulceacuícolas. *In:* Luna, I., J. J. Morrone & D. Espinosa (Eds.). *Biodiversidad de la Faja Volcánica Transmexicana*. UNAM, Ciudad de México. Pp. 449-460.
- METTI Y., A. J. MILLAR & P. STEINBERG. 2015. A new molecular phylogeny of the *Laurencia* complex (Rhoodophyta, Rhodomelaceae) and a review of key morphological characters result in a new genus, *Coronaphycus*, and a description of *C. novus. Journal of Phycology* 51 (5): 929-942. DOI: 10.1111/jpy.12333
- MIRANDA, T. P. & A. C. MARQUES. 2011. Abordagens atuais em biogeografía marinha. Current approaches in marine biogeography. *Revista da Biología* (Vol. Esp. Biogeografía): p. 41-48. DOI: 10.7594/ revbio.07.08
- MORRONE, J. J. 2007. Evolutionary Biogeography: An Integrative Approach. Columbia University Press, New York. 301p.
- MORRONE, J. J. 2013. Parsimony analysis of endemicity (PAE) revisited. Journal of Biogeography 41 (5): 842-854. DOI: 0.1111/jbi.12251
- Morton, O. 1994. Marine algae of Northern Ireland. Ulster Museum, Botanic Gardens, Belfast. 123 p.
- MORTON, 0. 2003. The marine macroalgae of Country Donegal, Ireland. *Bulletin of the Irish Biogeographical Society* 27: 3-165.
- MUNDA, I. M. 1979. Some Fucacean associations from the vicinity of Rovinj, Istrian Coast, northern Adriatic. *Nova Hedwigia* 31: 607-666.
- NAM, K. W. 1999. Morphology of *Chondrophycus undulatus* and *C. par-vipapillata* and its implications for the taxonomy of the *Laurencia* (Ceramiales, Rhodophyta) complex. *European Journal of Phycology* 34: 455-468.
- NAM, K. W. 2006. Phylogenetic re-evaluation of the *Laurencia* complex (Rhodophyta) with a description of *L. succulenta* sp. nov from Korea. *Journal of Applied Phycology* 18: 679-697. DOI: 10.1007/ s10811-006-9073-3
- NAM, K. W. 2007. Validation of the generic name *Palisada* (Rhodomelaceae, Rhodophyta). *Algae* 22 (2): 53-55.
- NAM, K. W., C. A. MAGGS & D. J. GARBARY. 1994. Resurrection of the genus Osmundea with an emendation of the generic delineation of Laurencia (Ceramiales, Rhodophyta). *Phycologia* 33 (5): 384-395. DOI: 10.2216/i0031-8884-33-5-384.1
- NETO, A. I. 1994. Checklist of the benthic marine macroalgae of the Azores Archipélago. *Life and Marine Sciences* 12A: 15-34.
- NETO, A. I., D. C. CRAVO & R. J. HAROUN. 2001. Checklist of the benthic marine plants of the Madeira Archipiélago. *Botánica Marina* 44 (4): 391-414. DOI: 10.1515/BOT.2001.049
- NIXON, K. C. 1999. Winclada (beta) ver 0.9.9. Published for the author, Ithaca, New York.

- NORRIS, J. N. & K. E. BUCHER. 1982. Marine algae and seagrasses from Carrie Bow Cay, Belize. In: Rützler K. & I. G. Macintyre (Eds.). The Atlantic Barrier Reef Ecosystem at Carrie Bow Cay, Belize. I. Structure and Communities. Smithsonian Contributions to the Marine Sciences 12. pp. 167-223.
- NÚŇEZ-RESENDIZ, M. L., K. M. DRECKMANN, A. SENTÍES, J. DIAZ-LARREA & G. C. ZUCCARELLO. 2015. Genetically recognizable but not morphologically: the cryptic nature of *Hydropuntia* cornea and *H. usneoides* (Gracilariales, Rhodophyta) in the Yucatan Peninsula. *Phycologia* 54 (4): 407-416. DOI: 10.2216/15-009.1
- OLIVEIRA, A. S., D. B. SUDATTI, M. T. FUJII, S. V. RODRIGUEZ & R. C. PEREIRA. 2013. Inter-and intrapopulation variation in the defensive chemistry of the red seaweed *Laurencia dendroidea* (Ceramiales, Rhodophyta). *Phycologia* 52 (2): 130-136. DOI: 10.2216/12-058.1
- ORTEGA, M. M., J. L. GODÍNEZ & G. GARDUÑO SOLÓRZANO. 2001. Catálogo de algas bentónicas de las costas mexicanas del Golfo de México y Mar Caribe. *Cuadernos del Instituto de Biología* 34: 1-594.
- PEÑA, V. & I. BÁRBARA. 2008. Maërl community in the northwestern Iberian Peninsula: a review of floristic studies and long-term changes. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystem* 18: 339-366.
- PÉREZ-RUZAFA, I. & M. HONRUBIA. 1984. Aportación al conocimiento de la flora algal bentónica de la costa murciana. III. Anales de Biología 2 (Sección Especial 2): 135-146.
- Pérez-Ruzafa, I. M. 1990. Fenología de las algas del Mar Menor (Murcia, SE de España). *Botanica Complutensis* 16: 21-36.
- PLATNICK, N. I. 1991. On areas of endemism. Australian Systematic Botany 4: 6-7.
- RINDI, F., G. SARTONI & F. CINELLI. 2002. A floristic account of the benthic marine algae of Tuscany (Western Mediterranean Sea). *Nova Hedwigia* 74(1-2): 201-250. DOI: 10.1127/0029-5035/2002/0074-0201
- RODRÍGUEZ-PRIETO, C., G. MICHANEK & C. IVON. 1999. Benthic marine algae from Martinique (Lesser Antilles). *Scientia Gerudensis* 24: 79-86.
- RODRÍGUEZ-PRIETO, C. & L. POLO-ALBERTÍ. 1988. Aportación a la fenología de algas bentónicas de substrato duro de la Costa Brava (Gerona). *Actes del Simposi Internacional de Botànica Pius Font I Quer 1, Criptogamia*: 143-149.
- RODRÍGUEZ-PRIETO, C. & L. POLO-ALBERTÍ. 1998. Anàlisi fitosociològica de la comunitat de *Cystoseira mediterranea* de Palamós (Mediterrània nordoccidental). *Acta Botanica Barcinonensia* 45: 141-156.
- ROSEN, B. R. 1988. From fossil to earth history: Applied historical biogeography. In: Myers A.A. & P. Giller (Eds.). Analytical biogeography: an integrated approach to the study of animal and plant distributions. Wiley, Chichester, Sussex. pp. 201-262.
- ROUSSEAU, F., D. GEY, A. KURIHARA, C.A. MAGGS, J. MARTIN-LESCANNE, C. PAYRI, B. DE REVIERS, A.R. SHERWOOD & L. LE GALL. 2017. Molecular phylogenies support taxonomic revision of three species of *Laurencia* (Rhodomelaceae, Rhodophyta), with the description of new genus. *European Journal of Taxonomy* 269: 1-19. DOI: 10.5852/ejt.2017.269

- SAITO, Y. 1967. Studies on Japanese species of *Laurencia* with special reference to their comparative morphology. *Memoirs of the Faculty* of Fisheries, Hokkaido University 15: 1-81.
- SALES, M. & E. BALLESTEROS. 2010. Long-term comparison of algal assemblages dominated by *Cystoseira crinite* (Fucales, Heterokontophyta) from Cap Corse (Corsica, north western Mediterranean. *European Journal of Phycology* 45 (4): 404-412. DOI: 10.1080/09670262.2010.498585
- SCHNEIDER, C.W. & C.E. LANE. 2005. Notes on the marine algae of the Bermudas.7. Additions to the flora, including *Chondracanthus saundersii* sp. nov. (Rhodophyta, Gigartinales) based on *rbc*L sequence analysis. *Phycologia* 44: 72-83.
- SCHNEIDER, C. W., C. E. LANE & G. W. SAUNDERS. 2010. Notes on the marine algae of the Bermudas. 11. More additions to the benthic flora and a phylogenetic assessment of *Halymenia pseudofloresii* (Halymeniales, Rhodophyta) from its type locality. *Phycologia* 49 (2): 154-168. DOI: 10.2216/PH09-46.1
- SCHNETTER, R. 1976. Nuevas algas benticas del litoral Caribe de Colombia. *Caldasia* 11 (53): 57-60.
- SENTIES, A. & M. T. FUJII. 2002. El complejo Laurencia (Rhodomelaceae, Rhodophyta) en el Caribe Mexicano. In: Sentíes, A. & K.M. Dreckmann (Eds.). Monografías Ficológicas 1. UAM-Iztapalapa and Red Latinoamericana de Botánica, Cd. de Mexico. pp. 119-192.
- SENTIES, A., A. ARECES, J. DIAZ-LARREA & M.T. FUJII. 2010. First records of Laurencia caduciramulosa and L. minuscula (Ceramiales, Rhodophyta) from the Cuban archipelago. Botanica Marina 53 (5): 433-438. DOI: 10.1515/bot.2010.048
- SERIO, D., G. FURNARI & M. COMARCI. 2004. On the occurrence of Laurencia pyramidalis Bory ex Kutzing (Rhodophyta, Ceramiales) in the Mediterranean Sea. Cryptogamie Algologie 25 (4): 329-336.
- SERIO, D., G. ALONGI, M. CATRA, M. COMARCI & G. FURNARI. 2006. Changes in the benthic algal flora of Linosa Island (Straits of Sicily, Mediterranean Sea). *Botanica Marina* 49 (2): 135-144. DOI: 10.1515/BOT.2006.018
- SILVA, P. C., E. G. MEÑEZ & R. L. MOE. 1987. Catalog of the benthic marine algae of the Philippines. *Smithsonian Contributions to Marine Sciences* 27: 1-179. DOI: 10.5479/si.1943667X.27.1
- SILVA, P. C. P. W. BASSON & R. L. MOE. 1996. Catalogue of the benthic marine algae of the Indian Ocean. University of California Publications in Botany 79: 1-1259.
- Skage, M., T.M. GABRIELSEN & J. RUENESS. 2005. A molecular approach to investigate the phylogenetic basis of three widely used species groups in the red algae genus *Ceramium* (Ceramiales, Rhodophyta). *Phycologia* 44: 353-360.
- SOTO, J. & F. CONDE. 1989. Catálogo florístico de las algas bentónicas marinas del litoral de Almería (Sureste de España). *Botánica Complutense* 15: 61-83.
- SPALDING, M. K., H. E. FOX, G. R. ALLEN, N. DAVIDSON, Z. A. FERDAÑA, M. FINLAY-SON, B. J. HALPERN, M. A. JORGE, A. LOMBARDA, S. A. LOURIE, K. D. MARTIN, E. MCMANUS, J. MOLNAR, C. A. RICCHIA & J. ROBERTSON. 2007. Marine ecoregions of the world: a bioregionalization of coastal and shelf areas. BioScience 57 (7): 573-583. DOI: 10.1641/B570707
- STEGENGA, H., J. J. BOLTON & R. J. ANDERSON. 1997. Seaweeds of the South African west coast. Bolus Herbarium, University of Cape Town. 655 p.

- STOKES, K., K. O'NEILL & R.A. McDONALD. 2004. Invasive species in Ireland. Unpublished report to Environment & Heritage Service and Natural Parks & Wildlife Service, Belfast. 152 p.
- SUAREZ, A. M. 2005. Lista de las macroalgas marinas cubanas. *Revista de Investigaciones Marinas* 26 (2): 93-148.
- Suárez, A. M., B. Martínez-Daranas & Y. Alfonso 2015. Macroalgas marinas de Cuba. Editorial UH, La Habana. 264 p.
- TAPIA-SILVA, F. O., O. E. HERNÁNDEZ-CERVANTES, M. I. VILCHIS-ALFARO, A. SENTIES & K. M. DRECKMANN. 2015. Mapping of algae richness using spatial data interpolation. *The International Archives of the Photogrammetry, Remote Sensing ans Spatial Information Sciences* XL-7/W3: 1005-1008. DOI: 10.5194/isprsarchives-XL-7-W3-1005-2015
- TASKIN, E., M. ÖZTÜRK, O. KURT & M. ÖZTURK. 2008. *The check-list of the marine algae of Turkey*. Ecem Kirtasiye, Manisa. 87 p.
- TASKIN, E., M. ÖZTÜRK, O. KURT & S. UCLAY. 2013. Benthic marine algae in the Northern Cyprus (eastern Mediterranean Sea). *Journal of Black Sea/Mediterranean Environment* 19 (2): 143-161.
- TAYLOR, W. R. 1960. Marine algae of the eastern tropical and subtropical coasts of the Americas. The University of Michigan Press, Ann Arbor. 870 p.
- TAYLOR, W. R. 1969. Notes on the distribution of West Indian marine algae particularly in the Lesser Antilles. *Contribution from the University* of Michigan Herbarium 9: 125-203.
- TITTENSOR, D. P., C. MORA, W. JETZ, H. K. LOOTZE, D. RICARD, E. V. BERGHE & B. WORM. 2010. Global patterns and predictors of marine biodiversity across taxa. *Nature Letters* 466 (7310): 1098-1103. DOI: 10.1038/ nature09329
- TITTLEY I. & A. I. NETO. 1994. "Expedition Azores 1989": Benthic marine algae (seaweeds) recorded from Faial and Pico. Archipélago. *Life* and Marine Sciences 12A: 1-13.
- TITTLEY, I., A. I. NETO & M. I. PARENTE. 2009. The marine algal (seaweed) flora the Azores: additions and amendments 3. *Botanica Marina* 52 (3): 7-14. DOI: 10.1515/BOT.2005.030
- TORRANO-SILVA, B. N. & OLIVEIRA, E. C. 2013. Macrophytobenthic flora of the Abrolhos Archipelago and the Sebastião Gomes Reef, Brazil. *Continental Shelf Research* 70: 150-158. DOI: 10.1016/j.csr.2013.09.019
- TSIAMIS, K., A. F. PETERS, D. N. SHEWRING, A. O. ASENSI, P. VAN WEST & F. C. KÜP-PER. 2014a. Marine benthic algal flora of Ascension Island, South Atlantic. *Journal of Marine Biological Association of the United Kingdom* [advance access]: 1-8. DOI: 10.1017/S0025315414000952

- TSIAMIS, K., E. TASKIN, S. ORFANIDIS, P. STAVROU, M. ARGYROU, P. PANAYOTIDIS, T. TSIOLI, B. A. CICEK, M. MARCOU & F. C. KÜPPER. 2014b. Checklist of seaweeds of Cyprus (Mediterranean Sea). *Botanica Marina* 57 (3): 153-166. DOI: 10.1515/bot-2014-0006
- TSIKIRA, A. & S. HARITONIDIS. 2005. A survey of the benthic flora in the National Marine Park of Zakynthos (Greece). *Botanica Marina* 48 (1): 38-45. DOI: 10.1515/BOT.2005.002
- TUYA, F. & R. J. HAROUN. 2009. Phytogeography of Luisitanian Macaronesia: biogeographic affinities in species richness and assemblage composition. *European Journal of Phycology* 44 (3): 405-413. DOI: 10.1080/09670260902836246
- VARGAS, S., H.M. GUZMAN & O. BREEDY. 2008. Distribution patterns of the genus *Pacifigorgia* (Octocorallia: Gorgoniidae): track compatibility analysis and parsimony analysis of endemicity. *Journal of Biogeography* 35 (2): 241-247.
- VEIGA, A. J., J. CREMADES & I. BÁRBARA. 1998. A catalogue of the benthic marine algae of the Sisargas Islands (N.W. Iberian Peninsula, Spain). Boletim do Museu Municipal do Funchal (Suppl. 5): 481-493.
- VERLAQUE, M. 2001. Checklist of the macroalgae of Thau Lagoon (Hérault, France), a hot spot of marine species introduction in Europe. Oceanologica Acta 24 (1): 29-49. DOI: 10.1016/S0399-1784(00)01127-0
- VILCHIS, M.I., K.M. DRECKMANN, E.A. GARCÍA-TREJO, O.E. HERNÁNDEZ & A. Sentíes. (in press). Patrones de distribución de las grandes macroalgas en el Golfo de México y Caribe mexicano: Una contribución a la biología de la conservación. *Revista Mexicana de Biodiversidad*.
- VILLAÇA, R., A. C. FONSECA, V. K. JENSEN & B. KNOPPERS. 2010. Species composition and distribution of macroalgae on Atol das Rocas, Brazil, SW Atlantic. *Botanica Marina* 53 (2): 113-122. DOI: 10.1515/ BOT.2010.013
- WOMERSLEY, H. B. S. 2003. The marine benthic flora of southern Australia - Part IIID Ceramiales - Delesseriaceae, Sarcomeniaceae, Rhodomelaceae. Australian Biological Resources Study/State Herbarium of South Australia, Canberra/Adelaide. 533 p.
- WYNNE, M. J. 2008. A checklist of the benthic marine algae of the coast of Texas. *Gulf of Mexico Science* 2008 (1): 64-87.
- WYNNE, M. J. 2017. A checklist of benthic marine algae of the tropical and subtropical western Atlantic: fourth revisión. *Nova Hedwigia Beihefte* 145: 7-202.
- WYNNE, M. J., T. BRADSHAW & C. M. S. CARRINGTON. 2014. A checklist of the benthic marine algae of Barbados, West Indies. *Botanica Marina* 57 (3): 167-184. DOI: 10.1515/bot-2014-0007

Variación genética en Meristotheca cylindrica (Solieriaceae, Rhodophyta) en Campeche, México

Genetic variation of Meristotheca cylindrica (Solieriaceae, Rhodophyta) in Campeche, Mexico

Carlos Adán Palma Ortiz¹, Kurt M. Dreckmann², María Luisa Núñez Resendiz³ y Abel Sentíes²

¹ Estudiante de la carrera de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), A. P. 70-474, 04510, CDMX, México
 ² Departamento de Hidrobiología, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa (UAM-I), A. P. 55-535, 09340, CDMX, México
 ³ Departamento de Biología Comparada, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), A. P. 70-474, 04510, CDMX, México
 ^a Departamento de Biología Comparada, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), A. P. 70-474, 04510, CDMX, México
 ^a Departamento de Biología Comparada, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), A. P. 70-474, 04510, CDMX, México

Recibido: 1 de junio de 2017. Aceptado: 7 de noviembre de 2017.

Palma Ortiz C. A., K. M. Dreckmann, M. L. Núñez Resendiz y A. Sentíes. 2017. Variación genética en *Meristotheca cylindrica* (Solieriaceae, Rhodophyta) en Campeche, México. *Hidrobiológica* 27 (3): 315-326.

RESUMEN

Antecedentes. *Meristotheca cylindrica* es un alga roja distribuida en las costas de Campeche, comúnmente mal identificada por el espectro de variación morfológica que exhibe en sus poblaciones. **Objetivos.** Se propuso evaluar la variación genética y su relación con la variación morfológica en las poblaciones de *M. cylindrica*, describir la posible estructura genética y su distribución haplotípica así como determinar posibles eventos de especiación. **Métodos.** Para 45 individuos de *M. cylindrica*, procedentes de cinco poblaciones de Campeche, se amplificaron vía PCR las regiones espaciadoras de RuBisCo y de *cox*2-3 con la finalidad de estimar medidas de diversidad, distancia y estructura genética. Adicionalmente, se realizaron análisis filogenéticos considerando secuencias de especies de la familia Solieriaceae provenientes del GenBank. A partir de 10 especímenes de herbario, se realizo un análisis múltiple de varianza considerando 30 caracteres morfológicos. **Resultados.** La región espaciadora de RuBisCo reveló cuatro haplotipos interconectados (R1-R4), así como parámetros moderados de diversidad genética (Hd= 0.46458, π = 0.00785). El análisis filogenético mostró un único grupo monofilético que incluyó a todos los haplotipos. La región espaciadora de *cox*2-3 expuso nueve haplotipos (C1-C9) estructurados en los grupos Gl y Gll, así como parámetros elevados de diversidad, diferenciación y distancia genética (Hd=0.81, π =0.06476; $\Phi_{pri} F_{st}$ >0.35; >10% de diferencias). El análisis filogenético evidenció dos grupos monofiléticos congruentes con Gl y Gll, mientras que el análisis de varianza mostró homogeneidad morfológica entre las poblaciones. **Conclusiones.** Se sugiere un evento de especiación en curso para *M. cylindrica*.

Palabras clave: Diversidad genética, estructura genética, espaciador cox2-3, espaciador RuBisCo, haplotipos.

ABSTRACT

Background. *Meristotheca cylindrica* is a red alga distributed in the Campeche coast, usually misidentified by the morphological variation spectrum exhibited in its populations. **Objectives**. We proposed to evaluate the genetic variation and its relationship with morphological variation in *M. cylindrica* populations, to describe the possible genetic structure and its haplotypic distribution and to determine possible speciation events. **Methods**. We measured genetic variation, distances and structure of 45 individuals of *M. cylindrica* from five populations of Campeche, using DNA sequences of the spacer regions of RuBisCo and *cox*2-3. Additionally, phylogenetic analyses were performed considering sequences of Solieria-ceae species available in the GenBank. A statistical analysis covering 30 morphological characters was performed on 10 herbarium specimens. **Results.** The RuBisCo spacer region revealed four interconnected haplotypes (R1-R4), as well as moderated genetic diversity parameters (Hd= 0.46458, π = 0.00785). Phylogenetic analysis showed a single monophyletic group that included all haplotypes. The *cox*2-3 spacer region revealed nine haplotypes (C1-C9) structured in the GI and GII groups, as well as elevated parameters of genetic diversity, distances and differentiation (Hd = 0.81, π = 0.06476; >10% of differences; Φ_{PT} and F_{ST} > 0.35). Phylogenetic analysis showed two monophyletic groups congruent with GI and GII. Analysis of variance showed morphological homogeneity among populations. **Conclusions.** Findings suggest a speciation event is currently occurring in *M. cylindrica*.

Key words: cox2-3 spacer, genetic structure, genetic diversity, haplotypes, RuBisCo spacer.

INTRODUCCIÓN

La diversidad genética es el componente fundamental detrás de la diversidad biológica, por lo que su estudio provee importantes pistas acerca de los mecanismos que moldean la variación genética, sus patrones, niveles e historia evolutiva de un taxón (Conklin et al. 2014; Guillemin et al. 2014: Muangmai et al. 2015: Núñez-Resendiz et al. 2016). En estudios microevolutivos de índole filogeográfica y de genética de poblaciones se han empleado distintos marcadores moleculares para la evaluación de la diversidad genética de especies con poca o alta plasticidad fenotípica (Graur & Li 2000; West-Eberhard 2003). Tales marcadores moleculares incluyen regiones mitocondriales como COI (Yang et al. 2008, 2015; Yow et al. 2011, 2013; Muangmai et al. 2015). la región espaciadora cox2-3 (Destombe et al. 2010; Pareek et al. 2010; García-Rodríguez et al. 2013; Núñez-Resendiz et al. 2015); marcadores cloroplastidiales como la región espaciadora de la RuBisCo (Guillemin et al. 2008; Núñez-Resendiz et al. 2015, 2016; Zuccarello et al. 2005); o marcadores nucleares como la región ITS (Goff et al. 1994). El empleo de estos marcadores, en combinación con estudios de morfología, ha proporcionado evidencias sólidas para la resolución de conflictos de identificación errónea de especies, el hallazgo de nuevas especies o la solución de complejos de especies crípticas (Muangmai et al. 2015, Núñez-Resendiz et al. 2016, 2017).

Por la diversidad de hábitats que contiene, la península de Yucatán representa una región propicia para el establecimiento de diferentes comunidades marinas, tales como arrecifes coralinos, pastos marinos, manglares y macroalgas bentónicas (Dreckmann & Sentíes 2013). Dentro de las comunidades algales destaca la división Rhodophyta, de la cual Solieriaceae es una de las familias más conspicuas y económicamente importantes (Freile-Pelegrin & Robledo 2006, 2008; Freile-Pelegrin *et al.* 2006).

Meristotheca cylindrica M. L. Núñez-Resendiz, Dreckmann & Sentíes es un alga roja de la familia Solieriaceae, recientemente descrita a partir de especímenes recolectados a lo largo de la costa de Campeche (Núñez-Resendiz et al. 2017). Se diferencia del resto de las especies del género por poseer un talo cilíndrico, el cual se conforma por múltiples eies principales, cartilaginosos, de 5-30 cm de longitud y 1-5 mm de grosor. Se han descrito talos altamente ramificados (4, 5 o más veces) así como poco ramificados según lo registrado por Núñez-Resendiz et al. (2017). Al igual que otras especies del género, posee tetrasporangios elipsoidales y zonados que se desarrollan en las capas corticales, v cistocarpos elipsoidales inmersos formados en proliferaciones marginales (Faye et al. 2004, 2005, 2007, 2008). Anatómicamente posee una médula filamentosa y una corteza pesudoparenquimatosa, con células de 50-60 µm de longitud y 18-25 µm en diámetro (Núñez-Resendiz et al. 2017). Como miembro de Solieriaceae, familia que posee el mavor intervalo de diversidad estructural de carragenanos (Chiovitti et al. 2001: Watt et al. 2003), v dada su abundancia en las costas del estado de Campeche. M. cvlindrica constituve un recurso económico potencialmente redituable que no se explota en México (Núñez-Resendiz et al. 2017).

Debido a la particularidad del talo cilíndrico de *M. cylindrica*, en la península de Yucatán esta especie se registró previamente como *Eucheuma isiforme* (C. Agardh) J. Agardh (Callejas *et al.* 2005), otra especie cilíndrica de Solieriaceae fenotípicamente plástica con quien comparte su intervalo de distribución (Núñez-Resendiz *et al.* 2017, **Zuc**-carello *et al.* 2006).

Con base en lo anterior, se establecieron cuatro objetivos en el presente estudio: 1) determinar la variación genética y morfológica dentro y entre las poblaciones de *M. cylindrica*; 2) determinar la estructura genética; 3) determinar la distribución haplotípica en las localidades muestreadas en Campeche, y finalmente 4) evaluar si ocurre un evento de especiación entre las poblaciones de *M. cylindrica*. Se considera relevante la realización del presente estudio por la importancia económica y el espectro morfológico presente en *M. cylindrica* que la hace confundible con otras especies de Solieriaceae.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se recolectaron 45 individuos de *Meristotheca cylindrica* pertenecientes a cinco poblaciones, en cinco localidades del litoral de Campeche, en la península de Yucatán (Tabla 1), a una profundidad de entre 1 y 1.5 m. Bajo el microscopio estereoscópico, se removieron los epibiontes de cada individuo y un fragmento de las porciones apicales de las ramas (~3 cm) se preservó en sílica gel hasta la posterior extracción de DNA. El resto fue montado en papel de herbario, numerado e integrado a la colección de algas del Herbario Metropolitano (UAMIZ). Todas las muestras fueron designadas con un número de campo y se añadieron a una hoja de herbario con su respectivo número de *voucher* (Tabla 1).

La extracción de DNA se realizó a partir de 5-10 mg de tejido seco con la utilización del kit de extracción de Qiagen, DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Valencia, California USA) según la técnica descrita por el fabricante, con modificaciones menores al añadir una centrifugación por 1 minuto a 8000 rpm después de agregar por segunda vez el buffer AW2, y un aumento en el tiempo de incubación con buffer AE de 5 a 30 minutos.

La amplificación vía PCR se realizó con el kit Tag PCR Core Kit (Qiagen) y cebadores específicos según la región de cada genoma por amplificar. El marcador molecular cloroplástico, la región espaciadora de la RuBisCo (rbc spacer), se amplificó con los cebadores spacer-F y spacer-R descritos en Maggs et al. (1992). Por otro lado, el espaciador de cox2-3 se amplificó utilizando los oligonucleótidos cox2-for y cox3rev (Zuccarello et al. 1999). El volumen total de PCR por muestra fue de 25 µL con los siguientes reactivos: 2.5 µL de buffer de PCR 10X, 1 µL de primer forward 10µM, 1 µL de primer reverse 10µM, 0.5 µL de solución de dNTPs (10mM por cada uno), 0.5 µL de BSA, 1 µL de MgCl, 25mM, 0.125 µL de Taq polimerasa 5U/µL, 17.375 µL de agua desionizada y 1 µL de DNA genómico. Las condiciones de PCR fueron las descritas por Núñez-Resendiz et al. (2015). La amplificación vía PCR se comprobó mediante una electroforesis en gel de agarosa al 0.8% y los productos de PCR se purificaron con el kit QIAquick Purification Kit (Qiagen). Las muestras amplificadas se enviaron a Macrogen Korea (10F. 254 Beotkkot-ro, Geumcheon-gu, Seúl, 08511, República de Corea), donde se utilizó el kit de secuenciación BigDye en un secuenciador ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Princeton, NJ, EE. UU.).

Las secuencias obtenidas se organizaron en una matriz, se editaron y alinearon mediante el algoritmo ClustalW (Thompson *et al.* 1994) con el programa Bioedit (Hall 1999). La búsqueda del modelo óptimo de evolución de DNA se implementó mediante jModelTest v. 2.1.6 con el criterio de información Akaike (AIC) (Darriba *et al.* 2012, Guindon & Gascuel 2003). El modelo elegido para ambos conjuntos de secuencias fue el GTR G+I (general time reversible + distribución gamma + sitios invariables), el cual se utilizó en los análisis filogenéticos posteriores. Tabla 1. Muestras y especímenes de *Meristotheca cylindrica* procedentes de las costas de Campeche. Se describen los datos de localidad, coordenadas geográficas y números de campo y herbario (UAMIZ= Herbario de la Universidad Autónoma Metropolitana). Se indica el haplotipo al que pertenecen las muestras para ambas regiones genéticas; para el caso de la región espaciadora *cox*2-3, Gl y Gll corresponden con la estructura genética revelada por este marcador (ver texto).

Localidad	Coordenadas GPS	Número de Herbario	Clave de campo	RuBisCo	COX	2-3
Isla Aguada (IA)	18º50'00"N, 91º26'51"0	UAMIZ-1239	IA:3-10	R1	GI	C1
			IA:1-1	R2	GII	C2
			IA:1-3	R2	GII	C3
			IA:3-9	R1	GI	C1
			IA:3-12	R1	GI	C1
			IA:3-11	R1	GI	C1
			IA:2-6	R1	GI	C1
			IA:2-7	R1	GI	C4
			IA:2-5	R1	GI	C5
			IA:2-8	R1	GI	C1
Sabancuv (S)	18°59'39"N. 91°11'06"O	UAMIZ-1246	S:5-17	R1	GI	C8
······································			S:2-6	R1	GI	C1
			S:3-9	R1	GI	C1
			S:1-4	R2	GII	C2
			S:1-3	-	GII	C2
			S:5-18	R1	GI	C1
			S:H29	R1		•••
			S:2-8	R1	GI	C9
			S:1-1	R2	GII	C2
			S:2-7	-	GI	C1
			S:2-5	R1	GI	C1
Punta Xen (PX)	19º8'21"N, 91º57'49"0	UAMI7-1252	PX:1-13	R2	_	-
		0.000	PX:1-2	-	GII	C6
			PX:2-4	R1	GI	C1
			PX:1-1	R2	GII	C7
			PX:1-14	R1	GII	C7
			PX:1-15	R1	GII	C7
			PX:1-16	R1	GII	C7
			PX:H10	R1	-	-
			PX:H21	R1	-	-
			PX:H22	R1	-	-
Bahía de Tortuga (BT)	19°21'35"N.	UAMIZ-1249	BT:92-12	R3	GII	C2
			BT:92-16	R2	GII	C2
	90°42'35″0		BT:92-13	R2	GII	C2
			BT:92-15	R2	GII	C2
			BT:93-1	R2	GII	C2
			BT:93-2	R2	GII	C2
Playa Bonita (PB)	18°59'39"N,	UAMIZ-970	PB:H6	R1	-	-
	01011/06"0		PB:H70	R4	-	-
	91 11 UO U		PB:H5	R1	-	-
			PB:H42	R1	GI	C5
			PB:H49	R1	GI	C5
			PB:H51	R1	GI	C4
			PB:H52	R1	GI	C4
			PB:H53	R1	GI	C4

Las siguientes medidas de diversidad genética se estimaron con el programa DnaSP v.5 (Librado & Rozas, 2009): número de sitios segregantes (*S*), número de haplotipos (*H*), diversidad haplotípica (Hd), diversidad nucleotídica (π) y sitios segregantes por cada marcador molecular, así como los estimados de flujo génico (Nm) e índice de fijación (F_{sT}) según Hudson, Slatkin & Maddison (1992). Con la finalidad de observar la diferenciación genética, se realizó un análisis de varianza molecular (AMOVA) para cada marcador mediante GenAlEx v.6.503 (Peakall & Smouse 2006, 2012); de igual manera, se obtuvieron los valores de Φ_{PT} según Peakall *et al.* (1995), análogos de F_{sT}.

La evaluación de las relaciones haplotípicas se estimó por medio de la construcción de redes de parsimonia estadística con TCS v.1.21 (Clement *et al.* 2000). Una secuencia representativa de cada haplotipo, por ambos marcadores moleculares, fue depositada en la base de datos del GenBank.

Los análisis filogenéticos de inferencia bayesiana (IB) y máxima verosimilitud (ML) se realizaron con el programa TOPALi v. 2.5 (Milne *et al.* 2004): la inferencia bayesiana mediante Mr. Bayes (Huelsenbeck & Ronquist 2001), con una frecuencia de muestreo de cada 100 generaciones durante 1x10⁶ generaciones y burn-in del 25%. Asimismo, la máxima verosimilitud se determinó vía RaxML (Stamatakis 2014); se utilizó un *bootstrap* con 1000 réplicas para el cálculo de soporte de ramas. El grupo externo seleccionado para ambos marcadores fue *Hydropuntia cornea* Montagne. Se estimaron distancias genéticas no corregidas (*p*-distances) en MEGA v. 6 (Tamura *et al.* 2013).

El análisis morfológico se realizó a partir de caracteres anatómicos apreciados en 10 ejemplares de herbario pertenecientes a las poblaciones trabajadas molecularmente. Para ello, se realizaron manualmente cortes transversales observados con la ayuda del microscopio óptico Leica DMLB. Las muestras se dividieron en dos grupos según la ramificación presentada: 1) patrón de ramificación sólo alterna, poco ramificado (2 o 3 veces); 2) patrón de ramificación alterna-opuesta, altamente ramificado ($x \ge 4$). Se construyó una matriz con la cuantificación de los siguientes caracteres: número de capas corticales, número de filamentos medulares, diámetro de las células de ambas cortezas (interna y externa, largo y ancho de cada una) en tres partes del talo (apical, media y basal), lo que constituye un total de 30 caracteres.

Dicha matriz se sometió a un análisis múltiple de varianza en STATIS-TICA 8.0.360 (StatSoft Inc. 2007) con el fin de determinar diferencias significativas entre los grupos independientes (1 y 2) a partir de las variables dependientes consideradas (cuantificación de los caracteres en las tres partes del talo).

RESULTADOS

Región espaciadora de RuBisCo. El set de datos consistió en 42 secuencias con 185 pares de bases (pb) de longitud para el análisis poblacional; el análisis filogenético incluyó muestras de especies de la familia Solieriaceae obtenidas de GenBank, con *Hydropuntia cornea* como grupo externo, por lo que el conjunto de datos abarcó 53 secuencias en total.

Se calcularon las medidas de diversidad y diferenciación genética para este marcador (Tablas 2 y 3), las cuales mostraron en general siete sitios segregantes (Tabla 4), una moderada diversidad haplotípica (H*d*= 0.46458) y una diversidad nucleotídica ($\pi = 0.00785$). Las poblaciones con la mayor diversidad haplotípica fueron Sabancuy y Punta Xen, ambas con la misma diversidad haplotípica (Hd=0.38889) así como diversidad nucleotídica ($\pi = 0.006344$) (Tabla 2). Por el contrario, la población con menor variación fue Playa Bonita con valores de H*d*=0.25 y π =0.00272 (Tabla 2).

En cuanto a los índices de diferenciación, se obtuvieron valores de Nm=0.55 y de F_{st}=0.47420. El AMOVA arrojó un índice de $\Phi_{\rm pt}$ =0.268 y un valor de Nm=1.367, con un 27% de la varianza explicada por las diferencias del marcador cloroplástico entre las poblaciones, en tanto que un 73% de la varianza explicada por la variación al interior de las mismas (Tabla 3).

Respecto a las relaciones haplotípicas, la red de parsimonia estadística reveló cuatro haplotipos interconectados: R1, R2, R3 y R4 (Fig. 1 y Tabla 1). El haplotipo que agrupó al mayor número de individuos fue R1 (n=29), seguido por el haplotipo R2 (n=11) y finalmente los haplotipos con menor número de individuos, R3 y R4 (ambos con n=1). El haplotipo R1 (designado por el programa como el posible haplotipo ancestral) estuvo separado de R2 por cuatro pasos mutacionales y este, a su vez, estuvo separado de R3 por seis pasos mutacionales; en cuanto a R4, sólo se separó por dos pasos mutacionales (Fig. 1).

Tabla 2. Medidas de diversidad genética para las poblaciones de *Meristotheca cylindrica*, basadas en las regiones espaciadoras de RuBisCo y cox2-3.

	Espaciador de RuBisCo Espaciador de <i>cox</i> 2-3									
Localidad	Número de secuencias	S	h	Hd	π	Número de secuencias	S	h	Hd	π
IA	10	3	2	0.35556	0.0058	10	31	5	0.6667	0.053
PX	9	3	2	0.38889	0.00634	6	32	3	0.6	0.0546
PB	8	2	2	0.25	0.00272	5	7	2	0.6	0.02
S	9	3	2	0.38889	0.00634	10	30	4	0.71	0.06476
BT	6	2	2	0.3	0.00362	6	0	1	0	0
Total	42	7	4	0.46458	0.00785	37	34	9	0.81081	0.07285

S = sitios segregantes, h = número de haplotipos, Hd = diversidad haplotípica, $\pi =$ diversidad nucleotídica. IA = Isla Aguada, PX = Punta Xen, PB = Playa Bonita, S = Sabancuy, BT = Bahía de Tortuga, Total = índice general de todas las poblaciones.

3	319
---	-----

Fuente		Espacia	dor de RuBisCo			Espacia	ador de <i>cox</i> 2-3	
Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Componente de la varianza	Porcentaje de la variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Componente de la varianza	Porcentaje de la variación
Entre poblaciones	4	3.104	0.776	27%	4	5.695	0.158	36%
Al interior de poblaciones	37	7.086	0.192	73%	32	8.900	0.278	64%
				$\Phi_{_{ m PT}}$ =0.268 Nm=1.367				$\Phi_{_{ m PT}}$ =0.363 Nm=0.879

Tabla 3. Análisis de varianza molecular (AMOVA) para ambos marcadores en las cinco poblaciones de Meristotheca cylindrica.

Respecto de su distribución geográfica (Fig. 2), el haplotipo R1 estuvo presente en todas las localidades muestreadas, R2 se presentó en todas las localidades exceptuando Playa Bonita y los haplotipos R3 y R4 se restringieron a Bahía de Tortuga y Playa Bonita, respectivamente. En todas las poblaciones se presentó el mismo número de haplotipos (2) (Fig. 2).

En cuanto al análisis filogenético, las muestras correspondientes a cuatro haplotipos de *M. cylindrica* se agruparon en un solo clado soportado por una probabilidad posterior bayesiana y *bootstrap* de 0.97/90, respectivamente. En su interior, se ubicó un grupo conformado por las muestras de los haplotipos R2 y R3, soportado por valores de 1.0/96 (probabilidad posterior bayesiana y *bootstrap*, respectivamente) (Fig. 3).

Los porcentajes de distancia genética al interior de *M. cylindrica* con el espaciador de RuBisCo fueron: máxima de 4.3% (entre R3-R4)

y mínima de 1.1% (entre R3-R2 y R4-R1); el promedio de distancia genética con este marcador fue de 2.5%.

Espaciador de *cox***2-3.** El set de datos consistió en 37 secuencias con 210 pb de longitud para el análisis poblacional; el análisis filogenético incluyó muestras de especies de la familia Solieriaceae obtenidas de GenBank, con *Hydropuntia cornea* como grupo externo, por lo que el conjunto de datos abarcó 46 secuencias en total.

Las medidas de diversidad genética y diferenciación calculadas (Tablas 2 y 3), mostraron en general 34 sitios segregantes (Tabla 5), una alta diversidad haplotípica general (H*d*=0.81081) y una diversidad nucleotídica (π =0.07285). La población con la mayor diversidad haplotípica (H*d*=0.71) y diversidad nucleotídica (π =0.06476) fue Sabancuy. Por el contrario, la población con menor variación fue Bahía de Tortuga ya que presentó sólo un haplotipo (H*d*=0 y π =0) (Tabla 2).



Figura 1. Redes de parsimonia estadística de las regiones espaciadoras de RuBisCo (A) y de *cox*2-3 (B) de *Meristotheca cylindrica*. Para la región espaciadora de *cox*2-3, los dos grupos genéticos encontrados se indican como GI y GII. Para ambas redes, los rectángulos corresponden con el posible haplotipo ancestral; las líneas sencillas indican un paso mutacional; los círculos negros indican haplotipos extintos o no muestreados; n = número de individuos con el mismo haplotipo.



Figura 2. Distribución haplotípica de las regiones espaciadoras de RuBisCo (derecha) y de *cox*2-3 (izquierda) para *Meristotheca cylindrica* de Campeche. Las localidades están indicadas en el mapa con número (1-5) y la clave de localidad se indica entre paréntesis (ver coordenadas GPS en Tabla 1). n= número de individuos pertenecientes a cada haplotipo por población (modificado de Nuñez-Reséndiz *et al.* 2017).

En cuanto a los índices de diferenciación, se obtuvieron valores de Nm=0.45 y de F_{st}=0.52855. El AMOVA arrojó un índice de $\Phi_{\rm pr}$ =0.363 y un valor de Nm=0.879, con un 36% de la varianza explicada por las diferencias del marcador mitocondrial entre las poblaciones, en tanto que un 64% de la varianza explicada por la variación al interior de las mismas (Tabla 3).

Respecto al análisis de haplotipos, la red de parsimonia estadística reveló nueve haplotipos agrupados en dos redes, que correspondieron con dos grupos genéticamente diferenciados (GI y GII) con una estructuración total. La primera red (GI) estuvo conformada por cinco haplotipos: C1 (n=12), C8 (n=1), C5 (n=3), C9 (n=1) y C4 (n=4) (Fig. 1 y Tabla 1), mientras que la segunda red (GII) por cuatro haplotipos: C3 (n=1),

C2 (n=10), C6 (n=1) y C7 (n=4) (Figura 1 y Tabla 1). En GI, el haplotipo C1 (designado por el programa como el posible haplotipo ancestral) estuvo separado de C8, C5 y C9 por dos pasos mutacionales, y a su vez, estuvo separado de C4 por cinco pasos mutacionales. En GII, el haplotipo C3 (designado como posible haplotipo ancestral incluso con n=1) se separó de C7 y C2 por un solo paso mutacional, mientras que cinco pasos mutacionales lo separaron de C6 (Fig. 1).

Respecto de su distribución geográfica (Fig. 2), el haplotipo C1 se presentó en las localidades de Punta Xen, Sabancuy e Isla Aguada; C2 fue localizado en Sabancuy, Isla Aguada y Bahía de Tortuga; C3 fue exclusivo de Isla Aguada; C4 y C5 se encontraron simultáneamente en Isla Aguada y Playa Bonita; C6 y C7 se delimitaron a Punta Xen y final-

Tabla 4. Sitios variables en el alineamiento de secuencias de DNA de *Meristotheca cylindrica* para los haplotipos de la región espaciadora de Ru-BisCo y sus números de acceso al GenBank.

H/S	38	44	47	67	105	122	169	172	Número de acceso GenBank
R1	G	Α	G	Т	С	G	G	С	KY979260
R2				С	А		А	Т	KY979261
R3		С	Т	С	А		А	Т	KY979262
R4	С					С			KY979263

mente C8 y C9 se restringieron a Sabancuy. El número de haplotipos por población fue el siguiente: Isla Aguada (5), Sabancuy (4), Punta Xen (3), Playa Bonita (2) y Bahía de Tortuga (1) (Fig. 2).

En el análisis filogenético, las muestras correspondientes a los nueve haplotipos de *M. cylindrica* se agruparon en dos grupos monofiléticos (GI, GII), con soporte de probabilidad posterior bayesiana y *bootstrap* de 0.98 y 0.95, respectivamente (Fig. 4). El grupo I (GI) incluyó las muestras correspondientes a los haplotipos C1, C4, C5, C8 y C9, en tanto que el grupo II (GII) agrupó las muestras correspondientes a C2, C3, C6 y C7 (Fig. 4, Tabla 1). Las muestras correspondientes a los haplotipos R2 y R3 del espaciador de RuBisCo se incluyen en GII del espaciador *cox*2-3 (Tabla1).

Los porcentajes de distancia genética al interior de *M. cylindrica* (entre ambos grupos) con el espaciador de *cox*2-3 fueron: máxima de 14.8% (entre C8-C7 y C8-C3) y mínima de 0.5% (entre C3-C7 y C3-C2); la distancia genética promedio fue de 8.3%. Al interior de GI, la distancia mínima se detectó entre C1-C5, C1-C8 y C1-C9 (1%) y la máxima entre C4-C5 y C4-C8 (3.3%); la distancia genética promedio del grupo fue de 2%. Al interior de GII, la distancia genética mínima se detectó entre C2-C3 y C3-C7 (0.5%) y la máxima entre C6-C7 (2.9%); la distancia genética promedio fue de 1.5% para este grupo.

Análisis morfológico. El análisis múltiple de varianzas (MANOVA) a partir de datos cuantitativos asociados a las tres partes del talo (Tabla 6), indicó que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos morfológicos analizados, ya que Wilk's Λ =0.066267; *F*(8, 1) =1.76132 y *p*=0.527258>0.05.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos con las regiones espaciadoras de RuBisCo y *cox*2-3, así como los análisis morfológicos, revelaron estructura genética al interior de *M. cylindrica* en Campeche.

La red haplotípica obtenida del análisis con la región espaciadora RuBisCo dejó al descubierto moderadas diferencias entre poblaciones con cuatro haplotipos interconectados, mientras que la red haplotípica obtenida con la región espaciadora cox2-3 mostró una estructuración total de nueve haplotipos en dos grupos genéticos (GI y GII), correspondientes con dos grupos o entidades biológicas subyacentes en M. cylindrica. En el grupo GII el haplotipo sugerido por el programa como el ancestro fue C3. Sin embargo, este se restringió a la localidad de Isla Aguada y sólo estuvo representado por un individuo, por lo que se considera que el haplotipo C2 sería el posible ancestro ya que presentó el mayor número de individuos (10), el mismo número de conexiones que C3 (2) y su localización en tres de cinco localidades. Las poblaciones más ricas en haplotipos y que presentaron el mayor número de haplotipos únicos fueron Isla Aguada, Sabancuy y Punta Xen, mientras que la conformación haplotípica de Bahía de Tortuga y Playa Bonita fue más homogénea. Esta distribución haplotípica sugiere un moderado intercambio genético entre las poblaciones. A diferencia de lo registrado en la región espaciadora de la RuBisCo, con la región espaciadora de cox2-3 se percibió cierta homogeneidad haplotípica en aquellas poblaciones más próximas al estado de Yucatán, mientras que la heterogeneidad haplotípica se observó en aquellas poblaciones más cercanas al estado de Tabasco, tal como describieron Núñez-Resendiz et al. (2016) para el complejo Hydropuntia cornea / Hydropuntia usneoides (C. Agardh) Gurgel & Fredericq.







Figura 4. Topología bayesiana obtenida con secuencias de la región espaciadora de cox2-3 para las poblaciones de Meristotheca cylindrica. Las secuencias obtenidas en el presente estudio están indicadas en las ramas de color azul (GII) y rojo (GI); las restantes fueron obtenidas del GenBank, cuyos números de acceso se indican a un lado. Los valores de probabilidad posterior bayesiana (izquierda) y los valores de bootstrap (derecha) están indicados en los nodos. Los valores por debajo de 95% no son mostrados.

Para los resultados de esta investigación, la región espaciadora de cox2-3 fue más variable que la región espaciadora de RuBisCo en una proporción de 9:4. Estos resultados son consistentes con lo descrito por Zuccarello et al. (1999), quien menciona a este gen como un marcador altamente recomendable en estudios de variación genética de algas rojas. Yow et al. (2013) mencionan que los marcadores mitocondriales son más variables que los cloroplásticos; a partir de sus resultados enmarca al gen COI como un marcador incluso más variable que la región espaciadora cox2-3. Sin embargo, Núñez-Resendiz et al. (2015) describieron a la región espaciadora de la RuBisCo como un marcador más variable que la región espaciadora cox2-3.

so al GenBank	#	КҮ979264	КҮ979265	KY979266	КҮ979267	KY979268	KY979269	KY979270	КҮ979271	KY979272
le acce	209	U	⊢	⊢			⊢	⊢		
= no. d	207	G	A	A	·		A	A		-
es, # :	198	н	A	A			А	A		
regant	181	A	ပ	C				ပ	•	-
os seg	180	н	A	۷			A	۷		
= sitic	178	G	A	A			A	A		
os, S	177	٩	⊢	⊢			⊢	⊢		
plotip	175	–	A	A			A	A		
= ha	161	A	G	G			5	5		-
SII). H	159	ပ	⊢	⊢			⊢	⊢		
)) oc	154	–	ပ	ပ			ပ	ပ		
el Grup	153	- I	C	ပ			ပ	ပ	•	
os de	144	G	٨	A		•	A	A	•	
plotip	139	◄	G	G			G	G		
os ha	126	–	۷	A			A	A		
can l	125	–	ပ	ပ			ပ	ပ		
e indi	114	ပ	⊢	⊢			⊢	⊢		
rmal s	107	–			A					-
ía noi	105	∢	G	G	S		G	G		
ograf	104	–	S	S			ပ	ပ		
En tip	102	–	S	S			ပ	ပ		
(GI).	91	◄			•		ပ	•	•	
l odu	79	-	•	•	•	•	A	•	•	
al Gr	32 3	A	9	9	•	•	9	9	•	•
ntes	9 75		A	A	•	•	A	A	-	
ecier	2 66		<	<	•	•	<	<	•	•
rten	1 5	0		-			-	-		
s pe	8 4		4	4	-		4			
otipo	33					6		6	4	
laplo	33		0		•				•	
los	5 2			4 5		4		4 5	•	
altan			5	5	5		5	5	-	9
res	9 1	1	ن						(7	
a se	ş	-	N	ŝ	4	2	9	2	8	6
grit	Ĥ	U C	5	ى	Ċ	Ö	Ö	S	õ	Ö

Tabla 6. Cuantificación de caracteres morfológicos de 10 muestras de *Meristotheca cylindrica*. Los caracteres diagnósticos se establecieron según Ardito *et al.* (2014) modificado para *M. cylindrica*, con la adición del número de filamentos medulares y el diámetro de células de las cortezas externa (CE) e interna (CI). IA = Isla Aguada, S = Sabancuy, BT = Bahía de Tortuga, PX = Punta Xen, PB = Playa Bonita.

Nombre muestra	Grupo morfológico	Localidad	Parte del talo	Núm. de capas	Núm. de filamentos	Diámetro (µ	o del talo m)	Diár de cél (µ	netro ulas Cl m)	Diáme célul (µ	etro de as CE m)	Dián de m (µi	netro édula m)
				conticutes	modularoo	Largo	Ancho	Largo	Ancho	Largo	Ancho	Largo	Ancho
UAMIZ	1	IA	ápice	7	78	880	884	90	85	17.5	7.5	350	353
1257			medio	7	263	1750	1290	130	105	15	5	1240	1540
			basal	2	922	2825	2825	0	0	15	7.5	2770	2770
UAMIZ	1	S	ápice	6	117	1620	1210	150	180	15	10	300	850
1259			medio	6	54	1280	980	140	110	20	10	570	330
			basal	7	468	1710	1710	165	172.5	15	10	450	550
UAMIZ	2	BT	ápice	5	92	1390	650	122.5	110	12.5	7.5	720	150
1250			medio	6	147	900	770	95	85	10	5	195	195
			basal	8	119	1100	930	100	60	15	10	305	255
UAMIZ	2	IA	ápice	8	241	930	695	75	45	12.5	7.5	425	215
1248			medio	9	131	1070	1460	55	65	12.5	5	320	430
			basal	10	576	2360	2360	80	85	10	5	980	1130
UAMIZ	2	PX	ápice	6	77	1050	655	77.5	55	12.5	5	680	220
1252			medio	7	213	1410	930	97.5	67.5	10	4	450	195
			basal	8	209	1330	1140	85	60	10	5	455	300
IIAMI7	2	PB	ánice	9	96	1330	1070	100	55	15	5	200	145
970	-		medio	11	251	2750	2540	132.5	130	10	5	450	420
			basal	2	1112	2900	2380	0	0	10	5	2800	2320
UAMIZ	2	BT	ápice	5	119	835	675	90	85	12.5	5	265	215
1249			medio	2	10	221	1180	1510	145	90	12.5	5	590
			basal	2	580	3400	160	0	0	12.5	5	3100	102.5
UAMIZ	2	BT	ápice	5	70	670	765	105	67.5	12.5	5	280	200
1251			medio	6	153	1290	780	130	95	10	5	540	115
			basal	5	211	1460	1290	135	105	10	5	575	445
UAMIZ	2	S	ápice	7	108	1170	950	130	97.5	10	5	600	220
1247			medio	6	244	4120	1240	145	100	10	5	3420	240
			basal	8	353	2640	1700	170	115	12.5	5	1920	500
UAMIZ	2	S	ápice	8	332	1460	1180	125	77.5	12.5	5	1180	960
1246		-	medio	7	367	3680	1660	130	75	12.5	5	2500	440
			basal	7	521	3580	1960	195	135	10	5	2090	560

La distribución haplotípica en las poblaciones de *M. cylindrica*, con la región espaciadora de RuBisCo, evidenció que las poblaciones más parecidas en cuanto a su conformación haplotípica fueron Isla Aguada, Sabancuy y Punta Xen, mismas que a su vez son las poblaciones más cercanas entre sí. Empero, a medida que las poblaciones se acercaron más al estado de Yucatán (Bahía de Tortuga y Playa Bonita), surgieron haplotipos nuevos (R3 y R4) que no se encontraron en las primeras tres localidades (las más cercanas al estado de Tabasco) lo que podría

indicar cierto aislamiento reproductivo. La presencia de los haplotipos R1 (ancestro) y R2 en Bahía de Tortuga y Playa Bonita sugiere que aún existe intercambio genético escaso en conjunto con un valor de Nm~1.

A pesar de la poca variación encontrada con la región espaciadora de la RuBisCo, se advirtió que las muestras cuyos haplotipos más lejanos genéticamente al ancestro (R2 y R3) pertenecen a la estructura genética equivalente al grupo GII de la región espaciadora *cox*2-3.

Entre las poblaciones de *M. cylindrica* se detectaron distintos niveles de diferenciación genética con ambos genes. Altos valores fueron encontrados en Punta Xen y Sabancuy con la región espaciadora de RuBisCo, mientras que en Sabancuy con el espaciador de *cox2*-3, resultados que podrían indicar que la poblaciones se encuentran estables o en equilibrio (Grant & Bowen, 1998). No obstante, la forma en estrella de las redes haplotípicas indica un proceso reciente de expansión **de**mográfica (Slatkin & Hudson, 1991) lo que sugiere que las poblaciones de *M. cylindrica* no están en equilibrio, similar a lo descrito por Núñez-Resendiz *et al.* (2016) para las poblaciones del complejo *Hydropuntia cornea / Hydropuntia usneoides* en Campeche. Los valores generales de F_{sr} para ambos marcadores, indicaron una gran diferenciación genética según Hartl &Clark (1997) ya que son mayores a 0.25, lo cual resulta en una estructuración significativa de las poblaciones estudiadas. Los valores de Φ_{rr} fueron significativamente distintos de cero (0.26

Las distancias genéticas no corregidas obtenidas con la región espaciadora de RuBisCo mostraron dos valores entre sus haplotipos: a) entre los conjuntos R1-R4 y R2-R3 (1.1%) y b) entre R3 y R4 (4.3%). En cuanto al espaciador de cox2-3 las distancias fueron aún mayores entre GI y GII, con un máximo de 14.8% y un promedio de 8.3%. Las distancias genéticas interespecíficas reportadas por Núñez-Resendiz et al. (2017) entre M. cylindrica y otras especies del género varían de un mínimo de 2.8% (M. procumbens P. W. Gabrielson & Kraft, de Fiji) a un máximo de 4.4% (Meristotheca sp., de Taiwan), en tanto que las distancias intraespecíficas se distribuyen en un intervalo de 0.2% a 0.4%. Las distancias genéticas obtenidas sugieren que ambos grupos genéticos corresponden con dos entidades diferenciadas probablemente por encima del nivel de especie, como lo reportado entre géneros de la familia Gracilariaceae en un promedio de 8.8% así como una divergencia de 12.6% entre Gracilaria chilensis C. J. Bird, McLachlan & E. C. Oliveira y Gracilariopsis sp. (Yang et al., 2008).

para el marcador cloroplástico y 0.36 para el mitocondrial), lo que re-

fleja la divergencia ocurrida al interior de M. cylindrica.

Los análisis filogenéticos de inferencia bayesiana y máxima verosimilitud fueron congruentes con la estructura genética encontrada con ambos marcadores: en la región espaciadora de RuBisCo se detectó un grupo monofilético con un conjunto constituido por R2 y R3 al interior, lo que coincidió con los haplotipos agrupados en GII de la región espaciadora de *cox*2-3; con este marcador se encontró un clado subdividido en los grupos GI y GII con sus respectivos haplotipos. En ambos casos se ubicó sistemáticamente a *M. cylindrica* como grupo hermano de *Eucheuma isiforme.*

Anatómicamente, existe homogeneidad entre las muestras de *M. cylindrica*. Las diferencias se remiten a los caracteres cualitativos externos: el patrón y grado de ramificación en el talo vegetativo, los cuales conforman dos grupos morfológicos distintos.

Recapitulando, es posible concluir que la estructura y diferenciación genética, así como la variación intra e interpoblacional, revelan la presencia de distintos genotipos utilizando un fenotipo lo suficientemente similar como para confundir la identificación taxonómica. Esto muestra indicios de un proceso de especiación en curso: se inicia con barreras ecológicas y culmina con barreras reproductivas, dando lugar a especies crípticas con los grupos genéticos Gl y Gll como posiblemente ocurre en el presente caso, lo que manifiesta diferencias genéticas incluso a nivel de género exhibidas con la región espaciadora de *cox*2-3, el cual tuvo mayor variabilidad que el marcador cloroplástico. Posteriormente será necesario un incremento en el intervalo de muestreo a lo largo de la península de Yucatán (o más general, al Golfo de México) así como en el número de individuos por población, para establecer hipótesis más sólidas sobre los procesos que ocurren al interior de los grupos encontrados en *M. cylindrica*. De igual manera, será necesario el análisis de caracteres morfológicos cualitativos para describir la relación entre los grupos genéticos encontrados en este estudio y los grupos morfológicos reportados anteriormente. Por sí sola, la historia geológica de la península de Yucatán sugiere una alta probabilidad de encontrar diversidad críptica en los grupos biológicos reportados a lo largo de su litoral y puede ofrecer explicaciones a los procesos evolutivos en el área, por lo que la necesidad de emprender estudios de ecología evolutiva se hace manifiesta.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo de los proyectos UAMI, Consejo de la División Ciencias Biológicas y de la Salud (sesión 15.14-131014), y Secretaría de Educación Pública - PROMEP (UAMI-CA-117).

REFERENCIAS

- ARDITO, S. M., A. SENTIES & K. M. DRECKMANN. 2014. Caracterización morfoanatómica de *Hydropuntia usneoides* (Gracilariaceae, Rhodophyta) para la costa venezolana. *Interciencia* 39: 49-53.
- CALLEJAS-JIMÉNEZ, M. E., A. SENTIES & K. M. DRECKMANN. 2005. Macroalgas bentónicas de Puerto Real, Faro Santa Rosalía y Playa Preciosa, Campeche, México, con algunas consideraciones florísticas y ecológicas para el estado. *Hidrobiológica* 15: 89-96.
- CHIOVITTI, A., G. T. KRAFT, A. BACIC & M. L. LIAO. 2001. Gelling polysaccharides from Australian seaweeds: research and potential. *Marine and Freshwater Research* 52: 917-935. DOI: 10.1071/MF01028
- CLEMENT, M., D. POSADA & K. A. CRANDALL. 2000. TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology* 9: 1657-1659. DOI:10.1046/j.1365-294x.2000.01020.x
- CONKLIN, K. Y., D. C. O'DOHERTY & A. R. SHERWOOD. 2014. Hydropuntia perplexa comb. nov. (Gracilariaceae, Rhodophyta), the first record of the genus in Hawai'i. *Pacific Science* 68: 421-434. DOI: 10.2984/68.3.9
- DARRIBA. D, G. L. TABOADA, R. DOALLO & D. POSADA. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* 9 (8): 772. DOI: 10.1038/nmeth.2109
- DESTOMBE, C., M. VALERO & M. L. GUILLEMIN. 2010. Delineation of two sibling red algal species, *Gracilaria gracilis* and *Gracilaria dura* (Gracilariales, Rhodophyta), using multiple DNA markers: resurrection of the species *G. dura* previously described in the northern Atlantic 200 years ago. *Journal of Phycology* 46: 720-727. DOI: 10.1111/j.1529-8817.2010.00846.x
- DRECKMANN, K. M. & A. SENTIES. 2013. Las arribazones de algas marinas en el Caribe mexicano, evento biológico natural o basura en las playas. *Biodiversitas* 107: 7-11. ISSN: 1870-1760.
- FAYE, E. J., S. SHIMADA, K. KOGAME & M. MASUDA. 2004. A new red algal species *Meristotheca dakarensis* (Solieriaceae, Gigartinales) from

Senegal, western Africa, with comments on the relegation of *Meristiella* Cheny to synonymy with *Meristotheca* J. Agardh. *Cryptogamie, Algologie* 25: 241-259.

- FAYE, E. J., S. SHIMADA, S. KAWAGUCHI & M. MASUDA. 2005. Characterization of the edible red alga *Meristotheca papulosa* (Solieriaceae, Gigartinales) from Japan. *Phycological Research* 53: 234-245. DOI: 10.1111/j.1440-183.2005.00391.x
- FAYE, E. J., K. KOGAME, S. SHIMADA, S. KAWAGUCHI & M. MASUDA. 2007. Taxonomic features of the red alga *Meristotheca coacta* (Solieriaceae, Gigartinales). *Phycological Research* 55: 150-158. DOI: 10.1111/j.1440-1835.2007.00458.x
- FAYE, E. J., K. KOGAME, S. SHIMADA, S. KAWAGUCHI & M. MASUDA. 2008. New red alga *Meristotheca imbricata* (Solieriaceae, Gigartinales) from Japan. *Phycological Research* 56: 115-126. DOI: 10.1111/j.1440-1835.2008.00492.x
- FREILE-PELEGRIN, Y. & D. ROBLEDO. 2006. Carrageenan of Eucheuma isiforme (Solieriaceae, Rhodophyta) from Yucatán, Mexico. II. Seasonal variations in carrageenan and biochemical characteristics. *Botanica Marina* 49: 72-78. DOI: https://doi.org/10.1515/BOT.2006.009
- FREILE-PELEGRIN, Y. & D. ROBLEDO. 2008. Carrageenan of Eucheuma isiforme (Solieriaceae, Rhodophya) from Nicaragua. Journal of Applied Phycology 20: 537-541. DOI: 10.1007/s10811-007-9270-8
- FREILE-PELEGRIN, Y., D. ROBLEDO & J. A. AZAMAR. 2006. Carrageenan of *Eucheuma isiforme* (Solieriaceae, Rhodophyta) from Yucatán, Mexico. I. Effect of extraction conditions. *Botanica Marina* 49: 65-71. DOI: 10.1515/BOT.2006.008
- GARCÍA-RODRÍGUEZ, L. D., R. RIOSMENA-RODRIGUEZ, S. Y. KIM, M. LOPEZ-MEYER, J. J. M. LOPEZ-VIVAS & S. M. BOO. 2013. Recent introduction of *Gracilaria parvispora* (Gracilariales, Rhodophyta) in Baja California, Mexico. *Botanica Marina* 56: 143-150.
- GOFF, L. J., D. A. MOON & A. W. COLEMAN. 1994. Molecular delineation of species and species relationships in the red algal agarophytes *Gracilariopsis* and *Gracilaria* (Gracilariales). *Journal of Phycology* 30: 521-537. DOI: 10.1111/j.0022-3646.1994.00521.x
- GRANT, W. A. S. & BOWEN, B. W. 1998. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. *Journal of Heredity* 89: 415-426. DOI: 10.1093/jhered/89.5.415
- GRAUR, D. & W. H. LI. 2000. Fundamentals of Molecular Evolution. Second Edition. Sinauer Associates, Inc., Publishers. Sunderland, Mass. 481 p. ISBN 10: 0878932666.
- GUILLEMIN, M. L., S. A. AKKI, T. GIVERNAUD, A. MOURADI, M. VALERO & C. DESTOMBE. 2008. Molecular characterization and development of rapid molecular methods to identify species of Gracilariaceae from the Atlantic coast of Morocco. *Aquatic Botany* 89: 324-330. DOI: 10.1016/j. aquabot.2008.03.008
- GUILLEMIN, M. L., M. VALERO, S. FAUGERON, W. NELSON & C. DESTOMBE. 2014. Tracing the trans-Pacific evolutionary history of a domesticated seaweed (*Gracilaria chilensis*) with archaeological and genetic data. *PLoS ONE* 9 (12): e114039. DOI:10.1371/journal.pone.0114039

- GUINDON, S. & O. GASCUEL. 2003. A simple, fast and accurate method to estimate large phylogenies by maximum-likelihood. *Systematic Biology* 52: 696-704. DOI: 10.1080/10635150390235520
- HALL, T. A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium* 41: 95-98.
- HARTL, D. L. & A. G. CLARK. 1997. Principles of Population Genetics. 3rd ed. Sinauer Associates. Sunderland, Massachusetts. Folio variado.
- HUDSON R. R., M. SLATKIN & W. P. MADDISON. 1992. Estimation of levels of gene flow from DNA sequence data. *Genetics* 132:583-589.
- HUELSENBECK, J. P. & F. RONQUIST. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics* 17:754-755.
- LIBRADO, P. & J. Rozas. 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25: 1451-1452. DOI: 10.1093/bioinformatics/btp187
- MAGGS, C. A., S. E. DOUGLAS, J. FENETY & C. J. BIRD. 1992. A molecular and morphological analysis of the *Gymnogongrus devoniensis* (Rhodophyta) complex in the North Atlantic. *Journal of Phycology* 28: 214-232. DOI: 10.1111/j.0022-3646.1992.00214.x
- MILNE I., F. WRIGHT, G. ROWE, D. MARSHAL, D. HUSMEIER & G. MCGUIRE. 2004. TOPALI: Software for Automatic Identification of Recombinant Sequences within DNA Multiple Alignments. *Bioinformatics* 20 (11): 1806-1807. DOI: 10.1093/bioinformatics/bth155
- MUANGMAI, N., I. C. FRASER & G. C. ZUCCARELLO. 2015. Contrasting patterns of population structure and demographic history in cryptic species of *Bostrychia intricata* (Rhodomelaceae, Rhodophyta) from New Zealand. *Journal of Phycology* 51: 574-585. DOI: 10.1111/jpy.12305
- NÚÑEZ-RESENDIZ, M. L., K. M. DRECKMANN, A. SENTÍES, J. DÍAZ-LARREA & G. C. ZUCCARELLO. 2015. Genetically recognizable but not morphologically: The cryptic nature of *Hydropuntia cornea* and *H. usneoides* (Gracilariales, Rhodophyta) in the Yucatan Peninsula. *Phycologia* 54: 407-416. DOI: 10.2216/15-009.1
- NÚÑEZ-RESENDIZ, M. L., G. C. ZUCCARELLO, K. M. DRECKMANN & A. SENTÍES. 2016. Phylogeography of *Hydropuntia corneal H. usneoides* complex (Gracilariales, Rhodophyta) in the Yucatan Peninsula. *Phycologia* 55: 522-531.
- NÚÑEZ-RESENDIZ, M. L., K. M. DRECKMANN & A. SENTIES. 2017. Meristotheca cylindrica sp. nov. (Solieriaceae, Rhodophyta) from the southern Gulf of Mexico. *Phycologia* 56 (4): 423-429. DOI: http://dx.doi. org/10.2216/16-116.1
- PAREEK, M., A. MISHRA & B. JHA. 2010. Molecular phylogeny of *Gracila-ria* species inferred from molecular markers belonging to three different genomes. *Journal of Phycology* 46: 1322-1328. DOI: 10.1111/j.1529-8817.2010.00903.x
- PEAKALL, R. & P. E. SMOUSE. 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* 6: 288-295. DOI: 10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x

- PEAKALL, R. & P. E. SMOUSE. 2012. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research - an update. *Bioinformatics* 28: 2537-2539. DOI: 10.1093/bioinformatics/bts460
- PEAKALL, R., P. E. SMOUSE & D.R. HUFF. 1995. Evolutionary implications of allozyme and RAPD variation in diploid populations of dioecious buffalograss *Buchloë dactyloides*. *Molecular Ecology* 4: 135-148. DOI:10.1111/j.1365-294X.1995.tb00203.x
- SLATKIN, M. & R. R. HUDSON. 1991. Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations. *Genetics* 129: 555-562.
- STAMATAKIS, A. 2014. RAXML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* 30: 1312-1313. DOI: doi.org/10.1093/bioinformatics/btu033
- $\label{eq:STATSOFT Inc. 2007. STATISTICA (data analysis software system) version \\ 8.0. www.statsoft.com$
- TAMURA, K., G. STECHER, D. PETERSON, A. FILIPSKI & S. KUMAR. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30 (12):2725-2729. DOI: 10.1093/molbev/mst197
- THOMPSON, J. D., D. G. HIGGINS & T. J. GIBSON. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* 22: 4673-4680.
- WATT, N. J., A. CHIOVITTI, D. J. CRAIK & G. T. KRAFT. 2003. The cell wall galactans from Australian representatives of the genus *Meristotheca* (Solieriaceae, Rhodophyta). *Phycologia* 42: 572-581. DOI: 10.2216/ i0031-8884-42-6-572.1
- West-EBERHARD, M. J. 2003. *Developmental Plasticity and Evolution*. Oxford University Press. Oxford. 794 p. ISBN: 9780195122350.

- YANG, E. C., M. S. KIM, P. J. GERALDINO, D. SAHOO, J. A. SHIN & S. M. BOO. 2008. Mitochondrial cox1 and plastid rbcL genes of *Gracilaria vermiculo-phylla* (Gracilariaceae, Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology* 20: 161-168. DOI: 10.1007/s10811-007-9201-8
- YANG, E. C: & S. K. MYUNG. 2015. Molecular analyses for identification of the Gracilariaceae (Rhodophyta) from the Asia-Pacific region. *Genes & Genomics* 37: 775-787. DOI: 10.1007/s13258-015-0306-1
- Yow, Y. Y., P. E. LIM & S. M. PHANG. 2011. Genetic diversity of *Gracilaria chan-gii* (Gracilariaceae, Rhodophyta) from west coast, Peninsular Malaysia based on mitochondrial cox1 gene analysis. *Journal of Applied Phycology* 23: 219-226. DOI: 10.1007/s10811-010-9535-5
- Yow, Y. Y., P. E. LIM & S. M. PHANG. 2013. Assessing the use of mitochondrial cox1 gene and cox2-3 spacer for genetic diversity study of Malaysian *Gracilaria changii* (Gracilariaceae, Rhodophyta) from Peninsular Malaysia. *Journal of Applied Phycology* 25: 831. DOI: 10.1007/s10811-012-9942-x
- ZUCCARELLO, G. C., G. BURGER, J. A. WEST & R. J. KING. 1999. A mitochondrial marker for red algal intraspecific relationships. *Molecular Ecology* 8: 1443-1447. DOI: 10.1046/j.1365-294x.1999.00710.Zuccarello, G. C:, N. Schidlo, L. Mcivor & M. D. Guiry. 2005. A molecular reexamination of speciation in the intertidal red alga *Mastocarpus stellatus* (Gigartinales, Rhodophyta) in Europe. *European Journal of Phycology* 40: 337-344. DOI: 10.1080/09670260500254743
- ZUCCARELLO, G. C., A. T. CRITCHLEY, J. SMITH, V. SIEBER, G. B. LHONNEUR & J. WEST. 2006. Systematics and genetic variation in commercial shape *Kappaphycus* and shape *Eucheuma* (Solieriaceae, Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology* 18: 643-651. DOI: 10.1007/s10811-006-9066-2

Ecología de cianoprocariontes epífitas que habitan ambientes lóticos de la Cantera Oriente, Ciudad de México

Ecology of epiphytic cyanoprokaryotes inhabiting lotic environments in Cantera Oriente, Mexico City

Roxana Maceda¹, Rosaluz Tavera² y Eberto Novelo³

¹Licenciatura en Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. Circuito Exterior s/n, Ciudad Universitaria, Coyoacán, 04510. CDMX, México ²Departamento de Ecología y Recursos Naturales, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. Circuito Exterior s/n, Ciudad Universitaria, Coyoacán, 04510. CDMX, México 04510. CDMX, México

³ Departamento de Biología Comparada, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. Circuito Exterior s/n, Ciudad Universitaria, Coyoacán, 04510. CDMX, México e-mail: r_tavera@ciencias.unam.mx

Recibido: 1 de junio de 2017. Aceptado: 3 de noviembre de 2017.

Maceda R., R. Tavera y E. Novelo. 2017. Ecología de cianoprocariontes epífitas que habitan ambientes lóticos de la Cantera Oriente, Ciudad de México. *Hidrobiológica* 27 (3): 327-336.

RESUMEN

Antecedentes. La Cantera Oriente alberga un componente de microalgas diverso. Los ecosistemas lénticos han recibido mucha más atención que los sistemas lóticos, lo que hace importante su estudio. **Objetivos**. Comparar comunidades de cianoprocariontes de un ambiente lótico natural y otro artificial, midiendo la densidad y frecuencia relativas de las especies y su asociación con factores ambientales. **Métodos**. Se muestrearon mensualmente las clorofitas filamentosas y la madera y raíces de plantas sumergidas en dos ambientes lóticos (uno natural y otro artificial) de septiembre de 2012 a septiembre de 2013, para estudiar las cianoprocariontes epífitas presentes en ellos. Simultáneamente, se obtuvieron datos fisicoquímicos con mediciones de campo y análisis de laboratorio. Las especies se evaluaron de acuerdo con el Índice de Valor de Importancia (IVI). **Resultados**. Sólo el 31 % de las cianoprocariontes fue compartido por ambos sitios. Los datos fisicoquímicos mostraron igualdad de varianzas y no se correlacionaron con los valores del IVI, denotando un bajo nivel de disturbio ambiental. La comparación estadística proporcional del IVI observado y teórico de las especies de cada ambiente (prueba Chi cuadrada), estableció que las cianoprocariontes se asociaron con el tipo deambiente, el tipo de sustrato y la estación climática. **Conclusiones**. Los ambientes lóticos de la Cantera Oriente se caracterizan por un bajo nivel de disturbio, que no afecta la presencia ni la biomasa de las cianoprocariontes. El IVI se asocia con el tipo de ambiente y de sustrato como sitio de colonización y parece explicar las preferencias de hábitat para algunas especies.

Palabras clave: Algas bentónicas, arroyos, canales, disturbio, perifiton.

ABSTRACT

Background. Cantera Oriente houses a diverse microalgal component. The lentic ecosystems have received much greater attention than the lotic systems, which makes their study important. **Goals.** Compare cyanoprokaryotic communities found in a natural and an artificial lotic environment. To measure the relative density and frequency of species and to measure their association with environmental factors. **Methods.** Filamentous chlorophytes, wood, and roots of submerged plants were sampled once a month in two lotic environments (natural and artificial) from September 2012 to September 2013, to study the epiphytic cyanoprokaryotes. Simultaneously, physical and chemical data were obtained with field measurements and laboratory analysis. Species were evaluated according to the Importance Value Index (IVI). **Results.** Only 31% of cyanoprokaryotes were shared by both sites. The chemical and physical data showed equal variances and were not correlated with IVI values, denoting a low level of environmental disturbance. The proportional statistical comparison of the observed and theoretical IVI of the species of each environment, (Chi square), established that the cyanoprokaryotes were associated with the type of environment, the type of substrate, and the climatic season. **Conclusions.** The lotic environments in Cantera Oriente are characterized by a low level of disturbance, which does not affect the presence or biomass of the cyanoprokaryotes and the Importance Value Index is associated with the type of environment and substrate as a site of colonization, which seems to explain the habitat preferences of some species.

Key words: Benthic algae, channels, disturbance, periphyton, streams.

INTRODUCCIÓN

La Ciudad de México se encuentra en el Valle de México, donde existió un sistema lacustre con una superficie aproximada de 2,000 km². La urbanización ha provocado una fuerte degradación ambiental en esta zona del país (Conagua, 2010), quedando en la actualidad 3.63 km² de superficie de lagos, de la cual 92.3% pertenece a los lagos de Xochimilco y el resto a los de Chapultepec, Texcoco y San Juan de Aragón (Conagua, 2013). Esta situación resalta la importancia en la conservación de áreas lacustres en el ámbito urbano de la Ciudad de México, como la Cantera Oriente, un ambiente excepcional por su conservación que forma parte de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel (REPSA) (Lot. 2007): esta área ha cobrado gran importancia biológica para la ciudad por la diversidad que la caracteriza. En sitios con un alto grado de conservación, las condiciones ambientales tienden a mantenerse estables y el reto es evaluar las respuestas biológicas de las comunidades que los habitan, ya que permiten reconocer gradientes ambientales que ayudan a la evaluación de ecosistemas perturbados, especialmente los de tipo urbano.

Varios estudios de microalgas han mostrado que la Cantera Oriente alberga una gran diversidad, que es ejemplo del manejo adecuado de áreas lacustres inmersas en zonas densamente pobladas (Novelo *et al.*, 2007, 2009; Rodríguez Terán *et al.*, 2014). En estos estudios puede verse que los ecosistemas lénticos y la comunidad fitoplanctónica han sido los más estudiados, en parte porque los lagos representan 14% de la superficie total (0.075 km²) de la Cantera Oriente. En este trabajo nos hemos enfocado en la comunidad perifítica de cianoprocariontes de los sistemas lóticos de la zona, lo que ha aumentado sustancialmente el conocimiento de la diversidad y la ecología de esta área de la REPSA.

Las cianoprocariontes perifíticas contribuyen significativamente a definir el perfil ecológico de los ecosistemas lóticos. Biggs (1996) señaló que la interacción entre las algas perifíticas y el ambiente está regulada por dos tipos de factores: las variables que controlan directamente la pérdida o acumulación de biomasa, como nutrimentos, temperatura e irradianza, y las variables que influyen de manera indirecta, como el clima y el tipo de sustrato.

Cuando hay un suministro constante de nutrimentos y luz en el ambiente, predominan las especies filamentosas de clorofitas (Cladophora o Rhizoclonium) y las diatomeas pedunculadas (Danilov & Ekelund, 2001; Ensminger et al., 2005); si esto ocurre en ambientes lóticos de corrientes suaves con baia frecuencia de inundaciones, en donde la abrasión sobre el sustrato es mínima, la biomasa de algas perifíticas en general alcanza valores altos (Ensminger et al., 2005). Se ha considerado que la herbivoría en estas condiciones sólo ejerce una presión baja o mediana; estas características, en su conjunto, sugieren que el ambiente está funcionando con un disturbio de nivel mediano a bajo (Biggs, 1996; Graba et al., 2014). Los autores citados, especialmente Biggs (1996), proponen que en estas condiciones suelen encontrarse cianoprocariontes Oscillatoriales o especies con talos de crecimiento erecto, como miembros de Nostocales, aunque también hay comunidades importantes de epífitas coloniales de cianoprocariontes que crecen sobre clorofitas filamentosas. Esto es lo que hemos observado en los sitios estudiados de la Cantera Oriente y también ha sido descrito en arroyos de la región central de México (Beltrán Magos et al., 2013; Mora Hernández et al., 2015; Novelo, 1998; Ramírez et al., 2003; Valadez Cruz et al., 1996). Los principales objetivos de este estudio fueron comparar las comunidades de cianoprocariontes perifíticas de un ambiente natural y uno artificial y evaluar el grado de disturbio o equilibrio ambiental a través de la composición de especies, su densidad relativa y su frecuencia relativa, enfocando la interpretación del grado de disturbio con elementos tomados de la bibliografía. Planteamos estos objetivos porque gran parte de la ecología actual de ambientes lóticos se ha basado en la comparación entre sustratos naturales y artificiales, empleando a la riqueza y composición de especies perifíticas y bentónicas, así como sus densidades poblacionales (Schneck *et al.*, 2011), biovolumen y biomasa (Murdock & Dodds, 2007; Potapova & Charles, 2005) y actividad metabólica (Fellows *et al.*, 2006) como indicadores de la salud del ecosistema.

Los principales aportes de esta investigación son una caracterización ecológica general de los ambientes lóticos de la Cantera Oriente, basada en la biología de las cianoprocariontes perifíticas, y una interpretación sobre la posible existencia de selectividad de sustrato de las microalgas epífitas, con base en la descripción bibliográfica de sus preferencias de hábitat (Fattom & Shilo, 1984; Fellows *et al.*, 2006; Michael *et al.*, 2008; Potapova & Charles, 2005; Schneck *et al.*, 2011).

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio y sitios de recolección. La Cantera Oriente está ubicada al sur de la Ciudad de México y cuenta con 0.075 km² de terreno (Lot, 2007). Se incorporó a la REPSA en diciembre de 1996. En ella existen cuatro unidades ambientales o de paisaje (Fig. 1): A) paisaje lacustre y de humedales, B) paisaje de jardines, C) paisaje de bosques y arbustos y D) paisajes construidos. La unidad de paisaje lacustre y de humedales está subdividida en: cuerpos de agua (14.36% de la superficie), planicie palustre o de ciénaga (zonas que bordean a los cuerpos de agua), que representa 23.21% de la superficie, y zonas inundables que constituyen 4.85% de la superficie total de la Cantera (Lot, 2007; Ortiz Pérez *et al.*, 2007).

Se eligieron dos sitios de recolección en donde se observó la presencia de cianoprocariontes perifíticas, los cuales se denominaron "arroyo" y "canal" (Fig.2a-b), de acuerdo con el estado natural o artificial del ambiente. El arroyo (sitio natural) es una desviación del agua que escurre por la pared noroeste de la Cantera. Se ubica en la unidad ambiental de paisajes de bosques y arbustos, en la subdivisión de plano ondulado de relleno con vegetación arbórea cerrada, que representa una comunidad forestal diversa, con un techo arbóreo denso (Ortiz Pérez et al., 2007). En las orillas del arroyo se encuentran principalmente cipreses (Cupressus sempervirens Linnaeus) y tepozanes (Buddleja cordata Kunth), mientras que dentro del arroyo se pueden encontrar plantas herbáceas, principalmente Stuckenia pectinata (Linnaeus) Börner, una macrófita sumergida. El otro sitio estudiado fue un canal de concreto (sitio artificial) poco profundo, de lecho plano y paredes verticales, que fue construido para nivelar el volumen de agua en época de lluvias y conecta el agua que proviene de la pared de la Cantera con el lago Vaso Regulador. Se encuentra dentro de la unidad ambiental de paisajes con jardines y se caracteriza por estar rodeado principalmente por fresnos (Fraxinus uhdei (Wenzig) Lingelsh) y liquidámbar (Liquidambar styraciflua Linnaeus) (Ortiz Pérez et al., 2007).

Recolección en campo. Durante un año (septiembre 2012 - septiembre 2013) se recolectaron mensualmente muestras en el arroyo y el canal. En el arroyo, se recolectaron clorofitas filamentosas sumergidas (*Rhizoclonium hieroglyphicum* (C. Agardh) Kützing), macrófitas (*S.*



19°18'37.47" N

99°10'43.96" O

Figura 1. Sitios de recolección en la Cantera Oriente (Ciudad de México). La flecha superior señala la ubicación del arroyo y la flecha inferior señala la ubicación del canal. En el sector Este se aprecia la zona de lagos. Fuente: Google Earth, 2013 (periodo de recolección).

pectinata) y raíces o madera sumergidas de *B. cordata*; en el canal se recolectaron talos del único sustrato vegetal, la clorofita filamentosa sumergida *Cladophora glomerata* (Linnaeus) Kützing. A partir de estas recolecciones se obtuvieron cianoprocariontes epífitas, mediante raspado con una navaja o toma directa. Los raspados del material epífito se realizaron en el laboratorio.

En cada recolección se midieron la irradianza subsuperficial (Hobo®), el pH, la temperatura y la conductividad (potenciómetro Conductronic PC-18®) y el oxígeno disuelto (oxímetro Conductronic Ox-25®) del agua. En el laboratorio, empleando muestras de agua recolectadas en cada ocasión, se determinaron los nutrimentos por métodos espectrofotométricos (espectrofotómetro Hach DR 1900®), estandarizados (Rice *et al.*, 2017).Todos los métodos están basados en los estándares aprobados para el análisis de agua dulce de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA, 2017). El fósforo total se obtuvo por el método de digestión ácida (EPA 365.1, 365.3, 8190), las determinaciones de nitrato se hicieron mediante el método de diazotización (EPA 353.2, 8507) y las de amonio con el método del salicilato (EPA 350.1, 10023).

Las muestras para determinación de especies fueron preservadas con formol a 2.5%, material con el cual se realizaron preparaciones semipermanentes con gelatina glicerinada (González & Novelo, 1986).

La documentación se realizó con un microscopio Nikon 80i® (con contraste de interferencia diferencial). El material (preparaciones y muestras líquidas) se incorporó al Herbario de la Facultad de Ciencias (FCME).

Análisis biológico de las especies. Debido a la diversidad de sustratos que son colonizados por las cianoprocariontes perifíticas, se evaluó la presencia y la composición de las especies en las comunidades, considerando su densidad relativa y frecuencia relativa (Tabla 1), de acuerdo con el Índice de Valor de Importancia (IVI), modificado con base en el utilizado en estudios de ecología vegetal (Nguyen *et al.*, 2014).

Manejo estadístico de los datos. Las variables cuantitativas consideradas en el estudio se señalan en la Tabla 2. El nitrógeno inorgánico total disuelto (NID) se obtuvo sumando los valores de las tres formas inorgánicas determinadas y se utilizó para obtener la proporción de nitrógeno con respecto al fósforo (NP). El cálculo del coeficiente de variación (Microsoft Excel 2017) permitió establecer inicialmente la precisión de los datos (Tabla 2). Se utilizó el programa XLSTAT (Addinsoft, para Microsoft Excel 2017) y se analizó si los datos cumplieron con una distribución normal, aplicando una prueba de Kolmogorov-Smirnov. Se normalizaron los datos (transformación LN+1) y se aplicaron pruebas de contraste de medias paramétricas y no paramétricas (Levene, prueba T y Mann-Whitney). Para evaluar la posible asociación entre la presencia de especies y el tipo de ambiente (natural o artificial), se



Figura 2a-b. Sitios de muestreo en la Cantera Oriente (Ciudad de México, México). a) Vista parcial del sitio natural denominado "arroyo". b) Vista parcial del sitio artificial denominado "canal".

aplicó una prueba de asociación no paramétrica con el estadístico Chi cuadrada, mediante la creación de una tabla de contingencia. Las variables cualitativas consideradas para Chi cuadrada fueron el tipo de sustrato (alga, macrófita o arbusto), el tipo de ambiente (arroyo o canal) y la época (seca o de lluvias).

RESULTADOS

Se encontraron 13 especies de cianoprocariontes (Tabla 3); de ellas sólo 31% es compartido por ambos sitios. La evaluación cuantitativa de su distribución y presencia se hizo con base en el IVI (Tabla 3), que se aplicó modificando la propuesta de Nguyen *et al.* (2014).

Una comparación proporcional de las especies de cada ambiente, de acuerdo con el IVI, mostró una representatividad diferente para cada especie, asociada con las variables cualitativas consideradas en el estudio: tipo de ambiente (arroyo (Fig.3) y canal (Fig. 4)), la estación climática (época seca o de lluvias) y el tipo de sustrato (macrófita, alga o arbusto).

Análisis de los datos. Los datos de variables ambientales registrados en este estudio (Tabla 2) mostraron igualdad de varianzas; de acuerdo con el coeficiente de variación, solo la temperatura y la conductividad tuvieron precisión aceptable (<10%). La correlación de Pearson para estas variables no fue significativa para los valores de IVI (p > 0.05; N = 19). El análisis exploratorio de los datos cuantitativos obtenidos para el conjunto de variables indicó que no tienen una distribución normal (prueba de Kolmogorov-Smirnov, p < 0.05). Las pruebas de contraste de medias aplicadas a los datos normalizados indicaron que podemos asumir igualdad de varianza en cada variable (p > 0.05 para la prueba de Levene y p > 0.05 bilateral para la prueba T de igualdad de medias).

El análisis no paramétrico aplicado a los mismos datos normalizados también mostró que la diferencia de posición entre las muestras fue igual a cero (prueba de Mann-Whitney, p > 0.05), excepto para el nitrógeno (p < 0.05).

Una tabla de contingencia de los datos mostró la asociación entre las variables de naturaleza cualitativa (Tabla 4, Fig. 5). El resultado de la prueba de Chi cuadrada, con p < 0.05, estableció marcadas diferencias en el crecimiento de las cianoprocariontes en cada ambiente. Se aceptó por tanto la hipótesis alternativa de la prueba (Tabla 5), lo que indica que hay dependencia entre filas y columnas de la tabla de contingencia. Esto fue comprobado mediante las frecuencias teóricas y de proporciones y columnas (Tabla 6), que especificaron una magnitud de asociación de las especies con cada tipo de ambiente, dependiendo tanto del sustrato como de la estación climática.

Tabla 1. Ecuaciones para calcular el Índice de Valor de Importancia (IVI) de especies con la suma de la densidad relativa y la frecuencia relativa. Modificado de Nguyen *et al.*, 2014. La densidad relativa es la presencia de talos por preparación para cada especie; el área total muestreada es el número de preparaciones (cubreobjetos de 20 × 20 mm) en las que se registraron los talos de cada especie.

Densidad relativa	Densidad de una especie + densidad total de todas las especies x 100
Frecuencia relativa	Frecuencia de una especie + frecuencia total de todas las especies x 100
Densidad	Número de veces presencia de una especie + total del área muestreada
Frecuencia	Área de preparaciones en la cual se observó una especie + Área total muestreada

331

Sitio	Fecha	Temp. (Celsius)	pH (unidades)	Conduct. (µScm ⁻¹)	0 ₂ (mg l ⁻¹)	Irradianza (mmol s ⁻¹ m ⁻²)	N:P	IVI
Arroyo	04/09/2012	15.4	8.3	388	6.6	221.8	58.3	7.02
Arroyo	01/10/2012	15.3	7.1	380	4.5	1080.2	213.3	14.04
Arroyo	22/01/2013	13.6	5.9	402	1.2	1.8	880.8	17.54
Arroyo	20/02/2013	14.0	6.6	412	3.1	212.2	69.4	17.54
Arroyo	22/03/2013	17.3	7.8	367	2.3	1466.0	9.9	31.58
Arroyo	22/04/2013	14.6	7.3	432	1.8	327.9	5.6	17.54
Arroyo	24/05/2013	14.6	7.2	433	0.9	86.8	5.8	35.09
Arroyo	24/06/2013	15.3	7.6	391	1.3	655.8	3.5	42.11
Arroyo	25/09/2013	15.1	6.5	392	4.5	462.9	0.8	17.54
Canal	01/10/2012	15.8	7.2	396	6.4	694.4	1054.5	8.22
Canal	05/11/2012	15.1	5.3	390	0.9	24.1	58.7	16.67
Canal	22/01/2013	14.6	5.5	421	3.0	2.7	71.0	22.22
Canal	20/02/2013	15.3	6.6	383	3.0	144.7	567.2	22.22
Canal	22/03/2013	16.5	7.5	380	1.5	260.4	148.1	13.89
Canal	22/04/2013	15.6	7.3	386	2.1	2006.1	11.9	11.11
Canal	24/05/2013	15.4	7.4	373	1.2	106.1	7.1	19.44
Canal	24/06/2013	15.4	7.5	376	1.2	120.6	9.1	36.11
Canal	25/07/2013	15.4	6.4	382	3.5	366.5	6.4	41.67
Canal	27/08/2013	15.4	6.7	389	5.8	1041.6	7.3	11.11
Des	v. Estándar	0.81	0.77	18.83	1.88	551.53	312.61	10.89
Media	a aritmética	14.53	6.61	374.59	2.83	491.70	175.05	20.68
Coeficie	ente Variación	0.06	0.12	0.05	0.66	1.12	1.79	0.53
Expresi	ón porcentual	5.6%	11.6%	5.0%	68.7%	112.2%	178.5%	52.7%

Tabla 2. Datos fisicoquímicos monitoreados en el arroyo y el canal en la Cantera Oriente (Ciudad de México, México). La relación nitrógeno-fósforo (N:P) se obtuvo sumando los valores del nitrógeno inorgánico disuelto y dividiéndolos entre los valores de fósforo total para cada fecha.

IVI = Índice de valor de importancia.

DISCUSIÓN

Las pruebas estadísticas aplicadas tuvieron por objeto demostrar la existencia de asociaciones entre las especies de cianoprocariontes y las condiciones fisicoquímicas de los ambientes lóticos estudiados, el arroyo y el canal. Los análisis aplicados para explicar los resultados no mostraron ningún tipo de asociación entre las especies (variable dependiente) y las variables físicas o químicas. Como el seguimiento del muestreo fue amplio, continuo y estuvo basado en la evaluación de las especies mediante el índice de importancia calculado (valores de IVI), pensamos que existen suficientes datos para sustentar la propuesta de que las condiciones del medio son estables y no se relacionan directamente con las diferencias en presencia de las especies en ninguno de los sitios. Esto se reflejó particularmente en los resultados de las pruebas para explorar la normalidad y homogeneidad de varianzas, que al incumplir los supuestos estadísticos mínimos para las variables no sugirieron que fuera pertinente hacer una indagación mayor.

Es bastante notable que los factores fisicoquímicos medidos en ambos ambientes se hayan mantenido extremadamente constantes durante el periodo de muestreo (de ahí que no exista variabilidad suficiente de los datos), porque esto y la composición de especies, sumada a las densidades y frecuencias relativas de su crecimiento, se ajustan a la propuesta de Biggs (1996) y a lo sugerido por otros autores con base en esta propuesta (Danilov & Ekelund, 2001; Ensminger et al. 2005), que indican que en la Cantera Oriente los ambientes lóticos tienen un nivel de disturbio bajo y presentan un buen escenario para el desarrollo de las especies de cianoprocariontes perifíticas observadas. Los resultados muestran que el suministro de nutrimentos es constante y que no hay limitación por la luz, puesto que las cianoprocariontes no modifican su valor de IVI en función de la variabilidad de la irradianza. Asimismo, la abrasión de la corriente no las afecta, ya que se fijan sobre dos sustratos algales (C. glomerata y R. hierogliphycum), que son indicadores de velocidades de corriente moderadas a bajas (Ensminger

et al., 2005). De acuerdo con Biggs (1996) y Graba *et al.* (2014), en esta categoría de ambientes con bajo nivel de disturbio la herbivoría no influye en la pérdida de biomasa. Aunque no evaluamos la presión de herbivoría, pensamos que en el caso de los sitios estudiados también se cumple esta característica, así que las diferencias de crecimiento de las especies (IVI) no modificarán la biomasa del conjunto de perifiton a largo plazo. Esto significa que estas especies tenderán a mantenerse como habitantes epífitos en los sitios lóticos de la Cantera Oriente.

Aun considerando el bajo nivel de disturbio de estos ambientes, un aspecto importante fue averiguar si la presencia de las especies o su capacidad de crecimiento, representada por el IVI, dependían de la condición natural o artificial de cada ambiente, de la época del año o del tipo de sustrato colonizable (Tabla 4). Destaca el hecho de que sólo 31% de las especies son compartidas entre los sitios (*Xenococcus bicudoi* Montejano, Gold *et* Komárek), *Leibleinia epiphytica* (Hieronymus) Compère, *Phormidium aerugineocaeruleum* (Gomont) Anagnostidis *et* Komárek y *Pseudanabaena catenata* Lauterborn) (Tabla 2), pues aunque el ambiente sea homogéneo y estable, no todas las especies crecen en todos los sitios o sustratos y aun si fuera así, no crecen con la misma densidad poblacional ni con la misma frecuencia, de acuerdo con las diferencias observadas en el IVI.



Figura 3. Expressión porcentual del IVI de cada especie en el sitio arroyo, Cantera Oriente (Ciudad de México, México). Leibleinia epiphytica y Chamaesiphon amethystinus destacaron por su densidad y frecuencia en todos los sustratos.



Figura 4. Expressión porcentual del IVI de cada especie en el sitio canal, Cantera Oriente (Ciudad de México, México). Xenococcus bicudoi, X. lamellosus y Phormidium aerugineocaeruleum destacaron por su dominancia y frecuencia sobre C. glomerata.

Tabla 3. Datos para la construcción de la tabla de contingencia, utilizada en la prueba de Chi cuadrada. Se muestran las especies organizadas por época climática en cada sitio de la Cantera Oriente (Ciudad de México, México). Los valores de IVI se corresponden con el sustrato sobre el que crecieron.

Citio	Ćnoco	Connoio	IVI en Stuckenia	IVI en <i>Hnizocionium</i>	IVI en <i>Budaleja</i>	IVI en <i>Cladophora</i>
0110	Epuca		(IIIau UIIa)	(alya)	(di pusiu)	(alya)
arroyo	seca	<i>Chamaesiphon amethystinus</i> (Rostafinski) Lemmermann	14.04	24.56	0.00	0.00
arroyo	seca	<i>Xenococcus bicudoi</i> Montejano, Gold <i>et</i> Komárek	10.53	0.00	0.00	0.00
arroyo	seca	<i>Leibleinia epiphytica</i> (Hieronymus) Compère	17.54	10.53	0.00	0.00
arroyo	seca	Phormidium aerugineocaeruleum (Gomont) Anagnostidis et Komárek	14.04	7.02	0.00	0.00
arroyo	seca	Pseudanabaena catenata Lauterborn	10.53	10.53	0.00	0.00
arroyo	lluvias	Chamaesiphon amethystinus (Rostafinski) Lemmermann	0.00	10.53	0.00	0.00
arroyo	lluvias	Pleurocapsa minor Hansgirg	0.00	0.00	10.53	0.00
arroyo	lluvias	Xenococcus bicudoi Montejano, Gold et Komárek	0.00	3.51	3.51	0.00
arroyo	lluvias	<i>Leibleinia epiphytica</i> (Hieronymus) Compère	0.00	17.54	10.53	0.00
arroyo	lluvias	Phormidium aerugineocaeruleum (Gomont) Anagnostidis <i>et</i> Komárek	0.00	3.51	0.00	0.00
arroyo	lluvias	Pseudanabaena catenata Lauterborn	0.00	3.51	0.00	0.00
arroyo	lluvias	Calothrix gracilis f. flexuosa Fritsch	0.00	0.00	7.02	0.00
arroyo	lluvias	Nostoc sp.	0.00	3.51	7.02	0.00
canal	seca	Chamaesiphon incrustans Grunow	0.00	0.00	0.00	2.78
canal	seca	<i>Chamaesiphon minutus</i> (Rostafinski) Lemmermann	0.00	0.00	0.00	8.33
canal	seca	Xenococcus bicudoi Montejano, Gold et Komárek	0.00	0.00	0.00	25.00
canal	seca	<i>Xenococcus lamellosus</i> Gold-Morgan, Montejano <i>et</i> Komárek	0.00	0.00	0.00	13.89
canal	seca	Heteroleibleinia aquaedulcis (Skuja) Anagnostidis	0.00	0.00	0.00	11.11
canal	seca	<i>Leibleinia epiphytica</i> (Hieronymus) Compère	0.00	0.00	0.00	2.78
canal	seca	Phormidium aerugineocaeruleum (Gomont) Anagnostidis <i>et</i> Komárek	0.00	0.00	0.00	19.44
canal	seca	Pseudanabaena catenata Lauterborn	0.00	0.00	0.00	5.56
canal	lluvias	Cyanocystis pseudoxenococcoides (Bourrelly) Bourrelly	0.00	0.00	0.00	2.78
canal	lluvias	Chamaesiphon incrustans Grunow	0.00	0.00	0.00	5.56
canal	lluvias	<i>Chamaesiphon minutus</i> (Rostafinski) Lemmermann	0.00	0.00	0.00	19.44
canal	lluvias	Xenococcus bicudoi Montejano, Gold et Komárek	0.00	0.00	0.00	16.67
canal	lluvias	<i>Xenococcus lamellosus</i> Gold-Morgan, Montejano <i>et</i> Komárek	0.00	0.00	0.00	19.44
canal	lluvias	<i>Heteroleibleinia aquaedulcis</i> (Skuja) Anagnostidis	0.00	0.00	0.00	16.67
canal	lluvias	<i>Leibleinia epiphytica</i> (Hieronymus) Compère	0.00	0.00	0.00	5.56
canal	lluvias	Phormidium aerugineocaeruleum (Gomont) Anagnostidis et Komárek	0.00	0.00	0.00	13.89
canal	lluvias	Pseudanabaena catenata Lauterborn	0.00	0.00	00.0	11.11
	and the start					

	<i>Stuckenia</i> (macrófita)	<i>Rhizoclonium</i> (alga)	<i>Buddleja</i> (arbusto)	<i>Cladophora</i> (alga)
Arroyo, época seca	66.67	52.63	0	0
Arroyo, época Iluvia	0	42.11	38.6	0
Canal, época seca	0	0	0	88.89

0

0

111.11

0

Tabla 4. Tabla de contingencia de Chi cuadrada. Cada tipo de sustrato reunió el IVI de las especies para cada época climática y sitio en la Cantera Oriente (Ciudad de México, México).



Figura 5. Presentación gráfica de la tabla de contingencia. La proporción de individuos en cada columna sugirió una asociación entre las variables cualitativas seleccionadas.

Tabla 5. Resultado de la prueba de independencia entre las filas y columnas, producida por la prueba de Chi cuadrada. El valor de p calculado fue menor a la significación de alfa. El riesgo de rechazo de la hipótesis nula (H0), en caso de ser vardadera, fue menor a 0.01%.

Canal, época Iluvia

Chi cuadrada	605.645
Chi cuadrada	16.919
GL	9
valor- <i>p</i>	< 0.0001
alfa	0.05

Un análisis para variables cualitativas, asociando el tipo de sustrato, el tipo de ambiente, la época del año y la forma como crecen las especies, realizado con la prueba Chi cuadrada, comprobó que los valores de IVI son muy diferentes dependiendo del sustrato en que crecen las especies y, tal como fue construida la tabla de contingencia, muestra que se relacionan tanto con la época del año como con el tipo de ambiente (Tablas 3-4). La dependencia de las especies con el tipo de sustrato sobre el que crecen podría ocurrir al azar, considerando que el canal cuenta con un único sustrato vegetal disponible (la clorofita filamentosa *C. glomerata*) y la presencia de concreto, pero no ocurrió así. En el arroyo existe una gama más amplia de sustratos posibles (*R. hieroglyphicum, S. pectinata y B. cordata*) y tanto la densidad poblacional como la frecuencia de las especies mostraron que la presencia de especies específicas no ocurre al azar. De las especies compartidas entre el arroyo y el canal, *L. ephiphytica y X. bicudoi* no están restringidas por el ambiente, sustrato o época del año, mientras que *P. aeruginocaeruleum y P. catenata* están restringidas por el tipo de sustrato y la época. Ninguna de estas especies compartidas muestra una diferencia entre las clorofitas filamentosas y todas crecen indistintamente sobre *C. glomerata* o *R. hieroglyphicum*.

Las demás especies presentan otros gradientes de restricciones que las asocian de modo diferente con el tipo de ambiente, época o sustrato. En el arroyo las especies particulares fueron *C. gracilis* f. *flexuosa* Fritsch, con IVI 4% (restricción amplia: tipo de sustrato, época y tipo de ambiente), *Nostoc* sp., con IVI 5% (restricción media: época del año y tipo de ambiente) y *Chamaesiphon amethystinus* (Rostafinski) Lemmermann, con IVI 25% (restricción baja: únicamente tipo de ambiente). El gradiente de restricción ambiental está bien reflejado por el

	-	-					
Frecuencias teóricas	<i>Stuckenia</i> (macrófita)	<i>Rhizoclonium</i> (alga)	<i>Buddleja</i> (arbusto)	<i>Cladophora</i> (alga)	Total		
Arroyo, época seca	19.884	28.255	11.512	59.649	119.300		
Arroyo, época Iluvia	13.452	19.116	7.788	40.354	80.710		
Canal, época seca	14.815	21.053	8.578	44.444	88.890		
Canal, época lluvia	18.519	26.316	10.722	55.554	111.110		
Proporciones							
Total	66.67	94.74	38.6	200	400.01		
Arroyo, época seca	1.000	0.556	0.000	0.000	0.298		
Arroyo, época Iluvia	0.000	0.444	1.000	0.000	0.202		
Canal, época seca	0.000	0.000	0.000	0.444	0.222		
Canal,época Iluvia	0.000	0.000	0.000	0.556	0.278		
Total	1	1	1	1	1		

Tabla 6. Frecuencias teóricas y proporciones por columna. Las frecuencias teóricas mostraron valores siempre superiores a 5.0 y algunas proporciones entre filas y columnas mostraron diferencias significativas, lo que hace robusto el resultado de Chi cuadrada sobre la exactitud de Fisher.

valor del IVI, que se incrementó de forma inversamente proporcional al nivel de restricción; ésto sugiere que la densidad poblacional y la frecuencia de presencia que alcanza cada especie son resultado de las condiciones adecuadas para su fijación, aun cuando el ambiente se mantenga estable.

En el canal, todas las especies crecen sobre el único sustrato vegetal disponible (C. glomerata). En este sentido sobresale Xenococcus bicudoi, que aun pudiendo colonizar cualquiera de los sustratos y ambientes creció mucho mejor en el canal, con IVI 21% en la época seca y la de lluvias. Las demás especies del canal, no compartidas con el arroyo, se desarrollan bien (por sus valores de IVI) durante la época seca o lluviosa. Como excepciones destacan Cyanocystis pseudoxenococcoides (Bourrelly) Bourrelly y Chamaesiphon incrustans Grunow, descritas como epilíticas en latitudes tropicales (particularmente C. pseudoxenococcoides) y que no fueron observadas sobre el concreto, sino que únicamente crecieron en bajas densidades como epífitas de C. glomerata. Pensamos que esto se debe a la respuesta hidrofóbica particular del mucílago (Fattom & Shilo, 1984; Michael et al., 2008), pues el canal tiene paredes verticales, lo que se ha observado que es un factor que afecta de forma general el establecimiento de las cianoprocariontes perifíticas (Michael et al., 2008). C. glomerata no representa entonces el sustrato óptimo para estas especies y aunque crecen, lo hacen en forma limitada (Fig. 4). Nuestras observaciones de las especies de cianoprocariontes epífitas nos permiten concluir que los ambientes lóticos de la Cantera Oriente se caracterizan por un bajo nivel de disturbio, ya que la presencia y la biomasa de las cianoprocariontes perifíticas no se modifican sensiblemente durante los periodos climáticos. Asimismo, de acuerdo con el objetivo principal de comparar las comunidades de cianoprocariontes perifíticas entre un ambiente natural y uno artificial, concluimos que las respuestas biológicas específicas ante la condición natural o artificial del ambiente, asociadas con el tipo de sustrato biológico como sitio de colonización, parecen explicar las preferencias de hábitat para algunas especies, pero puede haber gradientes ambientales más sutiles relacionados con el perfil biológico de las especies y que es necesario estudiar en relación con los ciclos de vida en cultivos. Esta perspectiva tiene un respaldo firme, porque los estudios de fitoplancton en los ambientes lénticos de la Cantera Oriente hasta ahora sugieren un escenario muy diferente al de los ambientes lóticos; es decir, un recambio muy rápido de especies que refleja una importante diversidad beta (Rodríguez Terán *et al.*, 2014).

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al biólogo Francisco Martínez, secretario auxiliar de la Cantera Oriente, por el apoyo técnico durante el desarrollo del proyecto y a la M. en C. Guadalupe Vidal por el apoyo técnico en la determinación de nutrimentos.

REFERENCIAS

- BELTRÁN MAGOS, Y., J. CARMONA JIMÉNEZ, G. VILACLARA FATJO & M. G. BOJORGE GARCÍA 2013. Calcificación de la cianobacteria filamentosa *Blennothrix ganeshii* en ríos calcáreos tropicales de la región central de México. *Hidrobiológica* 23: 17-27.
- BIGGS, B. F. F. 1996. Patterns in Benthic Algae of Streams. *In*: Stevenson, R. J., Botwell, M. L., & Lowe, R. L. (Eds.) *Algal ecology. Freshwater benthic ecosystems.* Academic Press, San Diego, pp. 31-56.
- CONAGUA (Comisión Nacional del Agua). 2010. Compendio del Agua de la Región Hidrológico-Administrativa XIII. Edición 2010. Lo que se debe saber del Organismo de Cuenca Aguas del Valle de México. Coordinación General de Atención Institucional, Comunicación y Cultura del Agua. Comisión Nacional del Agua, México, D.F. 190 p. Disponible en línea en: https://www.google.com.mx/?gfe_rd=cr&e

$$\label{eq:linear} \begin{split} &i=QeeXVvLoNsSt8weZr4aQDg\#q=.+Lo+que+se+debe+saber+del\\ &+Organismo+de+Cuenca+Aguas+del+Valle+de+M\%C3\%A9xico. \end{split}$$

- CONAGUA (COMISIÓN NACIONAL DEL AGUA). 2013. Estadísticas del Agua de la Región Hidrológico-Administrativa XIII. Organismo de Cuenca Aguas del Valle de México. Comisión Nacional del Agua. 204 p. Disponible en línea en:https://agua.org.mx/component/docman/ doc_download/2607.
- DANILOV, R. A. & N. G. A. EKELUND. 2001. Comparison of usefulness of three types of artificial substrata glass, wood and plastic when studying settlement patterns of periphyton in lakes of different trophic status. *Journal of Microbiological Methods* 45: 167-170.
- ENSMINGER, I., J. FOERSTER, C. HAGEN & W. BRAUNE. 2005. Plasticity and acclimation to light reflected in temporal and spatial changes of smallscale macroalgal distribution in a stream. *Journal of Experimental Botany* 56 (418): 2047-2058.
- FATTOM, A. & M. SHILO. 1984. Hydrophobicity as an Adhesion Mechanism of Benthic Cyanobacteria. *Applied Environmental Microbiology* 47 (1): 135-143. (Disponible en línea en: https://www.ncbi.nlm.nih. gov/pmc/articles/PMC239625/
- FELLOWS, C. S., J. E. CLAPCOTT, J. W. UDY, S. BUNN, B. D. HARCH, M. J. SMITH & P. M. DAVIES. 2006. Benthic Metabolism as an Indicator of Stream Ecosystem Health. *Hydrobiologia* 572 (1): 71-87. DOI: 10.1007/ s10750-005-9001-6
- GONZÁLEZ GONZÁLEZ, J. & E. NOVELO MALDONADO.1986. Algas. In: Lot, A. y F. Chiang (Comps.). Manual de Herbario: Administración y manejo de colecciones, técnicas y preparación de ejemplares botánicos. Consejo Nacional de la Flora de México A. C., México, pp. 47- 54.
- GRABA, M., S. SAUVAGE, M. NABIL, M. BENOÎT, M.FRÉDÉRIC, G. URREA, E. BUFFAN DUBAU, M. TACKX, S. SABATER & J. M. SÁNCHEZ PÉREZ. 2014. Modelling epilithic biofilms combining hydrodynamics, invertebrate grazing and algal traits. *Freshwater Biology*. 56 (6): 1213-1228 DOI:10.1111/ fwb.12341
- Lot, A. 2007. La Cantera Oriente: A manera de introducción. *In*: Lot, A. (Coord.) *Guía Ilustrada de la Cantera Oriente. Caracterización Ambiental e Inventario Biológico*. Coordinación de la Investigación Científica, UNAM, México. pp. 7-11.
- MICHAEL, T. S., H. W. SHIN, R. HANNA & C. D. SPAFFORD. 2008. A review of epiphyte community development: Surface interactions and settlement on seagrass. *Journal of Environmental Biology* 29 (4): 629-638.
- Mora Hernández, L. D., J. Carmona Jiménez & E. A. Cantoral Uriza. 2015. Diatomeas epilíticas de la cuenca alta del río Laja, Guanajuato, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 86: 1024-1040.
- MURDOCK, J. N. & W. K. Dobbs. 2007. Linking benthic algal biomass to stream substratum topography. *Journal of Phycology* 43 (3): 449-460. DOI: 10.1111/j.1529-8817.2007.00357.x
- NGUYEN, H., D. LAMB, J. HERBOHN & J. FIRN. 2014. Designing Mixed Species Tree Plantations for the Tropics: Balancing Ecological Attributes of

Species with land-holder preferences in the Philippines. *PLoS ONE* 9 (4): e95267. DOI: 10.1371/journal.pone.0095267.t002

- NOVELO, E. 1998. Floras ficológicas del Valle de Tehuacán, Puebla. Tesis de Doctorado en Ciencias (Biología), Facultad de Ciencias, UNAM, México. pp. 1-599.
- NOVELO, E., E. PONCE, R. RAMÍREZ & M. RAMÍREZ. 2007. Algas. *In*: Lot, A. (Coord.) *Guía Ilustrada de la Cantera Oriente. Caracterización Ambiental e Inventario Biológico*. Coordinación de la Investigación Científica, UNAM, México, pp. 63-95.
- NOVELO, E., M. E. PONCE & R. RAMÍREZ. 2009. Las microalgas de la Cantera Oriente. *In*: Lot, A. y Z. Cano Santana (Eds.). *Biodiversidad del ecosistema del Pedregal de San Ángel*. Universidad Nacional Autónoma de México, México, pp. 71-80.
- ORTIZ PÉREZ, M. A., J. M. FIGUEROA, M. P. MAH ENG, G. SALAZAR ENCISO, G. PA-RADA COLÍN & L. CASTILLOTÉLLEZ. 2007. Unidades Ambientales. *In*: Lot, A. (Coord.) *Guía Ilustrada de la Cantera Oriente. Caracterización Ambiental e Inventario Biológico*. Coordinación de la Investigación Científica, UNAM, México, pp. 15-42.
- POTAPOVA, M.& D. F. CHARLES. 2005. Choice of substrate in algae-based water-quality assessment. *Journal of the North American Benthological Society* 24 (2): 415-427. DOI: 10.1899/03-111.1
- RAMÍREZ VÁZQUEZ, M. & E. A. CANTORAL URIZA. 2003. Flora algal de ríos templados en la zona occidental de la cuenca del Valle de México. *Anales del Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de* México 74: 143-194.
- RICE, E. W., R. B. BAIRD & A. D. EATON (Eds.). 2017. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Water Works Association/American Public Works Association/Water Environment Federation, 2017, 23 RD Edition, pp. 1-250.
- RODRÍGUEZ TERÁN, E., M. ELIAS LARA, H. H. CHAN MOU, R. TAVERA & E. NOVELO. 2014. La ficoflora de la Cantera Oriente de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel de la UNAM, un sistema florístico en cambio constante. Resúmenes, X Congreso de Ficología de Latinoamérica y el Caribe. SOFILAC. Metepec, Estado de México. Resumen Eco-62. p 220.
- SCHNECK, F., A. SCHWARZBOLD & A. S. MELO. 2011. Substrate roughness affects stream benthic algal diversity, assemblage composition, and nestedness. *Journal of North American Benthological Society* 30 (4):1049-1056. DOI: 10.1899/11-044.1
- USEPA. 2017. Science and Research at the United States Environmental Protection Agency. EPA Progress Report 2012, Office of Research and Development. (Disponible en línea en: http://nepis.epa.gov/ Exe/ZyPURL.cgi?Dockey=30000Q10.txt.)
- VALADEZ CRUZ, F., CARMONA JIMÉNEZ, J. & CANTORAL URIZA, E. 1996. Algas de ambientes lóticos en el Estado de Morelos, México. Anales del Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México 67: 227-282.

Producción de biodiésel a partir de microalgas: avances y perspectivas biotecnológicas

Biodiesel production from microalgae: progress and biotechnological prospects

Omar S. Castillo, Sandra G. Torres-Badajoz, Carlos A. Núñez-Colín, Vicente Peña-Caballero, Carlos H. Herrera Méndez y Jesús R. Rodríguez-Núñez

> Programa de Biotecnología, Universidad de Guanajuato. Mutualismo #303, Colonia La Suiza, Celaya, Guanajuato, 38060, México e-mail: jesus.rodríguez@ugto.mx

Recibido: 25 de mayo de 2016. *Aceptado:* 8 de noviembre de 2017.

Castillo, O. S., S. G. Torres-Badajoz, C. A. Núñez-Colín, V. Peña-Caballero, C. H. Herrera Méndez y J. R. Rodríguez-Núñez. 2017. Producción de biodiésel a partir de microalgas: avances y perspectivas biotecnológicas. *Hidrobiológica* 27 (3): 337-352.

RESUMEN

Antecedentes. Las microalgas son una alternativa para la obtención de biodiésel por su alto rendimiento de lípidos y su perfil de ácidos grasos. Objetivos. Hacer una revisión sobre los avances y perspectivas actuales de la producción de biodiésel a partir de microalgas. Métodos. Se realizó una búsqueda actualizada de los trabajos de investigación relacionados con la producción de biodiésel a partir de microalgas, con especial énfasis en la biosíntesis de ácidos grasos y triglicéridos, la producción de biomasa, las técnicas de extracción, los procesos biotecnológicos implementados en sistemas de cultivo, la transesterificación y los sistemas de doble propósito. Resultados. Las microalgas tienen rendimientos altos de producción de lípidos (59 m³ ha⁻¹ año⁻¹), por lo que representa una alternativa para la obtención de biodiésel; sin embargo, el costo de producción y recuperación de biomasa sigue siendo elevado (\$5.8 USD Kg⁻¹), aunado a los altos requerimientos energéticos (33 MJ Kg⁻¹). Actualmente no existen técnicas industriales factibles para la extracción de lípidos y se están probando los métodos por fluidos supercríticos, campo eléctrico de pulso, microondas y ultrasonicación. La biotecnología ha propuesto un novedoso sistema biológico mediante el uso de lipasas recuperadas de hongos filamentosos para el proceso de transesterificación, los cuales ya son comerciales, y ha logrado rendimientos de biocatálisis mayores al 90%. Los "sistema de doble propósito" pueden ser optimizados utilizando un diseño modular que establezca los procesos y operaciones unitarias bien definidas. Conclusiones. El uso de microalgas para la obtención de biodiésel representa una técnica viable gracias a su alto contenido lipídico y a su perfil de ácidos grasos, aunque hace falta el desarrollo de tecnologías que disminuyan el costo de producción. El uso de sistemas de doble propósito se vislumbra como una buena opción para reducir estos precios, al mismo tiempo que se reusan aguas residuales.

Palabras clave: Biomasa, lipasas, PUFAs, transesterificación.

ABSTRACT

Background. Microalgae have proven to be an excellent alternative to produce biodiesel due of its high lipid yield and its fatty acid profile. **Goals**. A review was made on the current advances and perspectives on the production of biodiesel from microalgae. **Methods**. An updated search was done of the research work related to biodiesel production from microalgae, emphasizing fatty acid and triglyceride biosynthesis, biomass production, extraction techniques, biotechnological processes implemented in culture systems, transesterification and dual purpose systems. **Results**. Microalgae have shown high yields of lipid production (59 m³ ha⁻¹ year⁻¹) representing an alternative to produce biodiesel. However, costs of biomass production and recovery remain high (US \$ 5.8 kg⁻¹), coupled with high-energy requirements (33 MJ kg-kg⁻¹). Supercritical fluids, electric pulse field, microwave and ultra sonication have being tested for lipid extraction, but currently there are no feasible industrial techniques in this field. Biotechnology has proposed a novel biological system through the use of lipases recovered from filamentous fungi for the transesterification process, which are already commercial, achieving biocatalysts' yields greater than 90%. In order to optimize the dual-purpose system, it is viable to use a modular design that establishes well-defined processes and unit operations. **Conclusions.** The use of microalgae to obtain biodiesel represents a viable alternative due to its high lipid content and its fatty acid profile, although it is necessary to develop technologies to reduce costs of production. An alternative could be to use dual-purpose systems is foreseen as a goo, and re-using wastewater.

Key words: Biomass, lipases, PUFAs, transesterification.

INTRODUCCIÓN

La búsqueda de combustibles alternativos y de bajo impacto ambiental es cada vez más importante debido a factores económicos y medioambientales. La naturaleza no renovable de las reservas de combustibles fósiles y el cambio climático han suscitado preocupaciones sobre la seguridad energética, generando interés en la utilización de energías renovables como los biocombustibles (Acosta *et al.*, 2009). Estudios previos han demostrado la capacidad de algunos alimentos (aceite de soya y palma) para la producción de biodiésel, sin embargo, existe el debate sobre la factibilidad de utilizarlos para la obtención de energía, ya que podría ser una competencia directa con el uso recursos para alimentación humana y animal. En este sentido, en México la Ley de Promoción y Desarrollo de Bioenergéticos establece las normas en temas de producción y comercialización de insumos y permisos para el uso de maíz en los bioenergéticos.

El biodiésel ha surgido como una alternativa viable para sustituir el diésel derivado del petróleo (Taher *et al.*, 2014), puesto que presenta varias ventajas por su biodegradabilidad y mínima toxicidad, además, su combustión produce menores emisiones de sulfatos, compuestos aromáticos, dióxido de carbono, monóxido de carbono, humo; hay más oxígeno libre que conduce a una combustión completa y emisiones reducidas (Atabani *et al.*, 2012).

En un estudio realizado en el 2006 por la Secretaria de Energía (SENER) de México se menciona que la producción de biodiésel a escala comercial puede ser factible a mediano plazo si se llevan a cabo acciones integrales, que incluyan aspectos técnicos, económicos y medioambientales con el sector agrario y agroindustrial, conjuntando esfuerzos en investigación y desarrollo tecnológico. Aca-Aca *et al.* (2009) aluden que México requiere 10 plantas industriales con capacidad de 100,000 ton/año cada una, sólo para sustituir el 5% del diésel de petróleo usado cada año y recomiendan que la producción y el procesamiento se realicen con tecnologías diseñadas y construidas en el propio país. Taher *et al.* (2014) argumentan que el uso de biodiésel reduciría en un 45% las emisiones de hidrocarburos, 47% de CO₂, y hasta un 66% las emisiones de partículas al ambiente.

En este sentido, los ácidos grasos de cadena larga obtenidos a partir de biomasa renovable (aceites vegetales, grasas animales y aceites de microalgas) representan la principal materia prima para la producción de biodiésel líquido obtenido en forma de alquil-ésteres de alcoholes de cadena corta como etanol y metanol (Robles-Medina *et al.*, 2009). Los procesos más usados para la obtención de biodiésel son la pirólisis y la transesterificación, sin embargo, en el primer caso el método es caro y ofrece rendimientos bajos, mientras que el segundo se presenta como el método más viable para la obtención de biodiésel sen necesario debido a que los aceites vegetales o extraídos de microalgas presentan una alta viscosidad y baja volatilidad, causando una combustión incompleta y la disposición de depósitos de carbón (Akho *et al.*, 2007).

La obtención de biodiésel a partir de microalgas lleva más de 20 años de investigación y, en la última década, este tema ha retomado vital importancia, especialmente en los sectores privados y académicos. Actualmente, investigadores de todo el mundo han demostrado el potencial de varias especies de microalgas (p. ej. *Chlorella minutissima* Fott *et* Novakova, *Thalassiosira fluviatilis* (Grunow) G. Fryxell *et* Hasle, *Thalassiosira pseudonana* Hasle *et* Heimdal, etc.) como materia prima para producir biodiésel; no obstante, los costos de producción no han

resultado competitivos en comparación con los obtenidos de recursos fósiles (\$0.55 USD/L) (Dalmas-Neto et al., 2014; Guldhe et al., 2016). A pesar de estos retos, las microalgas son consideradas actualmente como una de las alternativas ingenieriles para la obtención de biodiésel por a su alto contenido de lípidos y aceites (1 a 90% base seca, dependiendo de la especie y condiciones de cultivo), además de presentar una rápida producción de biomasa en comparación con otros cultivos energéticos (Mathimani et al., 2015; Sibi et al., 2015) y su huella ecológica es mínima en un análisis de ciclo de vida (Atabani et al., 2012). Adicionalmente, las microalgas pueden reducir la cantidad de gases de efecto invernadero y consumir otros contaminantes (Halim et al., 2012). El objetivo del presente trabajo fue revisar la situación actual del uso de microalgas para la producción de biodiésel, incluyendo métodos de procesamiento, especies más utilizadas y sus principales ventajas en comparación con otros biocombustibles. De igual manera, se hace un análisis de los avances biotecnológicos actuales en este campo.

MICROALGAS COMO FUENTE DE BIODIÉSEL: AVANCES Y PERSPECTIVAS

Las microalgas son microorganismos unicelulares, se clasifican como procariotas y eucariotas. Se dividen en diferentes grupos en función de su taxonomía, incluyendo azul-verde, verde, verde-amarillo, rojo, marrón y las algas de oro. Hay más de 50.000 especies de microalgas (Rashid *et al.*, 2014).

El empleo de microalgas para la producción de biodiésel es una alternativa viable por su elevado contenido de lípidos y su perfil idóneo para la obtención de éste. Aunado a lo anterior, otros atributos de las microalgas son su elevada eficiencia fotosintética, su capacidad de crecer tanto en aguas marinas, dulces y residuales, así como su velocidad de crecimiento relativamente alta (Garibay *et al.*, 2009). Las microalgas pueden mitigar las emisiones de CO₂ y producir lípidos, por lo que se consideran con potencial para la obtención de biocombustibles de tercera generación (Arias *et al.*, 2013).

Es importante el estudio de factores, tales como el aislamiento de especies de microalgas, el mecanismo metabólico, las condiciones de cultivo y el modo de operación y el diseño del fotobiorreactor, ya que son son aspectos determinantes para mejorar el desarrollo del biocombustible (Zhu *et al.*, 2013).

También se debe desarrollar un proceso sustentable de producción de biodiésel a partir de microalgas, que sea técnica y económicamente viable, donde se haya realizado la optimización de medios de cultivo, selección, manipulación de cepas y el diseño adecuado de fotobiorreactores (Arudchelvam & Nirmalakhandan, 2013). Además, se debe considerar el proceso de recuperación de biomasa, extracción de aceites, subproductos, tecnología de transesterificación, purificación y uso de subproductos (Dai *et al.*, 2014).

El uso de microalgas cultivadas para la obtención de lípidos ha demostrado un alto rendimiento 59 m³ ha⁻¹ año⁻¹ (Lee *et al.*, 2012), lo cual la convierte en una fuente potencial para la obtención de biodiésel. La gran mayoría de las especies conocidas de microalgas acumulan sus ácidos grasos, triglicéridos y glicolípidos de forma intracelular, con excepción de *Botryococcus braunii* Kuetzing, esto involucra procesos de extracción de lípidos que encarecen la producción de biodiésel (Lee *et al.*, 2012). En cálculos recientes se estima que el costo de producción de biomasa de microalgas es elevado, alrededor de \$5.8 USD Kg⁻¹, y

a su vez también son altos los requerimientos energéticos (33 MJ Kg⁻¹ de biomasa seca) para la recuperación de los lípidos intracelulares. En contraparte, por ejemplo, el aceite de canola está disponible por un monto de \$1.25 USD Kg⁻¹, lo que demuestra que actualmente los precios del aceite extraído de microalgas no son competitivos para la obtención de biodiesel (Slade & Bauen, 2013).

La selección de microalga es el primer paso en el desarrollo de un proceso de producción, éstas deben tener las características adecuadas para las condiciones de cultivo específicas, con el fin de conseguir un determinado producto (Jaimes-Duarte *et al.*, 2012). En la tabla 1 se presenta el porcentaje en peso de lípidos de algunas microalgas, así como su productividad en lípidos y biomasa.

En este sentido, Slade & Bauen (2013) mencionan que los costos de la producción de biomasa microalgal se pueden reducir cultivando las microalgas en lagunas abiertas, puesto que los gastos que se requieren para la operación del sistema (mantenimiento y materias primas) son menores, en comparación al cultivo en fotobiorreactores, principalmente por la inversión para la compra del sistema. Señalan que otro aspecto que reduce significativamente el precio de producción (>50%) es bajar los costos del CO_2 , agua y nutrientes. La optimización y diseño de equipos para el procesamiento postcultivo también representa un ahorro significativo para la obtención de biodiésel a partir de microalgas. Bagchi *et al.* (2015) destacan que el proceso de secado representa hasta un 30% del costo total, por eso diseñaron un horno de secado que ahorra el 50% (0.017 kWh) de la energía generalmente usada en este proceso. Alva *et al.* (2013) sostienen que el uso de aguas residuales municipales para la producción de biomasa microalgal ofrece una alternativa viable para disminuir los costos de producción de lípidos debido al ahorro de agua y nutrientes (ej. N, P, K), estos últimos se pueden controlar mediante diluciones y si son necesarias concentraciones mayores se pueden suplementar con sales de bajo costo u otros efluentes anaerobios ricos en estos nutrientes (ej. N y P). Esta alternativa contribuye en la recuperación de nutrientes presentes en aguas residuales.

Existen otros estudios que han buscado soluciones para reducir costos en el cultivo de microalgas utilizando fuentes alternativas de carbono y otros nutrientes. En este sentido, Tripathi et al. (2015) informaron que la búsqueda nuevas especies con capacidad de fijar altas concentraciones de CO₂(15%) o utilizar el carbono presente en las rocas (como el mármol) representa un potencial para la obtención de biomasa microalgal útil para la formulación de biodiésel con menores costos. Rattanapoltee & Kaewkannetra (2014) apuntan que el uso de sacarosa en bajas concentraciones para la acumulación de lípidos en Chlorella vulgaris Beijerinck resulta ser el sustrato más económico en relación costo-beneficio. Chi et al. (2016) indican que el costo del nitrógeno requerido para el crecimiento microalgal debe ser considerado en los procesos de escalamiento para la producción de biodiésel. Estos autores reportaron un 66.5% de acumulación de lípidos en Isochrysis zhangjiangesis Hu et Liu y una productividad de lípidos de 3.28 g/d por cada gramo de nitrógeno alimentado al cultivo, lo cual consideran un uso eficiente del nitrógeno.

Tabla 1. Porcentaje lipídico y productividad de biomasa y lípidos de distintas microalgas.

	Lípidos	Productividad de	Productividad de	
Especie	acumulados	biomasa	lípídos	Referencia
	(%)	(g L ⁻¹ d ⁻¹)	(g L ⁻¹ d ⁻¹)	
Anabaena variabilis Kützing ex Bornet & Flahault	46.9	0.1156	0.0542	Han <i>et al</i> . (2016)
Ankistrodesmus falcatus (Corda) Ralfs	59.6	0.1246	0.074	Singh <i>et al.</i> (2015)
Chaetoceros muelleri Lemmerman	43.4	0.272		Wang <i>et al</i> . (2014)
Chlamydomonas reinhardtii P. A. Dangeard	25.25	2.0	0.505	Kong <i>et al.</i> (2010)
Chlamydomonas sp.	33.1		0.169	Nakanishi <i>et al</i> . (2014)
Chlorella sorokiniana Shihira et R. W. Krauss	31.5	12.2	2.9	Li <i>et al</i> . (2013)
Chlorella minutissima Fott et Nováková (UTEX2341)	62.97	1.78	0.29	Li <i>et al.</i> (2011)
Chlorella pyrenoidosa H. Chick	24.25	0.144	0.02685	Tang <i>et al</i> ., 2011
Auxenochlorella protothecoides (Krüger) Kalina et				
Puncochárová (= Chlorella protothecoides Krüger)	51.5		1.19	Mu <i>et al</i> . (2015)
Chlorella vulgaris Beyerinck [Beijerinck]	22.8	0.0848	0.01043	Frumento <i>et al</i> . (2013)
Chromochloris zofingiensis (Dönz) Fucíková et L. A.				
Lewis (= Chlorella zofingiensis Dönz)	54.5	.0584	0.0223	Feng <i>et al</i> . (2011)
Desmodesmus abundans (Kirchner) E. Hegewald		0.27008	0.06708	Xia <i>et al.</i> (2014)
Dunaliella tertiolecta Butcher	11.44	0.42	0.0164	Sidney <i>et al.</i> (2010)
Nannochloropsis oculata (Droop) D. J. Hibberd	50.4	0.497	0.151	Şirin <i>et al</i> . (2015)
Neochloris oleoabundans S. Chantanachat et Bold	29	0.98	0.1124	Santos <i>et al</i> . (2013)
Tetradesmus obliquus (Turpin) M. J. Wynne				
(= Scenedesmus obliquus (Turpin) Kützing)	49.6	0.45-0.55	0.151-0.193	Feng <i>et al.</i> (2014)
<i>Scenedesmus</i> sp.	16.6	0.174	0.0195	Taher <i>et al.</i> (2014)
<i>Tetraselmis</i> sp.	30.5	0.13	0.047	Kim <i>et al</i> . (2016)
BIOSÍNTESIS DE ÁCIDOS GRASOS SATURADOS, INSATURADOS Y TRIGLICÉRIDOS EN MICROALGAS

Las rutas metabólicas sobre la biosíntesis de lípidos de microalgas son un campo todavía por explorar en comparación con el metabolismo de las plantas. Sin embargo, se cree que las rutas metabólicas seguidas son similares (Yu et al., 2011). La síntesis de ácidos grasos en las algas se realiza en los cloroplastos y generalmente se producen cadenas de ácidos grasos de 16C y 18C, los cuales son usados por la célula para la síntesis de membranas, triglicéridos, almacenamiento de lípidos neutros y cloroplastos. Específicamente, la biosíntesis de ácidos grasos se inicia con la conversión del Acetil-CoA a Malonil-CoA catalizada por la enzima Acetil-CoA Carboxilasa (ACCasa). La molécula de Malonil-CoA es la donadora de carbono para la síntesis de nuevos ácidos grasos, donde es transferida de la CoA a un cofactor proteico (ACP) para la obtención del Malonil-ACP, el cual participa en una serie de reacciones de condensación con los aceptores acil-ACP v acetil-CoA. El ciclo termina cuando el grupo acil es removido del sitio ACP por la acil-ACP tioesterasa y una vez sintetizados los ácidos grasos libres son trasportados del ACP al glicerol-3-fosfato o al monoacilglicerol-3-fosfato (Ohlrogge & Browse, 1995). La ruta metabólica se muestra en la Figura 1.

Así mismo, la producción de ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) a base de microalgas marinas o de agua dulce es de vital importancia para la elaboración de biodiésel o como aditivos alimentarios. Las microalgas tienen mayor capacidad para sinterizar y almacenar PU-FAs de cadena larga >18C (ácido eicosapentanoico (EPA), C20:5ω3, ácido docosahexanoico (DHA), C22:6 ω3 y ácido araquidónico, C20:4 ω 6) (Harwood & Guschina, 2009). De igual forma, Guschina & Harwood (2006) mencionan que existen principalmente dos rutas metabólicas para la síntesis de EPA denominadas ω -3 y ω -6 aunque la ω -6 es la ruta más usada. En la ruta ω-6 el ácido linoleico es desaturado para la obtención de ácido y-linolénico, después es elongado para conseguir el ácido dihomo-γ-linolénico y su posterior desaturación para producir el ácido araquidónico y finalmente el EPA. En la ruta ω -3 el ácido linoleico es desaturado, lo que resulta en el ácido α -linolénico, para enseguida ser desaturado y generar el ácido estearidónico, a continuación, se realiza una elongación y se obtiene el ácido eicosatetranoico y finalmente su conversión a EPA. Las rutas biosintéticas para el resto de los ácidos grasos se muestran en la Figura 2, ahí las desaturaciones se abreviaron con D y el número adjunto muestra el sitio de reacción (E, elogación; PKS policétido sintasa). Las líneas punteadas indican reacciones que no han sido descritas completamente.



Figura 1. Bioquímica de síntesis de lípidos por microalgas. Adaptada de Hernández *et al.*, 2009. *Reacción 1: El Acetil-CoA entra al ciclo como sustrato para la enzima ACCasa y se obtiene el Malonil-CoA. Reacción 2: es catalizada la conversión de Malonil-CoA a Malonil-ACP por la Malonil-CoA: ACP tranferasa (el Malonil-CoA será la molécula donadora de carbón en las siguientes reacciones de elongación). Reacción 3: descarboxilación del Malonil-CoA y la condensación con el Acetil-CoA. Reacción 4: reducción del 3-Cetobutiril-ACP por la 3-cetoacil-ACP reductasa Reacción 5: deshidratación para la obtención de una instauración en el carbono α por la enzima 3-hidroxiacil-ACP deshidrasa. Reacción 6: reducción de la doble ligadura por la enoil-ACP reductasa. Reacción 7: ciclo de elongación (repetición del paso 3 al 6) hasta la obtención de ácidos grasos saturados de 16C o 18C o ambos.

Los triglicéridos son comúnmente encontrados como grasas almacenadas o aceites y pueden ser neutros. Están constituidos de tres ácidos grasos esterificados vía grupos hidroxilos de un grupo glicerol. En la síntesis de triglicéridos las microalgas usan la ruta directa de glicerol (ver Figura 3) (Hu *et al.*, 2008). Específicamente, los ácidos grasos producidos en los cloroplastos secuencialmente son transferidos por la CoA a la posición 1 y 2 del glicerol-3-fosfato, obteniendo el ácido fosfatídico (PA) como metabolito central. La desfosforilación del PA catalizado por la fosfatasa libera diacilglicerol y finalmente un tercer ácido graso es unido a la posición 3 libre del DGA mediante la enzima diacilglicerol aciltranferasa. Además, las moléculas PA y DGA pueden ser usadas directamente en la síntesis de lípidos polares como la fosfatidilcolina (PC) y galactolípidos (Yu *et al.*, 2011).

TÉCNICAS PARA LA OBTENCIÓN DE BIODIÉSEL A PARTIR DE MICROALGAS

El proceso de obtención de biodiésel a partir de microalgas se divide en 3 etapas: 1) cultivo de la cepa para la obtención de biomasa, 2) cosecha de biomasa y disrupción celular y 3) reacción de esterificación para la conversión a biodiésel (Koller *et al.*, 2012).

Etapa 1: métodos para aumentar la biomasa y lípidos. Recientemente se han desarrollado nuevas estrategias apoyadas con técnicas biotecnológicas con el fin de mejorar los rendimientos y reducir contaminantes (p. ej. fitorremediación, biopelículas para filtración, bioadsorbentes). Sin embargo, el alto costo del carbono heterotrófico (p. ej. glucosa) usado como sustrato representa la principal barrera económica para la producción de lípidos a partir de microalgas (Wang *et al.*, 2014). En este sentido, Mu *et al.* (2015) señalaron que con el uso del bagazo hidrolizado de caña de azúcar para el cultivo de *Chlorella protothecoides* (Krueger) Kalina *et* M. Puncoch en condiciones heterotróficas se alcanzó una concentración de biomasa de 24.01 g/L y una productividad lipídica de 1.19 g/L/d, y suponen que la xilosa y la arabinosa involucradas en el ciclo de las pentosas fosfato pueden estar predominando sobre la ruta de la glucólisis mejorando la acumulación de lípidos. De igual forma, Cho *et al.* (2015) observaron que el uso de mioinositol en medios de cultivo a una concentración de 500 mg/L aumentó un 48% la producción de biomasa y un 30% la acumulación de lípidos en *Dunalie*-

lla salina Ben-Amotz *et* Avron, también se incrementó la producción de ácido linoleico, linolénico y linolelaídico. Por otro lado, Gui *et al.* (2014) aplicaron un tratamiento de hidrólisis ácida a los residuos lignocelulósicos de la planta *Glycyrrhiza uralensis* con el objetivo de generar un sustrato para el cultivo heterotrófico de *Chlorella protothecoides*, lo que incrementó en un 62% el rendimiento de lípidos y biomasa.

Se ha demostrado que mantener a la microalga bajo condiciones de estrés incrementa la acumulación de lípidos, por lo que se han utilizado métodos como limitación de nitrógeno y adición de iones metálicos y sales como EDTA, para inducir las condiciones de estrés (Ren *et al.*, 2014; Liu *et al.*, 2016). En este sentido, Liu *et al.* (2016) refieren que mediante una continua limitación de nitrógeno en condiciones fotoautótrofas en cultivo por lote, *C. vulgaris* logra un rendimiento máximo de lípidos de 305.71 mg/L/d y una biomasa de 4.61 g/L. Morales-Sánchez *et al.* (2014) reportan que bajo limitación de nitrógeno en condiciones heterotróficas de lote post-alimentado *Neochloris oleoabundans* (S.Chantanachat *et* H.C.Bold) J. Komarek acumula hasta un 53.8% de lípidos, con una concentración de biomasa de 20.9 g/L y una productividad de 1020 mg/L/d de lípidos. Por su parte, Ren *et al.*



Figura 2. Biosíntesis de ácidos grasos poliinsaturados en algas eucariotas. Adaptado de Harwood y Gushina, (2009).



Figura 3. Ruta metabólica de síntesis de triglicéridos en algas. (1) Enzima citosólica glicerol-3-fosfato aciltransferasa, (2) ácido liso-fosfatídico aciltransferasa, (3) ácido fosfatídico aciltransferasa, (4) diacilglicerol aciltransferasa.

(2014) evaluaron el efecto de la adición de metales y sales, con lo que lograron un incremento del 28.2% de lípidos, 29.7% (275.7 mg/L/d) en la productividad y 3.49 g/L de biomasa bajo condiciones heterotróficas y mediante la adicción de Fe³⁺, Mg²⁺ y Ca²⁺ y EDTA en *Scenedesmus* sp. De manera general, se considera que la limitación de nitrógeno y el uso de lote alimentado bajo condiciones de estrés nutricional de nitrógeno ofrecen los mejores rendimientos de acumulación de lípidos y biomasa en cultivos de microalgas, esto debido a que la falta de nitrógeno reduce la síntesis de proteínas y estimula la formación de lípidos.

El uso de técnicas modernas enfocadas en modificaciones genéticas o la selección de cepas mutadas son algunas de las alternativas para aumentar los rendimientos de lípidos en microalgas y abaratar los costos de producción de biodiésel (Anandarajah et al., 2012; La Russa et al., 2012). Investigaciones previas demostraron que las mutaciones de los 3 tipos de genes homólogos DGATs tipo-2 (Acil-CoA: diacilglicerol aciltransferasa) asociados con la producción de triacilgleceridos no presentan un aumento significativo en la acumulación de lípidos, además, provocan alteraciones en el perfil de los ácidos grasos en Chlamydomonas reinhardtii P. A. Dangeard (La Russa et al., 2012). Por su parte, Xue et al. (2015) realizaron una modificación genética en Phaeodactylum tricornutum Bohlin para mejorar la acumulación de lípidos neutros. La modificación se realizó en la enzima málica, involucrada en el metabolismo del piruvato y fijación de carbono. Los resultados mostraron un incremento del 57.8% en la producción de lípidos, manteniéndose una tasa de crecimiento celular similar a la cepa silvestre. En otra investigación, Zhang *et al.* (2016) bloquearon la enzima β -1-3 gluconasa, con el producto comercial Micafungin, inhibiendo la formación decrisolaminarina y así fomentar la acumulación de lípidos en Isochrysis zhangjiangensis. Con esto lograron obtener un 50% más en el rendimiento de lípidos y una disminución del 10% de carbohidratos.

Etapa 2: técnicas de extracción de lípidos. No obstante el potencial biotecnológico que representan las microalgas en la producción de lípidos útiles para generar biodiesel, actualmente no existen métodos a escala industrial factibles para la extracción de lípidos y solamente se han reportado nuevos métodos para su uso a escala laboratorio (Neto *et al.* 2013). Entre los métodos más utilizados para la extracción de lípidos de microalgas están el uso de solventes, fluidos supercríticos, campo eléctrico de pulso, microondas y ultrasonicación (Batista *et al.*, 2016; Taher *et al.*, 2014). En este sentido, el enfoque actual es desarrollar o mejorar los métodos de disrupción celular para disminuir el uso de solventes, producir menos residuos, aumentar los rendimientos y mejorar la calidad del producto final (preservar los PUFAs) (Hidalgo *et al.*, 2016).

La sonicación asistida es uno de los métodos físicos más atractivos para romper células y facilitar la extracción de lípidos de microalgas. Una investigación realizada por Suarsini y Subandi (2011) indica que la ultrasonicación presenta mejores rendimientos de extracción en comparación con el método de soxhlet y maceración y aparte reduce los tiempos. Neto et al. (2013), por su parte, notificaron que la ultrasonicación asistida logra una extracción de lípidos del 40.3 y 39.5% en Thalassiosiria fluviatilis y Thalassiosiria pseudonana, respectivamente. Otro de los métodos recientemente más estudiados es el uso de fluidos supercríticos, donde en investigaciones como la de Nobre et al. (2013) emplean fluidos supercríticos para la extracción de lípidos y pigmentos de Nannochloropsis sp. En su investigación señalan que el uso de etanol como cosolvente y CO2 supercrítico mejora los rendimientos de extracción, alcanzando los 45 $g_{_{lípidos}}/100~g_{_{biomasa\,seca}}$ de lípidos y 70% de los pigmentos, también demostraron que la masa remanente puede utilizarse para la producción de biohidrógeno mediante una fermentación con Enterobacter aerogenes Hormaeche et Edwards. Esta tecnología también ha sido aplicada en la extracción de ácidos grasos esenciales a partir de C. protothecoides, Scenedesmus obliquus (Turpin) Hegewald et Hanagata y Nannochloropsis salina D. J. Hibberd, logrando la recuperación selectiva del ácido α -linolénico y ácidos grasos ω -3 en proporciones similares para las tres microalgas, con rendimientos de extracción de lípidos del orden del 18.15% (Solana et al., 2014).

En relación con el uso de solventes, investigaciones actuales se han enfocado en disminuir su uso y aumentar el rendimiento de extracción. Abomohra et al. (2016) resaltan que es de vital importancia optimizar la extracción de ácidos grasos esterificados porque son los únicos que se usan para la producción de biodiésel a partir de microalgas. En este sentido, mencionan que la relación 2:1 de solventes cloroformo: metanol durante 2 h muestran los mejores rendimientos de extracción de ácidos grasos esterificados, sin la necesidad de aplicar procesos de ruptura celular cuando se trabaja con S. obliguus. Recomiendan un tratamiento previo con agua caliente por 5 min para inactivar las lipasas y aumentar hasta un 13.7% los rendimientos de extracción de ácidos grasos esterificados. De igual forma, Abomohra et al. (2016) mejoraron la extracción de lípidos de S. obliquus mediante la optimización de mezclas de solventes y tiempos de extracción aunados a un proceso de ruptura celular. Los resultados muestran que la relación óptima de solventes cloroformo: metanol fue 2:1 con un tiempo de extracción de 2 h sin necesidad de realizar lisis celular para la recuperación de los ácidos grasos esterificados. En otro estudio, Hidalgo et al. (2016) ensayaron con mezclas de solventes polares y no polares para

la extracción de lípidos esterificables de *B. braunii* demostrando que la mezcla cloroformo-metanol (75 % v/v metanol) fue la más eficiente, con un 98.9% de rendimiento de extracción de lípidos.

Una de las tecnologías emergentes prometedoras para la extracción de compuestos debido a su bajo costo y bajas temperaturas de operación, es la extracción por presurización cíclica. En esta técnica se utilizan presiones moderadas (<1013 kPa), lo que reduce los costos en comparación con fluidos supercríticos, por ejemplo, e incluso menores que el uso de microondas o sonicación asistida (Ortiz et al., 2015; Batista et al., 2016). Batista et al. (2016) aplicaron esta tecnología para la extracción de lípidos de *Chlorella pyrenoidosa* H.Chick, demostrando que con bajos ciclos de presurización (300 s a 91.4 kPa + 300 s a 200 kPa por ciclo) por un tiempo de 7 h, en medio etanólico se alcanza un 72% de remoción de lípidos, con un rendimiento de 11.3% de biomasa. De forma similar, Pieber et al. (2012) realizaron la extracción del ácido eicosapentaenoico (EPA) de Nannochloropsis oculata Droop con fluidos presurizados y los resultados mostraron que el metanol fue el mejor solvente, comparado con el n-hexano, obteniendo un rendimiento del $16.7 \pm 6\%$ y $3.7 \pm 0.1\%$ de ácidos grasos totales y EPA, respectivamente.

Otro de los métodos novedosos es el uso de pulsos eléctricos para la lisis celular y realizar extracciones *in situ*. Flisar *et al.* (2014) probaron un prototipo de generador de pulsos para la extracción de lípidos de microalgas y reportan un 22% de extracción de lípidos. Sin embargo, atribuyen que los rendimientos son bajos debido a problemas de recuperación y cuantificación de lípidos, ya que la ruptura celular se realizó directamente en el reactor. En otras investigaciones similares, como la de Seo *et al.* (2015) desarrollaron un método para romper la célula y extraer los lípidos usando UV en conjunto con la reacción de Fenton logrando una eficiencia de remoción del 85% con bajas concentraciones de H₂O_o (0.3%).

Etapa 3: métodos químicos usados en la reacción de transesterificación. La reacción de transesterificación es uno de los métodos más estudiados y por lo tanto más utilizados en la producción de biodiésel. En este proceso se da la transferencia de un grupo acilo, que puede suceder entre un éster y un ácido (acidólisis), un éster y otro éster (interesterificación) o entre un éster y un alcohol (alcohólisis) (Freire *et al.*, 2011) (ver Figura 4).

El desarrollo de nuevos catalizadores que mejoren las condiciones de los procesos de esterificación, reduciendo los impactos ambientales y la corrosión que causa el uso de catalizadores convencionales (NaOH, KOH y H₂SO₄), representa un reto para la sustentabilidad de los procesos de esterificación (Hwa *et al.*, 2014a). En este sentido, Hwa *et al.* (2014a) probaron el metóxido de calcio (Ca(OCH₃)₂) como catalizador en presencia de metanol y lípidos recuperados de *N. oculata* y señalaron un rendimiento del 92% a 60 °C, siendo este 22% superior al registrado con el catalizador de Mg-Zr. En otro análisis, Hwa *et al.* (2014b) formularon un catalizador mixto de óxido de calcio y magnesio (CaMgO) soportado en alúmina (Al₂O₃) con el cual se alcanzaron rendimientos del 85.3% de transesterificación y un soporte estable y reusable. Macías-Sánchez *et al.* (2015) aplicaron un método de transesterificación directa de *Nannochloropsis gaditana* L. M. Lubin. El proceso de catálisis lo realizaron con metanol usando como catalizador cloruro de acetilo al 5% a 100 °C durante 105 min, y consiguieron una pureza del 82.7% de ácidos grasos metil-esterificados. De igual forma, Mathimani *et al.* (2015) mencionan que el H₂SO₄ al 3.5% por 2.4 h en presencia de metanol logra los mejores rendimientos para la reacción de metilesterificación (60%), utilizado *Chlorella* sp. BDUG 91771.

Métodos biotecnológicos. Actualmente las lipasas usadas para la producción de biodiésel son obtenidas principalmente de hongos (levaduras y hongos filamentosos) y algunas se encuentran disponibles en el mercado (Novozym 435, Lyposime RM IM, Lypozime TL IM) (Yan et al., 2014). Estas lipasas presentan diversas ventajas, como el poco requerimiento energético, la alta calidad de biodiésel producido y la casi nula generación de residuos (Meng et al., 2014). Aarthy et al. (2014) sostienen que es posible aplicar procesos biotecnológicos para realizar una biocatálisis utilizando lipasas de levaduras como Candida antarctica (Goto, Sugiyama & lizuka) Q. M. Wang, Begerow, F. Y. Bai & Boekhout, C. rugosa (H.W. Anderson) Diddens & Lodder, Crytococcus sp., Trichosporum asahii Akagi ex Sugita, A. Nishikawa & Shinoda y Yarrowia Iypolitica (Wick., Kurtzman et Herman) Van der Walt et Arx alcanzado rendimientos de hasta 96% con bajas temperaturas. Por su parte, Aguieras et al. (2015) reportan la obtención de lipasas para la producción de biodiésel de hongos filamentosos como Rhizomucor miehei (Cooney et R. Emers.) Schipper, Rhizopus oryzae Went et Prins. Geerl., Thermomyces lanuginosus Tsikl, Aspergillus niger Tiegh y Penicillium expansum Link, y señalan que otra alternativa viable es utilizar las células completas para la biocatálisis.

Guldhe *et al.* (2016) proponen la obtención de biodiésel utilizando lipasas de *A. niger* como biocatalizadores alcanzando, un porcentaje de conversión del 53.76% a 35 °C en presencia de metanol. Sin embargo, estos rendimientos pueden considerarse bajos en comparación con los obtenidos con enzimas comerciales como Novozym 435. En virtud de ello, Navarro-López *et al.* (2015) dieron a conocer la elaboración de biodiésel a partir de *Nannochlorpsis gaditina* L. M. Lubin-empleando la enzima comercial Novozym 435 a partir de 4 lipasas. La conversión alcanzada en este caso fue de 94.7% de ácidos grasos metil-esterifi-

Estores	CH ₂ -OOC-R ₁ CH ₂ -OOC-R ₂ CH ₂ -OOC-R ₃ Triglicérido	Catalizador + 3R'OH Alcohol	R ₁ -OOC-R' + R ₂ -OOC-R' + + R ₃ -OOC-R'	CH ₂ -OH CH ₂ -OH CH ₂ -OH
---------	---	-----------------------------------	--	---



cados (biodiésel), en un proceso de reacción de 48 h con 10 mL alcohol t-butanol/g de lípidos saponificables (LS), y una relación molar 11:1 metanol/LS. De igual forma, Castillo-López *et al.* (2015), utilizaron Novozym 435 con lipasas de *C. antartica* logrando un 92.6% de grado de esterificación, produciendo un biodiésel con 83% en peso de pureza a partir de *N. gaditana.* Las condiciones óptimas previamente expuestas se alcanzaron con una relación 1.5:1(metanol/ácidos grasos libres) y 15:1 (Novozym 435/ácidos grasos libres) a 25 °C durante 4 h. Es posible deducir que la eficiencia de las enzimas comerciales Novozym 435 es similar (mayor al 90%) aun cuando se trabaja con diferentes especies de microalgas y bajo diferentes condiciones de extracción.

A pesar de los altos rendimientos de conversión de biodiésel usando enzimas comerciales, se considera que la producción enzimática de biodiésel a base de microalgas no es factible debido al elevado costo de los procesos de aislamiento, purificación, inmovilización y a la baja estabilidad de las lipasas en medio etanólico (Ognjanovic *et al.*, 2009), de modo que se ha trabajado en el desarrollo de métodos libres de solventes, lo cual evita riesgos de flamabilidad, toxicidad y reduce el costo por el uso de solventes y procesos de separación, además del desarrollo de soportes para enzimas económicos y biosustentables, que mejoren el rendimiento de producción de biodiésel (Li *et al.*, 2014).

Surendhiran *et al.* (2014) desarrollaron un método para la obtención de biodiésel a partir de *Chlorella salina* inmovilizando la levadura *Rhodotorula mucilaginosa* (A. Jorg.) F. C. Harrison 'MTCC9737' en un soporte a base del gabazo de la caña de azúcar en medio no alcohólico. Los resultados mostraron un 85.2% de rendimiento de biodiésel con una relación 1:12 acetato de metilo/aceite a 40 °C durante 60 h. Duraiarasan *et al.* (2016), por su parte, diseñaron un soporte mediante nanopartículas magnéticas para la extracción y conversión directa de biodiésel a partir de los ácidos grasos obtenidos de *C. salina* Butcher. El método implementó la inmovilización de celulasas y lipasas con un rendimiento máximo de 93.56% con una eficiencia hasta por 10 ciclos, alcanzando resultados similares a los obtenidos con sistemas comerciales.

Cultivo de microalgas. En general, las microalgas dependen para su crecimiento de un suministro de carbono y de una fuente de luz para realizar la fotosíntesis. Sin embargo, como respuesta a los cambios en

las condiciones ambientales, pueden poner en funcionamiento diversos tipos de metabolismo (fotoautotrófico, heterotrófico, mixotrófico, fotoheterotrófico). Al considerar el empleo de microalgas para la producción de biodiésel, es importante definir cuantitativamente la influencia de factores que intervienen en su crecimiento y que favorecen la producción de lípidos, así como su interrelación para poder manipularlos en la obtención de biomasa con las características deseadas (Arias *et al.*, 2013).

En la actualidad, la producción fotoautotrófica es la única técnica económicamente viable a gran escala para la producción de biomasa (Borowitzka, 1997). Los dos sistemas más ampliamente utilizados son las lagunas abiertas y los fotobiorreactores cerrados (Borowitzka, 1999). La viabilidad técnica de cada uno de estos sistemas se ve influenciada por las propiedades intrínsecas de la cepa seleccionada, así como las condiciones climáticas y los costos por espacio y agua (Borowitzka, 1992).

Un fotobiorreactor es un reactor en el que células de plantas o algas fotótrofas se cultivan o se utilizan para llevar a cabo una reacción fotobiológica. Los sistemas de cultivo abierto son normalmente menos caros de construir y operar, más duraderos que los grandes reactores cerrados y con gran capacidad de producción en comparación con los sistemas cerrados (Yen *et al.*, 2014). En la tabla 2 se muestran las ventajas y desventajas de los fotobiorreactores y las lagunas abiertas.

BIORREFINERÍA: SISTEMAS DE DOBLE PROPÓSITO PARA EL CULTIVO DE MICROALGAS

El concepto de biorrefinación es similar al de refinerías de petróleo en que múltiples combustibles y productos químicos se obtienen utilizando el petróleo crudo como material de partida. Biorrefinería, por lo tanto, se define como el procesamiento de biomasa sostenible para obtener energía, biocombustibles y productos de alto valor a través de procesos y equipos para la transformación de biomasa (Trivedi *et al.*, 2015).

También es importante tener en cuenta que el costo de la producción de microalgas es alrededor del 90% de la producción de biodiésel, esto indica que los esfuerzos en el desarrollo y la investigación deben centrarse en reducir los costos de producción de microalgas (Cheali *et al.*, 2015).

Tabla 2. Ventajas y desventajas de los sistemas de lagunas abiertas y fotobiorreactores.

	, , , , , , , , , , , , , , , , , , , ,		
Medio de cultivo	Ventajas	Desventajas	Referencia
Lagunas abiertas	Más baratas de construir y más fáciles de	Baja productividad, por lo tanto, más terreno	Palomino <i>et al.</i> (2010 ^a)
	operar ^a	necesario para el cultivo ^b	Amaro <i>et al.</i> (2011 ^b)
	Mantenimiento y limpieza más fácil que	Contaminaciones provenientes del ambiente d	Brennan <i>et al</i> . (2010°)
	fotobiorreactores ^c	Número de especies de microalgas limitadas	Schenk <i>et al.</i> (2008d)
		para este cultivo ^e	Borowitzka (1999º)
Fotobiorreactores	Producción continua, trabajo mínimo y mejor	Costo inicial mayor ^g	Arudchelvam et al. (2012 ^f)
	proceso de proceso y gestión ^r	Alto consumo de energía ^b	Chisti (2007 ⁹)
	Puede usar luz artificial y natural, lo que aumenta el rendimiento total de las especies de microalgas ^b		Yen <i>et al.</i> (2014 ^h)
	Mejor control sobre las condiciones de cultivo y		
	mavor número de especies cultivadas ^h		

*La letra que aparece como superíndice relaciona la referencia citada con la respectiva ventaja o desventaja.

El costo de producir biodiésel puede ser teóricamente compensado por los ingresos generados por otros coproductos de la biomasa (Vonortas & Papayannakos, 2014). Las microalgas contienen cantidades significativas de proteínas y carbohidratos, así como pequeñas cantidades de compuestos funcionales de alto valor, por ejemplo, astaxantina, carotenos, clorofila, ácidos grasos libres y ácido linoleico (Rashid *et al.*, 2014). Cada uno de éstos puede ser utilizado para generar productos de interés industrial en una biorrefinería. Estudios recientes han concluido que la producción de biodiésel a escala industrial puede ser económicamente sostenible si la estrategia de la refinería se basara en la producción de biomasa (Wijffels *et al.*, 2010).

En una biorrefinería, los lípidos crudos son fraccionados en compuestos de alto valor agregado y lípidos para biodiésel (acilgliceroles) (Yan *et al.*, 2014). Si las especies de microalgas contienen un alto nivel de proteínas, la biomasa residual de la producción de biodiésel puede ser utilizada como alimentación de ganado. Si la especie contiene altos niveles de carbohidratos, la biomasa residual puede ser fermentada para producir bioetanol (Halim *et al.*, 2012).

Por otro lado, en los últimos años se ha conceptualizado el término "sistemas de doble propósito" para describir al conjunto de procesos encaminados en la reincorporación de nutrientes presentes en efluentes residuales en la producción de biomasa (Olguín, 2012; Robles-Pliego *et al.*, 2015). La biomasa generada, de acuerdo con sus características, puede ser empleada para la obtención de productos de alto valor agregado y biocombustibles, principalmente, en el contexto de una biorrefinería.

Específicamente, en el desarrollo de sistemas de doble propósito en el contexto de biorrefinerías de microalgas, se puede optar por un diseño modular en donde se establezcan procesos y operaciones unitarias bien definidas (Figura 5). Para lo anterior, deben considerarse módulos de biorremediación y obtención de biogás, como los módulos de pretratamiento de efluentes residuales y el de digestión anaerobia de residuos con elevada carga orgánica; un módulo por etapas de cultivos monoalgales o en consorcios microalga-bacteria; un módulo de recuperación de biomasa mediante métodos mecánicos, así como asistidos por procesos fisicoquímicos, como la inducción de floculación; y el módulo de obtención de productos de interés, en donde se llevan a cabo procesos de extracción o reacción y purificación.

En lo que respecta al módulo de cultivo de microalgas por etapas, en la Figura 6 se muestra un ejemplo de las etapas en el cultivo de microalgas. La primera etapa consiste en la preservación de cepas, la producción y propagación del inóculo en fotobiorreactores. La producción del inóculo se realiza bajo condiciones controladas de crecimiento en medios de cultivo minerales sintéticos y estériles, lo que significa bajos volúmenes de producción. Por su parte, la propagación del inóculo se puede realizar en condiciones asépticas o en medios no estériles y con medios sintéticos o alternativos, como diluciones de efluentes residuales con agua corriente. Sin embargo, esto último lleva consigo la posible contaminación del inóculo y la competencia por nutrientes con otros microorganismos presentes en los medios alternativos no estériles (Olguín *et al.*, 2013).

La segunda y tercera etapa del módulo se enfocan en la producción a mayor escala de las cepas o consorcios de microalgas de interés. El objetivo de la segunda etapa es obtener cultivos con alta densidad celular, por lo regular superiores a 1 g/L. En esta etapa se implementan cultivos fotoautotróficos, heterotróficos y mixotróficos, que se distinguen de acuerdo a la adición de su fuente de carbono y de su modo de operación (Lowrey *et al.*, 2015).

En los cultivos fotoautotróficos la fuente de carbono es inorgánica, regularmente CO_2 , proporcionada mediante una mezcla aire- CO_2 , en donde la concentración de CO_2 regularmente no rebasa el 10% (v/v) y la energía lumínica para las funciones fotosintéticas de las microalgas es suplementada por luz natural o artificial. En el caso de luz natural el fotoperiodo estará definido por la posición geográfica y estación del año, mientras que en caso de luz artificial los cultivos se pueden operar inclusive bajo luz continua.



Figura 5. Diagrama modular de operación de sistemas de doble propósito para el cultivo de microalgas.



Figura 6. Diagrama de bloques en el cultivo de microalgas por etapas.

En cultivos heterotróficos la fuente de carbono es orgánica, como glucosa, glicerol, algún ácido graso de bajo peso molecular (AGV) o en algunos casos se han utilizado residuos industriales ricos en glucosa como la melaza (Bumbak *et al.*, 2011, Liu *et al.*, 2013). Estos cultivos se realizan en fermentadores de gran capacidad bajo condiciones controladas de pH, temperatura, agitación y sin fuente de energía luminosa. La operatividad de estos procesos resulta costosa; sin embargo, las mayores densidades celulares en el cultivo de microalgas se alcanzan en este tipo de cultivos y en condiciones asépticas, por lo que son ampliamente utilizados para la obtención de nutracéuticos y productos de consumo humano (Bumbak *et al.*, 2011).

En los cultivos mixotróficos se tienen ambas fuentes de carbono, orgánica e inorgánica, además de una fuente de luz, de manera que la microalga puede aprovechar ambas fuentes de carbono para su crecimiento (Lowrey *et al.*, 2015). En sistemas de doble propósito la fuente orgánica de estos cultivos regularmente proviene de carbono de efluentes con elevada carga orgánica (digestato) y el carbono inorgánico de mezcla de gases de combustión y aire (Olguín *et al.*, 2015a; 2015b). En algunos casos también se ha optado por sales de carbonato como fuente inorgánica de carbono (Murray *et al.*, 2012; Olguín *et al.*, 2015b).

Ya que en la segunda etapa del módulo de cultivo de microalgas el principal objetivo es maximizar la producción de biomasa, en la Figura 6 se sugiere que los cultivos sean operados como lote alimentado, de esta manera se ha observado que se obtienen altas densidades celulares incluso en cultivos en continuo (Cheirsilp & Torpee, 2012; Ji *et al.*, 2015). Bajo operación de lote alimentado los nutrientes que son rápidamente consumidos son repuestos periódicamente, de manera que la densidad no disminuya por la falta de nutrientes. En cultivos mixotróficos, donde los nutrientes provienen de efluentes residuales, la operación por lote alimentado puede no ser la más apropiada, ya que agregar periódicamente efluente residual al cultivo incrementa la turbidez y limita el paso de luz inhibiendo los procesos fotosintéticos de las microalgas. Ante esto, para la operación de lote alimentado en estos cultivos se puede optar por agregar sales minerales de bajo costo únicamente de los macronutrientes más importantes, como NH₄HCO₃, que cumple la doble función de ser fuente tanto de nitrógeno como de carbono (Olguín *et al.*, 2015b).

El objetivo de la tercera etapa es la inducción de acumulación de productos de interés. Estos pueden ser lípidos o metabolitos secundarios, como pigmentos o carotenoides, que ante condiciones de estrés la microalga utiliza como mecanismos de defensa (Hu *et al.*, 2008; Lemoine & Schoefs, 2010; Mulders *et al.*, 2014). En el caso de los lípidos, se considera que ante estrés nutricional o fotoinhibitorio, las microalgas acumulan estos en organelos que sirven como depósitos de reserva de energía (Wijffels & Barbosa, 2010; Klok *et al.*, 2013). La falta o limitación de nitrógeno en los medios de cultivo de microalgas se considera como el principal estrés nutricional involucrado en la acumulación de lípidos y de metabolitos secundarios (Gouveia & Oliveira, 2009). La etapa de estrés puede realizarse en los mismos fotobiorreactores de la segunda etapa sin la adición de nutrientes y alargando el tiempo de residencia, hasta obtener la máxima acumulación de metabolitos de interés sin que se presente una disminución significativa de su densidad celular. Durante la operación de esta etapa no se aconseja la dilución del medio de cultivo para disminuir la concentración de nutrientes, ya que esto a su vez diluye la densidad celular y dificulta aún más la recuperación de biomasa.

Con un enfoque sustentable de sistemas de doble propósito, la Figura 7 muestra el diagrama de bloques para obtención de productos de alto valor agregado y biocombustibles a partir del cultivo de microalgas en dos procesos interconectados en el concepto de una biorrefinería. En el Proceso I, para la obtención de pigmentos y nutracéuticos, el cultivo supone condiciones de crecimiento controladas y medios de cultivo estériles. Mientras que en el Proceso II, el cultivo de las microalgas o consorcio microalgas-bacterias se realiza en condiciones exteriores a grandes volúmenes y bajos costos de operación.

Aun cuando se tiene toda esta información sobre la producción de biodiésel y la obtención de compuestos de alto valor agregado a partir de la biomasa de microalgas, existe mucho campo fértil para realizar investigación sobre el mejoramiento de métodos de cultivo, la identificación y obtención de nuevos productos, mejoramiento de procesos de cosecha y de extracción de compuestos, análisis de ciclo de vida y estudios de viabilidad económica, entre muchos otros (Freire *et al.*, 2011).

CONCLUSIONES

La necesidad de desarrollar combustibles renovables y ecológicos es cada vez más evidente. El uso de microalgas para la obtención de biodiésel representa una alternativa viable por su alto contenido lipídico y su perfil de ácidos grasos, sin embargo, hace falta el desarrollo de tecnologías que reduzcan el costo de producción. La transesterificación en la actualidad resulta ser el método más barato para la producción de biodiésel. Sin embargo, actualmente no se han logrado precios competitivos frente a los producidos a partir de recursos fósiles. Los principales factores que incrementan los precios de obtención de biodiésel son los métodos de cultivo, la extracción de lípidos (*downstream*) y los procesos de bioconversión.

El uso de campos eléctricos, extracción por presurización cíclica, microondas y sonicación se perfilan como métodos novedosos para la recuperación de lípidos intracelulares. Actualmente, el proceso de transesterificación puede realizarse mediante el uso de lipasas comerciales o mediante la catálisis directa, utilizando microorganismos como levaduras y hongos filamentosos. Los sistemas de cultivo de doble propósito son un proceso novedoso que podría disminuir los costos, debido a que permite incrementar la biomasa reincorporando los nutrientes presentes en efluentes residuales. En este trabajo, además, se propone un diseño modular para sistemas de doble propósito y se describen detalladamente diferentes etapas de este diseño, principalmente enfocadas en el módulo de cultivo de microalgas que es la parte nodal de esta investigación.



Figura 7. Diagrama de bloques para el cultivo de microalgas en un sistema de doble propósito aplicado al concepto de biorrefinería.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad de Guanajuato por el apoyo institucional otorgado mediante los proyectos CIFOREA 012/2015 y CI-FOREA 126/2016.

REFERENCIAS

- AARTHY, M., P. SARAVANAN, M. K. GOWTHAMAN, C. ROSE & N. R. KAMINI. 2014. Enzymatic transesterification for production of biodiesel using yeast lipases: An overview. *Chemical Engineering Research and Design* 92: 1591-1601. DOI: 10.1016/j.cherd.2014.04.008.
- ABOMOHRA, A. E., W. JIN & M. EL-SHEEKH. 2016. Enhancement of lipid extraction for improved biodiesel recovery from the biodiesel promising microalga *Scenedesmus obliquus*. *Energy Conversion and Management* 108: 23-29. DOI: 10.1016/j.enconman.2015.11.007
- ACA-ACA, M. G., G. E. CAMPOS & O. SÁNCHEZ-DAZA. 2009. Estimación de propiedades termodinámicas de los compuestos involucrados en la producción de biodiesel. Sociedad Mexicana de Ciencia y Tecnología de Superficies y Materiales 22: 15-19.
- Acosta, O. & A. CHAPARRO-GIRALDO. 2009. Biocombustibles, Seguridad Alimentaria y Cultivos Transgénicos. *Revista de Salud Pública* 11: 290-300.
- AGUIERIAS, E. C. G., E. D. CAVALCANTI-OLIVEIRA & D. M. G. FREIRE. 2015. Current status and new developments of biodiesel production using fungal lipases. *Fuel* 159: 52-67. DOI: 10.1016/j.fuel.2015.06.064.
- AKHO, C. C., S. W. CHANG, G. C. LEE & J. F SHAW. 2007. Enzymatic approach to biodiesel production. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 8995-9005. DOI: 10.1021/jf071724y.
- ALVA, M.S. DE, V.M. LUNA-PABELLO, E. CADENA, & E. ORTÍZ. 2013. Green microalga *Scenedesmus acutus* grown on municipal wastewater to couple nutrient removal with lipid accumulation for biodiesel production. *Bioresource Technology* 146: 744-748. DOI: 10.1016/j. biortech.2013.07.061.
- AMARO, H. M., A. C. GUEDES & F. X. MALCATA. 2011. Advances and perspectives in using microalgae to produce biodiesel. *Applied Energy* 88: 3402-3410. DOI: 10.1016/j.apenergy.2010.12.014.
- ANANDARAJAH, K., G. MAHENDRAPERUMAL, M. SOMMEFELD & H. QIANG. 2012. Characterization of microalga *Nannochloropsis* sp. mutants for improved production of biofuels. *Applied Energy* 96: 371-377. DOI: 10.1016/j.apenergy.2012.02.057
- ARIAS, M. T., A. J. MARTÍNEZ, R. O. CAÑIZARES. 2013. Producción de biodiesel a partir de microalgas: parámetros de cultivo que afectan la producción de lípidos. Acta Biológica Colombiana 18: 1-19.
- ARUDCHELVAM, Y. & N. NIRMALAKHANDAN. 2013. Energetic optimization of microalgal cultivation in photobioreactors for biodiesel production. *Renewable Energy* 56: 77-84. DOI: 10.1016/j.renene.2012.09.042.
- ATABANI, A. E., A. S. SILITONGA, I. A. BADRUDDIN, T. M. I. MAHLIA, H. H. MAS-JUKI & S. MEKHILEF. 2012. A comprehensive review on biodiesel as an alternative energy resource and its characteristics. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 16:2070-2093. DOI: 10.1016/j. rser.2012.01.003.

- BAGCHI, S. K., P. S. RAO & MALLICK, N. 2015. Development of an oven drying protocol to improve biodiesel production for an indigenous chlorophycean microalga *Scenedesmus* sp. *Bioresource Technology* 180: 207–213. DOI: 10.1016/j.biortech.2014.12.092.
- BATISTA, G., G. A. S. SUREK, C. BENICÁ, M. L. CORAZA & E. F. ZANOELO. 2016. Cyclic pressurization assisted extraction of lipids from microalgae for biodiesel production: Non-equilibrium and equilibrium data. *Fuel* 163: 133-138. DOI: 10.1016/j.fuel.2015.09.051.
- BOROWITZKA, M. A. 1992. Algal biotechnology products and processes: matching science and economics. *Journal of Applied Phycology* 7: 3-15. DOI: 10.1007/BF02161212.
- BOROWITZKA, M. A. 1997. Algae for aquaculture: Opportunities and constraints. *Journal of Applied Phycology* 9: 393-401. DOI: 10.1023/A:1007921728300
- BOROWITZKA, M. A. 1999. Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. *Journal of Biotechnology* 70:313-21. DOI: 10.1016/S0168-1656(99)00083-8
- BRENNAN, L & P. OWENDE. 2010. Biofuels from microalgae A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 14: 557-577. DOI: 10.1016/j.rser.2009.10.009
- BUMBAK, F., S. COOK, V. ZACHLEDER, S. HAUSER & K. KOVAR. 2011. Best practices in heterotrophic high-cell-density microalgal processes: achievements, potential and possible limitations. *Applied Microbiology and Biotechnology* 91: 31-46. DOI: 10.1007/s00253-011-3311-6
- CASTILLO-LÓPEZ, B., L. E. CERDÁN, A. ROBLES-MEDINA, E. NAVARRO-LÓPEZ, L. MARTÍN-VALVERDE, E. HITA-PEÑA, P. A. GONZÁLEZ-MORENO & E. MOLINA-GRIMA. 2015. Production of biodiesel from vegetable oil and microalgae by fatty acid extraction and enzymatic esterification. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 119: 706-711. DOI: 10.1016/j.jbiosc.2014.11.002
- CHEALI, P., A. VIMON, K. V. GERNAEY & G. SIN. 2015. Optimal design of algae biorefinery processing networks for the production of protein, ethanol and biodiesel. *In:* K. V. Gernaey, J. K. Huusom & R. Gani (Eds.) *Proceedings of the 25th European Symposium on Computer Aided Process Engineering* 37: 1151-1156. Elsevier Science, Computer-Aided Chemical Engineering. DOI: 10.1016/B978-0-444-63577-8.50037-1
- CHEIRSLIP, B. & TORPEE, S. 2012. Enhanced growth and lipid production of microalgae under mixotrophic culture condition: Effect of light intensity, glucose concentration and fed-batch cultivation. *Bioresource Technology* 110: 510-516. DOI: 10.1016/j.biortech.2012.01.125
- CHI, L., C. YAO., X. CAO. & XUE, S. 2016. Coordinated regulation of nitrogen supply mode and initial cell density for energy storage compounds production with economized nitrogen utilization in a marine microalga *lsochrysis zhangjiangensis. Bioresource Technology* 200: 598-605. DOI: 10.1016/j.biortech.2015.10.059
- CHISTI, Y. 2007. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances* 25: 294-306. DOI: 1016/j.biotechadv.2007.02.001
- CHO, K., K. KIM, N. LIM, M. KIM, J. HA, H. Ho & S. WOON. 2015. Enhanced biomass and lipid production by supplement of myo-inositol with oceanic microalga *Dunaliella salina*. *Biomass and Bioenergy* 72: 1-7. DOI: 10.1016/j.biombioe.2014.11.014

- DAI, Y. M., CHEN, K. T. & CHEN, C. C. 2014. Study of the microwave lipid extraction from microalgae for biodiesel production. *Chemical Engineering Journal* 250: 267–273. DOI: 10.1016/j.cej.2014.04.031
- DALMAS-NETO, C. J., E. BITTENCOURT-SYDNEY, R. ASSMANN, D. C. NETO & C. R. SOCCOL. 2014. Production of Biofuels from Algal Biomass by Fast Pyrolysis. *In*: Pandey, A., D-J. Lee, Y. Chisti & C.R. Soccol (Eds.). *Biofuels from Algae*, Elsevier, pp. 143-153
- DURAIARASAN, S., S. A. RAZACK, A. MANICKAM, A. MUNUSAMY, M. B. SYED, M. Y. ALI, G.M. AHMED & MD. S. MOHIUDDIN. 2016. Direct conversion of lipids from marine microalga *C. salina* to biodiesel with immobilized enzymes using magnetic nanoparticle. *Journal of Environmental Chemical Engineering* 4: 1393-1398. DOI: 10.1016/j.jece.2015.12.030
- FENG, P., K. YANG, Z. XU, Z. WANG, L. FAN, L. QIN & S. ZHU. 2014. Growth and lipid accumulation characteristics of *Scenedesmus obliquus* in semi-continuous cultivation outdoors for biodiesel feedstock production. *Bioresource Technology* 173: 406-414. DOI: doi.org/10.1016/j. biortech.2014.09.123
- FENG, P., Z. DENG, Z. HU & L. FAN. 2011. Lipid accumulation and growth of *Chlorella zofingiensis* in flat plate photobioreactors outdoors. *Bioresource Technology* 102: 10577-10584. DOI: 10.1016/j.biortech.2011.08.109.
- FLISAR, K., M. S. HABERL, J. MORELJ, J. GOLOB & D. MIKLAVCIC. 2014. Testing a prototype pulse generation for a continuous flow system and its use for *E.coli* inactivation and microalgae lipid extraction. *Bioelectrochemistry* 100: 44-51. DOI: 10.1016/j.bioelechem.2014.03.008
- FREIRE, D. M. G., J. S. DE SOUSA, & E. A. CAVALCANTI-OLIVEIRA. 2011. Biotechnological methods to produce biodiesel. *In*: A. Pandey, C. Larroche, S. C. Ricke, C.-G. Dussap & E. Gnansounou (Ed.) *Biofuels. Alternative Feedstocks and Conversion Processes*, Academic Press, San Diego, pp. 315-337. DOI: 10.1016/B978-0-12-385099-7.00014-0
- FRUMENTO, D., A. A. CASAZZA, S. AL ARNHI & A. CONVERTI. 2013. Cultivation of *Chlorella vulgaris* in tubular photobioreactors: A lipid source for biodiesel production. *Biochemical Engineering Journal* 81: 120-125. DOI: 10.1016/j.bej.2013.10.011
- GARIBAY, A., R. VÁZQUEZ-DUHALT, M. P. SÁNCHEZ, L. SERRANO & A. MARTÍNEZ. 2009. Biodiesel a partir de microalgas. *BioTecnología* 13: 38-61
- GOG, A., M. ROMAN, M. TOS, C. PAIZS & F. DAN. 2012. Biodiesel production using enzymatic transesterification. *Current State and Perspectives* 39: 10–16. DOI: 10.1016/j.renene.2011.08.007
- GOUVEIA, L. & A.C. OLIVEIRA. 2009. Microalgae as a raw material for biofuels production. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 36: 269-274. DOI: 10.1007/s10295-008-0495-6
- GUI, X., G. WANG, X. Li & Y. YAN. 2014. Fungus-assisted mild acid pretreatment of *Glycyrrhiza uralensis* residues to enhance enzymatic hydrolysis and oil production by green microalgae *Chlorella protothecoides*. Industrial Crops and *Products* 62: 466-473. DOI: 10.1016/j.indcrop.2014.09.024
- GULDHE, A., P. SINGH, S. KUMARI, I. RAWAT, K. PERMAUL & BUX, F. 2016. Biodiesel synthesis from microalgae using immobilized *Aspergillus niger* whole cell lipase biocatalyst. *Renewable Energy* 85: 1002-1010. DOI: 10.1016/j.renene.2015.07.059

- GUSCHINA, I. A. & J. L. HARWOOD. 2006. Lipids and lipid metabolism in eukaryotic algae. *Progress in Lipid Research* 45: 160-186. DOI: 10.1016/j.plipres.2006.01.001
- HALIM, R., M. K. DANQUAH & P. A. WEBLEY. 2012. Extraction of oil from microalgae for biodiesel production: A review. *Biotechnology Advances* 30: 709-732. DOI: 1016/j.biotechadv.2012.01.001
- HAN, F., H. PEI, W. HU, L. JIANG, J. CHENG & L. ZHANG. 2016. Beneficial changes in biomass and lipid of microalgae *Anabaena variabilis* facing the ultrasonic stress environment. *Bioresource Technology* 209: 16-22. DOI: 10.1016/j.biortech.2016.02.103
- HARWOOD, J. L & I. A. GUSCHINA. 2009. The versatility of algae and their lipid metabolism. *Biochimie* 91: 679-684. DOI: 10.1016/j.biochi.2008.11.004
- HIDALGO, P., G. CIUDAD & R. NAVIA. 2016. Evaluation of different solvent mixtures in esterifiable lipids extraction from microalgae *Botryococcus braunii* for biodiesel production. *Bioresource Technology* 201: 360-364. DOI: 10.1016/j.biortech.2015.11.031
- Hu, Q., M. Sommerfeld, E. Jarvis, M. Ghirardi, M. Posewitz, M. Seibert & A. Darzins. 2008. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances. *The Plant Journal* 54: 621-639. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2008.03492.x
- Hwa, S. T., Y. H. TAUFIQ-YAP & F. L. Ng. 2014b. Alumina supported/unsupported mixed oxides of Ca and Mg as heterogeneous catalysis for transesterification of *Nannochloropsis sp.* Microalga's oil. *Energy Conversion and Managenment* 88:1193-1199. DOI: 10.1016/j.enconman.2014.04.049.
- Hwa, S., A. Islam, T. Yusaf & Y. Hin. 2014a. Transesterification of *Nannochloropsis oculata* microalga's oil to biodiesel using calcium methoxide catalyst. *Energy* 78: 63-71. DOI: 10.1016/j.energy.2014.07.045.
- JAIMES-DUARTE, D. L., W. SOLER-MENDOZA, J. VELASCO-MENDOZA, Y. MUÑOZ-PAÑALOZA & N. A. URBINA-SUÁREZ. 2012. Characterization *Chlorophyta* microalgae with potential in the production of lipid for biofuels. *Ciencia Tecnología y Futuro* 5: 93-102.
- JI, F., Y. ZHOU, A. PANG, L. NING, K. RODGERS, Y. LIU & R. DONG. 2015. Fed-batch cultivation of *Desmodesmus* sp. in anaerobic digestion wastewater for improved nutrient removal and biodiesel production. *Bioresource Technology* 184: 116-122. DOI: 10.1016/j.biortech.2014.09.144.
- KIM, G., J. BAE & K. LEE. 2016. Nitrate repletion strategy for enhancing lipid production from marine microalga *Tetraselmis* sp. *Bioresource Technology* 205: 274-279. DOI: 10.1016/j.biortech.2016.01.045.
- KLOK, A. J., D. E. MARTENS, R. H. WIJFFELS & P. P. LAMERS. 2013. Simultaneous growth and neutral lipid accumulation in microalgae. *Bioresource Technology* 134: 233-243. DOI: 10.1016/j.biortech.2013.02.006.
- KOLLER, M., A. SALERNO, P. TUFFNER, M. KOINIGG, H. BÖCHZELT, S. SCHOBER, S. PIEBER, H. SCHNITZER, M. MITTELBACH & G. BRAUNEGG. 2012. Characteristics and potential of micro algal cultivation strategies: a review. *Journal of Cleaner Production* 37: 377-388. DOI: 10.1016/j.jclepro.2012.07.044.
- KONG, Q., L. LI, B. MARTINEZ, P. CHEN & R. RUAN. 2010. Culture of Microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* in Wastewater for Biomass Feedstock Production. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 160: 9-18. DOI: 10.1007/s12010-009-8670-4.

- LA RUSSA, M., C. BOGEN, A. UHMEYER, A. DOEBBE, E. FILIPPONE, O. & KRUSE, J.H. MUSSGNUM. 2012. Functional analysis of three type-2 DGAT homologue genes for triacylglycerol production in the green microalga *Chlamydomonas reinhardtii. Journal of Biotechnology* 162:13-20. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2012.04.006.
- LEE, A. K., D. M. LEWIS & P.J. ASHMAN. 2012. Disruption of microalgal cells for the extraction of lipids for biofuels: processes and specific energy requirements. *Biomass and Bioenergy* 46: 89-101. DOI: 10.1016/j.biombioe.2012.06.034.
- LEMOINE, Y. & B. SCHOEFS. 2010. Secondary ketocarotenoid astaxanthin biosynthesis in algae: a multifunctional response to stress. *Photosynthe*sis Research 106: 155-177. DOI: 10.1007/s11120-010-9583-3.
- LI, T., Y. ZHENG, L. YU & S. CHEN. 2013. High productivity cultivation of a heat-resistant microalga *Chlorella sorokiniana* for biofuel production. *Bioresource Technology* 131: 60-67. DOI: 10.1016/j.biortech.2012.11.121.
- LI, Y.R., M-F. SHUE, Y-C. HSU, W-L. LAI & J-J. CHEN. 2014. Application of factorial design methodology for optimization of transesterification reaction of microalgae lipids. *Energy Procedia* 52: 377-382. DOI: 10.1016/j.egypro.2014.07.089.
- LI, Z., H. YUAN, J. YANG & B. LI. 2011. Optimization of the biomass production of oil algae *Chlorella minutissima* UTEX2341. *Bioresource Technology* 102: 9128-9134. DOI: 10.1016/j.biortech.2011.07.004.
- LIU, J., Z. SUN, Y. ZHONG, H. GERKEN, J. HUANG & F. CHEN. 2013. Utilization of cane molasses towards cost-saving astaxanthin production by a *Chlorella zonfingiensis* mutant. *Journal of Applied Phycology* 25: 1447-1456. DOI: 10.1007/s10811-013-9974-x.
- LIU, T., Y. LI. F. LIU & C. WANG. 2016. The enhanced lipids accumulation in oleaginous microalga by the potential contiunous nitrogen-limitation (CNL) strategy. *Bioresource Technology* 203: 150-159. DOI: 10.1016/j.biortech.2015.12.021.
- LOWREY, J., M. S. BROOKS & P. J. McGINN. 2015. Heterotrophic and mixotrophic cultivation of microalgae for biodiesel production in agricultural wastewaters and associated challenges-a critical review. *Journal of Applied Phycology* 27: 1485-1498. DOI: 10.1007/s10811-014-0459-3.
- Macías-Sánchez, M. D., A. Robles-Medina, E. Hita-Peña, M.J. Jiménez-Calle-Jón, L. Estéban-Cerdán, P. A. González-Moreno & E. Molina-Grima. 2015. Biodiesel production from wet microalgal biomass by direct transesterification. *Fuel* 150: 14-20. DOI: 10.1016/j.fuel.2015.01.106.
- MATHIMANI, T., L. UMA & D. PRABAHARAN. 2015. Homogeneous acid catalysed transesterification of marine microalga *Chlorella sp.* BDUG 91771 lipid. An efficient biodiesel yield and its characterization. *Renewable Energy* 81: 523-533. DOI: 10.1016/j.renene.2015.03.059.
- MENG, X., G. Xu, Q-L. ZHOU, J-P. WU & L-R.YANG. 2014. Highly efficient solvent-free synthesis of 1-3-diacylglycerol by lipase immobilised on nano-sized magnetite particles. *Food Chemistry* 143: 319-324. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.07.132
- MORALES-SÁNCHEZ, D., R. TINACO-VALENCIA, M. A. CARO-BERMÚDEZ, A. MARTINEZ, 2014. Culturing *Neochloris oleabundans* microalga in a nitrogenlimited, heterotrophic fed-batch system enhance lipid and carbohydrate accumulation. *Algal Research* 5: 61-69. DOI: 10.1016/j. algal.2014.05.006.

- Mu, J., S. Li, D. CHEN, H. Xu, F. HAN, B. FENG & Y. Li. 2015. Enhanced biomass and oil production from sugarcane bagasse hydrolysate (SBH) by heterotrophic oleaginous microalga *Chlorella protothecoides. Bioresource Technology* 185: 99-105. DOI: 10.1016/j.biortech.2015.02.082.
- Mulders, K. J. M., P. P. Lamers, D. E. Martens & R. H. Wijffels. 2014. Phototrophic pigment production with microalgae: biological constraints and opportunities. *Journal of Phycology* 50: 229-242. DOI: 10.1111/jpy.12173.
- MURRAY, K. E., J. A. SHIELDS, N. D. GARCIA & F. G. HEALY. 2012. Productivity, carbon utilization, and energy content of mass in scalable microalgae systems. *Bioresource Technology* 114: 499-506. DOI: 10.1016/j.biortech.2012.03.012.
- NAKANISHI, A., S. AIKAWA, S. Ho, C. CHEN & J. CHANG. 2014. Development of lipid productivities under different CO₂ conditions of marine microalgae *Chlamydomonas* sp. JSC4. *Bioresource Technology1* 52: 247-252. DOI: 10.1016/j.biortech.2013.11.009.
- NAVARRO-LÓPEZ, E., A. ROBLES-MEDINA, P.A. GONZÁLEZ-MORENO, M.J. JIMÉNEZ-CA-LLEJÓN, L. E. CERDÁN, L. MARTÍN-VALVERDE, B. CASTILLO-LÓPEZ & E. MOLINA-GRIMA. 2015. Enzymatic production of biodiesel from *Nannochlorop*sis gaditana lipids: Influence of operational variables and polar lipid content. *Bioresource Technology* 187: 346-353. DOI: 10.1016/j. biortech.2015.03.126.
- NETO A. M. P., R. A. S. DE SOUZA, A. D. LEON-NINO, J. D. A. DA COSTA, R. S. TIBURCIO, T. A. NUNES, T. C. S. DE MELLO, F. T. KANEMOTO, F. M. P. SALDANHA-CORREA, & S. M. F. GIANESELLA. 2013. Improvement in microalgae lipid extraction using a sonication-assisted method. *Renewable Energy* 55: 525-531. DOI: 10.1016/j.renene.2013.01.019.
- NOBRE, B. P., F. VILLALOBOS, B. E. BARRAGÁN, A. C. OLIVEIRA, A. P. BATISTA, P. A. S. S. MARQUES & L. GOUVEIA. 2013. A biorefinery from *Nannochloropsis sp.* microalga. Extraction of oils and pigments. Production of biohydrogen from the leftover biomass. *Bioresource Technology* 135: 128-136. DOI: 10.1016/j.biortech.2012.11.084.
- OGNJANOVIC, N., D. BEZBRADICA & Z. KNEZEVIC-JUGOVIC. 2009. Enzymatic conversion of sunflower oil to biodiesel in a solvent-free system: process optimization and the immovibilized system stability. *Bioresource Technology* 100: 5146-5154. DOI: 10.1016/j.biortech.2009.05.068.

- OLGUÍN, E. J. 2012. Dual purpose microalgae-bacteria-based systems that treat wastewater and produce biodiesel and chemical products within a Biorefinery. *Biotechnology Advances* 30: 1031-1046. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2012.05.001.
- OLGUÍN, E. J., A. MENDOZA, R. E. GONZÁLEZ-PORTELA & E. NOVELO. 2013. Population dynamics in mixed cultures of *Neochloris oleoabundans* and native microalgae from water of a polluted river and isolation of a diatom consortium for the production of lipid rich biomass. *New Biotechnology* 30: 705-715. DOI: 10.1016/j.nbt.2013.03.003.
- OLGUÍN, E. J., E. DORANTES, O. S. CASTILLO & V. J. HERNÁNDEZ-LANDA. 2015b. Anaerobic digestates from vinasse promote growth and lipid enrichment in *Neochloris oleoabundans* cultures. *Journal of Applied Phycology* 27: 1813-1822. DOI: 10.1007/s10811-015-0540-6.

OHLROGGE, J. & J. BROWSE. 1995. Lipid biosynthesis. Plant Cell 7: 957-970.

- OLGUÍN, E. J., O. S. CASTILLO, A. MENDOZA, K. TAPIA, R. E. GONZÁLEZ-PORTELA & V.J. HERNÁNDEZ-LANDA. 2015a. Dual purpose system that treats anaerobic effluents from pig waste and produce *Neochloris oleoabundans* as lipid rich biomass. *New Biotechnology* 32: 387-395. DOI: 10.1016/j. nbt.2014.12.004.
- ORTIZ, R. W. P, C, BENINCÁ & E. F. ZANOELO. 2015. Cyclically pressurized extraction of solutes from ground coffee: kinetic experiments and modeling. *Separation and Purification Technology* 141: 256-62. DOI: 10.1016/j.seppur.2014.12.004.
- PALOMINO, A., C. ESTRADA & J. LÓPEZ. 2010. Microalgas: potencial para la producción de biodiesel. In. O. R. Ribeiro & R. W. da Costa (Ed). *Memoria* in extenso *IV Congresso Brasileiro de Mamona e I Simpósio Internacional de Oleaginosas Energéticas*, EMBRAPA, João Pessoa pp. 149-157.
- PIEBER, S., S. SCHOBER & M. MITTELBACH. 2012. Pressurized fluid extraction of polyunsaturated fatty acids from the microalga *Nannochloropsis oculata. Biomass and Bioenergy* 47: 474-482. DOI: 10.1016/j. biombioe.2012.10.019.
- RASHID, N., M.S.U. REHMAN, M. SADIO, T. MAHMOOD & J. I. HAN. 2014. Current status, issues and developments in microalgae derived biodiesel production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 40: 760-778. DOI: 10.1016/j.rser.2014.07.104.
- RATTANAPOLTEE, P. & P. KAEWKANNETRA. 2014. Cultivation of microalga, *Chlorella vulgaris* under different auto-hetero-mixo trophic growths as a raw material during biodiesel production and cost evaluation. *Energy* 78: 4-8. DOI: 10.1016/j.energy.2014.06.049.
- REN, H-Y., B-F. LUI, F. KONG, L. ZHAO, G. J. XIE & N-Q. REN. 2014. Enhanced lipids accumulation of green microalga *Scenedesmus* sp. by metal ions and EDTA addition. *Bioresource Technology* 169: 763-767. DOI: 10.1016/j.biortech.2014.06.062.
- Robles-Medina, A., P. A. GONZÁLEZ-MORENO, L. ESTEBAN-CERDÁN & E. MOLINA-GRIMA. 2009. Biocatalysis: Towards ever greener biodiesel production. *Biotechnology Advances* 27: 398-408. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2008.10.008.
- ROBLES-PLIEGO, M., E. J. OLGUÍN, J. HERNÁNDEZ-LANDA, R. E. GONZÁLEZ-PORTELA, G. SÁNCHEZ-GALVÁN & F. CUERVO-LÓPEZ. 2015. Dual purpose system for water treatment from a polluted river and the production of *Pistia stratiotes* biomass within a biorefinery. *Clean Soil Air Water* 43: 1445-1558.
- SANTOS, A. M., P. P. LAMERS, M. JANSSEN & R. H. WIJFFELS. 2013. Biomass and lipid productivity of *Neochloris oleoabundans* under alkaline – saline conditions. *Algal Research* 2: 204-211. DOI: 10.1002/ clen.201400222.
- SCHENK, P. M., S. THOMAS-HALL, E. STEPHENS, U. C. MARX, J. H. MUSSGNUG & C. POSTEN. 2008. Second generation biofuels: high-efficiency microalgae for biodiesel production. *Bioenergy Resource* 1: 20-43. DOI: 10.1007/s12155-008-9008-8.
- SEO, Y. H., M. SUNG, Y. K. OH & J. I. HAN. 2015. Lipid extraction and esterification for microalgae-based biodiesel production using pyrite (FeS2). *Bioresource Technology* 191: 420-425. DOI: 10.1016/j.biortech.2015.02.083.

- SIBI, G., V. SHETTY & K. MOKASHI. 2015. Enhanced lipid productivity approaches in microalgae as an alternate for fossil fuels, a review. *Journal* of the Energy Institute 89 :1–5. DOI: 10.1016/j.joei.2015.03.008.
- SINGH, P., A. GULDHE, S. KUMARI, I. RAWAT & F. BUX. 2015. Investigation of combined effect of nitrogen, phosphorus and iron on lipid productivity of microalgae *Ankistrodesmus falcatus* KJ671624 using response surface methodology. *Biochemical Engineering Journal* 94: 22-29. DOI: 10.1016/j.bej.2014.10.019.
- ŞIRIN, S. & M. SILLANP. 2015. Cultivating and harvesting of marine alga Nannochloropsis oculata in local municipal wastewater for biodiesel. Bioresource Technology 191: 79-87. DOI: 10.1016/j.biortech.2015.04.094.
- SLADE, R. & A. BAUEN. 2013. Microalgae cultivation for biofuels: Cost, energy balance, environmental impacts and future prospects. *Biomass* and *Bioenergy* 53: 29–38. DOI:10.1016/j.biombioe.2012.12.019.
- SOLANA, M., C. S. RIZZA & A. BERTUCO. 2014. Exploiting microalgae as a source of essential fatty acids by supercritical fluids extractions of lipids: comparison between *Scenedesmus obliquus*, *Chlorella protothecoides* and *Nannochlorospsis salina*. *The Journal of Supercritical Fluids* 92: 311-318. DOI: 10.1016/j.supflu.2014.06.013.
- SUARSINI, E. & SUBANDI. 2011. Utilization ultrasonic to increase the efficiency of oil extraction for microalgae indigenous isolates from pond gresik, east java. *In: Proceedings of the 2011 IEEE Conference on Clean Energy and Technology (CET)*, pp. 275-279. DOI: 10.1109/ CET.2011.6041496
- SURENDHIRAN, D., M. VIJAY & A. R. SIRAJUNNISA. 2014. Biodiesel production from marine microalga *Chlorella salina* using whole cell yeast immobilized on sugarcane bagasse. *Journal of Environmental Chemical Engineering* 2: 1294-1300. DOI: 10.1016/j.jece.2014.05.004.
- SYDNEY, B. E., W. STURM., J.C DE CARVALHO., V. THOMAZ-SOCCOL., C. LARROCHE., A.PANDEY. & R. C. SOCCOL. 2010. Potential carbon dioxide fixation by industrially important microalgae. *Bioresource Technology* 101, 5892-5896. DOI: 10.1016/j.biortech.2010.02.088.
- TAHER, H., S. AL-ZUHAIR, A. H. AL-MARZOUQI, Y. HAIK & M. FARID. 2014. Effective extraction of microalgae lipids from wet biomass for biodiesel production. *Biomass and Bioenergy* 66: 159-167. DOI: 10.1016/j. biombioe.2014.02.034.
- TANG, D., W. HAN, P. LI, X. MIAO & J. ZHONG. 2011. CO₂ biofixation and fatty acid composition of *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa* in response to different CO₂ levels. *Bioresource Technology* 102: 3071-3076. DOI: 10.1016/j.biortech.2010.10.047.
- TRIPATHI, R., J. SINGH & T. I. SHEHAR. 2015. Characterization of microalga Scenedesmus sp. ISTGA1 for potential CO₂ sequestration and biodiesel production. *Renewable Energy* 74: 774-781. DOI: 10.1016/j. renene.2014.09.005.
- TRIVEDI, J., M. AILA, D. P. BANGWAL, S. KAUL & M. O. GARG. 2015. Algae based biorefinery-How to make sense? *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 47: 295-307. DOI: 10.1016/j.rser.2015.03.052.
- VONORTAS, A. & N. PAPAYANNAKOS. 2014. Comparative analysis of biodiesel versus green diesel. Wiley Interdisciplinary Reviews: *Energy and Environment* 3: 3-23. DOI: 10.1002/wene.78.

- WANG, X., J. LIANG, C. LUO, C. CHEN & Y. GAO. 2014. Biomass, total lipid production and fatty acid composition of the marine diatom *Chaetoceros muelleri* in response to different CO₂ levels. *Bioresource Technology* 161: 124-130. DOI: 10.1016/j.biortech.2014.03.012.
- WIJFFELS, R. H. & M. J. BARBOSA. 2010. An outlook on microalgal biofuels. *Science* 329: 796-799. DOI: 10.1126/science.1189003.
- WIJFFELS, R. H., M. J BARBOSA & M. H. M EPPINK. 2010. Microalgae for the production of bulk chemicals and biofuels. *Biofuels Products & Biorefinering* 4: 287-295. DOI: 10.1002/bbb.215.
- XIA, L., S. SONG, Q. HE, H. YANG & C. HU. 2014. Selection of microalgae for biodiesel production in a scalable outdoor photobioreactor in north China. *Bioresource Technology* 174: 274-280. DOI: 10.1016/j. biortech.2014.10.008.
- XUE, J., Y. NIU, T. HUANG, W. YANG, J. LIU & H. LI. 2015. Genetic improvement of the microalga *Phaeodactylum tricornutum* for boosting neutral lipid accumulation. *Metabolic Engineering* 27: 1-9. DOI: 10.1016/j. ymben.2014.10.002.

- YAN, Y., X. Li, G. WANG, X. Gui, G. Li, F. Su & T. Liu. 2014. Biotechnological preparation of biodiesel and its high-valued derivatives: A review. *Applied Energy* 113: 1614-1631. DOI: 10.1016/j.apenergy.2013.09.029.
- YEN, H., HU, I., CHEN, C & CHANG, J. 2014. Design of Photobioreactors for Algal Cultivation. *In:* Pandey, A., D-J. Lee, Y. Chisti & C.R. Soccol (Eds.). *Biofuels from Algae* ELsevier. pp. 23-45.
- YU, W-L., W. ANSARI., N.G SCHOEP, N.G., M. J. HANNON, S. P. MAYFIELD & M.D. BURKART. 2011. Modifications of the methabolic phatway of lipids and tryacylglicerol production in microalgae. Microbial Cell Factories 10: 1-11. DOI: 10.1186/1475-2859-10-91.
- ZHANG, Y., Y. LIU, X. CAO, P. GAO, X. LIU, X. WANG, J. ZHANG, J. ZHOU, S. XUE, G. XU & J. TIAN. 2016. Free amino acid and small molecular acids profiling of marine microalga *Isochrysis zhangjiangenesis* under nitrogen deficiency. *Algal Research* 13: 207-2017. DOI: 10.1016/j. algal.2015.12.001.
- ZHU, J., J. RONG & B. ZONG. 2013. Factors in mass cultivation of microalgae for biodiesel. *Chinese Journal of Catalysis* 34: 80-100. DOI: 10.1016/S1872-2067(11)60497-X.

Efecto de la lixiviación de heces sobre los coeficientes de digestibilidad aparente en camarón blanco del Pacífico (Litopenaeus vannamei)

Effect of feces leaching on apparent digestibility coefficients of Pacific white shrimp (Litopenaeus vannamei)

David Alonso Villarreal-Cavazos¹, Lucia Elizabeth Cruz-Suárez¹, Mireya Tapia-Salazar¹, Martha Nieto-López¹, Julián Gamboa-Delgado¹, Andreas Lemme² y Denis Ricque-Marie¹

¹ Programa Maricultura, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, 66455.México ² Evonik Degussa GmbH, Rodenbacher Chaussee 4, D_63457 Hanau (Wolfgang).Germany e-mail: david.villarrealcv@uanl.edu.mx

Recibido: 25 de octubre de 2015. Aceptado: 9 de julio de 2017.

Villarreal-Cavazos D. A., L. E. Cruz-Suárez, M. Tapia-Salazar, M. Nieto-López, J. Gamboa-Delgado, A. Lemme y D. Ricque-Marie. 2017. Efecto de la lixiviación de heces sobre los coeficientes de digestibilidad aparente en camarón blanco del Pacífico (*Litopenaeus vannamel*). *Hidrobiológica* 27 (3): 353-357.

RESUMEN

Antecedentes. Debido a que no existen estudios sobre el lixiviación de nutrientes de las heces de camarón *Litopenaeus vannamei*, se diseñó el presente estudio. **Objetivos.** Estimar la pérdida de nutrientes de las heces del camarón blanco del Pacífico (*Litopenaeus vannamei*). **Métodos.** Se utilizaron 15 juveniles de 4.9 \pm 1.0 g de peso por cada uno de cuatro acuarios replicados por tratamiento. En un ensayo de alimentación con una dieta de referencia comercial, la cual fue reprocesada para añadir 1% de óxido de cromo como marcador inerte y 1% de alginato de sodio (aglutinante). El tratamiento 1(T1) consistió en que las heces permanecieron en agua marina durante 3 horas después de su colecta, mientras en el tratamiento 2 (T2), las heces fueron colectadas y congeladas inmediatamente después de su emisión. Además existió alternancia de los tratamientos en las réplicas. **Resultados.** El contenido de materia seca (MS), proteína cruda (PC) y aminoácidos totales en heces fue muy similar para los dos tratamientos. El mismo efecto se presentó para los coeficientes de digestibilidad aparente de MS, PC y AA) de las heces de camarones no se ve afectada por efecto del tiempo de colecta en un lapso igual o menor a 3 horas después de su emisión y por lo tanto, no es necesario ajustar los coeficientes de digestibilidad aparente de materia seca, proteína cruda y aminoácidos.

Palabras clave: Digestibilidad, heces, Litopenaeus vannamei, lixiviación.

ABSTRACT

Background. There are no studies on nutrient leaching from feces in shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Goals.** Estimate the nutrient loss in feces from the Pacific white shrimp. **Methods.** A bioassay was conducted in order to evaluate the effect of collection time on nutrient loss in feces. Dry matter (DM), crude protein (CP), amino acids (AA), and concentration of chromic oxide (Cr_2O_3) were measured in feces. Fifteen juveniles of Pacific white shrimp having an average weight of 4.9 \pm 0.1 g were distributed in 4 replicate aquariums per treatment. Shrimp were fed with a reference diet (commercial diet) that was previously reprocessed to add 1% chromic oxide as an inert marker and 1% sodium alginate (binder). Treatment 1(T1) consisted of leaving the feces in seawater for 3 hours after collection. In addition, there was alternation between the treatments in the replicates. In the second treatment, feces were immediately collected and frozen after they were emitted (T2). **Results.** The content of DM, CP, and total amino acids in feces for both treatments was similar. The same result was observed for the apparent digestibility coefficients of DM, CP, and total amino acids. **Conclusions.** Based on these results, we can infer that under the conditions of this experiment, nutrient leaching from juvenile *Litopenaeus vannamei* feces is not affected by collection time in a period equal or less than 3 hours after emission and, therefore, there is no effect on the estimation of the apparent digestibility coefficients of DM, CP, and amino acids.

Key words: Digestibility, feces, leaching, Litopenaeus vannamei.

INTRODUCCIÓN

El camarón blanco (Litopenaeus vannamei, Bonne, 1931) es la especie que más se cultiva a nivel mundial, por lo que ha superado a la producción pesquera. La industria del cultivo de camarón busca producir biomasa con máximos rendimientos al costo mínimo; en este aspecto, el uso de alimentos balanceados altamente digestibles puede meiorar la producción de camarón e incrementar las utilidades, además de reducir considerablemente la contaminación ambiental. En este sentido. el precio del alimento es uno de los factores que más repercuten sobre los costos variables de producción en las granjas acuícolas, donde este insumo llega a representar entre 40 y 60% (Reyes, 1998). Por lo tanto, la calidad y el costo del alimento son factores críticos para la rentabilidad de una granja camaronera. La determinación de la digestibilidad aparente de los nutrientes y alimentos en organismos acuáticos puede ser afectada por una estimación errónea de la cantidad de los nutrientes defecados, en particular, cuando estos nutrientes se lixivian durante el tiempo que las heces permanecen en el agua antes de ser recolectadas. Este efecto puede generar una subestimación de la cantidad de nutrientes en las heces y por lo tanto, una sobreestimación del valor de la digestibilidad aparente (Ricque et al., 2006).

Considerando lo anterior, existen muchos estudios sobre la digestibilidad aparente de nutrientes en camarones. En algunos de ellos se considera la lixiviación de nutrientes en los pellets para ajustar los coeficientes de digestibilidad aparente (Ricgue et al., 2006; Cruz-Suárez et al., 2009; Nieto-López et al., 2011, Villarreal-Cavazos et al., 2014). Sin embargo, en términos de lixiviación de nutrientes en las heces y con ajustes en los cálculos de digestibilidad aparente, sólo existen dos estudios: Fenucci et al. (1982) realizaron el primero, con camarón azul del Pacífico (Penaeus stylirostris Stimpson, 1874); mientras que el segundo lo llevaron a cabo Smith y Tabrett (2004) con camarón tigre negro (Penaeus monodon Fabricius, 1798). En cuanto al camarón blanco del Pacífico, no existe información disponible en este tema, por lo que el objetivo del presente estudio fue evaluar dos tiempos de colecta de heces y determinar sus efectos sobre la pérdida de materia seca (PMS), proteína cruda (PPC) y aminoácidos (PAA) de las heces de juveniles de Litopenaeus vannamei.

MATERIALES Y MÉTODOS

Elaboración de dieta experimenta. La dieta de referencia consistió en un alimento balanceado tipo comercial (Tabla 1), formulado y fabricado por la compañía Alimentos Costamar. El alimento fue molido y tamizado a 250 µm, para después ser mezclado con un marcador inerte (1% de óxido de cromo, Impex Continental lote 52-0305) y 1% de aglutinante (alginato de sodio, Aldrich-180947). La dieta se reconstituyó de acuerdo con la metodología descrita por Villarreal-Cavazos *et al.* (2011). Los ingredientes se incorporaron en una mezcladora KitchenAid durante 10 min, y luego de agregar agua tibia (30%), durante 15 min se procesó la mezcla en un molino de carne (Torrey) con un dado con perforaciones de 1.6 mm de diámetro. El tiempo requerido para el procesado de la dieta fue de 40 min/kg⁻¹, alcanzando temperaturas de 75-80°C. Para secar los extrudidos se utilizó un horno ventilado a 100°C durante 8 min y permanecieron a temperatura ambiente durante una noche para finalmente almacenarlos a 4°C hasta su uso.

Animales y acuarios experimentales. En este estudio se utilizaron 15 juveniles de camarón blanco del Pacífico (*L. vannamei*) con una talla promedio de 4.9 ± 1.0 g por cada acuario.

Los organismos provinieron de la compañía mexicana Maricultura del Pacífico (Mazatlán, Sinaloa). Se utilizaron 4 acuarios experimentales de 120 I en un sistema de recirculación de agua marina sintética con capacidad de 9 toneladas métricas. Éste contó con un sistema de recirculación "air lift" (por acuario), un filtro biológico de contacto rotativo, un filtro de carbón activado, filtros de cartucho de 50 micras, un filtro de perlas BBF2 (Aquaculture Systems Technology LLC, New Orleans LA, EUA), un filtro de luz ultravioleta y tres fraccionadores de espuma.

Diseño experimental. La prueba se basó en dos tratamientos representados por diferentes tiempos de permanencia de las heces en agua. Cada tratamiento experimental consistió de cuatro acuarios replicados (réplicas biológicas) distribuidos de la siguiente forma: se destinaron 2 para el tiempo 1 y los dos restantes para el tiempo 2. Al día siguiente los acuarios se alternaron de tratamiento; de tal manera que cada tiempo de colecta obtuvo 4 réplicas biológicas. En cada caso se utilizó un diseño completamente aleatorio y cada análisis químico se realizó por cuadruplicado (réplicas analíticas).

El tratamiento 1 (T1) consistió en realizar tres colectas de heces. La primera iniciaba una hora después de la alimentación, y las dos co-

Tabla 1. Composición proximal y contenidos de aminoácidos (% base seca) de la dieta experimental para camarón blanco del Pacífico.

Composición dieta	DR
Proteína cruda (Nx6.25)	34.8
Lípidos	9.6
Fibra	3.2
Cenizas	11.8
Extracto libre de nitrógeno	40.7
Arginina	2.01
Fenilalanina	1.5
Histidina	0.8
Isoleucina	1.3
Leucina	2.3
Lisina	1.9
Metionina	0.7
Treonina	1.3
Valina	1.6
Suma de AAE	13.4
Ácido Aspártico	2.9
Ácido Glutámico	6.1
Alanina	1.8
Cistina	0.4
Glicina	2.1
Prolina	2.2
Serina	1.4
Suma de AAT	30.4

DR: dieta de referencia; AAE: aminoácidos esenciales; AAT: aminoácidos totales.

lectas adicionales fueron realizadas con un intervalo de una hora entre ellas. La recolección de heces fue por sifoneo a una cubeta de 2 litros. Posteriormente, las heces se trasladaron por gravedad a canastillas de unicel (500 ml) donde fueron seleccionadas (pipetas plásticas de succión de 2 ml). Se eliminaron los restos de alimento, heces amarillas y cafés, colectando únicamente las heces verdes, que permanecían en su canastilla de unicel con un poco de agua marina en refrigeración a 4°C durante 3 horas.

El mismo procedimiento se repitió para la segunda colecta correspondiente a la misma alimentación (se utilizó una canastilla de unicel por cada colecta). Al terminar con la tercera colecta, las heces fueron lavadas (dos veces) con agua destilada para eliminar el exceso de sales, ya que éstas pueden interferir con los análisis posteriores, y finalmente se concentraron en un frasco de plástico con tapa y se congelaron a -20°C hasta su procesamiento.

En el tratamiento 2 (T2) la recolección de las heces de la primera ración comenzó 15 minutos después de la primera alimentación y siguió con intervalos de 15 minutos. La segunda ración de heces se recolectaron con el mismo intervalo. La recolección de heces se realizó por succión directa del acuario utilizando una micropipeta de succión. Se seleccionaron sólo las heces de color verde, se lavaron inmediatamente en agua destilada para ser concentradas sin agua en un frasco de plástico con tapa, el cual permaneció en hielo durante las colectas y después fue congelado inmediatamente a una temperatura de -20°C.

La dieta experimental fue ofrecida *ad libitum*. Se inició con el 10% de la biomasa de cada acuario, cantidad que fue dividida en dos raciones por día (50% de la ración diaria cada una); la primera se ofreció a las 9:00 y la segunda a las 13:00 horas. Se realizaron 3 colectas por cada alimentación. La cantidad mínima de heces frescas recolectadas fue de 8 g por replicado y por tratamiento. Las heces recolectadas fueron almacenadas en congelación a -20°C para después ser liofilizadas, molidas y almacenadas en congelación hasta su uso.

Análisis químicos. La composición bromatológica de la dieta experimental y las heces fueron determinadas utilizando los siguientes métodos: determinación de humedad, método 930.15; determinación de proteína cruda, método 990.03; ceniza, método 942.05; fibra, método 962.09B (A.O.A.C. 1997); lípidos, Soxhlet (Tecator. 1983), y el extracto libre de nitrógeno fue calculado por diferencia. La pérdida de nutrientes en agua marina también se estimó acorde a la técnica reportada por Villarreal-Cavazos *et al.* (2014). El contenido de cromo fue determinado mediante el método descrito por Bolin *et al.* (1952), modificado por Cruz-Suárez *et al.* (2009). Las determinaciones de AA se realizaron a través de los procedimientos descritos por Llames y Fontaine (1994) y Fontaine (2003).

Coeficientes de digestibilidad aparente. Los coeficientes de digestibilidad aparente de materia seca, proteína y aminoácidos (CDA) de la dieta fueron calculados usando la ecuación reportada por Villarreal-Cavazos *et al.* (2014).

Análisis estadístico. Los valores se analizaron con una prueba *t* de Student para establecer posibles diferencias entre los tratamientos evaluados, con un nivel de significancia p < 0.05. Las pruebas estadísticas se realizaron mediante el programa computacional SAS (2008) versión 9.1.3.

RESULTADOS

La composición química de la dieta experimental se presenta en la tabla 1, donde se observa que el contenido de proteína cruda fue de 34.8%, el de lípidos, 9.6%, el de fibra cruda, 3.2% y el de cenizas, 11.8%; adicionalmente, se muestra el contenido de aminoácidos. Los resultados de proteína cruda en las heces oscilaron entre 28.9 (T1) v 29.0% (T2). Las concentraciones de óxido de cromo promedio fueron de 4.1% (T1) frente a 4.0% (T2). Adicionalmente, se determinó el contenido de aminoácidos de las heces recolectadas en diferentes tiempos, donde se encontró que las concentraciones de aminoácidos entre los tratamientos mostraron diferencias inferiores al 10%, con excepción de arginina, metionina, alanina v ácido glutámico (11%), que fueron más altas para el T1, en general: sólo la prolina registró una menor concentración para el T1 (20%) que el T2. La suma de aminoácidos fue de 16.1% (T1) contra 14.8% (T2) (Tabla 2). Los CDA de materia seca (Tabla 3) fueron estadísticamente iguales, con 75.2% (T1) vs 74.7% (T2) v el mismo resultado se presentó en PC 80.1% (T1) frente a 79.9% (T2), es decir, no se presentaron diferencias estadísticas entre los tratamientos para estos parámetros. Los CDA de AA no presentaron diferencias significativas.

Tabla 2. Contenido de Materia seca, proteína cruda Cr_2O_3 y aminoácidos (%base seca) en heces de camarón blanco del Pacífico colectadas después de 3 horas de permanencia en agua (T1) *versus* colecta inmediata (T2).

Composición dieta	T1	T2	Diferencia (%)
Materia seca	92.2	91.9	0
Proteína cruda	28.9	29.0	0
Cr ₂ O ₃	4.1	4.0	0
Aminoácidos esenciales			
Arginina	1.0	0.9	11
Fenilalanina	0.9	0.8	10
Histidina	0.4	0.3	8
Isoleucina	0.7	0.6	10
Leucina	1.2	1.0	10
Lisina	0.8	0.7	7
Metionina	0.4	0.3	11
Treonina	0.8	0.7	10
Valina	0.9	0.8	9
Suma de AAE	7.0	6.3	10
Ácido Aspártico	1.8	1.6	10
Ácido Glutámico	2.4	2.1	11
Alanina	1.3	1.1	11
Cistina	0.2	0.2	0
Glicina	1.7	1.5	11
Prolina	0.9	1.1	20
Serina	0.9	0.8	9
Suma de AAT	16.1	14.8	8

AAE: aminoácidos esenciales; AAT: aminoácidos totales.

Composición dieta	T1 (%)	T2 (%)	Diferencia (%)
Materia seca	75.2	74.7	0.5
Proteína cruda	80.1	79.9	0.2
Aminoácidos esenciales			
Arginina	87.0	88.1	-1.1
Fenilalanina	84.9	86.1	-1.2
Histidina	87.3	88.1	-0.8
Isoleucina	85.7	86.8	-1.1
Leucina	86.5	87.6	-1.1
Lisina	89.2	89.6	-0.4
Metionina	84.9	86.1	-1.2
Treonina	82.3	83.6	-1.3
Valina	84.2	85.2	-1.0
Suma de AAE	86.0	87.0	-1.0
Ácido Aspártico	83.3	84.5	-1.2
Ácido Glutámico	89.7	90.6	-0.9
Alanina	81.5	83.1	-0.6
Cistina	83.5	83.1	0.4
Glicina	78.0	79.9	-1.9
Prolina	89.0	86.5	2.5
Serina	83.8	85.0	-1.2
Suma de AAT	85.7	86.6	-0.9

Tabla 3. Coeficientes de digestibilidad aparente de la dieta de camarón blanco del Pacífico calculados a partir de heces colectadas después de 3 horas de permanencia en agua (T1) *versus* colecta inmediata (T2).

AAE = aminoácidos esenciales; AAT = aminoácidos totales

DISCUSIÓN

Los contenidos de proteína cruda y óxido de cromo en heces para ambos tratamientos resultaron estadísticamente iguales. Esta información concuerda con el estudio realizado por Fenucci *et al.* (1982), quienes reportan pérdidas no significativas de proteína cruda (inferiores al 5%) y diferencias en la concentración de Cr_2O_3 (inferiores al 4%). La ausencia de diferencias significativas indica que no hubo una pérdida de nutrientes, ya que él Cr_2O_3 es insoluble e indigestible, lo anterior se observa en heces de juveniles de *Penaeus stylirostris* colectadas después de 15, 120 y 360 minutos de inmersión en agua marina.

Por otro lado, nuestros resultados de lixiviación de materia seca en heces coinciden con los resultados reportados por Smith y Tabrett (2004), quienes observaron que en el camarón tigre negro *Penaeus monodon*, las pérdidas de materia seca fueron del 3% en las heces después de 2, 3 o 6 h, sin ser significativas (pérdidas calculadas como la variación porcentual de la relación MS/Cr₂O₃ con respecto a su valor de 1 h). Esto es muy parecido a los hallazgos de este estudio con una variación mínima del 1%. No obstante, los autores reportan pérdidas progresivas de 9, 15 y 31% para proteína cruda en heces, lo que puede estar asociado con la permeabilidad de la membrana peritrófica entre ambas especies de camarón (*L. vannamei y Penaeus monodon*). De acuerdo con Martin *et al.* (2006), la membrana peritrófica es un saco que envuelve las heces, que se encuentra constituido principalmente de quitina y es producido en el intestino medio. En el estudio de Wang *et al.* (2012) se ha documentado, en *L. vannamei*, el contenido de las proteínas de la membrana peritrófica relacionadas con la digestión, sistema inmune, antioxidantes y quitinasa; esta última, asociada con la porosidad o permeabilidad de la membrana peritrófica.

Por otra parte, los CDA de MS y PC no presentaron diferencias significativas entre los dos tratamientos de este experimento. Los CDA de aminoácidos registraron diferencias cercanas al 1% entre los tratamientos, lo que demuestra que los contenidos de proteína cruda, materia seca y aminoácidos en las heces de *Litopenaeus vannamei* no se modifican por el efecto de la lixiviación de nutrientes en las heces en un lapso menor o igual a 3 horas.

De este modo, el uso alterno de los replicados 1 y 2, contra 3 y 4 réplicas para los tratamientos 1 y 2, asegura una adecuada identificación de los animales experimentales y elimina las fuentes de variación de los resultados. Así demostraron Alexandre *et al.* (2014) que la membrana peritrófica sirve de soporte a estas enzimas. Por lo anterior, al impedir el consumo de heces con el tratamiento de colecta inmediata (camarones sometidos al T2), bien podría haberse presentado una disminución en la eficiencia digestiva. Alternar la aplicación del tratamiento de colecta inmediata a los dos grupos replicados, permite repartir de manera equitativa este eventual efecto secundario sobre la eficiencia digestiva, y en última instancia, sobre la concentración de nutrientes en las heces. Los resultados del presente estudio indican que el tiempo de colecta de las heces generadas por él camarón blanco del Pacífico no tiene un efecto sobre la pérdida de nutrientes durante un periodo igual o menos a tres horas.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación se realizó gracias al apoyo brindado por la bióloga Anahí Zavala Hernández y el QBP Julio César Beltrán-Rocha; así como por las compañías mexicanas Alimentos CostaMar, en Hermosillo, Sonora, y Maricultura del Pacífico, en Mazatlán, Sinaloa. La compañía alemana Evonik-Degussa realizó las determinaciones de aminoácidos. Los autores extienden sus más sinceros agradecimientos por sus importantes contribuciones.

REFERENCIAS

- CUNNIFT, P. (Ed). 1997. Officials methods of analysis. Association of Official Analitical Chemist, 16th Ed., U.S.A.
- ALEXANDRE, D., R. A. OZORIO, R. B. DERNER, D. M. FRACALOSSI, G. B. OLIVEIRA, R. I. SAMUELS, W. R. TERRA& C. P. SILVA. 2014. Spatial distribution of digestive proteinases in the midgut of the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) indicates the existence of endo-ectoperitrophic circulation in Crustacea. *Comparative Biochemistry and Physiology*, Part B 90-95. DOI:10.1016/j.cbpb.2014.04.010
- BOLIN, D. W., R. P. KINGAND & E. D. KLOSTERMAN. 1952. A simplified method for the determination of chromic oxide Cr203when used as an index substance. *Science* 116: 634-635.

- CRUZ-SUÁREZ, L. E., M. TAPIA-SALAZAR, D. VILLARREAL-CAVAZOS, J. BELTRÁN-ROCHA, M. G. NIETO-LÓPEZ, A. LEMME & D. RICQUE-MARIE. 2009. Apparent dry matter, energy, protein and amino acid digestibility of four soybean ingredients in white shrimp *Litopenaeus vannamei* juveniles. *Aquaculture* 292: 87-94. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2009.03.026
- FENUCCI, J. L. 1982. The assimilation of protein and carbohydrate from prepared diets. *Journal of the World Mariculture Society* 13: 134-145.
- FONTAINE, J. 2003. Amino acid analysis of feed. *In*: D' Mello (Ed.) Amino acids in animal nutrition. Second Edition. CABI publishing. Edinburgh. pp. 22-31.
- LLAMES, C. & J. FONTAINE. 1994. Determination of amino acids in feeds: collaborative study. *Journal of AOACInternational* 77: 1362-1402.
- MARTIN, G. G., R.SIMCOX, A. NGUYEN & A. CHILINGARYAN. 2006. Peritrophic Membrane of the Penaeid Shrimp Sicyoniaingentis: Structure, Formation, and Permeability. *The Biological. Bulletin.* 211: 275-285. DOI:10.2307/4134549
- NIETO-LÓPEZ, M., M. TAPIA-SALAZAR, D. RICQUE-MARIE, D. VILLARREAL-CAVAZOS, A. LEMME & L. E. CRUZ-SUÁREZ. 2011. Digestibility of different wheat products in white shrimp *Litopenaeus vannamei* juveniles. *Aquaculture* 319:369-376. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2011.06.046
- REYES-QUINTANA, T. 1998. Estructura de costos en la camaronicultura y apoyos financieros a través de empresas parafinancieras. Memorias del II Simposium Internacional de Acuacultura 98. Mazatlán, Sinaloa, México. Documento de Ralston Purina International. pp. 45-64.
- RICQUE-MARIE, D., A. PEÑA-RODRÍGUEZ, M. TAPIA-SALAZAR, M. G. NIETO-LÓPEZ, D.VILLARREAL-CAVAZOS, C. GUAJARDO-BARBOSA, L. E. CRUZ-SUÁREZ & M. L. LOCATELLI. 2006. Effect of pre-prandial nutrient leaching in seawater and different binders on apparent amino acid digestibility coeffi-

cients of a practical diet in *Litopenaeus vannamei*. International Aqua Feed 9: 32-33

- SAS SYSTEM 9.1.3. 2008. Service pack for Windows. Carry, North Carolina, USA.
- SMITH, D. M. & S. J. TABRETT. 2008. Método usado en el CSIRO para medir la digestibilidad in vivo en camarón. *In*: Cruz Suarez L., E, H. Villarreal Colmenares, M. Tapia Salazar, M. G. Nieto López, D. A. Villarreal Cavazos & D. Ricque Marie (Eds.). *Manual de Metodologías de Digestibilidad* in vivo *e* in vitro *para Ingredientes y Dietas para camarón*. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey., N.L., México. pp. 108-121.
- TECATOR. 1997. Fat Extraction on Feeds with the Soxtec System HT. The Influence of Sample Preparation and Extraction Media. Application note AN 67/83 (1983.06.13). Soxtec System HT Manual, Tecator. AB Sweden.Höganäs, Sweden, p. 20.
- VILLARREAL-CAVAZOS, D. A. 2011. Determinación de la digestibilidad aparente de aminoácidos de ingredientes utilizados en alimentos comerciales para camarón blanco (*Litopenaues vannamei*) en México. Tesis de Doctorado en Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. México.
- VILLARREAL-CAVAZOS, D. A., D. RICOUE-MARIE, A. PEÑA-RODRÍGUEZ, M. NIETO-LÓPEZ, M. TAPIA-SALAZAR, A. LEMME, J. GAMBOA-DELGADO & L. E. CRUZ-SUÁREZ. 2014. Apparent digestibility of dry matter, crude protein, and amino acids of six rendered by-products in juvenile *Litopenaeus vannamei. Ciencias Marinas International Journal of Marine Sciences* 40 (3): 163-172.DOI: 10.7773/cm.v40i3.2427
- WANG, L., F. LI, B. WANG& J. XIANG. 2012. Structure and partial protein profiles of the peritrophic membrane (PM) from the gut of the shrimp *Litopenaeus vannamei. Fish & Shellfish Immunology* 33: 1285-1291.DOI: 10.1016/j.fsi.2012.09.014

Crecimiento y mortalidad del langostino moya *Macrobrachium tenellum* (Decápoda: Palaemonidae) en el río San Pedro Mezquital, Nayarit, México

Growth and mortality of Macrobrachium tenellum (Decapoda: Palaemonidae) in the San Pedro Mezquital River, Nayarit, Mexico

Manuel Garduño Dionate¹, Pablo Alejandro Pérez Velázquez², Rosa María Lorán Núñez³ y Francisco Rolando Martínez Isunza³

¹ Instituto Nacional de Pesca, Pitágoras 1320, Col. Santa Cruz Atoyac, 03310. CDMX, México ² Centro Regional de Investigación Pesquera Bahía de Banderas, Nayarit. Calle Tortuga No. 1, La Cruz de Huanacaxtle, Nayarit, 63732, México ³ Instituto Nacional de Pesca, Dirección General Adjunta de Investigación Pesquera en el Atlántico. Ejército Mexicano 106. Col. Ex Hacienda YlangYlang. Boca del Río, Veracruz, 94298, México e-mail: mdionati@yahoo.com.mx

Recibido: 28 de octubre de 2015. Aceptado: 28 de julio de 2017.

Garduño Dionate M., P. A. Pérez Velázquez, R. M. Lorán Núñez y F. R. Martínez Isunza. 2017. Crecimiento y mortalidad del langostino moya *Macrobrachium tenellum* (Decápoda: Palaemonidae) en el río San Pedro Mezquital, Nayarit, México. *Hidrobiológica* 27 (2): 359-367.

RESUMEN

Antecedentes. El aprovechamiento comercial de *Macrobrachium tenellum* en el río San Pedro Mezquital, Nayarit, inició en 1995 como una pesquería temporal que cubría la demanda local. Posteriormente, la pesquería se intensificó como actividad económica alterna, y logró un impacto regional mediante la producción de alimento y la generación de empleos. **Objetivos.** Estimar los parámetros de crecimiento y mortalidad de *M. tenellum* en el río San Pedro Mezquital, Nayarit. **Métodos.** Los muestreos se realizaron de febrero a octubre de 2010. Para la captura se utilizaron atarrayas de 1.0 y 1.5 pulgadas de luz de malla y un tamaño de muestra de 100 individuos. Los grupos de edad se obtuvieron por el método de Cassie, los parámetros de crecimiento con el método de Walford, la mortalidad total anual por el método de Beverton y Holt y la mortalidad natural con la ecuación de Rikhter y Effanov. **Resultados.** Las hembras mostraron valores de L_{_} = 19.0 cm, P_{_} = 55 g, k = 0.369 mes⁻¹ y t₀ = -0.035 mes⁻¹; en el caso de los machos, fueron L_{_} = 26.6 cm, P_{_} = 239 g, k = 0.221 mes⁻¹ y t₀ = -0.042 mes⁻¹. Con base en la relación longitud-peso, las hembras presentaron crecimiento alométrico negativo (*b* < 3) y los machos crecimiento alométrico positivo (*b* > 3). Los parámetros de mortalidad fueron para las hembras Z = 3.84 año⁻¹, M = 0.72 año⁻¹ y E = 0.79 año⁻¹ y para los machos Z = 2.75 año⁻¹, M = 0.69 año⁻¹ y E = 0.70 año⁻¹ u exploración altas, lo que ocasiona una sobreexplotación del recurso en el área de estudio.

Palabras clave: Crecimiento alométrico, edad, Macrobrachium tenellum, reclutamiento, tasa de explotación.

ABSTRACT

Background. *Macrobrachium tenellum* from the San Pedro Mezquital River in Nayarit, Mexico, started being used in 1995 as a seasonal crustacean that satisfied local demand. Fishing of this species later intensified as an alternative economic activity, with a regional impact based on food production and job creation. **Goals.** To estimate the growth and mortality parameters of *M. tenellum* from the San Pedro Mezquital River, Nayarit. **Methods.** Sampling took place from February to October 2010. Drop nets (*atarrayas*) with mesh sizes of 1 and 1.5 inches were used to collect samples of 100 individuals. Age groups were defined following the Cassie method, growth parameters with the Walford method, total annual mortality with the Beverton and Holt method, and natural mortality with the Rikhter and Effanov equation. **Results.** Data obtained were for females $L_{=} = 19 \text{ cm}$, $P_{=} = 55 \text{ g}$, $k = 0.369 \text{ month}^{-1}$ and $t_0 = -0.035 \text{ morth}^{-1}$, and for males $L_{=} = 26.6 \text{ cm}$, $P_{=} = 239 \text{ g}$, $k = 0.221 \text{ month}^{-1}$ and $t_0 = -0.042 \text{ month}^{-1}$. Based on the length-weight relationship, the females had negative allometric growth (b<3) and the males positive allometric growth (b>3). The mortality parameters were for females Z = 3.84 year⁻¹, M = 0.72 year⁻¹, and E = 0.79 year⁻¹, and for males Z = 2.75 year⁻¹, M = 0.69 year⁻¹, and E = 0.70 year⁻¹. **Conclusions**. The prawn *Macrobrachium tenellum* has a short life cycle of less than two years, a moderate growth rate, and high rates of total mortality and exploitation, which result in an over-exploitation of the resource in the study area.

Key words: Age, allometric, exploitation rate, Macrobrachium tenellum, recruitment.

INTRODUCCIÓN

Macrobrachium tenellum (Smith, 1871), conocido como camarón moya, se captura y comercializa en la cuenca baja del río San Pedro Mezquital, México. La especie se distribuye desde Mulegé, Baja California Sur, en la parte media y oriental de la península, hasta su extremo sur y desde Yavaros, Sinaloa, en México, hasta el río Chira, en Perú e isla Galápagos, en Ecuador (Holthuis, 1952b; Boschi, 1974; Guzmán *et al.*, 1981; New, 1988; Ruiz-Santos, 1988). Habita en aguas dulces, salobres y lagunas costeras (Boschi, 1974) y en todo tipo de fondos (Boschi, 1974; Román-Contreras, 1991; Hendrickx, 1995; Signoret-Poillon & Soto, 1997; Arroyo-Rentería & Magaña-Ríos, 2001; Espino-Barr *et al.*, 2006).

El aprovechamiento comercial del camarón moya en el río San Pedro Mezquital inició en 1995 como una pesquería temporal que cubría la demanda local. Posteriormente, la pesquería se intensificó como una actividad económica alterna con un impacto regional mediante la producción de alimento y la generación de empleos temporales directos e indirectos, principalmente en la temporada de veda de otros recursos pesqueros e incluso durante el periodo de veda de esta especie, del 1 de agosto al 31 de octubre de cada año (DOF, 1994). En Nayarit, el camarón moya se captura principalmente en la temporada de lluvias de junio a octubre, debido a su migración y ciclo de vida, observándose una alta proporción de machos y hembras adultos, en su mayoría hembras ovígeras, en las capturas (Pérez-Velázguez *et al.*, 2011).

Aunque la fisiología de los crustáceos es muy diferente a la de los peces, su crecimiento, en la mayoría, se adecúa al modelo de crecimiento de von Bertalanffy (Musick & Frazer, 1999). Por ello, las estimaciones de los parámetros de crecimiento y de las tasas de mortalidad y explotación son parte importante del estudio de la biología de los crustáceos de interés comercial, ya que permiten determinar las características biológicas de la especie y el nivel de explotación de la población. A su vez, estos datos proporcionan elementos científicos para la ejecución de políticas de administración y regulación de los recursos pesqueros que permitan un adecuado aprovechamiento. El objetivo de este trabajo fue determinar la estructura de las longitudes y los parámetros de crecimiento, mortalidad y explotación de la población de *M. tenellum* en las zonas de captura de Mexcaltitán, San Miguel Aztlán y Boca de Camichín del río San Pedro Mezquital, Nayarit, México.

MATERIALES Y MÉTODOS

El río San Pedro Mezquital tiene una longitud de 255 km y drena una región aproximada de 26,480 km². Hacia el final de su recorrido se bifurca, formando el estero de Las Corrientes, la laguna de Agua Dulce y la laguna de Mexcaltitán, lo que representa una gran extensión de esteros y canales unidos con las aguas del estuario Boca de Camichín en su salida al mar. El área de estudio incluyó tres sitios de captura en el río San Pedro Mezquital: San Miguel Aztlán (21°49'20.55" N, 105°23'40.40" O), isla de Mexcaltitán (21°54'13.24" N, 105°28'35.15" O) y Boca de Camichín (21°44'32.92" N, 105°29'30.30" O) (Fig. 1).

En cada sitio se realizaron muestreos mensuales de febrero a octubre de 2010 durante el cuarto creciente o cuarto menguante de la fase lunar, de 23:00 a 04:00 horas del día siguiente en bajamar. El método

de pesca utilizado fue la atarraya, con luz de malla de 1.0 y 1.5 pulgadas (2.54 y 3.81 cm, respectivamente). La captura total fue de 1,280 machos y 1,772 hembras de camarón moya, pero se trabajó con una muestra mensual aleatoria de 100 individuos procedentes de los tres sitios de captura, repartidos de manera equitativa, para procesar un total de 900 individuos para el estudio del crecimiento y la mortalidad de M. tenellum. La captura se transportó en bolsas de plástico etiquetadas y con hielo molido para su posterior revisión en el laboratorio húmedo del Centro Regional de Investigación Pesquera Bahía de Banderas, Nayarit. Se registraron las variables de longitud total (LT), tomada desde el extremo apical del rostro hasta la punta del telson con un vernier con precisión de 0.1 mm, y el peso total (PT), tomado con una balanza analítica con precisión de 0.1 g (Román-Contreras, 1979). En los estudios de edad y crecimiento de crustáceos se utiliza regularmente el análisis de frecuencia de tallas; en este estudio se utilizó el método de Cassie (1954) para estimar los grupos de edad que integran la población de M. tenellum de los tres sitios de captura. Una vez estimada la longitud total promedio de los grupos de edad que integran la población, se aplicó el método de Walford (1946) para estimar la longitud asintótica teórica (L_) y la tasa de crecimiento de la población (k). Para obtener t se utilizó la función logarítmica inversa de la ecuación de von Bertalanffy (Sparre & Venema, 1992) y la talla de eclosión de M. tenellum de 1.7 cm (primera zoea), la cual fue estimada por Meruane et al. (2006). Su valor fue incorporado en los cálculos de la ecuación de crecimiento en longitud y peso.

Para comparar el desempeño del crecimiento de *M. tenellum*, se calculó el índice de crecimiento estándar (phi prima ø') con las estimaciones previas de la longitud asintótica teórica y la tasa de crecimiento con la siguiente ecuación:

 $\phi' = Log_{10} (k) + 2 Log_{10} (L_{\infty})$ (Pauly & Munro, 1984).

El peso asintótico se estimó mediante la fórmula citada por Csirke (1980), $P_{a} = a^* (L_{a})^{b}$, donde P_{a} es el peso asintótico y *a* es el valor de la ordenada al origen de la regresión lineal de la relación longitud-peso. Se establecieron las relaciones longitud-peso de machos, de hembras y de ambos sexos por medio de la ecuación potencial: $P = a^* (L)^{b}$, donde *a* y *b* son los parámetros de la ecuación calculada mediante regresión lineal simple, previa transformación logarítmica. Se evaluó estadísticamente el valor del coeficiente de regresión (*b*) por medio de la prueba *t* de Student (Zar, 1999), para determinar el tipo de crecimiento de la especie. Si *b* = 3, el crecimiento se consideró isométrico, y si *b* \neq 3 el crecimiento se consideró alométrico (Ricker, 1975).

La mortalidad total anual (Z) se estimó mediante la ecuación propuesta por Beverton y Holt (1957), utilizando la longitud media de la captura (LM), la longitud de explotación (L') y los parámetros de crecimiento L_w y k; la ecuación para la mortalidad anual fue Z = k * (L_w - LM) / LM - L'. La mortalidad natural se determinó por el método de Rikhter y Effanov (1976), el cual se basa en el supuesto de que los peces con una mortalidad natural elevada maduran precozmente y de que existe una relación entre la mortalidad natural (M) y la edad de primera madurez (Epm), usando la ecuación M = 1.521 / (Epm^{0.720}) – 0.155. Para evaluar el estatus de la población, se calculó la tasa de explotación anual (E) con la ecuación E = F / Z * (1 - exp^(-Z)); la mortalidad por pesca (F) se obtuvo calculando la diferencia entre la mortalidad total y mortalidad natural, con la fórmula F = Z - M.



Figura 1. Sitios de captura de Macrobrachium tenellum.

RESULTADOS

En los machos, la longitud y el peso promedio presentaron una variabilidad de 7.6-13.6 cm y 3.9-27.3 g, respectivamente, con individuos de menor talla (7.6 cm) y peso (3.9 g) promedio en el mes de febrero y de mayor talla (13.6 cm) y peso (27.3 g) promedio en septiembre. En las hembras, la longitud y el peso promedio fueron 6.8-10.7 cm y 3.2-11.4 g, respectivamente, con una menor talla (6.8 cm) y peso (3.2 g) promedio en el mes de abril y una mayor talla (10.7 cm) y peso (11.4 g) promedio en septiembre. En machos, la mayor captura fue de 14,665 g en el mes de septiembre; para las hembras, de 5,164 g en agosto (Tabla 1). En la Figura 2 se muestra la distribución mensual de la longitud total en machos y hembras. En febrero, la fracción poblacional de machos y hembras presentó una distribución de tipo polimodal integrada por cohortes de individuos de diferentes tallas, con una longitud y peso totales promedio de 7.6 cm y 3.9 g para machos y 8.0 cm y 4.7 g para hembras. En marzo, la distribución de las tallas fue de tipo polimodal para machos y modal para las hembras. En este mes se inició la diferenciación de tamaños promedio entre los individuos, que fue para machos de 9.4 cm y 7.6 g y para hembras de 7.6 cm y 3.8 g. En abril, la distribución de tallas de la población fue de tipo polimodal, con machos de mayor talla (9.3 cm) y peso (7.9 g) promedio que las hembras (6.8 cm y 3.2 g, respectivamente). En mayo, la distribución fue polimodal en machos y hembras, sobresaliendo la diferenciación de tamaños entre

Tabla 1. Longitud total promedio, peso total promedio y captura mensual de machos y hembras de *Macrobrachium tenellum* en el río San Pedro Mezquital, Nayarit.

Mes		Machos		Hembras				
-	Longitud (cm) Peso (g) (P±DE) (P±DE) (C		Captura (g)	Longitud (cm) (P±DE)	Peso (g) (P±DE)	Captura (g)		
febrero	7.6±1.282	3.9±2.165	304	8.0±1.613	4.7±2.990	108		
marzo	9.4±1.311	7.6±3.278	323	7.6±1.146	3.8±1.806	213		
abril	9.3±1.645	7.9±4.158	254	6.8±1.451	3.2±1.802	313		
mayo	11.2±1.549	12.6±4.560	659	8.0±1.500	5.1±2.709	1078		
junio	10.7±1.691	13.6±5.474	1 311	8.2±1.111	5.8 ± 2.655	1078		
julio	10.4±1.107	13.1±3.933	514	8.3±0.595	5.4±1.231	294		
agosto	12.2±1.195	21.6±6.395	8 622	10.1±0.864	9.6±2.485	5 164		
septiembre	13.6±1.248	27.3±7.012	14 665	10.7±1.182	11.4±3.393	4 867		
octubre	12.2±1.534	22.4±10.023	629	9.8±0.892	9.5±2.618	1 836		

P= promedio; DE= desviación estándar.

ambos sexos, con machos de talla promedio de 11.2 cm y peso promedio de 12.6 g y la captura de hembras de menor talla (8.0 cm) y peso (5.1 g) promedio. En junio, ambos sexos presentaron una distribución polimodal de tallas, con machos de mayor talla (10.7 cm) y peso (13.6 g) promedio que las hembras (8.2 cm y 5.8 g, respectivamente). En julio, la distribución de tallas fue de tipo polimodal para los machos y modal para las hembras, con una captura moderada. En agosto, la distribución de tallas fue de tipo modal para los machos y las hembras, con machos de mayor longitud y peso promedio, en comparación con las hembras. En este mes se dio una importante captura (8,622 g) de machos, integrada por individuos con una longitud y un peso promedio de 12.2 cm y 21.6 g, respectivamente. También se capturaron 5,164 g de hembras, con una longitud y un peso promedio de 10.1 cm y 9.6 g, respectivamente. En septiembre, la distribución de tallas fue de tipo modal para ambos sexos; se capturaron machos de talla promedio de 13.6 cm y peso promedio de 27.3 g. Finalmente, en octubre, la distribución de tallas fue polimodal para los machos y modal para las hembras y se redujeron las capturas de manera importante con respecto al mes anterior (629 g de machos y 1,836 g de hembras).

Tabla 2. Parámetros de crecimiento en machos, hembras y ambos sexos de *Macrobrachium tenellum* y valores de la relación longitudpeso en el río San Pedro Mezquital, Nayarit.

Parámetro	Machos	Hembras	Población
$L_{_{\infty}}$ (cm)	26.6	19	23.5
P (g)	239	55.3	142
k (mes-1)	0.221	0.369	0.232
t _o (mes ⁻¹)	-0.028	-0.023	-0.030
а	0.005	0.013	0.006
b	3.253	2.835	3.163

 $L_{\omega} =$ Longitud infinita; $P_{\omega} =$ peso infinito; k = tasa de crecimiento; t_o = tiempo de inició del crecimiento; a = intersección ordenada de origen de la relación longitud-peso; b = coeficiente de isometría.

Los parámetros de crecimiento estimados de L_{∞} , k y t_o para hembras, machos y la población total de *M. tenellum* se muestran en la Tabla 2. Éstos se utilizaron para elaborar las curvas de crecimiento en longitud y peso respectivas (Figs. 3 y 4), previa evaluación del valor de la intersección con las ordenadas (*a*) y de la pendiente de la curva (*b*) de la regresión lineal en la relación longitud-peso.

La relación longitud-peso de las hembras, machos y población se presenta en la Figura 5 con valores del exponente de b = 2.8357 (hembras), b = 3.2538 (machos) y b = 3.1635 (población). Estos exponentes indicaron un crecimiento alométrico negativo para las hembras y un crecimiento alométrico positivo para los machos y la población. Estos tipos de crecimiento presentaron diferencias estadísticas significativas, como lo indica la prueba *t* de Student (p < 0.05): t = 0.0015 (hembras), t = 0.0120 (machos) y t = 0.0066 (población).

En la Tabla 3 se muestra la comparación de los parámetros de crecimiento estimados en este estudio con los de otros autores. Se observaron diferencias importantes, principalmente en el valor del tiempo cero, y de manera secundaria en la longitud asintótica y la tasa de crecimiento. En la Tabla 4 se presentan los valores de las tasas de mortalidad por pesca y de mortalidad total anual, las cuales fueron altas, principalmente para las hembras. La tasa de explotación para los machos fue de 0.70 y para las hembras de 0.79, lo que indica que en los tres sitios de captura la actividad pesquera tiene un impacto importante sobre el recurso.

DISCUSIÓN

Uno de los problemas para determinar la edad de los crustáceos es la ausencia de estructuras calcificadas que contengan los anillos de crecimiento, por lo que para este fin existe el análisis de frecuencia de tallas, con adecuaciones a la función de crecimiento de von Bertalanffy. En este trabajo, mediante la integración de la talla de eclosión de *M. tenellum* en su primera fase larval de zoea, se logró un mejor ajuste de la ecuación de crecimiento en talla y peso, lo que mejora los resultados disponibles para esta especie.

Tabla 3. Parámetros	de crecimiento d	le Macrobrachium	tenellum estimados	por diferentes autores.

Referencia	Localidad	L _∞ (cm)	k (mes⁻¹)	t _o (mes ⁻¹)	φ <i>'</i>	Método
Guzmán-Arroyo	Lagunas Mitla, Coyuca,	15.4 (M)	0.205 (M)	-0.517 (M)	φ'= 1.68 (M)	Walford (1946), Pauly &
(1987)	Tres Palos y Chautengo, Gro.	10.6 (H)	0.209 (H)	-1.332 (H)	φ'= 1.37 (H)	Munro (1984)
Ruiz-Santos	Laguna Tres Palos, Gro.	14.2 (M)	0.303 (M)	-0.417 (M)	φ'= 1.78 (M)	Walford (1946), Pauly &
(1988)		11.5 (H)	0.223 (H)	-0.015 (H)	φ'= 1.46 (H)	Munro (1984)
Espino-Barr <i>et al.</i> (2006)	Ríos Armería y Naranjo, Col.	17.9	0.543	-0.020	φ'= 2.24 (P)	Elephant, en Sparre & Venema (1992), Pauly & Munro (1984)
El presente	San Miguel Aztlán, Isla	26.6 (M)	0.221 (M)	-0.042 (M)	φ'= 2.19 (M)	Cassie (1954), Walford
estudio	Mexcaltitán y Boca Camichín, Nay.	19.0 (H)	0.369 (H)	-0.035 (H)	φ'= 2.12 (H)	(1946), Sparre & Venema 1992), Pauly &
	-				φ'= 2.10 (P)	Munro (1984)

 L_{a} = longitud infinita; k = tasa de crecimiento; t_a = tiempo de inicio del crecimiento; ϕ' = índice de crecimiento estándar.



Figuras 2a-i. Estructura de tallas por mes del langostino *Macrobrachium tenellum*. Las mediciones se realizaron durante nueve meses consecutivos en 2010: a) febrero, b) marzo, c) abril, d) mayo, e) junio, f) julio, g) agosto, h) septiembre, i) octubre.



Figura 3. Curvas de crecimiento en longitud de la población y de cada sexo de Macrobrachium tenellum.

Las mayores capturas de camarón moya ocurrieron en agosto y septiembre; estas capturas estuvieron integradas principalmente por hembras maduras y ovígeras, así como por machos de tallas grandes. En estas capturas se observaron concentraciones de individuos en zonas cercanas a la desembocadura del río San Pedro Mezquital, que es donde se produce la eclosión de los huevos (Bahamonde & Vila, 1971; Norambuena, 1977). Relacionando el aspecto reproductivo con el pesquero, se observó que la actividad pesquera de este recurso se incrementó en la época de lluvias (de julio a octubre) (Ruiz-Santos, 1988; Hendrickx, 1995; Arroyo-Rentería & Magaña-Ríos, 2001). La pesca de *M. tenellum* se realiza en ríos, esteros y cuerpos de agua costeros de manera intensa y es común en muchas comunidades rurales de la costa del Pacífico (Hernández-Sandoval, 2008); representa un recurso pesquero importante y altamente explotado por las comunidades locales (Cabrera-Jiménez et al., 1977). En este estudio, los machos de camarón moya alcanzaron un mayor tamaño que las hembras, posiblemente debido a un menor valor en la tasa de crecimiento, la cual fue indirectamente proporcional a la longitud asintótica teórica que presentaron.

Esta diferencia en el crecimiento entre sexos fue evidente en el mayor desarrollo de las quelas en los machos, característica descrita para el género *Macrobrachium* (Holthuis, 1952b; Mossolin & Bueno, 2003; Mariappan & Balasundaram, 2004; Hernández *et al.*, 2007). El mayor desarrollo de la quela en machos adultos es una característica

Tabla 4. Tasas de mortalidad y explotación de hembras, machos y ambos sexos de *Macrobrachium tenellum* en el río San Pedro Mezquital, Nayarit.

Machos	Hembras	Población
0.69	0.72	0.62
2.06	3.12	2.91
2.75	3.84	3.54
0.70	0.79	0.80
	Machos 0.69 2.06 2.75 0.70	Machos Hembras 0.69 0.72 2.06 3.12 2.75 3.84 0.70 0.79

M = mortalidad natural; F = mortalidad por pesca; Z = mortalidad total anual; E = tasa de explotación anual.

adaptativa desarrollada a nivel interespecífico e intraespecífico para la defensa, el combate, la alimentación y la reproducción, siendo en este último caso importante para la protección de la hembra durante el apareamiento (Mossolin & Bueno, 2003; Mariappan & Balasundaram. 2004). En las hembras la menor longitud asintótica teórica es congruente con el valor más alto de la tasa de crecimiento y puede explicarse por el mayor gasto energético que las hembras experimentan durante el proceso reproductivo, limitando su crecimiento (Mossolin & Bueno, 2003; Fransozo et al., 2004). Los parámetros de crecimiento de longitud asintótica y tasa de crecimiento de este trabajo fueron mavores a los estimados por otros autores en otras localidades pesqueras (Guzmán-Arroyo, 1987; Ruiz-Santos, 1988; Espino-Barr et al., 2006). Esto puede deberse a diferencias en las condiciones ambientales de las localidades de captura, al tamaño de malla usada para la captura, al tamaño de los individuos en los muestreos, al método de evaluación del crecimiento y al nivel de explotación de la población.

En el presente estudio se integró a la ecuación de crecimiento de von Bertalanffy la talla de eclosión de M. tenellum (Lo) de 1.7 mm, lo que permitió obtener un valor más cercano al teórico esperado (cero) tanto en machos como en hembras. Por esta razón los tiempos cero en este trabajo fueron menores a los estimados por otros autores, lo que mejoró el ajuste de las curvas de crecimiento de longitud y peso para la especie. La evaluación del índice de crecimiento estándar presentó valores similares entre la población de M. tenellum de las localidades de Mexcaltitlán, San Miguel Aztlán y Boca de Camichín, Nayarit y las poblaciones de los ríos Armería y Naranjo en Colima (Tabla 3), lo que indica que la especie presenta un similar patrón de crecimiento (Alejo-Plata et al., 2011). Sin embargo, el patrón de crecimiento de camarón moya en los sitios aquí estudiados fue diferente del reportado para localidades del estado de Guerrero (Tabla 3), posiblemente debido a la diferencia en los parámetros de crecimiento de longitud asintótica y tasa de crecimiento.

En este trabajo se obtuvieron valores altos de mortalidad total anual, mortalidad por pesca y tasa de explotación para machos y hembras de camarón moya. Estos altos valores pueden deberse a diversas



Edad (meses)

Figura 4. Curvas de crecimiento en peso de la población y de cada sexo de Macrobrachium tenellum.

características biológicas de esta especie, como son su ciclo de vida corto, rápido crecimiento, madurez temprana y alta mortalidad natural. Las tasas de mortalidad y explotación fueron congruentes entre los sexos, aunque la mortalidad y explotación fueron más altas en hembras que en machos, ya que las hembras, al tener una menor longitud y peso y una mayor abundancia, son posiblemente más vulnerables al método de pesca utilizado (atarraya), especialmente durante el periodo de reproducción (agosto a octubre), durante el cual se incrementa la actividad pesquera de este recurso. Las tasas de mortalidad natural y por pesca para ambos sexos fueron excesivamente altas; Gracia (1997) puntualiza que no es común obtener estimaciones de mortalidad natural mayor o igual a 0.40 mensual y que los valores superiores se consideran excesivamente altos. Sin embargo, la probabilidad de que la mortalidad natural presente variaciones es alta, ya que el valor de mortalidad natural no es estable y depende en gran medida de diferentes variables del ecosistema, como las variaciones estacionales y cíclicas en parámetros ambientales, las fluctuaciones en la abundancia de depredadores y las variaciones poblacionales en los patrones de distribución, agregación y migración, entre otros. La actividad pesquera se intensifica de manera importante en el periodo de reproducción, cuando se obtienen los mayores volúmenes de captura, lo que se refleja en la alta mortalidad por pesca. Las tasas de mortalidad total anual también resultaron altas, de acuerdo con los criterios de Sparre y Venema (1992), que indican que valores de Z = 0.6 indican una explotación leve, Z = 0.9 una explotación mediana y Z = 1.2 una explotación intensiva. De acuerdo con este criterio, los resultados estimados en el presente estudio indican que el recurso está siendo explotado en forma intensiva. Las tasas de explotación de machos y hembras (E = 0.70 y E = 0.79, respectivamente) indicaron que las hembras están en un nivel mayor de explotación. Si se siguen los criterios de Gulland (1971)



Figura 5. Relación longitud-peso de la población y de cada sexo de Macrobrachium tenellum.

y Pauly (1983), que proponen que el valor de E = 0.5 es un punto de equilibrio y que resultados mayores indican que el recurso está siendo sometido a una alta explotación, se puede decir que M. tenellum es una especie intensamente sobreexplotada en la zona de estudio. Según Pauly (1983), la sobrepesca puede tener lugar en tres formas diferentes: (i) en relación con el crecimiento poblacional, (ii) en relación con el reclutamiento del stock capturable y (iii) como sobrepesca que afecta el ecosistema. Si se siguen estos criterios, se puede sugerir que la población de camarón moya en las localidades de Mexcaltitán, San Miguel Aztlán y Boca de Camichín del río San Pedro Mezquital está sufriendo de la sobrepesca por crecimiento (abundancia). Este tipo de sobrepesca tiene lugar cuando los individuos son capturados antes de que alcancen la talla necesaria para garantizar la renovación biológica de la población. Se concluye, entonces, que el langostino Macrobrachium tenellum presenta un ciclo de vida corto, menor de dos años, una tasa de crecimiento moderada y tasas de mortalidad total y de explotación altas, que ocasionan una sobreexplotación del recurso en el área de estudio. Lo anterior hace necesario que se invierta en esfuerzos para continuar con investigaciones pesqueras que permitan evaluar y diseñar estrategias de manejo para M. tenellum en la pesquería del río San Pedro Mezquital, Nayarit, en una forma que sea consistente con un enfoque precautorio para la pesca responsable de este recurso.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a la Sociedad Cooperativa de Producción Pesquera de Mexcaltitán, San Miguel Aztlán y Boca de Camichín S. C. de R. L. de Nayarit por el apoyo en la captura de langostino moya.

REFERENCIAS

- ALEJO-PLATA, C., J. L. GÓMEZ-MÁRQUEZ & I. H. SALGADO-UGARTE. 2011. Edad y crecimiento del dorado *Coryphaena hippurus*, en el Golfo de Tehuantepec, México. *Revista Biología Marina y Oceanografía* 46 (2): 125-134. DOI: 10.4067/S0718-19572011000200003
- ARROYO-RENTERIA G. & L. MAGAÑA-RÍOS. 2001. Contribución al conocimiento de las especies de *Macrobrachium* y *Atya* con especial referencia a los langostinos en el cauce del Río Baluarte (1991). Tesis de Licenciatura en Biología Pesquera, Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa, México. 58 p.
- BAHAMONDE, N. & I. VILA. 1971. Sinopsis sobre la biología del camarón de río del norte. *Biología Pesquera*, Chile 5: 3-60.
- BERVETON, R. J. H. & S. J. HOLT. 1957. On the dynamics of exploited fish populations. Fishery Investigation Series II, 19. London: Ministry of Agriculture, Fisheries and Food 2-19, Great Britain. 533 p.
- BOSCHI, E. E. 1974. Biología de los crustáceos cultivables en América Latina. In: FAO (Organización para la Agricultura y la Alimentación). 1974. Actas del Simposio sobre Acuicultura en América Latina. Volumen 2 – documentos de reseña. Informe de Pesca 159, vol. 2. Montevideo, Uruguay. 24 p.
- CABRERA-JIMÉNEZ, J., M. GUZMÁN & C. KENSLER. 1977. *Macrobrachium* fishery and market in Mexico. *In*: Hanson, J. & G. Goodwin (Eds.). *Shrimp and prawn farming in the western hemisphere*. Dowden, Hutchington and Ross, Inc. USA. pp. 315- 316

- CASSIE, R. M. 1954. Some uses of probability paper in the analysis of size frequency distributions. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* 5: 513-524.
- CSIRKE, J. 1980. Introducción a la dinámica de poblaciones de peces. FAO. *Documento Técnico de Pesca* 192: 1-82.
- DOF (DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN). 1994. Aviso por el que se da a conocer el establecimiento de épocas y zonas de veda para la pesca de diferentes especies de la fauna acuática en aguas de jurisdicción federal de los Estados Unidos Mexicanos. Diario Oficial de la Federación. México, D.F. Marzo 12: 96-103.
- ESPINO-BARR, E., B. A. GARCÍA, G. M. PUENTE, A. C. ZAMORANO, A. O. AHUMADA & E. CABRAL. 2006. Análisis preliminar de los aspectos biológicos del langostino mazacate *Macrobrachium tenellum*, en el estado de Colima. *In:* Espino-Barr, E., M. A. Carrasco & G. M. Puente (Eds.). *Memorias del III Foro Científico de Pesca Ribereña*. Centro Regional de Investigaciones Pesqueras de Manzanillo, Instituto Nacional de la Pesca, SAGARPA. Jalisco, México. pp. 93-94.
- FRANSOZO, A., F. D. RODRIGUES, F. A. M. FREIRE & R. C. COSTA. 2004. Reproductive biology of the freshwater prawn *Macrobrachium jelskii* (Miers, 1877) y *Macrobrachium iheringi* (Ortmann, 1897) (Decapoda: Caridea: Palaemonidae) in the Botucatu region, Sao Paulo, Brasil. *Nauplius* 12: 119-126.
- GRACIA, A. 1997. Simulated and actual effects of the Brown shrimp, *Penaeus aztecus*, costure in Mexico. *Marine Fisheries Review* 59 (2): 18-24.
- GULLAND, J. A. 1971. Manual de Métodos para la Evaluación de Poblaciones de Peces. Ed. Acribia. Zaragoza, España. 164 p.
- GUZMÁN, A. M., G. J. L. ROJAS & G. L. D. GONZÁLEZ. 1981. Ciclo anual de maduración y reproducción del "Chacal" *Macrobrachium tenellum* y su relación con factores ambientales en las lagunas costeras de Mitla y Tres Palos, Guerrero, México (Decápoda: Palaemonidae). *Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México* 9: 67-80.
- GUZMÁN-ARROYO, M. 1987. Biología, ecología y pesca del langostino Macrobrachium tenellum (Smith, 1871), en lagunas costeras del estado de Guerrero, México. Tesis de Doctorado en Ciencias del Mar, Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Colegio de Ciencias y Humanidades, UNAM. México. 319 p.
- HENDRICKX, M. E. 1995. Camarones. *In*: Fischer, W., F. Krupp, W. Scheneider, C. Sommer, K. E. Carpenter & V. H. Niem (Eds.). *Guía FAO para la identificación de especies para los fines de pesca. Pacífico Centro-Oriental.* FAO. Roma. pp. 417-537.
- HERNÁNDEZ, L., G. MURUGAN, G. RUIZ & A. MEADA. 2007. Freshwater shrimp on the genus *Macrobrachium* (Decapoda Paleamonidae) from the Baja California Peninsula, México. *Journal Crustaceana Biology* 27 (2): 139-143.
- HERNÁNDEZ-SANDOVAL, P. 2008. Efecto de la temperatura en el crecimiento y sobrevivencia del langostino *Macrobrachium occidentale* y del acocil *Cherax quadricarinatus*. Tesis de Maestría en Ciencias (Recursos Naturales y Medio Ambiente), Departamento de Acuicultura, Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Instituto Politécnico Nacional. Sinaloa, México. 47 p.

- HOLTHUIS, L. B. 1952b. On a Collection of decapod crustacea from The Republic of El Salvador (Central America). *Zoologische Verhandelingen* 23: 1-45.
- MARIAPPAN, P. & C. BALASUNDARAM. 2004. Studies on the morphometry of Macrobrachium nobilii (Decapoda, Palaemonidae). Brazilian Archiv Biological and Technology 47 (3): 441-449. DOI: 10.1590/S1516-89132004000300015
- MERUANE, J. A., M. C. MORALES, C. A. GALLEGUILLOS, M. A. RIVERA & H. HO-SOKAWA. 2006. Experiencias y resultados de investigaciones sobre el camarón de río del norte *Cryphiops caementarius* (Molina, 1782) (Decapoda;Palaemonidae): historia natural y cultivo. *Gayana* 70 (2): 280-292. DOI: 10.4067/S0717-65382006000200015
- Mossolin, E. C. & S. L. S. Bueno. 2003. Relative growth of the second pereiopod in *Macrobrachium olfersi* (Wiegmann, 1836) (Decapoda, Palaemonidae). *Crustaceana* 76: 363-376.
- MUSICK, J. & N. FRAZER. 1999. Planificación del manejo para especies longevas. Contribución No. 2353 Virginia Institute of Marine Science. pp. 61-67.
- NEW, M. B. 1988. Freshwater Prawns. Status of global aquaculture, 1987. NACA Technical Manual No. 6. A World Food Day Publication of the Network of Aquaculture Centers in Asia. Bangkok, Thailand. 58 p.
- NORAMBUENA, R. 1977. Antecedentes biológicos de *Cryphiops caementarius* (Molina, 1782) en el estero "El Culebrón" (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae). *Biología Pesquera*, Chile 9: 7-19.
- PAULY, D. 1983. Algunos métodos simples para la evaluación de Recursos pesqueros tropicales. FAO. Documento Técnico de Pesca 234: 1-52.
- Pauly, D. & J. L. Munro. 1984. Once more on the comparison of growth in fish and invertebrates. *Fishbyte* 2: 21.
- PÉREZ-VELÁZQUEZ, P. A., P. ULLOA, J. L. PATIÑO & J. TOVAR-ÁVILA. 2011. La pesca del langostino (*Macrobrachium tenellum*) en la laguna de Mexcaltitlán, Nayarit, una alternativa económica regional. *Ciencia Pesque*ra 19: 13-20.

- RICKER, W. E. 1975. Computation and interpretation of biological statistics of fish population. Department of Fisheries and the Environment, Fisheries and Marine Service of Canada, Bulletin 191, pp. 1-382.
- RIKHTER, V.A. & V.N. EFFANOV. 1976. On one of the approaches to estimation of natural mortality of fish populations. International Commission for the Northwest Atlantic. Fisheries Research Document 76/VI/8: 1-12.
- ROMAN-CONTRERAS, R. 1979. Contribución al conocimiento de la biología y ecología de *Macrobrachium tenellum* (Smith, 1871) (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae). *Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México* 6: 137-160.
- ROMÁN-CONTRERAS, R. 1991. Ecología de Macrobrachium tenellum (Decapoda: Palaemonidae) en la laguna Coyuca, Guerrero, Pacífico de México. Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México 18: 87-96.
- RUIZ-SANTOS, H. 1988. Estudio de edad y crecimiento del langostino Macrobrachium tenellum (Smith, 1871) en la laguna de Tres Palos, Gro. Tesis de Maestría en Ciencias del Mar (Oceanografía Biológica y Pesquera), Colegio de Ciencias y Humanidades, Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM. México. 78 p.
- SIGNORET-POILLON, G. & E. SOTO. 1997. Comportamiento osmoregulador de Macrobrachium tenellum y Macrobrachium acanthurus (Decápoda: Palaemonidae) en diferentes salinidades. Revista Biología Tropical 45: 1085-1091.
- SPARRE, P. & S. C. VENEMA. 1992. Introducción a la evaluación de recursos pesqueros tropicales. Parte 1- Manual. FAO. *Documento Técnico de Pesca* 306/2 Rev. 1. 432 p.
- WALFORD, L. A. 1946. A new graphic method of describing the growth of animals. *Biological Bulletin of the Marine Biological Laboratory, Woods Hole* 90:141-147.
- Zar, J. H. 1999. *Biostatistical analysis.* Fourth edition. Prentice Hall. EE.UU. 123 p.

Intervalos de parámetros no-conservativos en sistemas acuáticos costeros de México

Intervals of non-conservative parameters in aquatic coastal systems of Mexico

Guadalupe de la Lanza-Espino¹ y Francisco José Gutiérrez-Mendieta²

 ^{1.} Laboratorio de Hidrobiología, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. Tercer Circuito exterior, Jardín Botánico S/N, Ciudad Universitaria, CDMX 04510, México
^{2.} Laboratorio de Ecosistemas Costeros, Departamento de Hidrobiología, DCBS. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. Av. San Rafael Atlixco #186 Col. Vicentina, CDMX, 09340, México

e-mail: gdlle@unam.mx

Recibido: 22 de junio de 2016. Aceptado: 22 de julio de 2017.

De la Lanza-Espino G. y F. J. Gutiérrez-Mendieta. 2017. Intervalos de parámetros no-conservativos en sistemas acuáticos costeros de México. *Hidrobiológica* 27 (3): 369-390.

RESUMEN

Antecedentes. Algunos investigadores, para clasificar el estado trófico del agua de sistemas costeros mexicanos, han usado normas, estándares o regulaciones creados para ambientes de otras latitudes y con características climáticas, geológicas y sociales distintas a las de México, debido al desconocimiento de la variación normal de los parámetros fisicoquímicos y biológicos del agua de dichos sistemas; incluso los valores que obtienen se llegan a comparar con normas mexicanas que han sido elaboradas para regular las aguas residuales de uso urbano o industrial descargadas a ríos y lagunas costeras. Los intervalos de concentración de los distintos elementos químicos, las metodologías y las unidades e interpretaciones de esas normativas no son similares a los de las aguas costeras de latitudes tropicales; por lo tanto, los resultados no reflejan de manera adecuada la realidad de los ambientes acuáticos costeros nacionales. Objetivos. Difundir las unidades y los intervalos de variación espacio-temporal normales de los parámetros fisicoquímicos de lagunas, esteros, estuarios, marismas y bahías mexicanos. Métodos. Se realizó una amplia búsqueda de información con la finalidad de obtener la variación de los siguientes parámetros en la columna de agua: oxígeno disuelto, nutrientes (nitrogenados y fosforados inorgánicos) y el índice de la biomasa fitoplanctónica (referida como clorofila a), los cuales tienen significado ecológico y que en la acuicultura se consideran indicadores de calidad del agua. Resultados. Se presentan los valores promedio, mínimo y máximo de los parámetros analizados en 72 ambientes costeros de México desde 1968 hasta el 2015. Conclusiones. El análisis de la información mostró que los intervalos son resultado de las características ambientales de cada sistema acuático. Esta información servirá de referencia para futuros análisis o diagnósticos ambientales y evitará el empleo de normas de instancias extranjeras, cuyas características, tanto ambientales como socioeconómicas, son diferentes.

Palabras clave: Intervalos, no conservativos, sistemas costeros.

ABSTRACT

Background. Due to the lack of knowledge of the normal variation of the physicochemical and biological water parameters of Mexican coastal systems for classifying their trophic condition, some researchers have categorized these environments using norms, standards, or regulations created for environments of other climatic, geological, and social characteristics, different from those of Mexico; in fact, these values have even been compared with Mexican norms developed for urban or industrial wastewater discharged into rivers and coastal lagoons. The concentration ranges of different chemical elements, methodologies, units, and interpretations of other countries' regulations are not similar to the conditions of the coastal waters of tropical latitudes and, therefore, their results do not adequately reflect the reality of national coastal aquatic environments. Goals. Contribute to the knowledge of the normal spatiotemporal ranges of physicochemical and biological parameters in lagoons, estuaries, marshes, and Mexican bays. Methods. We conducted an extensive search of information that allowed us to determine normal ranges of variation for the following parameters: oxygen, nutrients (nitrogen and phosphorus) and phytoplankton biomass (chlorophyll a), which have ecological significance, and can even be considered by some as indicators of water quality. Results. We include the average, minimum, and maximum values of different variables of 72 coastal environments in Mexico based on studies carried out from 1968 to 2015. Conclusions. The analysis of the information showed that the intervals are the result of local environmental characteristics that are unique for each system. This information will be helpful in the analysis or diagnosis in future environmental studies, and will avoid the use of foreign standards based on different environmental and socioeconomic characteristics.

Key words: Intervals, non-conservative parameters, coastal systems.

INTRODUCCIÓN

Un problema importante que se presenta al determinar los límites de variación normal de los parámetros fisicoquímicos de aguas continentales o costeras de México es que los investigadores que analizan sus resultados en estos ambientes no consideran que existe un amplio intervalo de variación natural, que puede ser localmente diferente en tiempo v espacio. Asimismo, frecuentemente se basan en normas que regulan la calidad del agua de consumo humano, como la NOM-ECOL-001-1996 (SEMARNAP, 1997), sin considerar que ésta fue elaborada para aguas de descarga en reservorios cuyos intervalos de concentración, metodologías, unidades e interpretaciones son diferentes a las condiciones muchas veces prístinas de aguas lóticas y lénticas dulces, salinas o costeras de latitudes tropicales como las de México. Por la complejidad del marco ambiental y su variación espacio-temporal, que influye en las características fisicoquímicas del agua, y por la limitada consulta de información de diferentes sistemas, los resultados de un buen número de investigaciones en temas acuáticos (Herrera-Silveira & Morales-Ojeda, 2009: Herrera-Silveira & Treio. 2002: Rivera-Guzmán et al., 2014: Gómez et al., 2014) han sido comparados con normativas de otros países, como de la Agencia de Protección Ambiental (EPA, por sus siglas en inglés), de Estados Unidos, y la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE). Dado que las normativas y los índices de estos organismos se formularon con base en las características de ecosistemas de diferentes geografías, es inadecuado que se empleen para clasificar cuerpos costeros mexicanos. Esto conlleva una confusión del término características fisicoquímicas con el de calidad del agua, que se emplea para un fin antropogénico (sea el agua para consumo humano o para actividades económicas como la acuacultura, la agricultura o la industria). Es importante señalar que las metodologías que se utilicen para realizar las interpretaciones ecológicas deberán ser las recomendadas en lo que se refiere a ambientes acuáticos y permitirán determinar de manera temporal su condición o estado trófico.

Debido a lo anterior, y dado que los ambientes acuáticos tropicales experimentan amplias variaciones, la presente contribución se elaboró a partir de una revisión bibliográfica, que aportará elementos que permitan comprender el amplio intervalo de concentración espaciotemporal de los parámetros fisicoquímicos y biológicos (clorofila *a*), que rutinariamente se determinan en sistemas costeros, y que además podrá emplearse para discriminar una condición natural de una condición con contaminación.

Por lo anterior, se llevó a cabo una amplia búsqueda bibliográfica de los intervalos de variación espacio-temporal "normales" de los parámetros fisicoquímicos en lagunas, esteros, estuarios, marismas y bahías mexicanos, para contribuir ala elaboración de una mejor interpretación y diagnóstico de sus condiciones.

MARCO TEÓRICO

En apoyo al entendimiento de las variaciones de los parámetros aquí analizados, se expondrán ciertos elementos justificativos físicos y químicos, ya que dentro de la metodología empleada para el estudio de ambientes acuáticos se selecciona, a discreción del responsable, el horario del muestreo, la conservación de las muestras y la técnica de análisis en el laboratorio, entre otros aspectos; todos estos, consecuentemente, repercuten en los resultados. Tanto en las aguas continentales(dulces o salinas) como en las marinas se encuentran gases disueltos (O_2 , N_2 , CO_2 , entre otros); formas inorgánicas u orgánicas disueltas o particuladas de nitrógeno y fósforo, cuyas concentraciones son consecuencia de una variedad de factores latitudinales y locales, en donde los procesos físicos, geológicos, químicos y biológicos que ocurren en la columna de agua y en los sedimentos (ciclo biogeoquímico) y sus interacciones son extremadamente complejos y difíciles de separar (De la Lanza *et al.*, 2011).

Algunos de los gases disueltos en aguas naturales son principalmente de carácter conservativo, como el nitrógeno molecular, pues su variabilidad no depende de la reactividad química y biológica. Sin embargo, el CO_2 y el O_2 , considerados no conservativos por su reactividad química y su asimilación biológica, dependen no sólo de procesos metabólicos como la fotosíntesis y la respiración, sino también de factores físicos (temperatura y salinidad) y químicos (oxido-reducciones abióticas) (De la Lanza *et al.*, 2011).

Los gases con interacción biológica presentes en la atmósfera (CO_2 , O_2 , N_2) se encuentran disueltos en cualquier tipo de agua y su concentración es resultado de los factores antes mencionados; sin embargo, otros más afectan su contenido, como la variación cíclica con diferente temporalidad: la hora (ciclo diurno o nictemeral, estacional e interanual), que incluyen la mezcla y el intercambio mareal de aguas continentales y marinas, así como la dinámica vertical (estratificación y mezcla termohalina y eólica). Adicionalmente, la geomorfología, que modifica y restringe la circulación, también propicia la estratificación y los procesos difusivos (Aston, 1980), que no son homogéneos a nivel espacial en lagunas costeras; esto genera una distribución en parches de los nutrientes, el fitoplancton, la vegetación sumergida y el zooplancton (Álvarez-Borrego *et al.*, 1977), que hacen su distribución aun más heterogénea.

El ciclo diurno del oxígeno disuelto en cuerpos cerrados o semicerrados puede oscilar en condiciones normales entre la anoxia e hipoxia y la sobresaturación. Sin embargo, cargas fuertes de materiales orgánicos antropogénicos, sobre todo de aguas negras e industriales, llevan este balance hacia una condición de deficiente aireación, la cual es deletérea para los organismos planctónicos y, más aún, bentónicos intolerantes a hipoxia (< 2.0 mL/L) o anoxia (< 1.0 mL/L) (De la Lanza, 2014).

En los sistemas lagunares y estuarinos la concentración de oxígeno dependerá principalmente del balance entre la respiración y la fotosíntesis, cuando domina la primera se presentará en el medio hipoxia o inclusive anoxia. La permanencia de esta condición estará determinada por la morfología y una limitada circulación, la cual está en función de las mareas, las corrientes y el viento, así como la entrada de agua dulce con altos contenidos de materia orgánica (De la Lanza, 2014). Aunado a la respiración, estos dos últimos factores pueden generar no sólo hipoxia o anoxia durante la noche y especialmente las primeras horas de la mañana, sino también a lo largo del día. Siendo necesario, por lo tanto, establecer si el cuerpo de agua es todavía prístino o está sujeto al impacto de actividades antropogénicas (De la Lanza, 2014).

La eutrofización (natural y cultural) disminuye la concentración de oxígeno disuelto, ya que este gas se emplea para la degradación de la materia orgánica producida por el crecimiento excesivo de cierto fitoplancton y bacterioplancton, especialmente en condiciones de estratificación o baja circulación (Díaz, 2001). En algunos casos este enriquecimiento puede favorecer la presencia de especies nocivas. (Walsh *et al.*, 206). Los nutrientes (nitratos, nitritos, amonio y ortofosfatos) son indispensables para una adecuada producción primaria. Algunos autores incluyen ciertos metales traza (hierro, cobre, zinc, manganeso, vanadio y molibdeno) como esenciales para los sistemas enzimáticos de los organismos autótrofos, que se caracterizan por su reactividad química y biológica (De la Lanza *et al.*, 2011).

El estudio de los nutrientes puede abordarse en un marco global a través de su ciclo biogeoquímico (que incluye los ámbitos geológico, biológico y químico (De la Lanza, 2014). El ciclo se inicia con los aportes fluviales, ya que presentan mayores contenidos de sales de estos elementos, y, según Kennish (1986), puede describirse de la siguiente manera:

- a) De manera general, el nitrógeno y el fósforo presentes en las lagunas costeras y estuarios, llega transportado por los ríos debido a la intemperización de la roca y del lixiviado de suelos terrestres aledaños al sistema.
- b) A lo largo del gradiente de salinidad del estuario, desde la zona de influencia dulceacuícola hasta la boca de comunicación con el mar, se presentan una serie de reacciones fisicoquímicas y biológicas que disminuyen gradualmente la concentración de nutrientes. Adicionalmente, éstos pueden ser adsorbidos por los sedimentos los cuales representan un papel importante en la redisponibilidad y captura de nutrientes, manteniendo el contenido de estos elementos más o menos homogéneamente en la columna de agua, lo cual reafirma su importancia en los ecosistemas costeros como un reservorio de materiales y energía, por lo que es necesario incluira los sedimentos en los estudios de presupuesto de nutrientes en un marco ecológico (De la Lanza, 2014).

Bajo la visión anterior, se puede determinar la carga de nutrientes que soporta cualquier cuerpo de agua costero, procedentes de las aguas residuales domésticas e industriales. La agricultura costera y su consecuente empleo de fertilizantes y agroquímicos aunado a las actividades recreacionales (turismo) así como las descargas de centros urbanos, han generado un aumento constante de nutrientes, y como consecuencia ha resultado en la eutrofización del sistema, presentándose el crecimiento desmedido de especies que afectan el funcionamiento del ecosistema y al ser humano (De la Lanza, 2014).

En la zona costera podemos encontrar condiciones oligotróficas (baja concentración de nutrientes) y mesotróficas (mediana concentración de nutrientes); pero elevadas concentraciones de nutrientes generan condiciones eutróficas favoreciendo el predominio de ciertas especies nocivas del plancton (FAN o *blooms* algales), que son dañinas tanto para las comunidades estuarino-lagunares como para el hombre, pues varias de esas especies son productoras de toxinas letales. La materia orgánica que ingresa al sistema por cualquier vía, consume oxígeno durante su descomposición y favorece la anoxía (<1.0mL 0₂/L); adicionalmente, esta materia orgánica contiene formas de nitrógeno y fósforo orgánicos, las cuales al descomponerse o remineralizarse se transforman en nutrientes inorgánicos, lo que puede incrementar aún más la condición de eutrofia del sistema lo cual es inadecuado por las razones señaladas (De la Lanza, 2014).

Nitrógeno. En el agua de los sistemas costeros, los compuestos inorgánicos del nitrógeno (nitratos, nitritos y amonio) se presentan, según sean las condiciones locales, con una amplia variación espacial y temporal: desde lo indetectable para las tres formas hasta más de 30.0 μ M para NO₃⁺, 20 para NH₄⁺ y 3.0 μ M para NO₂⁺, según las condiciones prevalecientes de óxido-reducción. También se pueden encontrar concentraciones importantes de compuestos orgánicos disueltos representados por la urea (De la Lanza, 2014; Gutiérrez *et al.*, 1988; Okolodkov *et al.*, 2014), aminoácidos y péptidos, que son asimilados solamente por ciertos procariontes quimiótrofos, al igual que las formas inorgánicas y que se integran en el término de nitrógeno total. En ciertas condiciones de limitación del contenido inorgánico u orgánico, la fijación del nitrógeno molecular (N₂), por las algas azul-verdes o cianobacterias, puede ser una fuente adicional de N tanto en el agua como en los sedimentos. Estos procesos se realizan con la participación de microorganismos particulares en cada sistema acuático.

El sedimento de las lagunas costeras es la fase donde se acumula tanto la materia orgánica sin descomponerse como aquellos nutrientes procedentes de la columna de agua ya remineralizados (fracción reciclada) o de aportes fluviales (fracción nueva). Por tal motivo, dicha fase se ha convertido en una fuente potencial e incluso tóxica de nutrientes como el amonio, que se transforma en amoniaco (gas) en condiciones alcalinas (por arriba de pH 8). La resuspensión de sedimentos puede incrementar la liberación de amonio en cantidades nocivas; esta liberación dependerá de las condiciones locales en las que interactúan diversos factores ambientales, como: textura del sedimento, frecuencia de aportes de materiales orgánicos con tendencia a la formación de sustancias húmicas, tasas de sedimentación, corrientes-mareas y circulación, profundidad y actividades humanas diversas, como el tránsito de embarcaciones, entre otras (De la Lanza *et al.*,1991).

Fósforo. La principal entrada de ortofosfatos a los ambientes estuarinos son los ríos, los cuales transportan material rocoso intemperizado o lixiviado (De la Lanza, 2014); adicionalmente ingresa al sistema fósforo generado por las descargas industriales, los fertilizantes y los desechos orgánicos domésticos, así como productos de excreción de organismos acuáticos.

El ciclo geoquímico del fósforo es uno de los más complejos y está constituido por una serie de compuestos vitales como fosfonucleótidos, fosfoaminoazúcares, fosfolípidos, así como de los sistemas energéticos de las células (ADP y ATP) (De la Lanza, 2014). Actualmente es tema de controversia si el fósforo puede ser considerado como un nutriente limitante (p. ej. Cloern, 2001)y que controle o restrinja la producción o productividad fitoplanctónica en sistemas costeros, pero tomando en cuenta la proporción estequiométrica $C_{106}N_{16}P_1$, el requerimiento de fósforo es mínimo como para limitar el desarrollo considerando el aporte sedimentario.

El intervalo de concentración de los ortofosfatos en sistemas costeros es regulado por los mismos factores citados para el nitrógeno, y su contenido puede ser bajo o indetectable, sin significar que sea limitante, debido a su alto grado de reciclamiento, en el que la redisponibilidad en la fase sedimentaria juega un papel determinante. La concentración de ortofosfatos disueltos en las lagunas costeras puede oscilar desde lo indetectable hasta 5 μ M, o pueden ser contenidos altos cercanos a 10 µM, resultado de la complejidad local y la contaminación (De la Lanza, 1994). Su regeneración es relativamente más sencilla que la del nitrógeno (Day et al., 1989). Los ortofosfatos pueden retirarse del agua por adsorción en sedimentos (efecto amortiguador) en 60% (Hobbie et al., 1975). Algunos autores consideran que la remineralización de la materia orgánica en sedimentos puede ser el factor que controle la disponibilidad de nutrientes, y que la velocidad de remineralización varía dependiendo de su composición química, la naturaleza y la composición granulométrica del sedimento, así como de las condiciones fisicoquímicas y la dinámica del agua, entre otras cosas (De la Lanza, 1987). Su distribución en el agua y sedimento es altamente heterogénea, considerada en parches. Los sedimentos juegan un papel sustancial en el ciclo y flujo de nutrientes, vía su incorporación a la fase sedimentaria como materiales suspendidos orgánicos e inorgánicos; esto constituye un reservorio importante, al presentar abundante materia orgánica en diferentes grados de descomposición, que, con el tiempo, pueden redisponer nitrógeno y fósforo a la columna de agua (De la Lanza, 1991; Accornero *et al.*, 2003; Denis & Grenz, 2003; Czitrom *et al.*, 2010). El flujo de nutrientes del sedimento a la columna de agua también se encuentra asociado a procesos físicos como las mareas, como ha sido determinado en la laguna Ensenada del Pabellón, de Sinaloa (De la Lanza *et al.*, 2011), o por vía eólica, que resuspende el sedimento.

METODOLOGÍA

Se efectuó una búsqueda amplia sobre parámetros fisicoquímicos de las aguas costeras mexicanas (oxígeno disuelto, nutrientes como NO₃⁺, NO_2^+ , NH_4^+ , N total inorgánico, PO_4^{\equiv} , P total y clorofila *a* como un índice de productividad fitoplanctónica), para proponer, con dicha información, intervalos de concentraciones "normales", aun con los registros más conspicuos (incorporados con base en la experiencia de los autores). Para tal efecto, se consultaron publicaciones científicas y tesis que refirieran el tema del oxígeno y los nutrientes en sistemas costeros mexicanos y que presentaran las concentraciones correspondientes. La información representativa para las dos importantes costas de México (Pacífico mexicano, golfo de México y mar Caribe), basada en una amplia consulta total de 72 ecosistemas, se integró en las Tablas 2 y 3; adicionalmente, se elaboraron gráficas del promedio, mínimo y máximo por vertiente (Figs. 1-10). En virtud de las diferencias inherentes a cada una de las fuentes de información consultada, e independientemente de la técnica analítica empleada, y con el fin de poder presentar la información de manera uniforme y apoyar el análisis de los resultados, sólo se consideraron los valores correspondientes al promedio, mínimo y máximo, y con ello se elaboraron los histogramas de frecuencias.

RESULTADOS

A pesar de que el número de sistemas costeros en las vertientes golfo de México-mar Caribe y el Pacífico mexicano es aproximadamente igual (Tabla 1), se ha generado mayor información para los sistemas costeros del golfo probablemente por sus dimensiones, al ser un cuerpo semicerrado, por sus recursos pesqueros o por las condiciones de impacto antropogénico costero e incluso fluvio-continental, entre otros aspectos; sin descartar también que pueda ser por los fines que persigue la presente investigación.

Como se puede ver en la Tabla 2, que corresponde al Pacífico, el parámetro que más se ha determinado rutinariamente o ligado a aspectos biológicos es el oxígeno disuelto, seguido de los ortofosfatos y nitratos, seguramente por estar asociados a la asimilación fitoplanctónica, en donde se incluye la clorofila *a*; y fue hasta años posteriores que se determinó con mayor frecuencia el amonio, en asociación con la calidad del agua. En últimas fechas se han cuantificado el nitrógeno o el fósforo totales para incluir las formas orgánicas y ciertas inorgánicas para el balance de nutrientes. Asimismo, dentro del periodo aquí estudiado, se observa (Tabla 3) que ha sido un grupo pequeño de investigadores el que ha desarrollado estudios fisicoquímicos frecuentemente en aguas costeras.



Figura 1.Concentraciones promedio, mínima y máxima de oxígeno disuelto (mL/L) en ambientes costeros del Pacífico mexicano. \blacksquare = Promedio.

Tabla 1.	Ubicación	geográfica	de los sistemas	costeros	incluidos	en la	a presente	revisión	de	parámetros	no c	conservativos	en	sistemas	acuáticos
costeros	s de México).													

Costa del Pac	Costa del Golfo de México y Caribe				
	Latitud N	Longitud 0		Latitud N	Longitud 0
Bahía San Quintín	30° 26' 00"	115°58'01"	Laguna Madre	23° 46' 12'	97° 08' 41'
Bahía de los Ángeles	28° 55' 00"	11° 32' 00"	Laguna Pueblo Viejo	22°11' 00"	97° 50' 00"
Bahía Concepción	26° 39'	111 48'	Laguna Tamiahua	20° 57' 36"	22° 06' 32"
Ensenada de la Paz	24° 7' 59.88"	110° 25' 1.2"	Río Tuxpan	20° 58' 48"	97° 18' 0"
Bahía de La Paz			Laguna Tampamachoco	20° 58' 15"	21° 05'
Bahía La Cruz	28° 46' 59.88"	-111.867	Estero Casitas	20° 28'	96° °35' 17"
Bahía de Guaymas	27° 55' 06"	110°53'56"	Laguna Grande y Chica	20° 03'	96° 38'
Estero de Lobos	27° 22' 0.12"	110° 33' 0"	Laguna La Mancha	19° 34'	96° 27'
Estero de Huivuilay	27° 4' 0.12"	110°	Laguna Farallón	19° 38'	96° 24'
Bahía de Yavaros	26° 42' 0"	109° 30'	Laguna El Llano	19° 36'	96° 21
Estero de Agiabampo	26° 15' 0"	109°15'	Laguna Verde	19° 43'	96° 24'
Estero de Lechuguilla	25° 36'	109° 22' 58.8"	Laguna Mandinga	19° 00'	96° 02'
Bahía Ohuira	25° 25'	108° 50'	Laguna Alvarado	18° 43'	95°42'
Canal de Saliaca	25° 9'	108° 9'	Laguna Sontecomapan	18° 30'	95° 00'
Bahía de Santa Maria	25° 4' 0.12"	108° 6'	Laguna Ostión	18° 07'	94° 37'
Estero de Quevedo			Río Calzadas	18°6'14"	94°27'53"
Estero de Urias	23° 12.7'	106° 22.4'	Laguna Carmen	18°13'22.2"	93° 48' 0"
Laguna Huizache-Caimanero	22° 50' 00"	105°55'00"	Laguna Machona	18.3333	93° 40' 0.12"
Laguna El Verde	23º 35 25'	106º 35 35	Laguna Mecoacan	18° 22' 0.12"	93° 9' 0"
Laguna Santa María	25° 25'	108° 50'	Ssitema Pom-Atasta	18° 34' 59.88"	92° 12' 0 "
Sistema San Ignacio-Navachiste-Macapule	25° 26'19.38"	108°48'43.9	Laguna Términos	18°03'27"	92º 28' 38"
Sistema Santa María-Topolobampo-Ohuira	25° 36'	109° 04'	Estero Sabancuy	91° 10'	18° 57'
Laguna Mexcaltitlán	21° 54' 21"	105° 28' 31"0	Laguna Celestún	21° 30' 00"	87° 15' 00"
Laguna Cuyutlán	18° 55' 04"	104°04' 23"	Laguna Chelem	21°16' 00"	89°45' 00"
Laguna Juluapan	19° 07'	104° 24'	Laguna Dzilam	21° 20' 5.626"	88° 12' 50.8"
Laguna Nuxco	17° 10' 0.12 "	100° 48' 0"	Ría Lagartos	20° 27"	90°13'0
Laguna Mitla	16° 58' 59.88"	100 6'	Laguna Yalahau	21° 30' 00"	87° 15' 00"
Laguna San Marcos	16° 40' 0.12"	99 16' 59.88"	Laguna Holbox	21° 36' 14.04"	87° 31' 59.88"
Laguna Chautengo	16° 37' 0.12"	99° 7' 0.12"	Laguna Chelem	21°16' 00"	89° 45' 00"
Laguna Coyuca	16° 57'	100 4' 58.8"	Laguna Chacmochuk	21° 19' 59.88"	86° 52' 0.12"
Laguna Corralero	16 13' 0.12"	98° 7' 0.12"	Laguna Nichupté	21° 7' 0.12"	86° 46' 59.88"
Sistema Chacahua-Pastoría	15° 58' 45"	97° 40' 41"	Laguna Bojorquez	21°09'38"	86° 50' 51"
Laguna Manialtepec	15° 56' 45"	97° 11' 40"	Laguna Ascención	19°40'0"	87° 30' 0"
Sistema Superior e Inferior	16 19' 14.13"	94° 39' 17.73"	Laguna Chetumal	18° 30' 13"	88° 18' 19"
Laguna Mar Muerto	16°8'50"	94°15'43"			
Laguna Joya-Buenavista	15° 48'	93° 32'			
Sistema Carretas-Pereyra	15° 39' 2.221"	93° 20' 33.17"			
Sistema Chantuto-Panzacola	15° 15' 0"	92° 54' 0"			



Figura 2. Concentración promedio, mínima y máxima de oxígeno disuelto (mL/L) en ambientes costeros del golfo de México y Caribe mexicano. ■ = Promedio.

En la Tabla 3, donde se muestra la integración de los mismos parámetros para el golfo de México-Caribe mexicano, contrasta la mayor frecuencia de análisis, e incluso por el mismo grupo de investigadores y algunos otros autores extranjeros.

Dado que los parámetros que menos han sido determinados son el nitrógeno y fósforo totales, en la tabla 4 se presentan ejemplos registrados en algunas lagunas costeras con mediciones de tales concentraciones que pueden ser empleadas comparativamente en estudios de balances de nutrientes o contenidos que reflejen contaminación, ejemplo de esto último es el río Calzada, que descarga a la laguna del Ostión, en Veracruz.

Con base en los resultados de los parámetros analizados, se elaboraron gráficas con sus intervalos correspondientes. De éstos destaca, por diferencia de escalas, el contenido de oxígeno disuelto, que varió de lo anóxico (< 1 mL/L), en el mayor de los casos en el Pacífico, a la sobresaturación (>10 mL/L) (Figs. 1-2). En el caso de los ortofosfatos (Figs. 3-4), el intervalo de concentraciones fue bajo, sobre todo considerando que la escala de variación fue de micromoles (μ M), y en localidades específicas se presentaron concentraciones elevadas, que se abordan en la discusión.

Una situación semejante se presenta para los nitratos (Figs. 5-6). Sobresale el contenido de amonio, cuyas concentraciones en el golfo de México y Caribe mexicano fueron altas en su mayoría, comparadas con el Pacífico (Figs. 7-8); sin embargo, cabe destacar que las figuras no presentan las mismas escalas en el eje de las Y.

El contenido de clorofila *a* en ambas vertientes fue amplio (Figs. 9-10). Con el objeto de proponer la concentración media de todos los parámetros anteriores, se elaboraron histogramas que muestran la concentración promedio, mínima y máxima para todos los parámetros comunes en los sistemas costeros de ambas vertientes (Fig. 11).

DISCUSIÓN

Con la información recabada y analizada en el periodo que comprende de 1960 a 2015 se observó lo siguiente: las concentraciones de 0, se encuentran en intervalos de variación amplios, que van de condiciones de anoxia-hipoxia (0 a <2 mL/L) en el 4% de los registros, hasta condiciones aireadas o bien oxigenadas (de 4 a >5 mL/L), que representan el 44% (Figs. 1-2). Destaca la laguna de Tampamachoco, que ha sido muestreada en diversas ocasiones desde 1979 hasta 2013; durante este periodo, los contenidos de oxígeno han fluctuado de manera similar entre la anoxia-hipoxia (0.3 - 1.8 mL/L) hasta sobresaturación (8 - 9 mL/L) (Tabla 2, Fig. 2), a pesar del incremento poblacional y de las diversas actividades antropogénicas que se han llevado a cabo en las márgenes de este cuerpo costero. Destacan también los casos de anoxia-hipoxia determinados en las lagunas de Nuxco, Mitla, Chantuto-Panzacola, La Joya Buenavista, por mencionar algunas, entre las décadas de 1970 y 1980. Si se considera este periodo de menor impacto por actividades antropogénicas y menor densidad poblacional, las concentraciones de este gas se pueden considerar como normales obtenidas en sitios aislados y puntuales, o incluso en aquéllos de amplia dinámica de circulación, siempre y cuando las determinaciones se hagan en las primeras horas del amanecer, cuando los ambientes salen de la respiración nocturna.

; S=Sistema.
; L=Laguna
; E=Estero
o. B= Bahía
co mexicano
s del Pacífic
ites costero:
a en ambien
y clorofila á
, nutrientes
no disuelto,
os de oxíge
os y máxim
edio, mínim
Ilores prome
Tabla 2. Va

Sistema	Fecha	0.5	Dis.			P0₄ (Mu)		а -1	Tot. M)		HN ∳_Mu		_	N02 (JJM)		No. No.	IM) 22		N Tot. (µM)		Clor. (µg/L	a (Referencia
	mes/ano	Prom.	Min	Max F	Prom.	Min	Max	^o rom. N	Ain Má	ax Prom.	Min	Мах	Prom.	Min	Max P	rom. N	Ain A	Max Prom	. Min M	lax Prom	Min	Мах	
B. San Quintín	Recopilación	1				1:	3.2	1			0.2	2.7	ı).5 5	12.0		1			Álvarez-Borrego (2004)
B. los Ángeles	07-08/1972	4.5	3.4	5.0	1.1	0.8	2.2			:			1			0.6 C	1.1	5.0		0.3	0.2	0.5	Gilmartin y Revelante (1978)
B. Concepción	07-08/1972	3.7	0.0	5.1	1.2	0.3	5.8			:						0.7 C	1.1	5.8		0.4	0.2	0.6	Gilmartin y Revelante (1978)
Ensenada de la Paz	07-08/1972	3.6	2.7	4.3	0.6	0.5	0.8			:			ı			0.7 C	.3	1.8		2.4	0.9	3.2	Gilmartin y Revelante (1978)
B. de La Paz	04-09/1981				7.1			:		8.5			0.9			5.4		1		:			Cervantes-Duarte y Guerrero-Godínez (1988)
L. de la Cruz	07-08/1972	4.3	3.8	4.7	0.4	0.2	0.5			:						1	;	:		5.3	3.0	11.4	Gilmartin y Revelante (1978)
B. Guaymas	07-08/1972	4.2	3.5	4.8	0.4	0.2	0.7			:						0.9 C		1.3		8.8	4.7	12.8	Gilmartin y Revelante (1978)
E. Lobos	07-08/1972	3.9	3.3	4.8	0.7	0.5	0.8	1		:						0.7 C	.2	1.6		4.4	3.4	6.7	Gilmartin y Revelante (1978)
E. Huivuilay	07-08/1972	3.8	3.3	4.0	1.0	0.8	1.4	ı		:						0.8).2	1.6		8.5	4.4	11.7	Gilmartin y Revelante (1978)
B. Yavaros	07-08/1972	ı			0.5	0.4	0.7	1		:						0.9 (1.2		7.9	4.3	11.5	Gilmartin y Revelante (1978)
E. Agiabampo	07-08/1972	4.8	3.4	5.7	0.4	0.2	0.8	ı		:						0.6 C	1.1	1.1		4.4	2.4	7.2	Gilmartin y Revelante (1978)
E. Lechuguilla	07-08/1972	4.4	3.9	4.6	1.5	0.7	2.2			:						0.9 C		1.2		12.6	6.5	19.9	Gilmartin y Revelante (1978)
B. Ohuira	07-08/1972	4.1	3.4	5.1	1.2	0.9	1.3			:						1.9 (.8	3.6		12.0	8.3	12.5	Gilmartin y Revelante (1978)
Canal de Saliaca	07-08/1972	4.7	4.0	5.6	0.6	0.3	1.4	I		:			ı			0.9 (.4	1.5		4.8	2.0	11.8	Gilmartin y Revelante (1978)
B. Santa Maria	07-08/1972	4.1	3.1	4.8	0.4	0.1	131.0	ı		:			ı			0.7 C).2	1.3		7.0	2.6	19.3	Gilmartin y Revelante (1978)
E. Quevedo	07-08/1972	4.4	3.5	4.7	0.5	0.4	9.0			:			ı			0.8 (.5	1.2		5.6	3.4	8.4	Gilmartin y Revelante (1978)
E. de Urias	07-08/1972	4.4	2.6	5.6	0.9	0.6	1.4			:			ı			0.9 (.6	1.8 -		7.9	3.4	12.6	Gilmartin y Revelante (1978)
S. Huizache-Caimanero	Recopilación		1.0	7.5	0.5	10.0					0.5	80.0				5).5 3	0.01					de la Lanza y García Calderón (1991)
S. Huizache-Caimanero	08/1994 -02/1995	6.5	4.0	7.2	6.5	2.9	8.5						0.1	0.0	0.4	1.4 (0.0	0.1					Galindo <i>et al.</i> (1997)
S. Huizache-Caimanero	1998	ı			2.2	1.2	4.6	ı		11.9	2.5	31.7	ı			4.1 ().5 1	3.1 14.6		19.4	7.8	41.1	Contreras-Espinosa <i>et al.</i> (1996)
E. El Verde	04/1992-07/1993	ı			5.5	4.0	7.0	I		11.0	3.0	20.0	ı			4.0 C	0.0 2	0:0;		27.0	15.0	50.0	Flores-Verdugo <i>et al.</i> (1988)
L. Sta. María	07-08/1972	3.4			3.0			9.7		59.4			3.8			9.5		I					Gilmartin y Revelante (1978)
S. Topolobampo-Ohuira-Sta. María	05/1987-06/2007	6.6	0.5	14.3	1.6	0.0	22.7	ı		1.5	0.0	42.7	0.3	0.0	29.5	0.8	0.0 5	i0.5		6.4	0.6	47.0	Escobedo-Urías (2010)
S. San Ignacio-Navachiste-Macapule	i 1998-2007	7.0	2.6	13.2	1.2	0.0	32.1			2.0	pu	62.1	0.2	pu	4.3	1.3	9 pu	0:01		6.0	0.3	32.2	Escobedo-Urías (2010)
S. Santa María	11/2004-02/2006	2.03	4.6	7.1	1.8	0.2	3.4			3.9	0.2	16.3	0.4	0.0	4.0	2.1 (1.1	0.1		3.2	0.4	12.6	Ayala- Rodríguez (2008)
L. Topolobampo	11/2004-02/2006	5.2	3.2	8.3	1.0	0.1	3.6			1.6	0.1	4.0	0.4	0.0	8.1	1.1	7 0.0	4.6		4.3	0.4	22.7	Ayala- Rodríguez (2008)
L. Ohuira	11/2004-02/2006	5.8	5.0	10.0	1.0	0.2	2.8			1.5	0.0	4.4	0.4	0.0	2.6	1.1	? 0.0	8.6		3.1	0.1	14.9	Ayala- Rodríguez (2008)
abla 2 (continuación).																							
------------------------	--																						

Sistema	Fecha		02 Dis. (ml/L)			P0₄ (µM)		<u>ط</u>	Tot. IM)		-N (L)	_*€		NO ₂ (µM)		N	3+N02 (JuM)		N [d]	M)		Clor. (µg/l	L a	Referencia
	mes/año	Prom.	Min	Max	Prom.	Min	Max P _i	rom. N	Ain Ma	ax Proi	m. Mi	'n May	x Prom	Min -	Мах	Prom.	Min	Max P	rom. M	"in M	ax Pror	n. Mir	n Ma	×
L. Mezcaltitlán	01/1982	1.0			2.6					3.	2		1			:					'			de la Lanza-Espino <i>et. al.</i> (1984, 1986)
L. Cuyutlán	1990-1991	5.2	3.7	6.8	1.1	0.1	3.3	1		6.	5 2.	7 18.	- 2			2.2	9.0	7.6	6.5		193.	0 31.	3 403	.0 Contreras y Warner (2004)
L. Cuyutlán	05/2004-06/2005	1.6			0.4					1			1			3.0					:			Sosa-Ávalos <i>et al.</i> (2013)
L. Juluapan	1993	7.6	6.2	9.4	2.6	0.4	6.6			2.7	2 2.	4 12.1	- 0			5.1	0.5	29.6	9.8		12.	0 4.4	23.	7 Contreras y Warner (2004)
L. Nuxco	1975	3.5	2.7	5.1	0.8	0.4	3.7	2.3		3.1	1.	4 7.1	1			0.3	0.1	0.4	3.7		:	1	1	Contreras y Warner (2004)
L. Mitla	1975	4.5	3.5	6.0	0.2			1.8		3.5	5 1.	6 8.0	-			0.5	0.2	1.0	4.0		:	1	:	Contreras y Warner (2004)
L. San Marcos	1975	5.2	5.0	5.4	3.4	1.1	5.0	5.5		7.8	3 1.	2 15.	; —			0.5			8.3		:	1	1	Contreras y Warner (2004)
L. Chautengo	1975	4.7	3.0	5.9	1.3	0.4	2.0	2.0		.9	7 1.	1 16.	- 2			0.5	0.2	1.0	7.3		:	1	1	Contreras y Warner (2004)
L. Coyuca	1999	4.7	0.0	7.3	16.6	0.0	57 5	30.2		29.	1.	6 172	-			11	0.6	2.2	30.2		82.	0 6.7	130	9 Contreras y Warner (2004)
L. Corralero	1992-1993	4.2	1.5	9.0	6.7	0.8	54 1	0.6		6.1	5 0.1	0 28.	- 2			13.2	1.2 (66.2 2	0.0		24.	3 2.3	3 20	7 Contreras y Warner (2004)
S. Chacahua-Pastoría	1992	4.7	1.3	8.8	3.0	1.1	9.9	6.4		6.6	3 2.	5 12.	2			18.4	2.1 (63.1 2	3.5		17.	7 0.0	39	Contreras y Warner (2004)
L. Manialtepec	1989	2.4	1.8	2.9	2.9	0.1	4.3	7.6		14.	2 3.	7 28.8	۱ 80			5.6	3.5	8.2	20.1		:			Contreras y Warner (2004)
S. Superior e Inferior	1987	4.7	2.1	7.4	2.3	0.9	7.0	6.1		4.1	0 1.	1 7.9	۱ ح			1.7	0.2	4.7	5.7		8.4	1 0.4	51.	2 Contreras y Warner (2004)
L. Mar Muerto	1987	4.3	0.6	5.8	1.8	0.8	3.4	6.1		3.6	3 0.1	6 6.9	1			0.6	0.3	1.3	4.4		21.	4 3.6	36.	9 Contreras y Warner (2004)
S. Joya-Buenavista	1987	3.8	0.3	9.7	4.7	0.6	13.2	9.4	1.3 32	.8 6.4	4 1.	6 12.				1.7	0.0	10.5	8.1		13.	7 1.7	48	2 Contreras y Warner (2004)
S. Carretas-Pereyra	1990-1991	3.3	0.9	8.2	14	0.6	56 2	1.9	2.7 62	.9 8.9	0.6	2 59.	- 2			2.7	0.8	13.7	1.9 1.	.3 6	1 40	0.0	12	1 Contreras y Warner (2004)
S. Carretas-Pereyra	1998	5.5	0.8	10.0	0.9	0.1	6.8	2.0 (0.4 10	.1 3.	7 0.	3 9.0	1			7.8	0.3	75.9	4.3 1.	.4 8	1 57	8.6	19	4 Contreras y Warner (2004)
S. Carretas-Pereyra	2000	5.0	3.3	6.5	2.0	0.1	4.2 1	. 9.0	1.6 24	2 2.	2 0.	3 8.3	1			3.1	0.8	11.8	5.0 1.	.2	2 25	2.7	96	i Contreras y Warner (2004)
S. Chantuto-Panzacola	1990-1991	3.0	0.1	5.9	8.5	1.2	46	14	3	2 6.9	9 0.1	6 57.	4			3.8	0.7	10.0	0.8 3.	9 6	0 26	0.1	14	3 Contreras y Warner (2004)
S. Chantuto-Panzacola	1997	3.0	0.8	4.8	1.7	0.1	4.6	3.2 (11 11	.4 3.	3 0.	1 13.6	۱ 80			4.8	0.3	21.4	8.1 2.	.9	2 26	8.1	100	2 Contreras y Warner (2004)
S. Chantuto-Panzacola	1999	3.3	0.6	5.3	1.9	0.2	4.5	4.2	1.8 7.	3.1	2 1.	1 5.7	I			4.2	0.0	22.2	6.9 1.	.1	4 12	0.0) 54	. Contreras y Warner (2004)
S. Chantuto-Panzacola	2000	3.6	1.9	7.2	1.3	0.2	2.3	5.5 (0.4 16	.2 4.9	9 0.	4 19.0	 0			5.7	E	34.3	0.5 3.	.1 3	5 16	0.6	97	Contreras y Warner (2004)
S. Chantuto-Panzacola	10/2008-11/2009	2.7	1.7	5.7	57	21	102	117 5	3.9 16	99 23.	7 7.	7 63.2	2 0.8	0.1	2.1	68	16	100	87 2	-1 -0	40 18.	3 4.9	9 43	Gómez-Ortega (2014)
B = Bahía; E=Estero; L = L	aguna ; S = Sisten	na lag	unar;	Recop	ilació		lforma	ición g	lenera	da dur	ante i	más d	e 20 ai	ños de	etraba	jo de c	ampo	y labo	ratoric) sobr	e aspe	ctos h	hidrob	iológicos.

	0	20	40	60	80	100	120	14
Bahía de San Quintín								
Bahia de los Angeles, 1972								
Bahia Concepción, 1972								
Ensenada de la Paz, 1972								
Bahía de La Paz, 1981								
Laguna de la Cruz, 1972								
Bahia de Guaymas, 1972	•							
Estero de Lobos, 1972								
Estero de Huivuilay, 1972								
Bahia de Yavaros, 1972	•							
Estero de Agiabampo, 1972	•							
Estero de Lechuguilla, 1972								
Bahia Ohuira, 1972	8							
Canal de Saliaca. 1972	•							
Bahia de Santa Maria, 1972	•							-
Estero de Quevedo, 1972	•							
Estero de Urias, 1972								
Huizache-Caimanero, 1998								
Huizache-Caimanero, 1995	-8-							
Huizache-Caimanero, 1991	a							
Estero El Verde, 1983	-							
Laguna Sta. María, 1972	-8							
Topolobampo-Ohuira-Sta. María, 2007		-						
San Ignacio-Navachiste-Macapule, 2007			-					
Mezcaltitlán, 1982	-							
Cuvutlán. 1991	- 7							
Cuyutlán, 2005								
Juluapan, 1993	-8							
Nuxco, 1975								
Mitla, 1976								
San Marcos, 1975	-81							
Chautengo, 1976								
Covuca 1999		-						
Corralero, 1993								
Chacahua-Pastoría, 1992	-8							
Manialtepec, 1989	-8-							
Superior e Inferior, 1987								
Mar Muerto, 1987	B 1							
Joya-Buenavista, 1987								
Carretas-Perevra, 1991								
Carretas-Perevra. 1998	-							
Carretas-Perevra. 2000								
Chantuto-Panzacola. 1991								
Chantuto-Panzacola, 1997	-							
Chantuto-Panzacola, 1999	-∎-∍							
Chantuto-Panzacola. 2000								
Chantuto-Panzacola 2009								

Figura 3. Concentración promedio, mínima y máxima de ortofosfatos (µM) en ambientes costeros del Pacífico mexicano.

l 3. Valores promedio, mínimos y máximos de oxígeno disuelto, nutrientes y clorofila a en ambientes costeros del golfo de México y	Caribe mexicano.
l 3. Valores promedio, mínimos y máximos de oxígeno disuelto, nutrientes y clorofila a en ambientes costeros	del golfo de México y
l 3. Valores promedio, mínimos y máximos de oxígeno disuelto, nutrientes y clorofila <i>a</i> e	n ambientes costeros
l 3. Valores promedio, mínimos y máximos de oxígeno disuelto, nutrie	ntes y clorofila <i>a</i> e
l 3. Valores promedio, mínimos y máximos de oxíge	no disuelto, nutrie
ı 3. Valores promedio, mínimos y	/ máximos de oxíge
l 3. Valores prol	medio, mínimos y
ıbla	tbla 3. Valores pro

	Fecha		02 UIS. (mI/L)			hMu 1			(MIL)			run (Mu)			(hM)			(hll)	2		(hM)			CI01. 8 (µg/L)		
listema	mes/ano	Prom.	Min	Max	Prom.	Min	Max	Prom	Min	Max	Prom.	Min	Мах	Prom.	Min	Max	Prom.	Min	Max	Prom.	Min	Мах	Prom.	Min	Мах	Referencia
. Madre	1987	5.4	4.0	9.2	3.1	0.1	7.6	8.6			5.3	0.8	20.7	:			2.6	0.4	5.9	7.9	2.9	22.9	8.0	0.0	54.7	Contreras et al. (1996)
. Pueblo Viejo	1994-1995	6.6	3.5	9.2	2.9	1.0	9.1	5.8			8.2	1.3	31.3	:			4.2	0.3	18.0	13.0	3.1	38.0	10.8	0.0	64.1	Contreras et al. (1996)
. Tamiahua	1980-1981	6.6	2.4	12.8	1.2	0.1	17.2	2.3			5.8	0.1	24.5	:			1.9	0.1	10.8	7.6	0.4	31.2	12.7	0.0	53.5	Contreras et al. (1996)
. Tamiahua	1994-1995	5.7	2.1	11.7	2.7	0.1	7.4	4.5			9.7	0.7	32.0	;			3.6	0.7	13.6	12.9	1.5	38.7	15.3	0.0	170.0	Contreras et al. (1996)
. Tuxpan	1979-1980	4.9	3.6	6.1	0.6	0.3	1.2	1.0			5.3	0.7	9.5	;			2.2	0.4	8.6	8.5	2.6	18.0	8.1	4.2	15.7	Contreras et al. (1996)
. Tampamachoco	1979-1980	4.2	2.2	6.6	0.6	0.1	1.4	2.7			4.9	0.1	15.1	;			0.9	0.2	4.5	6.0	0.5	15.6	5.3	0.3	16.1	Contreras et al. (1996)
. Tampamachoco	1990-1991	4.9	1.8	9.0	8.8	0.1	37.2	15.7			7.4	0.0	39.0	;			4.5	0.4	55.6	11.8	1.1	74.7	21.9	0.0	105.1	Contreras et al. (1996)
Tampamachoco	1994-1995	5.5	1.8	8.2	4.4	1.2	14.0	5.9			8.8	1.0	27.7	;			5.4	1.0	20.0	14.4	3.3	34.3	23.2	0.0	254.0	Contreras <i>et al.</i> (1996)
Tampamachoco	01/2009-04/2010	5.3	2.8	9.6	2.7	0.(0 8.	0.						0.01	2.9			1.4	55.0				21.1	18.2	31.4	Gutiérrez-Vivanco (2010)
Tampamachoco	02/12	4.3	0.3	9.1	9.7	0.(0 89	21.3	2.6	123.9	17.0	0.7	35.0	0.3	0.0	0.9	1.4	0.1	0.7	30.9	5.0	70.7	5.3	1.6	13.6	de la Lanza <i>et al.</i> (2013)
de Tampamachoco	2012				0.3	0.	1 2.	5			0.1	0.0	1.6				0.3	0.0	1.3							Rivera-Guzmán <i>et al.</i> (2014)
Casitas	2012				3.5	0.5	2 22.	œ			0.3	0.0	2.9				8.0	0.0	41.5							Rivera-Guzmán <i>et al.</i> (2014)
Grande y Chica	2012				7.1	0.(0 16.	ç			3.2	0.0	35.5				0.0	0.0	0.2							Rivera-Guzmán <i>et al.</i> (2014)
La Mancha	1980-1981	3.9	0.3	5.8	4.7	2.4	8.9				4.3	1.4	14.3	:			3.3	1.4	14.3	7.6	4.0	16.2	9.4	4.3	23.3	Contreras et al. (1996)
La Mancha	04/1989-04/1990					0.1	3.1								0.1	3.8		0.4	3.1				19.3	4.9	29.0	Barreiro-Güemes y Balderas-
La Mancha	2012				1.5	0.0	5.8				2.0	0.0	9.8				1:	0.0	11.4							Cortes (1991) Rivera-Guzmán <i>et al.</i> (2014)
Farallón	02/2012	6.6	1.1	9.4	3.2	12.0	80.5	80.5	21.3	160.0	1.9	1.4	2.8	0.6	0.4	0.8		0.0	3.7							de la Lanza <i>et al.</i> (2013)
El Llano	02/2012	4.5	3.8	11.8	11.9	11.0	21.0	24.0	20.0	30.7	0.0	0.0	0.0	0.1	0.1	1.3	0.1	0.0	0.3		4.6	91.8				de la Lanza <i>et al.</i> (2013)
Verde	02/2012	5.7	3.0	7.7	11.8	10.7	13.2	21.9	15.2	34.8	0.2	0.0	1.4	0.4	0.3	0.5	0.1	0.0	0.1	20.4	26.4	35.7				de la Lanza <i>et al.</i> (2013)
Mandinga	1982	3.9	2.5	4.7	2.1	1.2	2.8	5.3			7.7	4.7	10.3	1			3.3	1.6	5.5	11.1	6.3	13.9	34.3	11.4	55.5	Contreras <i>et al.</i> (1996)
Mandinga	1996-1997	4.6	3.7	5.6	1.0	0.2	1.7	3.0			6.5	2.0	10.3	:			4.7	2.1	11.8	11.2	4.6	17.2	23.9	10.3	52.0	Contreras et al. (1996)
Alvarado	1966	4.3	2.7	7.7																						Villalobos et al. (1975)
Alvarado	1967																							2.0	17.0	Margalef (1975)
Alvarado	1996-1997	5.4	2.7	7.9	2.0	0.0	13.4	4.6			11.8	1.2	44.8	;			5.8	0.5	20.1	17.6	4.9	45.8	27.6	4.9	219.3	Contreras <i>et al.</i> (1996)
Alvarado	1986-1987	6.5	1.6	8.1	1.2	0.0	5.6					0.1	7.1		0.0	7.2	33.4	0.0	165.0				7.3	3.2	15.0	de la Lanza-Espino y Lozano-
Alvarado	2012				4.2	0.2	34.7				5.6	0.0	20.0				0.9	0.0	3.1							Montes (1996) Rivera-Guzmán <i>et al.</i> (2014)
Sontecomapan	1992	5.9	3.5	8.5	2.3	1.0	5.3	3.5			11.3	1.8	32.7	1			6.0	0.7	14.8	17.5	3.5	47.5	24.9	0.0	161.8	Contreras <i>et al.</i> (1996)
Sontecomapan	10/2002-10/2003																									Aké-Castillo y G. Vázquez (2008)
del Ostión	1984-1985	4.5	2.9	5.3	7.4	4.5	9.5	I			16.8	7.0	33.7	I			2.4	0.9	4.5	19.4	9.8	35.5	9.3	2.6	20.5	Contreras <i>et al.</i> (1996)
Calzadas	1984-1985	4.0	1.8	8.2	10.0	13.4	104	I			257	49.2	526.0	I			32.4	16.1	55.8	290	60.9	551	53.9	16.2	125.8	Contreras <i>et al.</i> (1996)
Carmen	1985-1986	4.1	3.0	5.5	2.6	1.0	4.2	I			11.6	5.5	29.0	I			2.9	0.3	7.5	14.5	5.8	36.5	18.8	12.7	25.4	Contreras <i>et al.</i> (1996)

Vol. 27 No. 3 • 2017

	Fecha		0_2 Dis. (ml/L)			P0₄ (Mu)			P Tot. (JJM)			NH, ∳Mu)		3	NO ₂		N	3+N02		z 3	Tot.	1	Cloi (Jug	(L)		
Sistema	mes/año	Prom.	Min	Max	Prom.	Min	Max	Prom.	Min	Max	Prom.	Min	Max F	rom.	Vlin	Aax P	Om.	Vin N	Aax Pr	om. N	1in Ma	ax Pro	W	n Ma	×	Referencia
L. Mecoacán	1985-1986	3.7	3.0	4.5	1.7	0.4	3.7	.			9.7	5.1	13.7	.			2.1).2 4	1.9 1	1.8 5	1.3 18	.6 15	4.6.	7 21.	4 C0	ntreras et al. (1996)
L. Pom-Atasta	04/1992-04/1993				1.0	0.5	2.5					2.5	6.9	_	0.1	2.7						13	.3 .3	8 64.	0 Ba	rreiro-Guemez y Aguire-León
L. de Términos	1974	4.7	4.6	5.0	0.5	0.3		I			10.1			;		-).5 (1.1 1	1.	J.6		i		1	ËS	99) ntreras <i>et al.</i> (1996)
L. de Términos	03/1974-02/1975	4.6			0.1			ı			5.0					-).3			1		i			Vá	zquez-Botello (1978)
L. de Términos	1986-1987	4.9	2.9	9.6	0.9	0.0	6.7				0.7	0.1	1.5	0.2	0.0).6).3 (0.0	1.6			7.	о Э.	2 19.	9 de	la Lanza-Espino y Lozano-
E. Sabancuy	03/06/2009		3.1	4.8		1.2	5.2		0.3	0.6		4.9	40.5	_	J.3 ().6)	.9 2	1						S S	intes (1998) nzález-Solis y Torruco (2013)
L. Celestún	1994				2.5			5.5			4.8	0.1	10.2	;			2.4 ().2 (3.8	3.7 0	1.2 18	4 7.	2		පි	ntreras <i>et al.</i> (1996)
L. Celestún	04/1987-02/1988	3.8	1.5	7.5	2.0	1.3	2.7	ı			5.4	4.7	6.1	0.4).4 C).5	7.7 (3.3 (9.0	I		с. С	0 5.	0 22.	0 He	rrera-Silveira (994 a, b)
L. Celestún	2001-2006	3.6	2.4	5.4	1.1	0.3	2.3				11.8	0.1	40.7	0.7	0.2 1	4.1	1.0).5 1	2.8			с. С	9.0	1 14.	8 He	rrera-Silveira y Morales-Ojeda
L. Chelem	2001-2006	5.6	2.4	9.2	0.5	0.0	2.5	ı			9.5	2.1	40.2	0.2).0 C	7.0	3.2 ().3 2	0.9	1		5	0 0	2 10.	20 19 19	00) rrera-Silveira y Morales-Ojeda
L. Dzilam	2001-2006	5.0	1.9	8.3	0.2	0.0	1.2	I			2.4	0.4	7.0	0.3 (2.0 2	2.0	1.8).1 3	1.0	6.0		ŝ	9.1.	5 8.6	운(5 9 0	00) rrera-Silveira y Morales-Ojeda
L. Dzilam	09/1998-08/1999		1.3	7.0		0.0	0.4	I				2.0	6.0	0	J.1 C	9.0		3.0 1	6.0	1		i			M6(2)	109) dina-Gómez y Herrera-Silveira,
R. Lagartos	11/1994-08/1995	3.4	0.4	7.5	0.1	0.0	1.4				3.2	1.5	8.2	0.1	0.C).5 ().7 (.1	3.8						20 Va	03 déz-Lozano y Real (2004)
R. Lagartos	2001-2006	5.8	2.8	9.9	1.4	0.0	7.2	I			5.1	0.6	20.0	0.8	0.0	2.0	2.7 (0.1 4	4.0	I		4	7 0.	0 15.	0 He	rrera-Silveira y Morales-Ojeda
L. Yalahau	11/1999-08/2002	3.7	0.0	7.4	0.2	0.0	12.3				5.0	0.3	24.6	0.2	1.0 1		.18).0 4	4.7						14/20	09) ın-Kim <i>et al.</i> (2008)
L. Holbox	2001-2006	4.2	2.6	5.4	0.6	0.1	1.0	ı			4.7	1.2	13.0	0.4	0.0	6.1).7 (.0.C	2.6	,		~i	0.	4.0.	운 :	rrera-Silveira y Morales-Ojeda
L. Chelem	01/1988-10/1992	4.0	0.2	10.9	0.6	0.0	9.5				7.8	0.1	54.0	0.3 (3 O.C	5.0	2.8	0.1 2	4.0			4	6 0.	4 46.	8 (2(8	09) déz-Lozano <i>et al.</i> (1998)
L. Chacmochuk	2001-2006	5.1	3.2	8.0	0.6	0.0	1.4	I			5.1	0.1	29.0	0.8	0.1 2	2.7).5 ().0 5	3.2	ı		ŝ	2	1 17.	0. He	rrera-Silveira y Morales-Ojeda
L. Nichupté	07/2002-01/2003	4.6	2.7	5.7	0.0	0.0	0.1				6.2	1.5	<u>12.1</u>	0.2 ().0 C).4	1.1).5 2	2.7						/20 Va	009) déz-Lozano <i>et al.</i> (2006)
L. Nichupté	2001-2006	5.8	2.8	7.9	0.4	0.0	1.5	ı			8.6	1.9	30.2	1.0	9.0	4.4	3.6 ().2 4	3.2	9		<u> </u>	6.0	2 6.3	원 (1) (1) (1) (1) (1) (1) (1) (1) (1) (1)	rrera-Silveira y Morales-Ojeda
L. Bojorquez	2001-2006	5.1	2.7	7.2	0.6	0.2	1.2	I			6.2	0.4	26.0	0.9	5.0 A	1.7	. 0.6	1.0 2	9.0	1		<u></u>	4 0.	2 3.8	8 8 8	010) rrera-Silveira y Morales-Ojeda
L. Ascensión	2001-2006	7.1	2.8	12.8	0.2	0.0	1.3	I			1.8	0.0	9.4	0.4	1.0 1	9.1	1.0	0.0	0.0	1		.0	4 0.	0 1.2	문 문 지	010) rrera-Silveira y Morales-Ojeda
B. Chetumal	2001-2006	6.2	1.3		0.5	0.0	1.9	I			12.7	0.5	36.2	1.2).0 6	3.2	2.5 (1 1	2.6	ı		,	0	, 4	2 £ 2	110) rrera-Silveira y Morales-Ojeda 010)
L = Laguna; R =	= Río; E = Estero; B	= Bat	lía.																							

Ejemplo de estos casos son la laguna La Joya Buenavista, en donde se han registrado máximos de 10 mL/L, o Chantuto-Panzacola, con máximos de 6 mL/L determinados a mediodía, cuando se presenta la máxima actividad fotosintética. Aun en la década de 1990, se cuantificaron contenidos hipóxicos, pero con máximos cercanos a la saturación (100%) en un mismo sistema, como es el caso de la laguna de Chantuto-Panzacola en 2000 y 2015. Otros casos similares son la laguna de Coyuca de Benítez, que en1999 presentó un amplio intervalo, desde anoxia hasta sobresaturación (>100%), con niveles que superaron los 8 mL/L; de manera similar, la laguna de Chelem, en 1998, presentó niveles de este gas con una fluctuación entre la anoxia (0.2 mL/L) y la sobresaturación (10.9 mL/L) (Tabla 2; Figs. 1 y 2). Estos sistemas costeros han experimentado un incremento de asentamientos ribereños y, por lo tanto, de sus descargas de aguas negras ricas en materia orgánica que requiere de oxígeno para descomponerse o remineralizarse, con tendencia a la hipoxia; sin embargo, puede haber incrementos de oxígeno por una fotosínte-

Los contenidos de ortofosfatos (Figs. 3-4) se encuentran en un intervalo de no detectable hasta 5 µM en 80% de los casos, y con 10µM en 11% de los casos; la última concentración incluso puede considerarse como "normal", por lo determinado en años atrás en las lagunas La Joya Buenavista (1987), Ohuira (1978), Santa María (1978), Huizache y Caimanero (1998) y Manialtepec (1989).

sis muy activa, como respuesta a una alta productividad primaria por

un aporte alto de nutrientes.

Por arriba de esas concentraciones se considera una condición de eutrofia, como en el río Calzadas (que descarga en la laguna del Ostión), que ha alcanzado contenidos máximos de 104 μ M (Tabla 3; Fig. 4). Cabe recordar que niveles superiores a los 10 μ M dependerán no sólo de las descargas antropogénicas, sino también de la geomorfología y geoquímica de este nutriente, en donde el sedimento juega un papel

importante; así como de otros factores asociados al sustrato, como: condiciones hidrodinámicas y de desecación, tasas de sedimentación, remoción por efecto de viento y marea y químicos de óxido reducción, entre otros, que incrementan o disminuyen la concentración de fósforo:

Por ejemplo, Aguíñiga y Álvarez-Borrego (1989) determinaron que en el estero de Punta Banda los contenidos de fósforo fueron mayores durante la bajamar (PO₄max = 30μ M) con respecto a estos mismos en la pleamar (PO₄max = 3μ M). Esto sugiere que durante el flujo existe una entrada de agua de la columna hacia los sedimentos y que durante el reflujo salen tanto fosfatos como amonio del agua intersticial de los sedimentos.

En el caso de los nitratos (Figs. 5-6), su intervalo de concentración ha ido ampliándose no sólo por las descargas de aguas negras urbanas, sino también por el uso constante e intensivo de fertilizantes que escurren de los campos agrícolas a los ríos, los cuales desembocan en los ecosistemas costeros. Dicho incremento es visible en la Laguna Chantuto-Panzacola entre los años 1991 a 2015, cuando alcanzó un contenido por arriba de 100µM, nivel anormal de lo comúnmente registrado en ambientes costeros. Riley y Chester (1971) proponen como niveles "normales" para el ambiente marino, máximos de 35μ M; sin embargo, en sistemas costeros, como las lagunas, estas últimas concentraciones pueden ser cercanas a 50 µM, sin que sean consideradas como eutrofizadas.

En el caso del amonio (Figs. 7- 8), es un ión que se puede encontrar normalmente con una variación espacio temporal dependiente, entre otros factores, de la geomorfología local con condiciones particulares de aislamiento de baja circulación y vegetación en descomposición. En la laguna de Huizache-Caimanero se determinaron contenidos cercanos a $30 \ \mu\text{M}$ y 3 años después poco más de 80 μ M, resultado de los citados factores. Concentraciones máximas similares también se han registrado en diversos ambientes del golfo de México y Caribe (Tabla 3; Figs. 7-8).

Tabla 4. Concentraciones de fósforo total (Pt) y nitrógeno total (Nt) en diversas lagunas costeras mexicanas.

	Pt	Nt	Loguno	Pt	Nt
Laguna	(μM)	(μM)	Laguna	(µM)	(µM)
Topolobampo-Ohuira, Sin.	3.1	35.5	Laguna Madre, Tam.	9.12	8.18
Navachiste-San Ignacio, Sin.	2.09	35.5	Pueblo Viejo, Ver	0.97	9.31
Santa María-La Reforma, Sin.	2.69	35.71	Tamiahua, Ver.	1.84	9.12
Ceuta, Sin.	5.38	70.89	Tampamachoco, Ver.	4.05	14.06
Chautengo, Gro.	1.98	10.18	Río Tuxpan, Ver.	3.56	14.82
Mitla, Gro.	1.84	5.95	Mandinga, Ver.	3.03	15.42
San Marcos, Gro.	5.75	10.9	Alvarado-Camaronera, Ver.	9.83	13.35
Nuxco, Gro.	2	3.3	Sontecomapán, Ver.	5.82	24.6
Chacahua-Pastoría, Oax.	1.47	3.1	Río Calzada, Ver.	96.31	308.75
Manialtepec, Oax.	1.33	3.87	Ostión, Ver.	17.04	22.8
Lagartero, Oax.	19	79	Carmen-Pajonal-Machona, Tab.	8.7	18.43
Superior e Inferior, Oax.	6.8	6.69	Mecoacán, Tab.	5.12	11.9
Mar Muerto, Oax.	8.05	6.65	El Yucateco, Tab.	33.9	63.19
La Joya-Buena Vista, Chis.	10.78	9.15	Términos, Camp.	2.5	12.5

120



Figura 4. Concentración promedio, mínima y máxima de ortofosfatos (μ M) en ambientes costeros del golfo de México y Caribe mexicano. \blacksquare = Promedio.

Figura 5. Concentración promedio, mínima y máxima de nitratos (μ M) en ambientes costeros del Pacífico mexicano. \blacksquare = Promedio.



Figura 6. Concentración promedio, mínima y máxima de nitratos (μ M) en ambientes costeros del golfo de México y Caribe mexicano. \bullet = Promedio.

Figura 7. Concentración promedio, mínima y máxima de amonio (μ M) en ambientes costeros del Pacífico mexicano. \blacksquare = Promedio.



Figura 8. Concentración promedio, mínima y máxima de amonio (µM) en ambientes costeros del golfo de México y Caribe mexicano. 🔳 = Promedio.



Figura 9. Concentracion promedio, minima y maxima de clorofila a (µg/L) en ambientes costeros del Pacífico mexicano. \blacksquare = Promedio.

Figura 10. Concentración promedio, mínima y máxima de clorofila a (µg/L) en ambientes costeros del golfo de México y Caribe mexicano. \blacksquare = Promedio.



Figuras 11a-f. Histogramas de frecuencia delos valores promedio, mínimo y máximo de distintos parámetros fisicoquímicos de 72 ambientes estuarinos y costeros mexicanos. a-c) Oxígeno (mL/L), d-f) Ortofosfatos (u,M).

385



Hidrobiológica



Figuras 13a-c. Histogramas de frecuencia delos valores promedio, mínimo y máximo de distintos parámetros fisicoquímicos de 72 ambientes estuarinos y costeros mexicanos. a-c), Clorofila *a* (µg/L).

En el estero de Punta Banda, Aguíñiga y Álvarez-Borrego (1989) determinaron que las concentraciones fueron de un orden de magnitud mayor durante la bajamar (NH₄ max = 50 µM) con respecto a estos mismos en la pleamar (NH₄ max = 5 μ M); dinámica de este nutriente explicado por dichos autores para el fósforo. Esto sugiere que durante el flujo existe una entrada de agua hacia los sedimentos, y durante el reflujo los fosfatos y el amonio salen del agua intersticial. Por lo anterior, las concentraciones fueron calificadas como eutróficas de manera natural, ya que no hay asentamientos urbanos ni descargas de aguas negras. En la laguna de Coyuca, en 1999, se determinaron contenidos cercanos a los 170 µM, por lo que esta laguna se clasificó como eutrofizada. El incremento de las concentraciones de nutrientes no se debe sólo a factores físicos naturales, como en el caso del estero de Punta Banda, sino también al aumento de las actividades antrópicas, como en la laguna Chantuto-Panzacola, que en 1991 se cuantificaron 52 µM y 25 años después (2015) se registraron 199 µM. Destaca por sus concentraciones promedio y máximas de amonio (49 y 526 µM, respectivamente), el río Calzadas en su descarga a la laguna del Ostión, correspondiente a una zona pantanosa sujeta adicionalmente a entradas de nutrientes de actividades industriales. Estos dos últimos ejemplos son considerados eutróficos culturales, resultado de las actividades antropogénicas que se llevan a cabo en las zonas advacentes a las lagunas.

En la tabla 4 se muestra una síntesis de determinaciones fisicoquímicas en diferentes lagunas costeras en las que se incluye el fósforo total y nitrógeno total. Estos dos parámetros no se determinan comúnmente e incluyen tanto formas orgánicas como inorgánicas (formas minerales), particuladas o disueltas, cuyos objetivos pueden diferir de las determinaciones fisicoquímicas rutinarias y ecológicas (no para calidad de agua) y con metodologías no comparativas. Destaca que los niveles más altos de fósforo total se determinaron en la Bahía de Ceuta, región en la que más se llevan a cabo actividades antropogénicas.

El contenido de clorofila a en los ecosistemas costeros es un índice que da idea de las condiciones tróficas naturales o culturales (Vázquez Botello et al., 2006). Se caracteriza por su amplia variación temporal (fundamentalmente diurna) como espacial (distribución en parches). Bajo condiciones de no impacto por actividades antropogénicas, se han registrado desde <1mg/m³ hasta poco más de 143 mg/m³,como en Chantuto-Panzacola en 1991, siendo ejemplo de un caso extremo; sin embargo, 25 años después (2015) se determinaron contenidos de 43 mg/m³, disminución que puede ser resultado de la distribución en parches del fitoplancton. Con base en la información recopilada, los intervalos de las concentraciones de este pigmento pueden oscilar entre < 4 a 20mg/m³ (Tablas 2 y 3; Figs. 9-10), , que representan entre 27% a 50%, respectivamente. Aunque este amplio intervalo también varía localmente; por ejemplo, la laguna La Cruz (Sonora) registró valores de clorofila a de 3.89 en verano y de 4.79mg/m3 en invierno (Morales-Soto et al., 2000).

CONSIDERACIONES FINALES

Se puede concluir que los amplios intervalos de concentración de los diferentes parámetros fisicoquímicos y de clorofila *a* aquí reportados son resultado tanto de factores y condiciones locales como de la interacción con ambientes adyacentes, por lo que presentan variaciones espacio-temporales, propias de latitudes tropicales y muchas veces con características únicas a cada ecosistema. Por lo anterior, esta va-

riabilidad debe tomarse en cuenta si se quiere generar un índice para clasificar los ambientes y reconocer los que han recibido un impacto antropogénico.

REFERENCIAS

- ACCORNERO, A., P. PICON, F. BOVEE, B. CHARRIERE& R. BUSCAIL. 2003. Organic carbon budget at the sediment-water interface on the Gulf of Lions continental margin. *Continental Shelf Research* 23 (1): 79-92. DOI: 10.1016/S0278-4343(02)00168-1
- AGUIÑIGA-GARCÍA, S. & S. ÁLVAREZ-BORREGO. 1989. Petacheo y variación temporal de amonio y fosfato en aguas intersticiales de sedimentos de entre mareas de una laguna costera. *Ciencias Marinas* 15 (3): 97-120.
- AKÉ-CASTILLO, J. A. & G. VÁZQUEZ. 2008. Phytoplankton variation and its relation to nutrients and allochthonous organic matter in a coastal lagoon on the Gulf of Mexico. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 78: 705-714. DOI: 10.1016/j.ecss.2008.02.012
- ALVAREZ-BORREGO, S. 2004. Nutrient and phytoplankton dynamics in a coastal lagoon strongly affected by coastal upwelling. *Ciencias Marinas* 30 (1A): 1-19.
- ÁLVAREZ-BORREGO, S., J. R. LARA-LARA & M.J. ACOSTA-RUÍZ. 1977. Parámetros relacionados con la productividad orgánica primaria en dos antiestuarios de Baja California. *Ciencias Marinas* 4 (1): 12-21.
- ASTON, S. R., 1980. Nutrient, dissolved gases, and general biogeochemistry in estuaries. 233-262. *In:* Olausson, E. y Cato I. (Eds.) *Chemistry and biogeochemistry of Estuaries.* John Wiley and Sons, Nueva York.
- BARREIRO-GÜEMES, M. T. & A. AGUIRRE-LEÓN. 1999. Distribución espacio-temporal de la biomasa fitoplánctica en el sistema lagunar Pom-Atasta, Campeche, México. *Revista de Biología Tropical* 47 (Supl. 1): 27-35.
- BARREIRO-GÜEMES, M. T. & J. BALDERAS CORTÉS. 1991. Evaluación de algunas comunidades de productores primarios de la laguna La Mancha, Veracruz. Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM 18 (2): 229-245.
- CERVANTES-DUARTE, R. & R. GUERRERO-GODÍNEZ. 1988. Variación espacio-temporal de nutrientes de la ensenada de La Paz, BC S., México. Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM 15: 129-142.
- CLOERN, J. E. 2001.Our evolving conceptual model of the coastal eutrophication problem. *Marine Ecology Progress Series* 210: 223-253
- CONTRERAS E. F., O. CASTAÑEDA, R. TORRES& F. GUTIÉRREZ. 1996. Nutrientes en 39 lagunas costeras mexicanas. *Revista de Biología Tropical* 44 (2): 417-425.
- CONTREPAS-ESPINOSA, F. & B. G. WARNER. 2004. Ecosystem characteristics and management considerations for coastal wetlands in Mexico. *Hydrobiologia* 511 (1): 233-245. DOI:10.1023/b:hydr.0000014097.74263.54
- CZITROM, S. P. R., I. PENIÉ & G. DE LA LANZA-ESPINO 2010. Coastal ecosystem management using a wave-energy driven seawater pump: some engineering, and environmental aspects. *In:* Macro-engineering

Seawater in Unique Environments. V. Badescu & R. B. Cathcart (Eds.). *Arid Lowlands and Water Bodies Rehabilitation*. Springer Science & Business Media.

- DAY, J. J., C. H. HALL, W. M. KEMP & A. YÁÑEZ-ARANCIBIA. 1989. Estuarine Chemistry. *In:* Day, J. J., C.H. Hall, W. M. Kemp & A. Yáñez-Arancibia (Eds.). *Estuarine Ecology*. Wiley. pp. 79-143.
- DE LA LANZA-ESPINO. G. 1984. Calidad ambiental de la Laguna de Mezcaltitán, Nayarit, México, durante el estiaje. *Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM* 13: 315-328.
- DE LA LANZA-ESPINO, G. 1986. Calidad ambiental de la laguna de Mezcaltitán, Nayarit, México, durante el estiaje. *Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM* 13 (3): 15-328.
- DE LA LANZA-ESPINO, G. 1991. Importancia ecológica de los ciclos biogeoquímicos en los sistemas lagunares costeros. *In:* Figueroa-Torres, M. G., C. Álvarez-Silva, A. Esquivel-Herrera y M. E. Ponce-Márquez (Eds.). *Fisicoquímica y biología de las lagunas costeras mexicanas.* Serie: Grandes Temas de la Hidrobiología I. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, México. pp. 7-15.
- DE LA LANZA-ESPINO, G. 1994. Química de las lagunas costeras. In: de la Lanza-Espino & C. Cáceres-Martínez (Eds.). Lagunas costeras y el litoral mexicano. UABCS. pp. 127-198.
- DE LA LANZA-ESPINO, G. 2014. Protocolo para el muestreo de calidad del agua en ríos endorréicos y exorréicos, y en humedales para la aplicación de la Norma de Caudal Ecológico (NMX-AA-159-SCFI-2012) Versión 1.0 Junio 2014. Programa Nacional de Reservas de Agua. 33 p.
- DE LA LANZA-ESPINO, G. & F. FLORES-VERDUGO. 1998. Nutrient fluxes (NH₄ and PO₄) in a N.W. coastal lagoon Mexico associated with an agroindustrial basin. *Water, Air and Soil Pollution* 107: 105-120. DOI: 10.1023/A:1004913711608
- DE LA LANZA-ESPINO, G. & J. L. GARCÍA-CALDERÓN. 1991. Sistema lagunar Huizache y Caimanero, Sin. Un estudio socio ambiental, pesquero y acuícola. *Hidrobiológica* (1): 1-35.
- DE LA LANZA-ESPINO, G., S. HERNÁNDEZ-PULIDO & J. L. CARBAJAL-PÉREZ. 2013. Diagnóstico de la calidad del agua de cuatro lagunas costeras de Veracruz. *In:* A. V. Botello, J. Rendón von Osten, J. A. Benítez &G. Gold-Bouchot (Eds.). Golfo de México. *Contaminación e impacto ambiental: diagnóstico y tendencias*. UAC, UNAM-ICMYL, CINVES-TAV-Unidad Mérida. pp. 817-838.
- DE LA LANZA-ESPINO, G., S. HERNÁNDEZ, J. CONDE & J. L. GARCÍA. 1991. Hidrología y difusión de nutrientes del sedimento en drenes agroindustriales periféricos en una laguna costera al NO de México. IV Congreso Latinoamericano de Ciencias del Mar. Universidad Católica del Norte, Facultad de Ciencias del Mar. Coquimbo Chile. Memorias de resúmenes, p. 75.
- DE LA LANZA-ESPINO, G. & H. LOZANO-MONTES. 1999. Comparación fisicoquímica de las lagunas de Alvarado y Términos. *Hidrobiológica* 9 (11): 15-30.

- DE LA LANZA-ESPINO, G., I. PENIÉ-RODRÍGUEZ, S. CZITROM-BAUS & S. HERNÁNDEZ-PULIDO. 2011. Química de las aguas costeras. *In:* De la lanza Espino G. y Hernández Pulido S (Eds.). *Ambiente, biología, sociedad, manejo y legislación de sistemas costeros mexicanos*. Plaza y Valdés, WWF, INERENA. pp. 123-140.
- DENIS, L.& C. GRENZ. 2003. Spatial variability in oxygen and nutrient fluxes at the sediment-water interface on the continental shelf in the Gulf of Lyon (NW Mediterranean). *Oceanologica Acta* 26 (4): 373-389. DOI: 10.1016/S0399-1784(03)00017-3
- DIAZ, R. 2001. Overview of hypoxia around the world. Journal of Environmental Quality 30: 275-281. DOI: 10.2134/JEQ2001.302275X
- Escobedo-URIAS, D. C. 2010. Diagnóstico y descripción del proceso de eutrofización en lagunas costeras del norte de Sinaloa. Tesis Doctorado CICIMAR-IPN. 274 p.
- FLORES-VERDUGO, F. J., J. W. DAY, JR., L. MEE & R. BRISEÑO-DUEÑAS. 1988. Phytoplankton production and seasonal biomass variation of seagrass, *Ruppiamaritima* L., in a tropical Mexican lagoon with an ephemeral inlet. *Estuaries* 11 (1): 51-58. DOI: 10.2307/1351717
- GALINDO, J. J., M. A. MEDINA, L. CECILIO-VILLAGRANA & C. LEONARDO-IBARRA. 1997. Environmental and Pollution Condition of the Huizache-Caimanero Lagoon, in the North-west of Mexico. *Marine Pollution Bulletin* 34 (12): 1072-1077. DOI: 10.1016/S0025-326X(97)00081-7
- GILMARTIN, M. & N. REVELANTE. 1978. The Phytoplankton characteristics of the barrier island lagoons of the Gulf of California. *Estuarine and Coastal Marine Science* 7: 1-47. DOI: 10.1016/0302-3524(78)90055-5
- GÓMEZ-ORTEGA, R. 2014. Ecología del Sistema Lagunar Chantuto-Panzacola, Chiapas, basada en la aplicación e interpretación de algunos índices tróficos, parámetros físico-químicos y biológicos. Tesis Maestría. El Colegio de la Frontera Sur. 71 p.
- GÓMEZ, R., C. TOVILLA, E. BARBA, O. CASTAÑEDA, F. J. VALLE, E. I. ROMERO & E. RAMOS. 2014. Índices tróficos de importancia ecológica y su relación con algunas variables físico-químicas en el sistema lagunar estuarino Chantuto-Panzacola, Chiapas, México. *Revista Cubana de Investigaciones Pesqueras* 31(2): 47-57.
- GONZÁLEZ-SOLÍS, A. & D. TORRUCO. 2013. Fish assemblage structure in relation to environmental conditions in a tropical estuary. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 48: 553-563. DOI: 10.4067/S0718-19572013000300012
- GUTIÉRREZ, M. F. J., R. TORRES M. & M. R. TORRES A. 1988. Importancia de la cuantificación de la urea en ecosistemas costeros. *Hidrobiológica* 8: 155-164.
- GUTIÉRREZ-VIVANCO, J. 2010. Variación espacio-temporal de los parámetros físico-químicos, clorofila a y nutrientes en la Laguna de Tampamachoco Veracruz (Golfo de México Occidental). Tesis IPN.
- HERRERA-SILVEIRA, J. A. 1994a. Correlaciones entre parámetros físicos, químicos y biológicos de la laguna de Celestún, Yucatán. Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM 21 (1-2): 43-53.
- HERRERA-SILVEIRA, J. A. 1994b. Nutrients from underground water discharges in a coastal lagoon (Celestún, Yucatan, Mexico). Verhein International Vereinungen Limnologie 25: 1398-1401.

- HERRERA-SILVEIRA, J. A. & S. M. MORALES-OJEDA. 2009. Evaluation of the health status of a coastal ecosystem in southeast Mexico: Assessment of water quality, phytoplankton and submerged aquatic vegetation. *Marine Pollution Bulletin* 59: 72-86. DOI: 10.1016/J.MAR-POLBUL.2008.11.017
- HOBBIE, J. E., B. J. COPELAND & W. G. HARRISON. 1975. Sources and fates of nutrients of the Pamlico River Estuary, North Carolina. *In:* Cronin, L. E. (Ed). *Estuarine Research*. pp. 287-302.
- KENNISH, M. J. 1986. *Ecology of Estuaries Vol. I Physical and Chemical Aspects*. CRC Press. Boca Ratón, Florida.
- MARGALEF, R. 1975. Fitoplancton Invernal de la laguna costera de Alvarado (México). Anales del Instituto Botánico de Cavanilles 32 (2): 381-387.
- MEDINA-GÓMEZ, I. & J. A. HERRERA-SILVEIRA. 2003. Spatial characterization of water quality in a karstic coastal lagoon without anthropogenic disturbance: A multivariate approach. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 58: 455-465. DOI: 10.1016/S0272-7714(03)00112-4
- MORALES-SOTO, J. C., J. E. VALDEZ-HOLGUÍN & R. CERVANTES-DUARTE. 2000. Cambio diurno y estacional de la clorofila a y algunas variables fisicoquímicas en la Laguna La Cruz, Sonora, México. *Oceánides* 15 (1): 25-33.
- OKOLODKOV, Y. B., F. C. MERINO-VIRGILIO, J. A. AKÉ-CASTILLO, A. C. AGUILAR-TRUJILLO, S. ESPINOSA-MATÍAS & J. A. HERRERA-SILVEIRA. 2014. Seasonal changes in epiphytic dinoflagellate assemblages near the northern coast of the Yucatan peninsula, Gulf of Mexico. *Acta Botánica Mexicana* 107: 121-151.
- REID, G. K. & R. D. WOOD. 1976. *Ecology of inland waters and estuaries*. D. Van. Norstrand Company.
- RILEY, J. P. & R. CHESTER. 1971. Introduction to marine chemistry. Academic Press. 465 p.
- RIVERA-GUZMÁN, N. E., P. MORENO-CASASOLA, S. E. IBARRA-OBANDO, V. J. SOSA & J. HERRERA-SILVEIRA. 2014. Long term state of coastal lagoons in Veracruz, Mexico: Effects of land use changes in watersheds on seagrasses habitats. *Ocean and Coastal Management* 87: 30-39. DOI: 10.1016/J.OCECOAMAN.2013.10.007
- SEMARNAP (SECRETARIA DE MEDIO AMBIENTE, RECURSOS NATURALES Y PESCA). 1997. "Norma Oficial Mexicana NOM-001-ECOL-1996, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales", *Diario Oficial de la Federación*, 6 de enero. Disponible en: http:// dof.gob.mx/nota_detalle.php
- Sosa-Avalos, R., G. Gaxiola-Castro, A. OLNOS-ORTIZ & L. SILVA-IÑIGUEZ. 2013. Nutrientes inorgánicos y producción del fitoplancton en una laguna costera subtropical de México. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 48 (1): 143-154. DOI: 10.4067/S0718-19572013000100012.
- TRAN-KIM C., D. S. VALDEZ-LOZANO, E. REAL & O. ZAPATA-PÉREZ. 2008. Variaciones del índice de calidad en laguna Yalahau, Quintana Roo, México, basado en las características del agua y sedimentos, en el período 1999-2002. *Ciencias de la Tierra y el Espacio* 9: 20-29.

- VALDÉS-LOZANO, D.S. & E. REAL. 2004. Nitrogen and phosphorus in water and sediments at Ría Lagartos lagoon, Yucatán, Gulf of Mexico. *Indian Journal of Marine Science* 33: 338-345.
- VAZQUEZ-BOTELLO, A. 1978. Variación de los parámetros hidrológicos en las épocas de sequía y lluvias (mayo y noviembre de 1974) en la Laguna de Términos. *Campeche, México. Anales del Centro de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM* 5: 159-178.
- Vázquez-Botello, A., F. Contreras-Espinosa, G. de La Lanza-Espino & S. Villanueva, 2006. Primary production in coastal lagoons. *In:* Isla, F. (Ed.). *Encyclopedia of Life Support Systems* (ELOSS), Disponible en: www.greenplanet.eolss.net/EolssLogn/searchdt_categorysorted.asp. (Consultado el 30 de mayo de 2016)
- VILLALOBOS, F. A., S. GÓMEZ A., V. ARENAS, J. CABRERA, G. DE LA LANZA & F. MANRIQUE. 1975. Estudios hidrobiológicos en la laguna de Alvarado (Febrero -Agosto, 1966). Anales del Instituto de Biología, UNAM, Zoología 46 (1): 1-34.
- WALSH, J. J., K. JOLLIFF, B. P. DARROW, J. M. LENES, S. P. MILROY, A. REMSEN, D. A. DIETERLE, K. L., CARDER, F. R. CHEN, G. A. VARGO, R. H. WEISBERG, K. A. FAN-NING, F. E. MULLER-KARGER, E. SHINN, K. A. STEIDINGER, C. A. HEIL, C. R. TOMAS, J. S. PROSPERO, T. N. LEE, G. J. KIRKPATRICK, T. E. WHITLEDGE, D. A. STOC-KWELL, T. A. VILLAREAL, A. E. JOCHENS & P. S. BONTEMPI. 2006. Red tides in the Gulf of Mexico: where, when, and why? *Journal of Geophysical Research: Oceans* 111: C11003. DOI: 10.1029/2004JC002813

Evidence of health impairment of Megapitaria squalida (Bivalvia: Veneridae) near the "hot spot" of a mining port, Gulf of California

Evidencia de la salud deteriorada de *Megapitaria squalida* (Bivalvia: Veneridae) cerca del "hot spot" de un puerto minero, Golfo de California

Josué Alonso Yee-Duarte¹, Bertha Patricia Ceballos-Vázquez¹, Evgueni Shumilin¹, Karen Kidd² and Marcial Arellano-Martínez¹

¹ Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. Avenida Instituto Politécnico Nacional s/n, Col. Playa Palo de Santa Rita, La Paz, Baja California Sur. 23096. México ² Canadian Rivers Institute & Department of Biology, University of New Brunswick. 100 Tucker Park Road, Saint John, NB. E2L 4L5. Canada e-mail: marellam@ipn.mx Present address: Department of Biology & School of Geography and Earth Sciences, McMaster University, 1280 Main Street West, Hamilton, Ontario, Canada, L8S 4K1. *Recibido:* 28 de enero de 2017

Yee-Duarte J. A., B. P. Ceballos-Vázquez, E. Shumilin, K. Kidd and M. Arellano-Martínez. 2017. Evidence of health impairment of *Megapitaria squalida* (Bivalvia: Veneridae) near the "hot spot" of a mining port, Gulf of California. *Hidrobiológica* 27 (3): 391-398.

ABSTRACT

Background. It is known that organisms inhabiting polluted marine habitats may experience adverse physiological effects. The port of Santa Rosalía, Gulf of California, is characterized by high concentrations of heavy metals in sediments, particularly Cu, Zn, Co, Mn, Pb, and U, which are potentially toxic to the marine biota. In addition, this port receives urban wastewater that contributes mostly organic pollutants to the coastal zone. **Goals.** The main objective of this work was to determine whether clams in the mining region showed adverse effects because of the contamination. **Methods.** Through the analysis of biometric parameters, condition index, and weight-length relationship, the overall health of the chocolate clam *Megapitaria squalida* was evaluated in the coastal zone of the Santa Rosalía port and compared with data for clams from four mining-free areas. **Results.** Our findings revealed that clams from Santa Rosalía showed poor health, evidenced by their smaller size, inferior condition, and negative allometric growth compared to clams from all other sites, including San Lucas, a site located a few kilometers away from the pollution hot-spot and where the conditions of temperature and food availability are similar to those in the port area. **Conclusions.** All of the above suggests negative physiological effects in this species possibly caused by contamination from metals and/or organic pollutants from urban discharges. Particularly, it is likely that *M. squalida* at the mining site allocates more energy towards depurating or storing metals, in turn leading to poorer condition and deficient growth.

Key words: Bivalves, condition index, heavy metals pollution, physiological condition, weight-length relationship.

RESUMEN

Antecedentes. Se sabe que los organismos que habitan zonas marinas contaminadas pueden experimentar efectos fisiológicos adversos. El puerto de Santa Rosalía, Golfo de California, se caracteriza por presentar altas concentraciones de metales pesados en los sedimentos, particularmente Cu, Zn, Co, Mn, Pb y U, los cuales son potencialmente tóxicos para la biota marina. También, este puerto recibe aguas residuales urbanas que contribuyen a la contaminación orgánica de la zona costera. Objetivos. El principal objetivo de este trabajo fue determinar si las almeias de la región minera presentan efectos adversos como resultado de la contaminación. Métodos. A través del análisis de parámetros biométricos, el índice de condición y la relación peso-longitud, se evaluó la salud general de la almeja chocolata Megapitaria squalida en la zona costera del puerto de Santa Rosalía y se comparó con datos de almejas de cuatro áreas libres de minería. Resultados. Los resultados revelaron que las almejas de Santa Rosalía tienen salud deteriorada, evidenciada por su menor tamaño, baja condición y un crecimiento alométrico negativo en comparación con las almejas de todos los otros sitios, incluyendo San Lucas, un sitio localizado a pocos kilómetros del punto de contaminación y donde las condiciones de temperatura y disponibilidad de alimentos son similares a las del área portuaria. Conclusiones. Todo lo anterior sugiere efectos fisiológicos negativos de esta especie, posiblemente causados por la contaminación por metales y/o por contaminantes orgánicos provenientes de las descargas urbanas. Particularmente, es probable que M. squalida en el sitio minero destine más energía para depurar o almacenar metales, lo que a su vez conduce a una condición más pobre y un crecimiento deficiente.

Palabras clave: Bivalvos, condición fisiológica, índice de condición, contaminación por metales pesados, relación pesolongitud.

INTRODUCTION

Research has established that organisms inhabiting marine habitats polluted by heavy metals, polycyclic aromatic hydrocarbons, polychlorinated biphenyls, etc., may experience adverse physiological effects (Ruiz *et al.*, 2014). Biological or somatic indices and the weight-length relationship are among the tools most commonly used to assess the overall health (nutritional status and energy reserves) and physiological status (growth, reproduction, etc.) of organisms, since they provide information on the overall effects on biota of stress, environmental factors, and pollution (Lucas & Beninger, 1985; Filgueira *et al.*, 2013). Some advantages of these indicators include low cost and prompt results. These measurements are representative and sensitive to environmental changes, hence they are very useful in obtaining a preliminary diagnosis of the physiological status of organisms living in polluted areas (Mercado-Silva, 2005).

The port of Santa Rosalía is located within the Gulf of California in the central eastern coast of the Baja California peninsula Mexico. It is characterized by high concentrations of heavy metals in sediments and soils associated with copper mining and smelting that has occurred there for nearly a century (Wilson & Rocha, 1955; Huerta-Diaz *et al.*, 2014). As a result, coastal marine sediments near this port have abnormally high levels of some heavy metals, particularly Cu (3,390 mg kg⁻¹), Zn (1,916 mg kg⁻¹), Co (166 mg kg⁻¹), Mn (6,770 mg kg⁻¹), Pb (226 mg kg⁻¹), and U (11.8 mg kg⁻¹), and are potentially toxic to the marine biota (Shumilin *et al.*, 2013). In addition, this port is located in a delta of streams so freshwater discharges are common during the rainy season and include urban wastewater that adds mostly organic pollutants to the coastal zone (Huerta-Diaz *et al.*, 2014).

The chocolate clam, *Megapitaria squalida* (Sowerby, 1835), is one of the most abundant bivalve species in Baja California Sur, and in the past few years it has become an alternative resource when other species of higher market value are not available due to fishing restrictions (closed season). More recently, however, this clam is being harvested throughout the year due to its local and regional importance, thus becoming a fishery resource of great importance (Arellano-Martínez *et al.*, 2006). *M. squalida* can be considered a good indicator of environmental health, given its ability to concentrate heavy metals, its widespread abundance in the region, and its sedentary nature. It should, therefore, provide a comprehensive picture of the health of its ecosystem (Méndez *et al.*, 2006; Frías-Espericueta *et al.*, 2008; Cantú-Medellín *et al.*, 2009).

The present study evaluates the health status of *M. squalida* inhabiting the coastal zone of the Santa Rosalía mining port, Gulf of California, Mexico, through the analysis of size, condition index, and weightlength relationships. Additionally, these results were compared with data of clams from four coastal areas of the Baja California peninsula deemed pristine. The main objective was to determine whether clams in the mining region show adverse effects because of the contamination.

MATERIALS AND METHODS

Sampling. Monthly sampling (30 individuals on average) was done from May 2012 to April 2013 in a marine area adjacent to the "hot spot" (area with high concentrations of heavy metals in sediments) of the port of Santa Rosalía, Gulf of California (27°20' N and 112°16' W) (Shumilin *et al.*, 2000; Shumilin *et al.*, 2013). Samples were also collected from San Lucas, a site located 13 km south of Santa Rosalía, as well as from Bahía

de La Paz, Laguna Guerrero Negro, and Bahía Magdalena (Fig. 1). Since no mining associated with heavy metals is conducted in the latter, they are considered pristine or low-impacted areas (Shumilin *et al.*, 2000; Cadena-Cárdenas *et al.*, 2009). For each specimen, shell length (maximum distance along the anterior-posterior axis) (\pm 0.1 mm), total weight, wet weight (off-shell weight), and shell weight (\pm 0.1 g) were recorded.

Size frequency, condition index, and weight-length relationships. To analyze the size distribution of *M. squalida* for each zone, frequency histograms for shell length were constructed. The physiological status was estimated by calculating the condition index as the relative (percentage) relationship between wet weight (no shell) and total weight (Mouneyrac *et al.*, 2008). As additional indicator of health status, growth was examined by considering the weight (total weight, wet weight or shell weight) of each specimen with respect to length (Tili *et al.*, 2011). To this end, the relationship between weight and shell length was calculated using the potential function $y = ax^b$, where: *y* is total weight, wet weight or shell weight, *a* and *b* are constants, and *x* is length. The value of *b* is the coefficient of allometry, used as an indicator of the type of growth exhibited by a given species (Gaspar *et al.*, 2001). For all relationships, we calculated the coefficient of determination (R^a) to determine the degree of association between weight and length.

Statistical Analysis. To test for significant differences in size, weight, and condition index between specimens from different areas of study, an analysis of variance (ANOVA) was used, followed by Tukey's test when significant differences were found. Because the condition index values are percentages, these were normalized through an arcsine transformation (Zar, 1996). To determine whether the growth of M. squalida is isometric (b = 3; increase in the same proportion in weight and height), negative allometric (b < 3, greater increase in size vs. weight), or positive allometric (b > 3), greater increase in weight vs. size), a Student's *t* test was performed (H_{o} , b = 3) (Ricker, 1975; Zar, 1996). In addition, the growth type of *M. squalida* was compared between sites through a residual sum of squares (Ratkowsky's ARSS) for the comparison of slopes in nonlinear functions (Chen et al., 1992). This test assesses statistical differences between two or more curves by calculating an F value. Statistical testing was performed with the software STATISTICA for Windows (version 10, Statsoft), with a significance level of $\alpha = 0.05$ for all tests.

RESULTS

A total of 1,687 specimens were analyzed: 370 clams from Santa Rosalía, 326 from San Lucas, 305 from Bahía de La Paz, 333 from Laguna Guerrero Negro, and 353 from Bahía Magdalena.

Biometrics. Significant differences were found between study areas in all biometric parameters of *M. squalida* (ANOVA, p < 0.05) (Table 1). The largest specimens in length were observed in Laguna Guerrero Negro and Bahía Magdalena ($F_{(4, 1687)} = 385.6$, p < 0.05), followed by San Lucas. The smallest clams were collected in Santa Rosalía and Bahía de La Paz. The heaviest clams were found in Bahía Magdalena ($F_{(4, 1687)} = 235$, p < 0.05), followed by San Lucas and Laguna Guerrero Negro. The lightest clams were collected in Santa Rosalía and Bahía de La Paz. The heaviest clams were found and Bahía Magdalena ($F_{(4, 1687)} = 235$, p < 0.05), followed by San Lucas and Laguna Guerrero Negro. The lightest clams were collected in Santa Rosalía and Bahía de La Paz. The highest wet weight ($F_{(4, 1687)} = 471.2$, p < 0.05) was recorded in Bahía Magdalena, followed by Laguna Guerrero Negro and San Lucas. The lowest wet weight values were recorded in Bahía de La Paz and Santa Rosalía.



Figure 1. Geographical location of the study areas in localities of the northern portion of the Mexican Pacific.

Table 1.	Biometric parameters of Megapitaria squalida by sampling site in localities of the northern portion of	of the Mexican Pacific.	Mean ± standard
error (m	inimum – maximum). Means with a different letter indicate significant differences.		

	Santa Rosalía	San Lucas	Bahía de La Paz	Laguna Guerrero Negro	Bahía Magdalena	ANOVA
Shell length (cm)	6.8 ± 0.04^{a} (2.3 - 8.6)	7.7 ± 0.05 ^b (5.5 – 12.5)	6.7 ± 0.05^{a} (2.0 - 11.1)	9.0 ± 0.04° (6.4 – 11.5)	$8.8 \pm 0.06^{\circ}$ (3.0 - 12.7)	<i>p</i> = 0.001
Total weight (g)	87.9 ± 1.50ª (6.6 - 168)	140.3 ± 3.36 ^b (38.7 - 480.4)	78.2 ± 1.95 ^a (2.2 - 274.5)	137.3 ± 2.08 ^b (47.4 - 285.4)	184 ± 3.8° (6.6 - 489.3)	<i>p</i> = 0.001
Wet weight (g)	17.9 ± 0.33^{a} (1.3 - 33)	31.8 ± 0.66 ^b (10.7 - 104.4)	18.2 ± 0.48^{a} ($0.5 - 83.5$)	32.3 ± 0.51 ^b (11.3 − 58.1)	61 ± 1.37⁰ (2.2 − 178.3)	<i>p</i> = 0.001
n	370	326	305	333	353	

Size frequencies. The size-frequency distribution of *M. squalida* by sampling site is shown in Figure 2. Three groups were identified: small (< 7 cm), medium (8 cm), and large (> 9 cm) clams. Large clams occurred more frequently in Laguna Guerrero Negro and Bahía Magdalena, followed by San Lucas. Santa Rosalía and Bahía de La Paz had smaller clams when compared to all other sites.

Condition Index. The variation in the condition index of *M. squalida* between sites is shown in Figure 3. Significant differences were found in the condition index between sites ($F_{(4, 1687)} = 829.1, p < 0.05$). Clams with a significantly higher index were found at Bahía Magdalena (33%), followed by Bahía de la Paz (25.8%). Clams from San Lucas and Laguna Guerrero Negro showed intermediate condition index values (23.6% and 23.5%, respectively), while clams from Santa Rosalía showed a significantly lower index (19.9%) than all other sites.

Weight-Length relationships. Weight-length relationships (total weight-shell length, wet weight-total length, and shell weight-total length) of *M. squalida* by site are shown in Figure 4. All relationships fit the potential function ($y = ax^{0}$), with coefficients of determination (R^{2}) between 0.73 and 0.95 and a significance of p = 0.001. In general, the coefficients of allometry (*b*) fluctuated between 2.35 and 3.32 across sites (Table 2). Ratkowsky's ARSS revealed significant differences bet-



Figure 2. Size-frequency distribution (shell length) of *Megapitaria squalida* by sampling site in localities of the northern portion of the Mexican Pacific.

ween the slopes of each relationship analyzed among sites (p = 0.001). Compared to the other areas where larger and heavier clams were recorded and growth was mainly isometric, Santa Rosalía clams gained little weight (total, wet, or shell) as shell length increases.

DISCUSSION

Our results revealed the existence of three groups of clams based on the differences in the variables analyzed (shell length, total weight, wet weight, and condition index). The Bahía Magdalena group had the largest clams with the best condition. This area is a Biological Activity Center (BAC) characterized by high productivity throughout the year (Lluch-Belda et al., 2000), resulting in abundant food availability for suspension feeders and conditions that favor better growth and condition for *M. squalida*. The second group includes clams of intermediate size from San Lucas and Laguna Guerrero Negro; although clams from San Lucas displayed a smaller shell length compared to specimens from Laguna Guerrero Negro, clams from these two areas shared a similar total weight, wet weight, and condition. The third group comprises clams from Bahía de La Paz and Santa Rosalía, which were the smallest clams in terms of length, total weight, and wet weight. The small size of clams from Bahía de La Paz may be related to the intense fishing in this area, as *M. squalida* has been considered a resource at its peak capacity (López-Rocha et al., 2010); in contrast, Santa Rosalía clams are not an appealing resource for local fishers and, nonetheless, clams are small.

Although the fishing intensity of a resource and the environmental conditions in each area influence the biological characteristics and population structure of a species, results from this study suggest that the biometric differences of the Santa Rosalía clams were likely not entirely attributable to these factors. The maximum shell length of Santa Rosalía clams did not exceed 8 cm, despite this clam population not being commercially exploited, while clams from other areas reached sizes between 11 and 12 cm (including those from Bahía de La Paz), i.e., the largest recorded sizes across the Baja California Sur coast (Singh et al., 1991). In addition to the small size, Santa Rosalía clams showed the lowest condition index values, and although clams from this area and from Bahía de La Paz were of similar size, the condition of animals from the former site was significantly poorer. Condition index is affected by several factors, such as seasonal changes in food availability and/ or guality in each site (Boscolo et al., 2003; Nicholson & Lam, 2005). In this regard, Santa Rosalía is deemed a nutrient-poor water body of low primary productivity; although upwelling events occur, they are weak because of the stratification of the water column (Santamaría-del Ángel et al., 1999). This situation could explain the poor condition and small sizes of clams in this area. This explanation was ruled out, however, because in San Lucas, an area located just 13 km south of Santa Rosalía, clams displayed a better condition and were larger despite sharing similar food availability and water temperatures with the port of Santa Rosalía (3.0 mg·m⁻³ chlorophyll *a* and 23.5 °C for San Lucas; 2.9 mg·m⁻³ chlorophyll a and 23.5 °C for Santa Rosalía, averages for 2011 to 2013 obtained from the NOAA Coastal Zone Color Scanner).

The coastal sediments near the Santa Rosalía mining port contain heavy metals that are bioaccumulated by organisms (Shumilin *et al.*, 2011), as reported for brown seaweed *Padina durvillaei* Bory Saint-Vincent, 1827 (Rodríguez-Figueroa *et al.*, 2009) and for mussels *Modiolus*

capax (Conrad, 1837) (Gutiérrez-Galindo et al., 1999) and Mytilus edulis Linnaeus, 1758 (Cadena-Cárdenas et al., 2009). The chocolate clam, *M. squalida*, feeds by filtering organic matter suspended in the water column (mainly phytoplankton), so it is likely that it bioaccumulates metals, as documented for this species elsewhere (Méndez et al., 2006). Although this study did not determine the concentration of heavy metals in clam tissues, it has been reported that abnormal concentrations of these elements in surface sediments can cause negative biological effects in up to 50% of the marine organisms inhabiting this area (Long et al., 1995; Shumilin et al., 2011). Bivalves mollusks living in polluted areas or that are exposed to high pollutant concentrations usually show lower growth rates — and therefore a smaller size — in addition to a poor condition. This occurs because energy reserves (carbohydrates, lipids, and proteins) are allocated to depurating pollutants from the body at the expense of the other physiological demands (Leung & Furness, 2001; Nicholson & Lam, 2005; Peteiro et al., 2006). Differences in size and condition between clams from Santa Rosalía and those living in other areas are likely a consequence of impaired growth rates induced by high concentrations of heavy metals, since clams may be allocating energy reserves to detoxification at the expense of growth, hence affecting the overall condition of these organisms (Lucas & Beninger, 1985; Nicholson & Lam, 2005). The relationship between high concentrations of heavy metals and a poor condition has been widely reported for various bivalve species such as the clams Macoma balthica (Linnaeus, 1758) and Cerastoderma edule (Linnaeus, 1758), and the mussels M. edulis and Perna viridis (Linnaeus, 1758) (Hummel et al., 1997; Nicholson, 1999). Similarly, the mussel Mytilus galloprovincialis Lamarck, 1819 and the venerid Meretrix meretrix (Linnaeus, 1758) from polluted areas (Hg, As, Cu, Pb, Zn, Cd, and Cr, as well as polychlorinated biphenyls) showed low condition indices versus specimens from less polluted areas (Pampanin et al., 2005, Meng et al., 2013).



Figure 3. Variation in the condition index of *Megapitaria squalida* between sampling sites in localities of the northern portion of the Mexican Pacific. Means (\pm standard error) with a different letter indicate a significant difference (ANOVA and Tukey's test, p < 0.05).

The analysis of the weight–length relationships revealed that in San Lucas, Bahía de La Paz, Laguna Guerrero Negro, and Bahía Magdalena, *M. squalida* showed isometric growth. This is the most common type of growth in marine bivalves, and is generally influenced by changes in environmental variables (Gaspar *et al.*, 2001). In contrast, clams from Santa Rosalía displayed negative allometric growth, i.e., little increase in weight as shell length increases, which suggests physiological impairment due to environmental stress (Malathi & Thippeswamy, 2011). Negative allometric growth is frequently attributed to elevated environmental pollutants, as reported for the mussel *M. galloprovincia*-

Table 2. Parameters of the weight-length relationship and growth type of *Megapitaria squalida* by sampling site in localities of the northern portion of the Mexican Pacific. a = constant; b = coefficient of allometry, $R^2 = \text{coefficient}$ of determination and p = significance value.

Locality	Relationship	а	b	R^2	p	Growth type
Santa Rosalía	Total weight – length	0.8436	2.39	0.87	0.001	Allometric (-)
	Wet weight – length	0.1519	2.45	0.78	0.001	Allometric (-)
	Shell weight – length	0.6802	2.38	0.86	0.001	Allometric (-)
San Lucas	Total weight – length	0.2294	3.09	0.90	0.001	Isometric
	Wet weight – length	0.2452	2.35	0.73	0.001	Allometric (-)
	Shell weight – length	0.1112	3.32	0.89	0.001	Allometric (+)
Bahía de La Paz	Total weight – length	0.2996	2.92	0.94	0.001	Isometric
	Wet weight – length	0.0564	3.08	0.87	0.001	Isometric
	Shell weight – length	0.2597	2.83	0.93	0.001	Isometric
Laguna	Total weight – length	0.3342	2.71	0.90	0.001	Isometric
Guerrero Negro	Wet weight – length	0.0744	2.74	0.78	0.001	Isometric
	Shell weight – length	0.2594	2.71	0.90	0.001	Isometric
Bahía Magdalena	Total weight – length	0.4987	2.65	0.91	0.001	Isometric
	Wet weight – length	0.0928	2.94	0.91	0.001	Isometric
	Shell weight - length	0.3431	2.66	0.91	0.001	Isometric



Figures 4 a-o. Weight-length relationships of *Megapitaria squalida* by sampling sites in localities of the northern portion of the Mexican Pacific. a-c) Santa Rosalía. d-f) San Lucas. g-i) Bahía de la Paz. j-l) Laguna Guerrero Negro. m-o) Bahía Magdalena. a, d, g, j, m) Total weight-length. b, e, h, k, n) Wet weight-length. c, f, i, l, o) Shell weight-length.

lis in the coastal area of Galicia in northwestern Spain (Peteiro *et al.*, 2006), and for *Donax trunculus* Linnaeus, 1758 in the Gulf of Tunis (Tilii *et al.*, 2011). In conclusion, it is clear that the biometric parameters, the condition index, and the growth type of clams that inhabit the Santa Rosalía port area in the Gulf of California all differ from the pattern recorded for other areas. These other areas include San Lucas, a site located a few kilometers away from the pollution hot-spot and where

the conditions of temperature and food availability are similar to those in the port area. Based on these findings, we conclude that *M. squalida* displays poor health and growth in the port of Santa Rosalía area, which are most likely caused by the high levels of heavy metals in sediments coupled with pollutants from wastewater discharges from the urban sewerage system. Further studies on the concentrations of metals in clam tissues and their potential risks to human and wildlife consumers are warranted.

396

ACKNOWLEDGMENTS

This research was funded by projects SIP 1535 and 1698. J.A. Yee-Duarte is a fellow student of BEIFI and CONACyT; the results presented here are part of his PhD thesis. B.P. Ceballos-Vázquez, E. Shumilin, and M. Arellano-Martínez received grants from COFAA, EDI, and SNI. We thank María Elena Sánchez-Salazar, M. Sc., for her editorial contribution to the English manuscript.

REFERENCES

- ARELLANO-MARTÍNEZ, M., M. F. QUIÑÓNEZ-ARREOLA, B. P. CEBALLOS-VÁZQUEZ & M. VIL-LALEJO-FUERTE. 2006. Reproductive pattern of the squalid callista *Megapitaria squalida* from the northwest of Mexico. *Journal of Shellfish Research* 25: 849-856. DOI: 10.2983/0730-8000(2006)25[849:RP 0TSC]2.0.C0;2
- BOSCOLO, R., M. CORNELLO & O. GIOVANARDI. 2003. Condition index and air survival time to compare three kinds of Manila clam *Tapes philippinarum* (Adams & Reeve) farming systems. *Aquaculture International* 11: 243-254. DOI: 10.1023/A:1024888608791
- CADENA-CÁRDENAS, L., L. MÉNDEZ-RODRÍGUEZ, T. ZENTENO-SAVÍN, J. GARCÍA-HER-NÁNDEZ & B. ACOSTA-VARGAS. 2009. Heavy metal levels in marine mollusks from areas with, or without, mining activities along the Gulf of California, Mexico. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 57: 96-102. DOI: 10.1007/s00244-008-9236-0
- CANTÚ-MEDELLÍN, N., N. OLGUÍN-MONROY, L. MÉNDEZ-RODRÍGUEZ & T. ZENTENO-SAVÍN. 2009. Antioxidant enzymes and heavy metal levels in tissue of the black chocolate clam *Megapitaria squalida* in Bahía de La Paz, Mexico. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 56: 60-66. DOI: 10.1007/s00244-008-9156-z
- CHEN, Y., D. A. JACKSON & H. H. HARVEY. 1992. A comparison of von Bertalanffy and polynomial functions in modelling fish growth data. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 49: 1228-1235. DOI: 10.1139/f92-138
- FILGUEIRA, R., L. A. COMEAU, T. LANDRY, J. GRANT, T. GUYONDET & A. MALLET. 2013. Bivalve condition index as an indicator of aquaculture intensity: A meta-analysis. *Ecological Indicators* 25: 215-229. DOI: 10.1016/j. ecolind.2012.10.001
- FRIAS-ESPERICUETA, M., J. OSUNA-LÓPEZ, D. VOLTOLINA, G. LÓPEZ-LÓPEZ, G. IZA-GUIRRE-FIERRO & M. MUY-RANGEL. 2008. The metal content of bivalve molluscs of a coastal lagoon of NW Mexico. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 80: 90-92. DOI: 10.1007/ s00128-007-9322-4
- GASPAR, M., M. SANTOS & P. VASCONCELOS. 2001. Weight-length relationships of 25 bivalve species (Mollusca: Bivalvia) from the Algarve coast (southern Portugal). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 81: 805-807. DOI: 10.1017/ S0025315401004623
- GUTIÉRREZ-GALINDO, E. A., J. A. VILLAESCUSA-CELAYA & A. ARREOLA-CHIMAL. 1999. Bioaccumulation of metals in mussels from four sites of the coastal region of Baja California. *Ciencias Marinas* 25: 557-578. DOI: 10.7773/cm.v25i4.726

- HUERTA-DIAZ, M. A., A. MUÑOZ-BARBOSA, X. L. OTERO, J. VALDIVIESO-OJEDA & E. C. AMARO-FRANCO. 2014. High variability in geochemical partitioning of iron, manganese and harmful trace metals in sediments of the mining port of Santa Rosalia, Baja California Sur, Mexico. *Journal of Geochemical Exploration* 145: 51-63. DOI: 10.1016/j. gexplo.2014.05.014
- HUMMEL, H., R. MODDERNAN, C. AMIARD-TRIQUET, F. RAINGLET, Y. VAN DUIJN, M. HERSSEVOORT, J. DE JONG, R. BOGAARDS, G. BACHELET, M. DESPREZ, J. MAR-CHAND, B. SYLVAND, J. AMIARD, H. RYBARCZYK & L. DE WOLF. 1997. A comparative study on the relation between copper and condition in marine bivalves and the relation with copper in the sediment. *Aquatic Toxicology* 38: 165-181. DOI: 10.1016/S0166-445X(96)00832-6
- LEUNG, K. & R. FURNESS. 2001. Metallothionein induction and condition index of dogwhelks *Nucella lapillus* (L.) exposed to cadmium and hydrogen peroxide. *Chemosphere* 44: 321-325. DOI: 10.1016/ S0045-6535(00)00297-6
- LONG, E. R. D., D. MACDONALD, S. L. SMITH & F. D. CALDER. 1995. Incidence of adverse biological effects within ranges of chemical concentrations in marine and estuarine sediments. *Environmental Management* 19: 81-97. DOI: 10.1007/BF02472006
- López-Rocha, J. A., B. P. CEBALLOS-VÁZQUEZ, F. A. GARCÍA-DOMÍNGUEZ, M. ARE-LLANO-MARTÍNEZ, M. T. VILLALEJO-FUERTE & A. K. ROMO-PIÑERA. 2010. La pesquería de la almeja chocolata *Megapitaria squalida* (Sowerby, 1835) (Bivalvia: Veneridae) en Baja California Sur, México. *Hidrobiológica* 20: 230-237.
- LLUCH-BELDA, D., M. E. HERNÁNDEZ-RIVAS, R. SALDIERNA-MARTÍNEZ & R. GUERRERO-CABALLERO. 2000. Variabilidad de la temperatura superficial del mar en Bahía Magdalena, B.C.S. *Oceánides* 15: 1-23.
- Lucas, A. & P. G. BENINGER. 1985. The use of physiological condition indices in marine bivalve aquaculture. *Aquaculture* 44: 187-200. DOI: 10.1016/0044-8486(85)90243-1
- MALATHI, S. & S. THIPPESWAMY. 2011. Morphometry, length-weight and condition in *Parreysia corrugata* (Mullar 1774) (Bivalvia: Unionidae) from river Malthi in the Western Ghats, India. *International Journal* of *Biological Sciences* 2: 43-52.
- MéNDEZ, L., E. PALACIOS, B. ACOSTA, P. MONSALVO-SPENCER & T. ÁLVAREZ-CASTAÑE-DA. 2006. Heavy metals in the clam *Megapitaria squalida* collected from wild and phosphorite mine-impacted sites in Baja California, Mexico. *Biological Trace Element Research* 110: 275-287. DOI: 10.1385/BTER:110:3:275
- MENG, F., Z. WANG, F. CHENG, X. DU, W. FU, Q. WANG, X. YI, X. LI & Y. ZHOU. 2013. The assessment of environmental pollution along the coast of Beibu Gulf, northern South China Sea: An integrated biomarker approach in the clam *Meretrix meretrix. Marine Environmental Research* 85: 64-75. DOI: 10.1016/j.marenvres.2013.01.003
- MERCADO-SILVA, N. 2005. Condition index of the Eastern oyster, *Crassos-trea virginica* (Gmelin, 1791) in Sapelo Island Georgia Effects of site, position on bed and pea crab parasitism. *Journal of Shellfish Research* 24: 121-126. DOI: 10.2983/0730-8000(2005)24[121:Cl OTEO]2.0.C0;2

- MOUNEYRAC, C., S. LINOT, J. AMIARD, C. AMIARD-TRIQUET, I. MÉTRAIS, C. DUROU,C. MINIE & J. PELLERIN. 2008. Biological indices, energy reserves, steroid hormones and sexual maturity in the infaunal bivalve *Scrobicularia plana* from three sites differing by their level of contamination. *General and Comparative Endocrinology* 157: 133-141. DOI: 10.1016/j.ygcen.2008.04.010
- NICHOLSON, S. 1999. Cytological and physiological biomarker responses from green mussels, *Perna viridis* (L.) transplanted to contaminated sites in Hong Kong coastal waters. *Marine Pollution Bulletin* 39: 261-268. DOI: 10.1016/S0025-326X(98)90189-8
- NICHOLSON, S. & P. K. S LAM. 2005. Pollution monitoring in Southeast Asia using biomarkers in the mytilid mussel *Perna viridis* (Mytilidae: Bivalvia). *Environment International* 31: 121-132. DOI: 10.1016/j. envint.2004.05.007
- PAMPANIN, D. M., E. VOLPATO, I. MARANGON & C. NASCI. 2005. Physiological measurements from native and transplanted mussel (*Mytilus galloprovincialis*) in the Canals of Venice. Survival in air and condition index. *Comparative Biochemistry and Physiology A* 140: 41-52. DOI: 10.1016/j.cbpb.2004.10.016
- PETEIRO, L. G., J. M. BABARRO, U. LABARTA & M. J. FERNÁNDEZ-REIRIZ. 2006. Growth of *Mytilus galloprovincialis* after the *Prestige* oil spill. *ICES Journal of Marine Sciences* 63: 1005-1013. DOI: 10.1016/j.icesjms.2006.03.010
- RICKER, W. 1975. Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. Bulletin of the Fisheries Research Board of Canada. Department of the Environment Fisheries and Marine Service, Ottawa, Canada. 382 p.
- RODRÍGUEZ-FIGUEROA, G. M., E. SHUMILIN & I. SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ. 2009. Heavy metal pollution monitoring using the brown seaweed *Padina durvillaei* in the coastal zone of the Santa Rosalía mining region, Baja California Peninsula, Mexico. *Journal of Applied Phycology* 21: 19-26. DOI: 10.1007/s10811-008-9346-0
- RUIZ, P., M. ORTIZ-ZARRAGOITIA, A. ORBEA, S. VINGEN, A. HJELLE, T. BAUSSANT & M. CAJARAVILLE. 2014. Short- and long-term responses and recovery of

mussels *Mytilus edulis* exposed to heavy fuel oil no. 6 and styrene. *Ecotoxicology* 23: 861-879. DOI: 10.1007/s10646-014-1226-6

- SANTAMARÍA-DEL ÁNGEL, E., S. ÁLVAREZ-BORREGO, R. MILLÁN-NUÑEZ & F. E MÜLLER-KARGER. 1999. Sobre el efecto débil de las surgencias de verano en la biomasa fitoplanctónica del Golfo de California. *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural* 49: 207-212.
- SHUMILIN, E., G. M. RODRIGUEZ-FIGUEROA, O. MORTON-BERMEA, E. LOUNEJEVA-BATURINA, E. HERNÁNDEZ & D. RODRIGUEZ-MEZA. 2000. Anomalous trace element composition of coastal sediments near the copper mining district of Santa Rosalía, Peninsula of Baja California, Mexico. Bulletin of Environment Contamination and Toxicology 65: 261-268. DOI: 10.1007/s0012800123
- SHUMILIN, E., V. GORDEEV, G. M. FIGUEROA, L. DEMINA & K. CHOUMILINE. 2011. Assessment of geochemical mobility of metals in surface sediments of the Santa Rosalia mining region, western Gulf of California. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 60: 8-25. DOI: 10.1007/s00244-010-9532-3
- SHUMILIN, E., A. JIMÉNEZ-ILLESCAS & S. LÓPEZ-LÓPEZ. 2013. Anthropogenic contamination of metals in sediments of the Santa Rosalía Harbor, Baja California Peninsula. *Bulletin of Environmental Contamination* and *Toxicology* 90: 333-337. DOI: 10.1007/s00128-012-0923-1
- SINGH, C. J., J. A. VÉLEZ & M. C. FAJARDO. 1991. Estudio poblacional de la almeja chocolata *Megapitaria squalida* (Sowerby 1835) en Punta Coyote, Bahía de La Paz, B.C.S., México. *Ciencia Pesquera* 8: 7-22.
- TLILI, S., I. MÉTAIS, N. AYACHE, H. BOUSSETTA & C. MOUNEYRAC. 2011. Is the reproduction of *Donax trunculus* affected by their sites of origin contrasted by their levels of contamination? *Chemosphere* 84: 1362-1370. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2011.05.009
- WILSON, I. F. & V. S. ROCHA. 1955. Geology and mineral deposits of the Boleo copper district, Baja California, Mexico. Washington: Geological Survey Professional Paper. US Government Printing Office. 134 p.
- ZAR, J. H. 1996. Biostatistical analysis. 3rd edition, Prentice Hall, Inc, New Jersey, USA. 662 p.

Clasificación de unidades del fondo marino a partir de la distribución espacial de los sedimentos superficiales de la Bahía de La Paz, Golfo de California

Classification of seafloor units based on the spatial distribution of superficial sediments in La Paz Bay, Gulf of California

Francisco J. Urcádiz-Cázares¹, Víctor H. Cruz-Escalona¹, Enrique H. Nava-Sánchez² y Alfredo Ortega-Rubio³

¹Departamento de Pesquería y Biología Marina, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Instituto Politécnico Nacional. Avenida Instituto Politécnico Nacional s/n, Col. Playa Palo de Santa Rita, La Paz, Baja California Sur, 23096. México ²Departamento de Oceanología, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Instituto Politécnico Nacional. Avenida Instituto Politécnico Nacional s/n, Col. Playa Palo de Santa Rita, La Paz, Baja California Sur, 23096. México ³Planeación Ambiental y Conservación, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C. Avenida Instituto Politécnico Nacional 195, Col. Playa Palo de Santa Rita, 23090. México e-mail: javier.urcadiz@gmail.com

Recibido: 13 de marzo de 2017. Aceptado: 2 de agosto de 2017.

Urcádiz-Cázares F. J., V. H. Cruz-Escalona, E. H. Nava-Sánchez y A. Ortega-Rubio. 2017. Clasificación de unidades del fondo marino a partir de la distribución espacial de los sedimentos superficiales de la Bahía de La Paz, Golfo de California. *Hidrobiológica* 27 (3): 399-409.

RESUMEN

Antecedentes. El mapeo del fondo marino genera información útil para estudios ecológicos y de conservación en zonas marinas. Sin embargo, las metodologías para la delimitación de unidades en los fondos dominados por sedimentos no consolidados son escasas. Objetivos. Clasificar y caracterizar unidades en el fondo marino a partir de la distribución espacial de cuatro variables: el contenido de carbonato de calcio, el tamaño medio de grano, la clasificación del sedimento y la profundidad en la bahía de La Paz. Métodos. La distribución espacial de las cuatro variables mencionadas fue generada a partir de modelos de interpolación. Los modelos se elaboraron con base en los datos de 85 muestras de sedimento superficial y utilizando un sistema de información geográfica. La clasificación de unidades se determinó agrupando polígonos construidos a partir de los modelos e implementando un análisis de agrupamiento jerárquico. La caracterización se obtuvo con los valores predichos en los modelos. Resultados. Los modelos presentaron valores entre 2.7 a 95% de contenido de carbonato de calcio, -0.9 a 7.8 Φ de tamaño medio de grano (donde Φ es una transformación logarítmica del diámetro de sedimento), 0.1 a 4 Φ de clasificación y 0 a 680 m de profundidad. El análisis jerárquico determinó 14 unidades en el fondo marino. Cuatro unidades conforman el 91% del área de estudio. La unidad 4a se caracteriza por un alto contenido de CaCO, (72 \pm 20%); la unidad 3a, por una mala clasificación (2.2 \pm 0.7 Φ); la unidad 2a, por una clasificación moderada (1.1 \pm 0.3 Φ), y la unidad 1a, por la presencia de sedimentos finos (4.5 ± 0.6 Φ). **Conclusiones**. Este estudio representa una de las primeras propuestas de clasificación de unidades del fondo marino sobre sedimentos no consolidados en la BLP. La metodología empleada permitió separar cuatro principales unidades que reflejan condiciones ambientales con características propias. También se establecen los primeros modelos de distribución por medio del cálculo de la media del error y la raíz cuadrada del error cuadrático medio, que contrasta un conjunto de observaciones independientes contra los valores modelados de las variables citadas. Esta propuesta se puede utilizar como línea base en estudios de zonas costeras y plataformas continentales del Golfo de California y otras regiones marinas, en tanto dicha distribución no se vea afectada por eventos hidrometeorológicos extremos, en cuyo caso se requeriría un estudio similar.

Palabras clave: Carbonato de calcio, clasificación, fondo marino, interpolación, sedimentos, tamaño de grano.

ABSTRACT

Background. Seafloor mapping provides valuable information for ecological studies and conservation of marine areas; however, the methods used to delimit seafloor units in areas dominated by unconsolidated sediments are scarce. **Goals**. To classify and characterize seafloor units based on the spatial distribution of four variables: calcium carbonate content, mean grain size, sorting, and the depth in La Paz Bay (LPB). **Methods**. The spatial distribution of the four variables mentioned above was obtained from interpolation models. The models were created with the data of 85 samples of superficial sediment and by using a geographic information system. The classification of units was determined by grouping polygons that were constructed based on models and by implementing a hierarchical cluster analysis. Characterization was obtained from values predicted by the models. **Results**. The models produced values between 2.7 to 95% of CaCO₃, -0.9 to 7.8 Φ (mean grain size), 0.1 to 4 Φ (sorting), and depth values ranging from 0 to 680 m. The hierarchical cluster analysis

found14 units on the seafloor. Four units comprise 91% of the study area. Unit 4a stands out for its high content of $CaCO_3$ (72±20%). Unit 3a shows poor sorting (2.2±0.7 Φ), whereas unit 2a had moderate sorting (1.1±0.3 Φ). Finally, unit 1a includes fine sediments (4.5±0.6 Φ). **Conclusions**. This study is one of the first seafloor-unit-classification proposals of unconsolidated sediments in LPB. The methodology allowed us to separate four main units reflecting environmental conditions with intrinsic properties. In addition, it establishes the first distribution models by calculating the mean error and the root mean square error contrasting a set of independent observations versus the modelling values of the variables mentioned previously. This proposal can be used as a baseline for studies of coastal areas and continental shelves in the Gulf of California and other sea areas, if such distribution is not affected by extreme hydro-meteorological events, in which case a similar study would be required.

Key words: Calcium carbonate, grain size, interpolation models, marine sediments, seafloor mapping, sorting.

INTRODUCCIÓN

El mapeo del fondo marino genera información indispensable para la conservación y el manejo de los recursos marinos. Es fundamental para la zonificación y planeación de ordenamientos ecológicos marinos y áreas naturales protegidas. Estos instrumentos de conservación cuentan con amplias referencias metodológicas en el medio terrestre, pero son muy escasas en el medio marino (Colenutt *et al.*, 2013; Espinoza-Tenorio *et al.*, 2014).

El Golfo de California es reconocido por su elevada biodiversidad y productividad (Brusca, 2010). Particularmente, el sureste de la bahía de La Paz (BLP)(Fig. 1a) ha sido denominado como una Región Marina Prioritaria e incorpora un Área de Importancia para la Conservación de Aves (Arriaga-Cabrera *et al.*, 2009), dos sitios Ramsar, un parque nacional y 23 zonas con manglar. También incluye el Área de Protección de Flora y Fauna "Islas del Golfo" y el área de Balandra, ambas consideradas por la UNESCO como Patrimonio Natural de la Humanidad.

La BLP registra un ambiente bentónico con sedimentos mixtos (siliciclásticos-carbonatados) y carbonatados (Halfar *et al.*, 2004). Los ambientes carbonatados (>90% de CaCO₃) son poco comunes en las costas orientales del océano Pacífico (Halfar *et al.*, 2004). Estos ambientes se asocian a organismos como corales y rodolitos, que pueden formar colonias en el fondo y concentrar una biodiversidad relativamente elevada (Reyes-Bonilla, 1992; Steller *et al.*, 2003). A pesar de las declaratorias y la presencia de estos ambientes sedimentarios, no se han propuesto mapas que clasifiquen y caractericen unidades en el fondo marino de la BLP.

Para realizar un mapeo en el fondo marino se han propuesto metodologías con base en componentes bióticos y abióticos, como la clasificación de biotopos (Sergej & Ducrotoy, 2006) y hábitats bentónicos (Sheppard *et al.*, 1995; Cerdeira-Estrada *et al.*, 2008). Estas clasificaciones generalmente se desarrollan con ayuda de sensores remotos sobre costas carbonatadas someras con estructuras de arrecifes coralinos (Giardino *et al.*, 2016). En estas zonas es posible capturar infor-



Figuras 1a-b. a). La Bahía de La Paz y localidades. El área de estudio se muestra en el recuadro rojo, y las cuencas hidrológicas, con líneas azules. Batimetría de Nava-Sánchez *et al.* (2001). b) Área de estudio. Sitios de muestreo del fondo marino (puntos) y muestra independiente (triángulos). Las líneas azules representan el drenaje de las pequeñas cuencas hidrológicas.

401



Figura 2. Procedimientos para la clasificación de unidades del fondo marino a partir de la distribución espacial de cuatro variables (contenido de CaCO₃, tamaño medio de grano, clasificación del sedimento y profundidad).

mación escénica; sin embargo, en las plataformas continentales como la BLP o cualquier zona alejada de la costa (más allá de los 20-30 m), el uso de sensores ópticos pasivos está limitado por la profundidad y la transparencia del mar (Hamylton, 2011). Para zonas más profundas se han hecho clasificaciones basadas en componentes abióticos como la determinación de geoformas y estructuras del fondo (Walker et al., 2008; FGDC, 2012; Haris et al., 2012; Micallef et al., 2012). Sin embargo, cuando el fondo marino carece de geoformas o estructuras bien definidas, y está compuesto principalmente por sedimentos no consolidados, la identificación y delimitación de unidades no es sencilla. En fondos con sedimentos no consolidados se han utilizado clasificaciones basadas en un análisis textural en el que sólo se incluye el porcentaje de arena, limo y arcilla (FGDC, 2012; Jeroch, 2013). No obstante, otras variables, como el contenido de CaCO₂, el tamaño medio de grano (Verfaillie et al., 2006), la clasificación del sedimento (Ma et al., 2010) y la profundidad de la columna de agua (FGDC, 2012; Jeroch, 2013; Harris et al., 2014; Snickars et al., 2014), pueden aportar información para delimitar zonas o unidades en el fondo marino.

El contenido porcentual de CaCO₃ y la composición de bioclastos indican el origen y la asociación de organismos marinos (Morse & Mackenzie, 1990), así como la relación entre ambientes sedimentarios mixtos. El tamaño medio de grano se asocia a los niveles de energía de las condiciones hidrodinámicas del ambiente marino (Middleton, 1976; Syvitski, 1991). La clasificación del sedimento ayuda a interpretar procesos de ambientes sedimentarios (Boggs, 2012), y la profundidad de la columna de agua es una variable frecuentemente utilizada en estudios ecológicos marinos (Sheppard *et al.*, 1995; McLachlan & Brown, 2006; Snickars *et al.*, 2014). En este sentido, este trabajo propone un método multivariante para clasificar unidades en el fondo marino de zonas costeras y plataformas continentales donde se incorpora la variabilidad espacial del contenido de CaCO₃, el tamaño medio de grano, la clasificación del sedimento y la profundidad de la columna de agua. Particularmente, en este estudio: 1) se modela la distribución espacial de las cuatro variables citadas con base en un algoritmo de interpolación y 2) se clasifica y caracteriza las unidades del fondo marino a partir de la distribución espacial de dichas variables utilizando un análisis de agrupamiento jerárquico.

Marco geológico y sedimentos marinos. El fondo de la BLP (Fig. 1a) está conformado por plataformas estrechas con depresiones y bloques elevados (Nava-Sánchez et al., 2001). La porción noroeste de la BLP es más profunda e incluye a la cuenca Alfonso, con 420 m de profundidad (Cruz-Orozco et al., 1996). La depresión recibe sedimentos terrígenos, eólicos y hemipelágicos (Silverberg et al., 2014). Hacia el sureste de la BLP la profundidad disminuye desde los 220 m hasta la línea de costa, configurando una plataforma con pendiente suave donde el fondo marino contiene arenas finas de origen terrígeno (Cruz-Orozco et al., 1996). Sobre la línea de costa, el transporte litoral se lleva a cabo principalmente en dirección sur-sureste hasta configurar una barra arenosa conocida como El Mogote (Nava-Sánchez & Cruz-Orozco, 1989). Esta barra disminuye la energía del mar enmarcando a la laguna de La Paz, la cual está conectada con la BLP por medio de un canal de mareas donde se registra la profundidad máxima de 10 m. La laguna recibe sedimentos por aporte fluvial (arroyos) y por transporte litoral y eólico (Nava-Sánchez & Cruz-Orozco, 1989; Choumiline et al., 2009). Los sedimentos de la laguna de La Paz se clasifican como arenas gruesas hasta limos muy finos (Álvarez-Arellano et al., 1997). En el canal de San Lorenzo (Fig. 1b) los sedimentos tienen un tamaño de arenas gruesas a muy gruesas, con una composición mineralógica mayor que 90% de CaCO₂. Los bioclastos corresponden a fragmentos de moluscos, corales, rodolitos y foraminíferos (Halfar et al., 2000; 2004).

MATERIALES Y MÉTODOS

Trabajo de campo y laboratorio. Dentro del área de estudio (Fig. 1b). se programaron 85 sitios de muestreo (70 aleatorios y 15 dirigidos) a través del sistema de información geográfica (SIG) Esri ArcGIS 10.3. También se generó una muestra independiente de 18 sitios para evaluar los modelos de interpolación. El trabaio de campo se realizó mediante embarcaciones equipadas con sistema de navegación satelital y con dragas de tipo Van Veen, desde febrero hasta mayo de 2016. Este periodo se eligió previo a la temporada de ciclones tropicales para evitar que las muestras estuvieran bajo la influencia del efecto hidrodinámico que éstos ocasionan. Las muestras se tomaron del sedimento superficial del fondo marino y fueron trasladadas al Laboratorio de Geología del IPN-CICIMAR. Adicionalmente, en cada sitio se tomó video submarino SCUBA v videos asistidos con una carcasa desde la borda para registrar la presencia de organismos conspicuos y estructuras bentónicas. Tanto las muestras de sedimento como los videos se obtuvieron en un intervalo entre 1 a 70 m de profundidad. Para determinar el origen biogénico de los sedimentos gruesos, se realizaron observaciones con microscopios estereoscópicos directamente sobre las muestras.

En el laboratorio, con una balanza analítica se pesaron entre 3 y 4 g de cada muestra, las cuales fueron tratadas con ácido clorhídrico diluido al 10%. Luego, por diferencias de pesos se calculó el contenido porcentual del CaCO₃ (Halfar *et al.*, 2000). Por otro lado, una muestra de aproximadamente 27 g fue fraccionada en tres grupos: sedimento muy

Tabla 1. Límites de los intervalos de clases de las variables utilizadas para la clasificación de unidades del fondo marino.

Variables	Límites	Т	Clases
CaCO ₃ (%)	0-20	1	Muy Bajo
0	20-40	2	Bajo
	40-60	3	Medio
	60-80	4	Alto
	80-100	5	Muy Alto
Tamaño medio de	-1- 0	5	Arena muy gruesa
grano (Φ)	0 - 1	4.5	Arena gruesa
	1 - 2	4	Arena media
	2 - 3	3.5	Arena fina
	3 - 4	3	Arena muy fina
	4 - 5	2.5	Limo muy grueso
	5 - 6	2	Limo grueso
	6 - 7	1.5	Limo Medio
	7 - 8	1	Limo fino
Clasificación (Φ)	0.3-0.5	1	Bien
	0.5-0.7	2	Moderadamente Bien
	0.7-1	3	Moderadamente
	1-2	4	Pobremente
	2-4	5	Muy Pobremente
Profundidad (m)	0-10	5	Contorno inferior
	10-25	4	Costa afuera
	25-50	3	Contorno medio
	50-100	2	Contorno alto/LMP
	>100	1	Talud

T=variables transformadas jerárquicamente de 1 a 5. LMP= límite máximo de plataforma. grueso (-2.25 a -0.75 Φ), grueso (-0.75 a 4 Φ) y fino (>4 Φ), con tamices estandarizados. La unidad Φ es una transformación del diámetro de las partículas del sedimento ($\Phi = -\log_2 d$, donde *d* es el diámetro de la partícula en mm)(Blott & Pye, 2001). La fracción muy gruesa fue tratada por método de tamizado ro-tap, con intervalos de 1/4 Φ . Las fracciones gruesa y fina se trataron mediante un módulo seco y otro húmedo utilizando un analizador de partículas de difracción láser, modelo Beckman Coulter LS13320, en intervalos de 1/8 Φ . Con los datos se calculó el tamaño medio de grano y la clasificación según el método logarítmico de los momentos con el programa Gradistat (Blott & Pye, 2001). A partir de los datos obtenidos para cada sitio y sus coordenadas, se procedió a modelar la distribución espacial de cada variable.

Modelación de la distribución espacial (interpolaciones). Los modelos se construyeron con el algoritmo de funciones de base radial del SIG (Buhmann, 2003). Los modelos fueron evaluados mediante la comparación de los valores pronosticados contra los medidos en la muestra independiente. En la comparación se calculó la media del error (ME) y la raíz cuadrada del error cuadrático medio (RCEC), (Luo *et al.*, 2008). Adicionalmente, se estimó un intervalo de confianza de la diferencia de medianas entre cada modelo y las observaciones de la muestra independiente, basado en la prueba de rango con signo de Wilcoxon (Hollander *et al.*, 2014). El modelo de profundidad se elaboró con la información disponible en cartas batimétricas escala 1:20,000 (DGID, 1996; 2008). Todas las variables se manejaron en formato ráster y tienen la misma alineación y tamaño de pixel, de 100 x 100 m. El formato de los modelos permite caracterizar el comportamiento espacial de cada variable en el fondo de la BLP.

Clasificación y caracterización de unidades del fondo marino. Los procedimientos para la clasificación de unidades del fondo marino se resumen en la figura 2. Para cada modelo, los valores de los pixeles fueron agrupados según los intervalos reportados en la literatura (tabla 1). Para el tamaño medio de grano y la clasificación se utilizaron los límites de Folk y Ward (1957) y Friedman y Sanders (1978). Para la profundidad se utilizaron los contornos usados por Harris et al. (2014), donde el límite de 100 m representa la profundidad máxima de la plataforma continental (Nava-Sánchez et al., 2001). El modelo de CaCO, se dividió en cinco clases equidistantes con base en los siguientes criterios: 1) el número de clases debe ser similar al resto de las variables para evitar sesgo, 2) todos los valores posibles fueron incorporados, esto es de 0 a 100% de CaCO₃, y 3) los valores de los límites de las cinco clases y su distribución geográfica coinciden razonablemente con los valores del método de rupturas naturales Jenks (De-Smith et al., 2015). Estas divisiones permitieron establecer los límites espaciales en el área de estudio. Los límites se editaron en el SIG para generar polígonos con los valores clasificados. Los polígonos de cada modelo se sobrepusieron y se cortaron unos con otros para obtener una matriz de *n* polígonos con *p* variables. Posteriormente, se realizó un análisis de agrupamiento jerárquico (multivariado) con el software Minitab v.17. El análisis requiere que las variables tengan el mismo rango para evitar sesgos; por lo tanto, se utilizaron los valores transformados entre 1 y 5 (tabla 1). En el análisis se utilizó la distancia euclidiana al cuadrado y el método de aglomeración de Ward (Kaufman & Rousseeu, 2005). A continuación, se agruparon los polígonos en clases (conglomerados), en función de la distancia multivariada. Las unidades del fondo marino se determinaron por medio de la inspección de los conglomerados en el dendrograma y, según la configuración espacial de los mismos, en diferentes niveles de agrupación. Finalmente, el perímetro de cada unidad agrupó un conjunto de pixeles de cada modelo. Los valores de los pixeles permitieron caracterizar numéricamente las unidades.



Figuras 3a-d. Modelos de distribución espacial. a) Contenido de CaCO₃. b) Tamaño medio de grano. Los valores mínimos representan los tamaños gruesos, y los máximos, los tamaños finos. c) Clasificación del sedimento. Los valores mínimos representan una buena a moderada selección (baja variabilidad), y los valores máximos representan una mala a muy mala selección (alta variabilidad). d) Profundidad (batimetría). Las líneas representan los límites de la Tabla 1.

RESULTADOS

Modelos de distribución espacial y cálculos del error. La distribución del contenido de CaCO_a, el tamaño medio de grano, la clasificación del sedimento y la profundidad (batimetría) se presentan en la figura 3. El modelo de CaCO, presenta valores entre 2.7 y 95% (Fig. 3a). Los valores menores que 20% se distribuyen ampliamente sobre la plataforma interna de la BLP, al norte de la barra arenosa El Mogote. Los valores mayores que 60% se encuentran bordeando estrechamente la zona de Punta Coyote. En el canal de San Lorenzo se reportan valores mayores al 80%. Los valores mínimos y máximos del modelo de tamaño medio de grano (Fig. 3b) fueron de -0.9 a 7.8 Φ , esto es, entre arena muy gruesa hasta limo fino. Los valores baios (tamaños gruesos) se presentan en el canal de mareas de la Laguna de La Paz (-0.5 a 1.6 Φ) y en algunas áreas bordeando la zona de Punta Coyote, sobre todo en el canal de San Lorenzo, donde alcanza el tamaño de arena muy gruesa. Los valores más altos (tamaños finos) se encuentran en la parte interna de la laguna de La Paz y al noroeste del área de estudio. La clasificación del sedimento varía desde 0.1 hasta 4 Φ (Fig. 3c). Los valores bajos se distribuyen a lo largo de la línea de costa, al norte de la barra arenosa El Mogote (0.5 a 0.7 Φ), en la plataforma interna y también en el canal de San Lorenzo (0.7 a 1 Φ). Los valores altos se ubican en la parte central de la laguna de La Paz y al noroeste del área de estudio.

La evaluación de los modelos a través de la media del error (ME) y la raíz cuadrada del error cuadrático medio (RCEC) se muestra en la figura 4. La estimación de la diferencia de medianas entre los valores pronosticados y los medidos con la muestra independiente fue de 0.5 a 6.4% (contenido de CaCO₃), -0.5 a 0.2 Φ (tamaño medio de grano) y -0.4 a 0.0 Φ (clasificación del sedimento) para intervalos de confianza del 95%.

Clasificación y caracterización de unidades del fondo marino. Al sobreponer los límites de los cuatro modelos de distribución (Fig. 3, tabla 1) se estableció un total de 413 polígonos. Los polígonos se agruparon como se muestra en la figura 5a. Se eligió la agrupación para cuatro clases (conglomerados) con base en el nivel de distancia euclidiana, con valores de 77.8, 108.7, 175.8 y 197.5. Las cuatro clases fueron sub-divididas, a su vez, en 14 unidades, según su separación geográfica (Fig. 5b). La agrupación de polígonos estableció cuatro principales unidades (1a, 2a, 3a y 4a), que representan el 91% del área de estudio en el fondo marino de la BLP. Los valores de los pixeles agrupados para cada variable dentro de cada unidad se resumen en la tabla 2.

La unidad 1a se caracteriza por tener una profundidad promedio de 61 \pm 25 m y un tamaño medio de grano de 4.5 \pm 0.6 Φ , correspondiente a limo grueso y limo muy grueso. La unidad 2a presenta una profundidad de 19 ± 10 m, una pobre a moderada clasificación del sedimento $(1.1 \pm 0.3 \Phi)$ y muy bajo contenido de CaCO₂ $(13 \pm 4.2\%)$. En las unidades 1a y 2a es común observar orificios en el sedimento realizados por organismos de la infauna bentónica. La unidad 3a se caracteriza por una muy mala clasificación del sedimento (2.2 \pm 0.7 Φ) y baja profundidad (2.2 ± 1.9 m). En el fondo marino se observaron sitios con algas (Sargassum spp.) adheridas a valvas de moluscos bivalvos o rocas (guijarros) y, en ocasiones, sobre corales muertos. Algunos bivalvos observados en el fondo fueron Chione californiensis, Chione sp., Abra tepocana, Laevicardium sp., Nuculana sp. y los gasterópodos Nassarius luteostoma y Cerithium stercusmuscarum. La unidad 4a se encuentra a 13 ± 10 m de profundidad y presenta el mayor contenido de CaCO₂ (72 \pm 20%) y el mayor tamaño medio de grano, con arenas finas a gruesas $(1.4 \pm 0.8 \Phi)$. La unidad 4a presenta una pobre a moderada clasificación del sedimento (1 \pm 0.3 Φ). Dentro de la unidad, en los sitios 62, 18 y 0-independiente (Fig. 1b) se observó la presencia de mantos de rodolitos, mientras que en los sitios 30, 43 y 49 se observaron colonias de corales.

	Área		CaCO ₃		Tama	año med	io de	CI	asificaci	ón	P	rofundid	ad
	(km²)		(%)		(grano (Φ)		(Φ)			(m)	
ID		μ	σ	R	μ	σ	R	μ	σ	R	μ	σ	R
1 a	157	29	13	68	4.5	0.6	5.4	1.9	0.3	2.1	61	25	126
1 b	19	62	5.5	26	2.1	0.4	2.6	1.3	0.2	1.0	286	199	633
1 c	0.8	49	5.2	20	3.5	0.3	1.1	1.6	0.2	0.8	17	2.1	7.2
2 a	123	13	4.2	35	3.1	0.8	5.5	1.1	0.3	1.8	19	10	47
2 b	0.4	8.3	2.4	8.0	2.7	0.1	0.5	0.6	0.3	0.7	0.1	0.3	1.4
2 c	1.9	11	0.8	3.5	5.7	0.5	2.2	0.8	0.1	0.4	2.2	1.9	5.3
2 d	1.8	5.8	1.4	5.8	4.7	0.6	3.0	0.8	0.1	0.3	1.1	0.9	3.3
2 e	0.4	5.2	1.6	6.2	3.4	0.1	0.5	0.9	0.1	0.2	0.0	0.0	0.0
2 f	3.9	52	3.9	16	1.6	0.7	2.7	1.3	0.3	1.0	29	13	49
3 a	38	24	7.8	41	3.5	1.8	7.1	2.2	0.7	3.1	2.2	1.9	10
3 b	0.3	27	6.7	28	4.1	0.6	2.7	1.7	0.4	1.1	19	1.6	12
3 c	1.8	54	2.9	13	1.6	0.6	2.0	1.3	0.2	0.7	6.9	4.0	16
4 a	55	72	20	76	1.4	0.8	4.3	1.0	0.3	2.0	13	10	58
4 b	6.3	78	4.0	22	1.8	0.6	2.2	1.0	0.3	1.2	15	13	52

Tabla 2. Caracterización de unidades. Valores del conjunto de pixeles obtenidos en los modelos dentro de cada unidad clasificada.

ID= identificador de la unidad del fondo marino (ver Fig. 5); se presenta el promedio (μ), la desviación estándar (σ) y el rango (R) del conjunto de pixeles agrupados según los límites espaciales de cada clase.

DISCUSIÓN

Evaluación de los modelos de distribución espacial. En la BLP es escasa la información publicada relacionada con las variables modeladas en este estudio: sin embargo, se pueden hacer comparaciones con estudios puntuales. En el canal de San Lorenzo (Fig. 1b), Halfar et al. (2000; 2004) reportan que los valores de CaCO₃ en el sedimento marino fueron mayores a 90% a lo largo de dos transectos. Estos valores son parcialmente consistentes con los resultados de este estudio, el cual reporta entre 75 y 95%. Las diferencias pueden ser atribuidas a los diferentes enfoques metodológicos utilizados, aunque los autores mencionados utilizaron transectos y no propiamente un mapeo (variabilidad espacial). La ventaja de los modelos basados en interpolaciones es que predicen valores entre puntos conocidos en el espacio, lo que permite determinar una distribución. Por otro lado, el tamaño medio de grano y la clasificación en cuatro sitios muestreados por Cruz-Orozco et al. (1996) dentro del área de estudio son consistentes con los modelos desarrollados. Los autores presentan un esquema conceptual basado en una densidad de muestreo de 0.01 muestras km⁻², mientras que el presente estudio, basado en 0.2 muestras km⁻², aporta mayor detalle de la variabilidad espacial y utiliza un algoritmo de interpolación.

La información generada en los modelos y el uso de un SIG permiten establecer los límites o intervalos numéricos (tabla 1) en el espacio geográfico. La calidad de estos límites depende del tamaño de muestra y del análisis del error de los modelos. En este aspecto, el error de los modelos propuestos ha sido calculado mediante una muestra independiente. Esto permite la comparación de futuros modelos, incluso con diferentes algoritmos de interpolación. El modelo del contenido de CaCO₂ sobreestima a los valores observados con un promedio de 3.5% (ME). En valores absolutos, cada punto tiene una diferencia promedio de 6.4% (RCEC, Fig. 4). Los modelos del tamaño medio de grano y clasificación subestimaron a los valores observados con ME = -0.12 Φ y -0.19 Φ , respectivamente. En valores absolutos de cada punto contrastado, se estima una diferencia promedio (RCEC) de 0.68 Φ (tamaño medio de grano) y 0.39 Φ (clasificación del sedimento). Los modelos predicen valores cercanos en promedio a las observaciones realizadas con la muestra independiente. Este trabajo aporta los primeros modelos de la distribución espacial y el cálculo de su error (ME, RCEC) del contenido de CaCO_a, tamaño medio de grano y clasificación del sedimento en el fondo de la BLP, con base en algoritmos de interpolación.

Unidades del fondo marino. El análisis de agrupamiento jerárquico permitió agrupar los 413 polígonos en 14 unidades; sin embargo, cuatro unidades representan el 91% del área estudiada. La agrupación geográfica preferencial de los polígonos en cuatro unidades se debe a que la distancia multivariante (o similitud) entre éstos es próxima. Una posible explicación es que en el fondo de la BLP prevalecen principalmente cuatro conjuntos de condiciones ambientales, las cuales se infieren a partir de la caracterización de los valores de las cuatro variables modeladas y su distribución espacial. La unidad 4a agrupó polígonos con pixeles de alto contenido en CaCO₂ (72 \pm 20%). Los valores elevados pueden ser atribuidos a la tasa baja de aporte de sedimentos siliciclásticos en la zona de Punta Coyote y, por consiguiente, a la alta producción de exoesqueletos carbonatados de los organismos que habitan dicha unidad (Halfar et al., 2004). El aporte de terrígenos proviene de la erosión de rocas en la línea de costa y, principalmente, por aporte de sedimentos desde las cuencas hidrológicas adyacentes (Halfar et al., 2000, 2004; Velasco-García, 2009) (Fig. 2b). Estas cuen-



Figuras 4a-c. Evaluación de los modelos. Comparación entre los valores pronosticados y los medidos con la muestra independiente. a) Contenido de CaCO₃. b) Tamaño medio de grano (en Φ). c) Clasificación del sedimento (en Φ). R²= coeficiente de determinación. ME= media del error, RCEC= raíz cuadrada del error cuadrático medio. La línea discontinua representa una estimación no sesgada 1:1.

cas son pequeñas y sólo en eventos de precipitación alta (asociado con ciclones tropicales) se consigue un aporte de sedimentos siliciclásticos. El aporte de carbonatos en el fondo marino de la unidad 4a se deriva de los bioclastos de fragmentos de conchas (moluscos), corales, algas rojas (rodolitos), foraminíferos y balanos. Estos componentes han sido reportados previamente por Halfar et al. (2000). Específicamente en el canal de San Lorenzo se ha reportado que el sedimento marino está dominado por mantos de rodolitos (Halfar et al., 2004); sin embargo, en la inspección del sedimento en el fondo, se observaron mantos de rodolitos sólo en los sitios 62 y 0-independiente. Adicionalmente, se encontró un manto de rodolitos en el sitio 18, no reportado en la literatura, en una zona con valores entre 65 y 70% de CaCO₂. El tamaño de grano de arenas finas a gruesas (1.4 \pm 0.8 Φ) en el fondo indica niveles de energía en el ambiente (por corrientes, oleaje y marea) más altos que el resto de las unidades estudiadas. La moderada a pobre clasificación del sedimento (1 \pm 0.3 Φ) se asocia al poco aporte de terrígenos y dominancia de bioclastos carbonatados, los cuales mantienen una dispersión moderada del tamaño medio de grano. La unidad 4a por su contenido alto en CaCO₃ asociado a moluscos, corales y mantos de rodolitos podría destacar en biodiversidad sobre el resto de las unidades estudiadas.

Los polígonos agrupados en la unidad 3a coinciden, en su mayor parte, con la zona de la laguna de La Paz (Fig. 5b). La unidad registra una muy mala clasificación del sedimento $(2.2 \pm 0.7 \Phi)$; es decir, una amplia variabilidad del tamaño medio de grano, que se ve reflejada en una variedad de tipos de sedimento (desde limos gruesos hasta arenas

medias). La variabilidad es consistente con la reportada por Álvarez-Arellano et al. (1997) y se puede explicar por las diferentes fuentes de partículas que llegan a la unidad. La laguna de La Paz recibe el aporte de materiales limosos y arenosos a través de los arroyos, desde diferentes cuencas hidrológicas (Fig. 1a) y diferentes fuentes litológicas, así como por aporte litoral y eólico (Nava-Sánchez & Cruz-Orozco, 1989; Choumiline et al., 2009). Las descargas hacia la laguna traen consigo materiales finos y nutrientes que son distribuidos en la ensenada (Mendoza-Salgado et al., 2005) y el fondo marino (Green-Ruiz & Páez-Osuna, 2003; Pérez-Triboullier, 2014). La poca profundidad de la unidad 3a (2.2 \pm 1.9 m) permite que el efecto de la energía del viento (el oleaje interno) en la laguna tenga una fuerte influencia sobre ella. Este fenómeno genera la redistribución y suspensión de los sedimentos. Aunque la unidad contiene en promedio 24 ± 7.8 de CaCO₂, los moluscos (bivalvos y gasterópodos) que habitan en el sedimento aportan bioclastos mayores que 4 mm. Estos bioclastos tienen un efecto en el incremento del tamaño medio y en la dispersión del tamaño de grano. La amplia variedad de tipos de sedimento en el fondo de la unidad 3a establece las condiciones para el hábitat de diversos macromoluscos, como bivalvos y gasterópodos (Pérez-Nevarez, 1995; Holguín-Quiñones & García-Domínguez, 1997; Félix-Pico et al., 2011). En la laguna de La Paz (unidad 3a) se ha reportado la presencia de diversos grupos de moluscos; algunos son más comunes en esta zona lagunar, en comparación con el resto de la bahía de La Paz.

La unidad 2a forma parte de la plataforma interna de la BLP y el canal de marea de la laguna de La Paz. La unidad está influenciada por la



Figuras 5a-b. Clasificación de unidades del fondo marino. a) Agrupación de polígonos. b) Configuración espacial de las 14 unidades del fondo marino. Las cuatro clases fueron divididas en unidades según el análisis de agrupamiento y su configuración geográfica.

energía del oleaje, sobre todo en la parte próxima hacia la barra arenosa El Mogote. En esta franja el transporte litoral distribuye el sedimento con el nivel de energía necesario para sostener el tamaño de grano de arenas muy finas (Nava-Sánchez & Cruz-Orozco, 1989). La moderada clasificación del sedimento (1.1 \pm 0.3 Φ) sugiere que las condiciones hidrodinámicas se mantienen regulares a lo largo de la barra. El tamaño medio de sedimento (Fig. 3b) incrementa en relación con la alta energía hidrodinámica de las corrientes de marea hacia el canal que conecta la BLP con la ensenada de la laguna de La Paz (Gómez-Valdés et al., 2003). Los valores bajos (<20%) de CaCO, en esta unidad indican la poca producción de bioclastos. Esto contribuye a que el sedimento marino esté dominado por material siliciclástico aportado por las cuencas hidrológicas de la margen occidental de la BLP (Fig. 1a), de acuerdo con Nava-Sánchez y Cruz Orozco (1989) y Cruz-Orozco et al. (1996). La arena muy fina permite el desarrollo de organismos bentónicos infaunales, los cuales generan orificios y galerías en el fondo marino. Por lo tanto, esta unidad es potencialmente un hábitat para comunidades de macrofauna bentónica (Gray, 2002).

Los polígonos agrupados en la unidad 1a corresponden a la parte profunda (61 ± 25 m) de la plataforma de la BLP dentro del área de estudio. Es la unidad con menor tamaño medio de grano (4.5 ± 0.6 Φ) y se puede atribuir a que la zona tiene la menor o nula influencia de la energía del oleaje. Por consiguiente, representa un área para el depósito de sedimentos terrígenos (Nava-Sánchez *et al.*, 2001) o por hundimiento de partículas en suspensión en la columna de agua (Silverberg *et al.*, 2014). La unidad 1a registra un contenido de CaCO₃ entre 20 y 40% influenciado por la proximidad de la unidad 4a, el aporte de bioclastos de foraminíferos, fragmentos de conchas de moluscos bentónicos y nanoplancton calcáreo (Urcádiz-Cázares, 2005). En esta unidad también se observaron orificios y galerías hechas por organismos de la infauna bentónica, pero sólo hacia la parte más profunda. La unidad representa un hábitat para micro y macroinvertebrados marinos típicos de una plataforma continental (Gray, 2002).

Este estudio representa una de las primeras propuestas metodológicas para la clasificación de unidades en el fondo marino dominado por sedimentos no consolidados en la BLP. A diferencia de otros métodos, se toma en cuenta la distribución espacial de cuatro variables, las cuales son indicadores directos e indirectos de condiciones ambientales del fondo marino. Los resultados, aunque no definitorios, permiten establecer para la BLP 14 unidades en el fondo marino, de las cuales cuatro corresponden al 91% de la superficie estudiada. Estas unidades sugieren que el fondo de la BLP está dominado por al menos cuatro principales conjuntos de condiciones ambientales que se ven reflejados en la distribución y las características propias de cada unidad.

Una de las limitaciones de este estudio es que los organismos que habitan en cada una de las unidades no fueron considerados de forma sistemática. Por lo tanto, fue asumido que algunos grupos marinos podrían asociarse a las unidades propuestas, como lo muestran las observaciones puntuales realizadas durante la toma de muestras de sedimento. Por ello, recomendamos estudios ecológicos específicos, para validar si existen grupos de organismos marinos relacionados con las unidades y sus condiciones ambientales, considerando una escala espacial apropiada (1:20,000 a 1:50,000) y la variación estacional de la abundancia de cada especie. De igual manera, debe ser evaluado el efecto de los ciclones tropicales sobre la distribución de las variables estudiadas y en su caso, las correspondientes unidades del fondo marino. Finalmente, esta propuesta debe tomarse como una alternativa robusta respecto a las metodologías utilizadas en el mapeo de hábitats bentónicos, tipos desedimento y geomorfología del fondo marino. Se recomienda como línea base en estudios relacionados con ordenamientos ecológicos marinos y planes de manejo. La propuesta es accesible económicamente y puede utilizarse en las zonas costeras y las plataformas continentales del Golfo de California y otras regiones marinas.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a José M. Borges S. y Janette M. Murillo J. por el apoyo en campo y trabajo de laboratorio; asimismo, a Atzcalli E. Hernández C., Luis J. Cota V., Ana M. Cortez O., Adriana M. Coronel G., Karen Pabón A., Max A. González G. y Paúl A. Preciado G. Gracias al apoyo incondicional del Departamento Académico de Ciencias de la Tierra de la UABCS y del Departamento de Ciencias Básicas del TNM-ITLP. VHCE y EHNS son becarios de los programas EDI y COFAA del IPN. VHCE, EHPS y AOR son miembros del Sistema Nacional de Investigadores. Este trabajo se desarrolló con la beca 333364 (CONACyT, México) y gracias al apoyo de los proyectos IPN-SIP/20171069; 280030 de Redes Temáticas y 251919 de Ciencia Básica del CONACyT.

La base de datos y mapas (*.xls, *.shp) están disponibles para los usuarios que lo soliciten con el debido crédito a la revista HB.

REFERENCIAS

- ÁLVAREZ-ARELLANO, A. D., H. ROJAS-SORIANO & J. J. PRIETO-MENDOZA. 1997. Geología de La Bahía de La Paz y áreas adyacentes. *In:* Urbán-Ramírez, J. & M. Ramírez-Rodríguez (Eds.). *La Bahía de La Paz: Investigación y Conservación*. UABCS-CICIMAR-SCRIPPS, La Paz, BCS, México, pp. 13-30.
- ARRIAGA-CABRERA, L., V. AGUILAR-SIERRA & J. MANUEL ESPINOZA. 2009. Regiones prioritarias para la conservación de la biodiversidad. *In:* CONABIO (Ed.). *Capital Natural de México. Vol. II. Estado de conservación y tendencias de cambio.* Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México, pp. 433-457.
- BLOTT, S. J. & K. PYE. 2001. Gradistat: A Grain Size Distribution and Statistics Package for the Analysis of Unconsolidated Sediments. *Earth Surface Processes and Landforms* 26: 1237–1248. DOI: 10.1002/ esp.26.
- Boss J. S. 2012. *Principles of Sedimentology and Stratigraphy*. Pearson, Estados Unidos de América. 600 p.
- BRUSCA, R. C. 2010. *The Gulf of California Biodiversity and Conservation*. Arizona University Press, Tucson, AZ. 354 p.
- BUHMANN, M. D. 2003. Radial Basis Functions: Theory and Implementations. Cambridge University Press, Cambridge. 272 p.
- CERDEIRA-ESTRADA, S., S. LORENZO-SÁNCHEZ, A. ARECES-MALLEA & C. MARTÍNEZ-BAYÓN. 2008. Mapping of the spatial distribution of benthic habitats in the Gulf of Batabanó. *Ciencias Marinas* 34 (2): 213-222.
- CHOUMILINE, K., L. GODINEZ-ORTA, N. NIKOLAEVA, A. ALEXANDER DERKACHEV & E. SHUMILIN. 2009. Evaluation of contribution sources for the sediments of the La Paz Lagoon based on statistical treatment of the mine-

ralogy of their heavy fraction and surrounding rock and drainage basin characteristics. *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana* 61 (1): 97-109.

- COLENUTT, A., T. MASON, A. COCUCCIO, R. KINNEAR & D. PARKER. 2013. Nearshore substrate and marine habitat mapping to inform marine policy and coastal management. *Journal of Coastal Research*, Special Issue 65 (International Coastal Symposium) 2: 1509-1514. DOI: 10.2112/ SI65-255.1.
- CRUZ-OROZCO, R., C. MARTÍNEZ-NORIEGA & A. MENDOZA-MARAVILLAS. 1996. Batimetría y sedimentos de la Bahía de La Paz, BCS, México. CICIMAR Oceánides 11: 21-27.
- DE-SMITH, M. J., GOODCHILD, M. F. & LONGLEY P. A. 2015. *Geospatial Analyst. A comprehensive guide to principles, techniques and software tools*. Troubador Publishing Ltd. 749 p.
- DIRECCIÓN GENERAL DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO (DGID). 1996. Levantamiento hidrográfico La Paz y Proximidades. Secretaría de Marina, México.
- DIRECCIÓN GENERAL DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO (DGID). 2008. *Levantamiento hidrográfico Canal de San Lorenzo, BCS*. Secretaría de Marina, México.
- ESPINOZA-TENORIO, A., M. MORENO-BÁEZ, D. PECH, G. J. VILLALOBOS-ZAPATA, L. VIDAL-HERNÁNDEZ, J., RAMOS-MIRANDA, M. MENDOZA-CARRANZA, J. A. ZEPEDA-DOMÍNGUEZ, G. ALCALÁ-MOYA, J. C. PÉREZ-JIMÉNEZ, F. ROSETE, C. LEÓN & I. ESPEJEL. 2014. El ordenamiento ecológico marino en México: un reto y una invitación al quehacer científico. *Latin American Journal of Aquatic Research* 42 (3): 386-400. DOI: 10.3856/vol42-issue3-fulltext-1.
- FEDERAL GEOGRAPHIC DATA COMMITTEE (FGDC). 2012. FGDC-STD-18-2012. *Coastal and Marine Ecological Classification Standard*. Federal Geographic Data Committee. USA. 343 p.
- FÉLIX-PICO, E. F., HOLGUÍN-QUIÑONES, O. E. & ESCAMILLA-MONTES, R. 2011. Macroinvertebrados marinos asociados al manglar. *In*: Félix-Pico, E. F., Serviere-Zaragoza, E., Riosmena-Rodríguez, R. & León-De-La-Luz, J. L. (Eds.). *Los manglares de la península de Baja California Sur*. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C. y Universidad Autónoma de Baja California Sur, pp. 203-252.
- FOLK, R. L. & W. C. WARD. 1957. Brazos River bar: a study in the significance of grain size parameters. *Journal of Sedimentary Petrology* 27:3-26.
- FRIEDMAN, G. M. & J. E. SANDERS. 1978. Principles of sedimentology. Wiley. Nueva York. 792 p. DOI: 10.1002/esp.3290040317
- GIARDINO, C., M. BRESCIANI, F. FAVA, E. MATTA, V.E. BRANDO & R. COLOMBO. 2016. Mapping submerged habitats and mangroves of Lampi Island Marine National Park (Myanmar) from in situ and satellite observations. *Remote Sensing* 8 (2): 1-13. DOI: 10.3390/rs8010002.
- Gómez-Valdés, J., J. A. DELGADO & J. A. DWORAK. 2003. Overtides, compound tides, and tidial residual current in Ensenada de La Paz, Baja California Sur, México. *Geofísica Internacional* 42: 623-634.
- GRAY, J. S. 2002. Species richness of marine soft sediment. *Marine Ecology Progress Series* 244: 285-297. DOI: 10.3354/meps244285.

- GREEN-RUIZ, C. & F. PÁEZ-OSUNA. 2003. Heavy metal distribution in surface sediments from a subtropical coastal lagoon system associated with an agricultural basin. *Bulletin Environment Contamination and Toxicology* 71: 52-59.
- HALFAR, J., J. INGLE-JR & L. GODÍNEZ-ORTA. 2004. Modern non-tropical mixed carbonate-siliciclastic sediments and environments of the southwestern Gulf of California, Mexico. *Sedimentary Geology* 165: 93-115. DOI: 10.1016/j.sedgeo.2003.11.005.
- HALFAR, J., L. GONDÍNEZ-ORTA & J. C. INGLE. 2000. Microfacies Analysis of Recent Carbonate Environments in the Southern Gulf of California, Mexico - A Model for Warm-Temperate to Subtropical Carbonate Formation. *Palaios* 15: 323-342. DOI: 10.1669/0883-1351(2000)015<0323:MAORCE>2.0.C0;2.
- HAMYLTON, S. 2011. An evaluation of waveband pairs for water column correction using band ratio methods for seabed mapping in the Seychelles. *International Journal of Remote Sensing* 32 (20): 9185-9195. DOI: 10.1080/01431161.2010.550648.
- HARIS, K., B. CHAKRABORTHY, B. INGOLE, A. MENEZES & R. SRIVASTAVA. 2012. Seabed habitat mapping employing single and multi-beam backscatter data: a case study from the western continental shelf of India. *Continental Shelf Research* 48: 40-49. DOI: DOI: 10.1016/j. csr.2012.08.010.
- HARRIS, P. T., M. MACMILLAN-LAWLER, J. RUPP & E. K. BAKER. 2014. Geomorphology of the oceans. *Marine Geology* 352: 4-24. DOI: 10.1016/j. margeo.2014.01.011.
- HOLGUÍN-QUIÑONES, O. E, & GARCÍA-DOMÍNGUEZ F. A. 1997. Lista anotada de las especies de moluscos recolectados en la Bahía de La Paz, B.C.S. *In*: Urbán-Ramírez, J. & M. Ramírez-Rodríguez (Eds.). *La Bahía de La Paz: Investigación y Conservación*. UABCS-CICIMAR-SCRIPPS, La Paz, BCS, México, pp. 93-118.
- HOLLANDER, M., D. A. WOLFE & E. CHICKEN. 2014. Nonparametric statistical methods. Third edition. John Wiley & Sons, Inc., New Jersey. 848 p.
- JEROSCH, K. 2013. Geostatistical mapping and spatial variability of surficial sediment types on the Beaufort Shelf based on grain size data. *Journal of Marine and Systems* 127: 5-13. DOI: 10.1016/j.jmarsys.2012.02.013.
- KAUFMAN, L., P. J. ROUSSEEUW. 2005. Finding groups in data an introduction to cluster analysis. Wiley-Interscience, John Wiley & Sons, Inc., New Jersey. 342 p.
- Luo, W., M. C. TAYLOR & S. R. PARKER. 2008. A comparison of spatial interpolation methods to estimate continuous wind speed surfaces using irregular distributed data from England and Wales. *International Journal of Climatology* 28: 947-959. DOI: 10.1002/joc.1583.
- Ma, F., Y. Wang, Y. Li, C. Ye, Z. Xu & F. Zang. 2010. The application of geostatistics in grain size trend analysis: A case study of eastern Beibu Gulf. *Journal of Geographical Sciences* 20 (1): 77-99. DOI: 10.1007/ s11442-010-0077-1.
- McLachlan, A. & Brown, A. C. 2006. *The ecology of sandy shores*. Elservier, San Diego. 373 p.
- MENDOZA-SALGADO, R. A., C. H. LECHUGA-DEVÉZE & A. ORTEGA-RUBIO. 2005. Identifying rainfall effects in an arid Gulf of California coastal lagoon. *Journal of Environment Management* 75:183-187.

- MICALLEF, A., T. P. LE BAS, V. A. I. HUVENNE, P. BLONDEL, V. HUHNERBACH & A. DEIDUN. 2012. A Multi-method approach for benthic habitat mapping of shallow coastal areas with high-resolution multibean data. *Continental Shelf Research* 39-40: 14-26. DOI: 10.1016/j.csr.2012.03.008.
- MIDDLETON G. V. 1976. Hydraulic interpretation of sand size distributions. Journal of Geology 84: 405-426.
- MORSE, J. W., & F. T. MACKENZIE. 1990. Developments in sedimentology 48 Geochemistry of Sedimentary Carbonates. Elservier Science Publishers, Amsterdam. 707 p.
- NAVA-SÁNCHEZ, E. H. & R. CRUZ-OROZCO. 1989. Origen y evolución geomorfológica de la Laguna de La Paz, Baja California Sur, México. *Investigaciones Marinas CICIMAR* 4 (1): 49-58.
- NAVA-SÁNCHEZ, E. H., D. S. GORSLINE & A. MOLINA-CRUZ. 2001. The Baja California peninsula borderland: structural and sedimentological characteristics. *Sedimentary Geology* 144: 63-82. DOI: 10.1016/ S0037-0738(01)00135-X.
- PÉREZ-NEVAREZ, V. 1995. Zonación y estructura de la comunidad de moluscos bivalvos en la Ensenada de La Paz, B.C.S., México. Tesis de Maestría en Ciencias, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, IPN, México. 91 p.
- PÉREZ-TRIBOULLIER, H. U. 2014. Niveles actuales e historia de acumulación de elementos de origen natural y antropogénico en los sedimentos de la Laguna de La Paz, Baja California Sur, México. Tesis de Maestría en Ciencias, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, IPN, México. 110 p.
- REYES-BONILLA, H. 1992. New records for hermatypic corals (Anthozoa: Scleractinia) in the Gulf of California, Mexico, with an historical and biogeographical discussion. *Journal of Natural History* 26: 1163-1175. DOI: 10.1080/00222939200770671.
- SERGEJ, O. & DUCROTOY, J. P. 2006. The concept of biotope in marine ecology and coastal management. *Marine Pollution Bulletin* 53: 20-29.
- SHEPPARD, C. R. C., K. MATHESON, J. C. BYTHELL, P. MURPHY, C. BLAIR-MYERS & B. BLAKE. 1995. Habitat mapping in the Caribbean for manage-

ment and conservation: use and assessment of aerial photography. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 5: 277-298. DOI: 10.1002/aqc.3270050404.

- SILVERBERG, N., F. AGUIRRE-BAHENA & A. MUCCI. 2014. Time-series measurements of settling particulate matter in Alfonso Basin, La Paz Bay, southwestern Gulf of California. *Continental Shelf Research* 84: 169-187. DOI: 10.1016/j.csr.2014.05.005.
- SNICKARS, M., GULLSTRÖM, M., SUNDBLAD, G., BERGSTRÖM, U., DOWNIE, A. L., LIN-DEGARTH M. & MATTILA, J. 2014. Species-environmental relationships and potential for distribution modelling in coastal waters. *Journal of Sea Research* 85:116-125.
- STELLER, D. L., R. RIOSMENA-RODRIGUEZ, M. S. FOSTER & C. A. ROBERTS. 2003. Rhodolith bed diversity in the Gulf of California: the importance of rhodoliths structure and consequences of disturbance. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 13: 5-20. DOI: 10.1002/aqc.564.
- SYNTSKI J. P. M. 1991. Principles, methods, and applications of particle size analysis. Cambridge University Press. Cambridge 368 p. DOI: 10.1017/CB09780511626142.
- URCÁDIZ-CÁZARES, F. J. 2005. Flujos de cocolitos (cocolitóforos) y su aporte de CaCO3 evaluado con trampa de sedimentos en la Cuenca Alfonso (Bahía de La Paz), Golfo de California, México. Tesis de Licenciatura en Geología (Marina), Departamento de Geología, UABCS. 62 p.
- VELASCO-GARCÍA, J. A. 2009. Ambientes geológicos costeros del litoral de la Bahía de La Paz, Baja California Sur, México. Tesis de Maestría en Ciencias, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, IPN, México. 70 p.
- VERFAILLIE, E., V. VAN-LANCKER & M. VAN-MEIRVENNE. 2006. Multivariate geostatistics for the predictive modelling of the surficial sand distribution in shelf seas. *Continental Shelf Research* 26: 2454-2468. DOI: 10.1016/j.csr.2006.07.028.
- WALKER, B. K., B. RIEGL & R. E. DODGE. 2008. Mapping Coral Reef Habitats in Southeast Florida Using a Combined Technique Approach. *Journal* of Coastal Research 24 (5): 1138-1150. DOI: 10.2112/06-0809.1.

Evaluating the efficacy of commercially available aflatoxin binders for decreasing the effects of aflatoxicosis on Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*

Evaluación de secuestrantes comerciales de aflatoxinas para reducir la aflatoxicosis en camarón blanco Litopenaeus vannamei

Mireya Tapia-Salazar, Oscar D. García-Pérez, Martha G. Nieto-López, David A. Villarreal-Cavazos, J. Gamboa-Delgado, L. Elizabeth Cruz-Suárez and Denis Ricque-Marie

Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Ecología, Programa Maricultura. Ciudad Universitaria. Apdo. Postal F-67, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, 66450, México e-mail: mailto:mireya.tapiasl@uanl.edu.mx

Recibido: 27 de junio de 2016. Aceptado: 29 de agosto de 2017.

Tapia-Salazar M., O. D. García-Pérez, M. G. Nieto-López, D. A. Villarreal-Cavazos, J. Gamboa-Delgado, L. E. Cruz-Suárez and D. Ricque-Marie. 2017. Evaluating the efficacy of commercially available aflatoxin binders for decreasing the effects of aflatoxicosis on Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Hidrobiológica* 27 (3): 411-418.

ABSTRACT

Background. Feeding aflatoxin-contaminated diets to shrimp juveniles reduces feed intake and growth rate, suppresses the immune system, causes hepatic lesions, and, in some cases, decreases survival rates. There is scarce information on the effectiveness of commercially available aflatoxin binders to reduce aflatoxicosis in shrimp. **Goals.** We investigated the effect of corn that was naturally contaminated with aflatoxins on the growth performance and nitrogen retention efficiency of white shrimp juveniles *L. vannamei* and the potential of three commercially available anti-aflatoxin additives. **Methods.** 20 tanks (60L) were stocked with 10 shrimp weighing 210 ± 4 mg. Tanks were divided into five treatments with four replicates each. Shrimp were fed twice daily with either the contaminated diet (75 µg kg⁻¹ total aflatoxins), the contaminated diet supplemented with 2 g kg⁻¹ Aflabalan®, 2 g kg⁻¹ Mycosorb®, and 2.5 g kg⁻¹ Mycoflix plus®, or the uncontaminated diet to the control group for 42 days. **Results.** In terms of the diet containing aflatoxin without binding agents, the consumption, growth rate, and nitrogen-retention efficiency were significantly lower than the control treatment. The experimental diets did not affect the feed conversion ratio or survival rates in any treatment. The inclusion of any of the aflatoxin binders evaluated in the present study did not produce growth rates comparable to those of shrimp fed the uncontaminated diet. **Conclusions.** Aflatoxins decreased growth performance in a population of white shrimp juveniles *L. vannamei*. Although all the aflatoxin binders evaluated in this study caused an improvement, they were not effective in reversing all the negative effects caused by feeding aflatoxin-contaminated diets to white shrimp juveniles *L. vannamei*.

Key words: Aflatoxin, aflatoxin binders, Litopenaeus vannamei, shrimp.

RESUMEN

Antecedentes. La alimentación de dietas contaminadas con aflatoxina a juveniles de camarón reduce la ingesta de alimento, la tasa de crecimiento suprime el sistema inmunológico y causa lesiones hepáticas y en algunos casos, disminuye las tasas de sobrevivencia. Hay escasa información sobre la efectividad de los aglutinantes de aflatoxinas comercialmente disponibles para reducir la aflatoxicosis en camarones. Objetivos. Se investigó el efecto del maíz naturalmente contaminado con aflatoxinas sobre el rendimiento de crecimiento y la eficiencia de retención de nitrógeno de juveniles de camarón blanco L. vannamei y el potencial de tres aditivos anti-aflatoxina comercialmente disponibles. Métodos. 20 tangues (60L) fueron almacenados con 10 camarones con un peso de 210±4mg. Los tangues se dividieron en cinco tratamientos con cuatro repeticiones cada uno. Los camarones fueron alimentados dos veces al día con la dieta contaminada (75 μ g kg⁻¹ de aflatoxinas totales), la dieta contaminada suplementada con 2 g kg⁻¹ de Aflabalan®, 2 g kg⁻¹ de Mycosorb® v 2.5 g kg⁻¹ de Mycoflix plus®, v la dieta no contaminada como grupo control durante 42 días, **Resultados**, Para la dieta que contenía aflatoxina sin agentes secuestrantes, el consumo, la tasa de crecimiento y la eficiencia de retención de nitrógeno fueron significativamente menores que el tratamiento de control. Las dietas experimentales no afectaron la tasa de conversión alimenticia ni las tasas de supervivencia en ningún tratamiento. La inclusión de cualquiera de los aglutinantes de aflatoxinas evaluados en el presente estudio no produjo tasas de crecimiento comparables a las de los camarones alimentados con la dieta no contaminada. Conclusiones. Las aflatoxinas disminuyeron el rendimiento de crecimiento en una población de juveniles de camarón blanco L. vannamei. Aunque todos los aglutinantes de aflatoxinas evaluados en este estudio causaron una mejora, no fueron eficaces para revertir todos los efectos negativos causados por la alimentación de dietas contaminadas con aflatoxina a juveniles de camarón blanco L. vannamei.

Palabras clave: Aflatoxinas, camarón, Litopenaeus vannamei, secuestrante de aflatoxinas.
INTRODUCTION

The addition of plant-derived feedstuffs to aquaculture dietary formulas is an alternative for producing cost-effective feeds. However, at high levels these formulas produce some side effects triggered by the presence of substances, such as mycotoxins, that may reduce the animal's performance. Research has shown that feeding aflatoxin-contaminated diets to fish and shrimp reduces feed intake and growth performance, suppresses the immune system, and causes hepatic lesions (Arunlertaree et al., 2007; Gopinath & Raj, 2009; Mohapatra et al., 2011; Arana et al., 2011; Tapia-Salazar et al., 2012; García-Pérez et al., 2013; Zeng et al., 2015). This occurs even at low levels (Tapia-Salazar et al., 2012; García-Pérez et al., 2013; Zeng et al., 2015). In terrestrial animals, the supplementation of aluminosilicates, biotransformation agents, or antioxidant compounds neutralize the impact caused by the consumption of diets containing mycotoxins (Surai & Dvorska, 2005; Kolosova, & Stroka, 2011; Gowda et al., 2013). In aquatic organisms, particularly fish, some studies have shown that some of the negative effects caused by the presence of mycotoxins are successfully reverted by including aluminosilicates, cell walls from yeast, glucomannan, or plant extracts (Sahoo et al., 2003; El-Barabay & Mehrim 2009; Mahfouz, 2015). Conversely, other studies in which aluminosilicates were supplemented in diets that subsequently were fed to shrimp did not show promising results (Suppadit et al., 2006; Arunlertaree et al., 2007; García-Pérez et al., 2013). For some time, yeast has been used as a supplement in diets intended for consumption by terrestrial and aquatic animals in order to enhance their immune response as measured by the respective parameters (Ringø et al., 2012; Cheng et al., 2014). Recently, it was demonstrated that supplementation of yeast-derived products (Selim et al., 2014), alone or in combination with other mycotoxin binder/transforming products, significantly decreases mycotoxicosis in aquatic organisms (Hauptman et al., 2014). There is scarce information on the effectiveness of commercially available aflatoxin binders containing multicomponent-sequestering additives with regard to reducing aflatoxicosis in shrimp. Therefore, the aim of this study was to assess the adverse effects induced by the presence of aflatoxins on the growth rate, feed intake, feed conversion ratio, survival, and nitrogen retention efficiency. We also wanted to evaluate the potential of three commercially available anti-aflatoxin additives in preventing the negative effects caused by aflatoxin on a juvenile population of white shrimp Litopenaeus vannamei (Boone, 1931).

MATERIAL AND METHODS

Experimental design: The weight of two hundred white shrimp juveniles *L. vannamei*, characterized by a consistent body weight (210 \pm 4 mg), were individually registered and randomly distributed in 20 groups containing ten shrimp each. Initial body weight distribution was equivalent in each group. Each dietary treatment was randomly assigned among the four tanks.

Experimental diets: Two control diets (aflatoxin-contaminated and non-contaminated diets) were formulated to contain 38% crude protein and 8% crude lipids. The aflatoxin levels included in this study were chosen based on a previous study (Tapia-Salazar *et al.*, 2012), in which a significant decrease was observed on growth, feed intake, as well as the presence of histological damages without significantly affecting

survival rates. A contaminated diet used as a control was formulated containing a total amount of 75 µg kg⁻¹ aflatoxins (7130 µg kg⁻¹ total aflatoxin in the contaminated grain). The NuteK S.A. de C. V. company provided contaminated corn, according to a protocol previously described by Tapia-Salazar et al. (2012). The diet included 11.1% contaminated corn, mainly at the expense of wheat meal. Three more diets were prepared that included similar contamination levels and one of the following three aflatoxin binders that were tested: 1) Aflabalan® third generation (SAGARPA registration number A-7853-00). This binder contains silica, maximum 65.60%; sodium oxide, minimum 0.20%; calcium oxide, minimum 3.90%; sodium aluminum, minimum 6.65%; and cell walls from the yeast Saccharomyces cerevisiae Meyen ex E. C. Hansen (Hansen, 1883 maximun 5% (http://www.tecnicamineral.com. mx/divisiones.php?divisionproducto=2&categoriaProducto=15). The recommended inclusion levels for use on terrestrial animals for preventive and corrective purposes range between 2 and 3 kg/ton of feed. 2) Mycosorb® (SAGARPA registration number A-7569-051). This binder contains glucomannan cell walls from Saccharomyces cerevisiae and some varieties may contain cell walls from the microalga Chlorella vulgaris Beyerinck [Beijerinck]. (1890). https://nutricionanimal.info/ mycosorb-alltech/. The recommended inclusion levels for use on terrestrial animals range between 0.5 and 1.5 kg/ton without specifying preventive or corrective doses. 3) Mycofix plus® (SAGARPA registration number A-7160-001). This binder contains bentonite plus the yeast Trichosporon mycotoxinivorans (Molnár et al., 2004) and algae extracts. Recommended inclusion levels for terrestrial animals range between 0.5 and 1.0 for preventive dosing, whereas 1.5 - 2.5 kg/ton is recommended for corrective doses (https://nutricionanimal.info/download/ Mycofix-Plus-BBSH.pdf).

For aquatic species, no information was available on the optimal inclusion levels of aflatoxin binders for preventive and corrective dosing. Regarding Aflabalan®, a corrective level of 2 g kg⁻¹ was used. Since there was a lack of information on terrestrial species and aquatic species, we followed the manufacturer's recommendations. Regarding Mycofix plus®, a corrective dose of 2.5 g kg⁻¹ was selected, given its previous positive results on terrestrial species (Tapia-Salazar *et al.*, 2010) as per the manufacturer's recommendations. In the case of Mycosorb®, the inclusion level was set at 2 g kg⁻¹ because of insufficient results reported on terrestrial species at lower inclusion levels (Surai & Dvorska, 2005; Boudergue *et al.*, 2009; Kolosova & Stroka, 2011; Gowda *et al.*, 2013), also following the manufacturer's recommendation (Table 1).

Diets were prepared as follows: Ingredients were mixed for 10 min in a Kitchen Aid mixer, water (30%) was incorporated, and the mixing continued for an additional 15 min. The wet diet mash was processed through a meat grinder (fitted with a 1.6 mm diameter-hole die) at a passage rate of 40 kg min⁻¹ while keeping the temperature between 70-75 °C. The spaghetti-like strands were placed to dry in a convection oven at 100 °C for 8 min and allowed to cool and dry overnight at room temperature before packing. The approximate composition of the experimental diets was assessed by using standard procedures (AOAC, 2006). The aflatoxin concentration (B1, B2, G1, and G2) was analyzed by HPLC on both non-contaminated and aflatoxin-contaminated control diets at Trilogy Analytical Laboratory (Washington, M0). Additionally, these diets were also tested for deoxynivalenol, fumonisin (B1, B2, and B3), ochratoxin A, and T-2 toxin at the same location.

	CD diet	UCD diet	CD diet + Aflabalan ${ m I\!R}$	CD diet + Mycofix plus ${\mathbb R}$	CD diet + Mycosorb ${\mathbb R}$
Wheat meal	427.95	439.83	425.95	425.45	425.95
Fish meal	384.41	384.63	384.41	384.41	384.41
Soybean lecithin	19.93	19.00	19.93	19.93	19.93
Contaminated corn	11.11	-	11.11	11.11	11.11
Cholesterol solvay	0.20	0.15	0.20	0.20	0.20
Constant ingredients*	156.40	156.40	156.40	156.40	156.40
Aflabalan®	-	-	2.00	-	-
Mycofix plus®	-	-	-	2.50	-
Mycosorb®	-	-	-	-	2.00
Total	1000.00	1000.00	1000.00	1000.00	1000.00

Table 1. Composition of all experimental diets (g kg-1as is) for Litopenaeus vannamei juveniles.

CD = contaminated diet, UCD = uncontaminated diet

*Constant ingredients: soybean meal 80 g kg⁻¹, shrimp meal 40 g kg⁻¹, fish oil 19 g kg⁻¹, sodium alginate 10 g kg⁻¹, vitamin mixture 3.5 g kg⁻¹, mineral mixture 2.5 g kg⁻¹, antioxidant 0.5 g kg⁻¹, mold inhibitor 0.5 g kg⁻¹, vitamin C 0.2 g kg⁻¹, vitamin E 0.2 g kg⁻¹.

Growth trial conditions and feeding protocol. A feeding trial was carried out in a closed recirculation system containing artificial seawater. The experimental facility had an array of 60-L fiberglass tanks. Each one of these was continuously fed with synthetic marine water (Fritz[®], Dallas, TX, USA) using a 350 mL min⁻¹ flow-through rate. Each tank is equipped with an air-water lift system for internal recirculation. The facility is designed to account for possible water-guality fluctuations that may simultaneously affect all tanks. Salinity and temperature were measured daily, whereas pH, total ammonia, nitrites, and nitrates were recorded weekly: salinity 31±3 g L⁻¹, temperature 29±1 °C, pH 8.1±0.1, total ammonia 0 mg L⁻¹, nitrites 0.2 ± 0.1 mg L⁻¹, and nitrates 40 ± 15 mg L^{-1} (mean \pm standard deviation). During this study, these parameters were within the optimum values for shrimp. Juvenile white shrimp L. vannmaei were obtained from the Langostinos y Camarones de Oriente Laboratory, Boca del Río, Veracruz, Mexico. Upon arrival at our facilities, the shrimp were acclimatized for one week in 500 L holding tanks with the conditions prevailing at the bioassay room, before the growth test. Shrimp were individually weighed on a digital scale after blotting off excess water with a wet cloth. Over the first three days after distributing the animals, dead shrimp were replaced by others taken from a pool of animals fed with the same diet. A photoperiod was set in order to provide 12 h of light and 12 h of dark. Shrimp were fed twice daily to achieve an apparent satiation (50% of the portion at 9:00 and 17:00) for 42 days. Any feed remaining in the tank was removed by siphoning before performing the feeding. During the first 2 days, daily feeding was fixed at 10% of the biomass inside the tanks and subsequently adjusted to allow a small excess of remaining feed in each tank until the next feeding. The previously weighed feed strands were fragmented into small pieces for each feeding period in order to ensure a sufficient amount of pellets per shrimp.

Assessment of growth performance parameters. The shrimp in each tank were individually weighed at 7-day intervals in order to assess growth and adjust the feeding ratios. Survival and feed intake were recorded daily and the feeding ratios were adjusted after considering the amount of shrimp per tank and the remaining feed on the latter. The

following variables were evaluated: weight gain (%) = [(mean individual final weight (g) - mean individual initial weight (g)) / mean individual initial weight (g)] x 100. Feed intake (g shrimp⁻¹ 42 days⁻¹) = (amount of feed provided – remaining feed)/amount of shrimp. Feed conversion ratio = feed intake (g)/live weight gain (g). Survival (%) = (amount of surviving shrimp/initial amount of shrimp) x 100. When the experiment began, a pooled shrimp sample was taken to determine the initial moisture and nitrogen content. After concluding the experiment, five shrimp per tank were randomly sampled to estimate final moisture and nitrogen content. Shrimp samples were freeze-dried, ground in a coffee grinder, and stored until further analysis. Nitrogen retention efficiency (NRE %) was estimated as follows: NRE = [(final mean body weight (g) * final crude protein content on carcass (%)) – (initial mean body weight (g) * initial crude grotein consumed (g)] * 100.

Statistical analysis. The results are presented as means \pm standard deviations. Average body weights per tank were used to calculate growth rates and feed-conversion ratios. Weights, feed intake, growth rate, feed-conversion ratio, survival, and nitrogen retention efficiency were analyzed by a one-way ANOVA comparing the experimental diets and subsequently by a Tukey's multiple range test ($\alpha = 0.05$, SSPS 16.0, 2007, SPSS Inc., Chicago, Illinois).

RESULTS

Experimental diets. The chemical composition of all test diets was similar among treatments: crude protein, crude lipids, and ash content (on a dry weight basis) ranged between 39 and 40%, 8.3 and 9.0%, and 8.6 and 9.0%, respectively. Aflatoxin concentration in all contaminated diets was 75 μ g kg⁻¹ and the predominant aflatoxin type was B1 (60.7 μ g kg⁻¹), followed by B2 (9.7 μ g kg⁻¹), and G1 (4.3 μ g kg⁻¹). Concentrations of other mycotoxins in all contaminated diets was below the detection limit. In all non-contaminated diets, mycotoxin levels were also below detection limits.



Figure 1. Growth rate in shrimps (*Litopenaeus vanname*) fed with aflatoxin-contaminated diets. Each point represents the mean value of four replicates tanks along with its standard deviation. Different letters show significant differences (p < 0.05). CD = contaminated diet, UCD = uncontaminated diet

Growth performance parameters. The results obtained after measuring growth, feed intake, and nitrogen-retention efficiency are shown in Figures 1, 2, and 3. The growth rate was similar when diets were compared after 35 days. However, after concluding the experiment, shrimp fed with contaminated diets showed a significantly decreased growth rate (32% less), when compared to those fed with uncontaminated diets. The supplementation of Aflabalan® resulted in similar growth rates in comparison to those measured after supplementing a contaminated diet, whereas Mycosorb® and Mycofix plus® supplemented diets exhibited higher growth rates (24-29%) when compared to shrimp fed with contaminated diets, although they were not statistically different. Shrimp fed with contaminated diets exhibited a significantly decreased feed intake from day 28 to the end of the experiment. After this, the latter parameter decreased by 29%. The supplementation of Aflabalan® and Mycofix plus® to contaminated diets did not counteract the decreased feed intake caused by the presence of aflatoxins. The addition of Mycosorb® to these diets resulted in higher feed intake when compared to those shrimp fed with contaminated diets, although the results were not significantly different. The addition of contaminated grains or aflatoxin binders did not affect the feed-conversion ratio by the end of the experiment. These ranged between 1.2 and 1.3 when the different diets were compared. The survival of shrimp fed with contaminated diets was slightly lower when compared to those fed with the other experimental diets (80 versus 88 - 93%), although differences were not significantly different. The addition of aflatoxin-contaminated corn to the diets decreased nitrogen retention efficiency by 32% and when commercially available aflatoxin commercial binders were tested, they did not improve nitrogen-retention efficiency.

DISCUSSION

Dietary aflatoxin supplementation to shrimp. Contamination by aflatoxins of diets manufactured for aquaculture is one of the most important problems currently challenging the shrimp-farming industry caused by increasing levels of plant-derived ingredients in agua feeds (Santos et al., 2010; Anater et al., 2016). Feeding shrimp with diets contaminated by pure aflatoxin (Suppadit et al., 2006; Arunlertaree et al., 2007; Zeng et al., 2015) or with contaminated grains (Tapia-Salazar et al., 2012; García-Pérez et al., 2013) has resulted in lower feed intake, scarce weight gain, and, occasionally, in mortality and immune system deterioration. The results observed in this study regarding growth rates, feed intake, feed-conversion ratio, nitrogen retention and the survival of shrimp L. vannamei fed with diets containing low aflatoxin levels are in accordance with previously obtained results. Tapia-Salazar et al. (2012) and García-Pérez et al. (2013) point out that a significantly reduced feed intake and weight may occur without affecting survival because of the synergic effect induced by low aflatoxins levels (B1, B2, G1, and G2). In this study, the overall dietary aflatoxin was 75 µg kg⁻¹, and aflatoxin B1 (60.7 µg kg⁻¹) was the predominant type, followed by B2 (9.7 µg kg⁻¹) and G1 (4.3 µg kg⁻¹). The results obtained in this study confirm that a combination of aflatoxins at low levels impairs shrimp's performance. The lack of effect on the survival rates of shrimp associated with low inclusion levels in their diet is in line with previous results observed for shrimp fed with low levels of pure aflatoxin (Gopinath & Raj, 2009; Zeng et al., 2015) or naturally contaminated grains (Tapia-Salazar et al., 2012; García-Pérez et al., 2013). The background information on the effect of dietary aflatoxin on nitrogen retention in shrimp is scarce. In this study,

a significant decrease of nutrient-retention efficiency (30%) was observed when shrimp were fed with aflatoxin-contaminated diets; this agrees with the results published by Zeng *et al.* (2015), as they reported a significant decrease of crude protein (approximately 6%) and crude lipids (approximately 27%) in whole *L. vannamei* carcasses previously fed with increasing levels of pure aflatoxin. Studies have shown that aflatoxin consumption causes hepatotoxicity, inhibits protein synthesis, and causes immunosuppression and metabolic alterations (Monson *et al.*, 2015). This effect is enhanced by a reduced feed intake. The lower nutrient retention observed in shrimp fed with aflatoxin-contaminated diets was probably caused by several complications derived from dysfunctional metabolic processes during aflatoxicosis.

Efficiency of aflatoxin-binding agents in reducing aflatoxicosis in shrimp. In farm animals, the addition of absorbing or biotransforming agents to diets is a strategy designed to counteract the negative effects caused by the consumption of mycotoxins (Surai & Dvorska, 2005; Kolosova, & Stroka, 2011; Gowda et al., 2013; Wielogórska et al., 2016). Some of the commercially available mycotoxin-binding products possess a formulation consisting of multiple sequestering components (antioxidants, probiotics, yeast and/or plants, among others) that contribute more effectively to decreasing most of the effects caused by mycotoxin consumption, such as decreases of growth, feed intake, the production of reactive oxygen species, lipid peroxidation processes, the impairment of enzymes involved in different metabolic processes (digestion, immune system etc.) (Surai & Dvorska, 2005; Oguz et al., 2011; Wielogórska et al., 2016). However, their effectiveness depends on several factors such as specificity towards some mycotoxins and their concentration levels, their presence as a pure compound or as a mixture, pH, the clay source, absorption/desorption ability, etc. (Devreese et al., 2013; De-Mil et al., 2015; Wielogórska et al., 2016). Regarding

terrestrial animals, products are already available for preventing or correcting the negative effects caused by mycotoxin-contaminated feed when suitable levels are used (Surai & Dvorska, 2005; Boudergue et al., 2009; Kolosova, & Stroka, 2011; Gowda et al., 2013; Wielogórska et al., 2016). One of the problems faced by the aguaculture industry regarding the effectiveness of commercial products intended to decrease aflatoxicosis in aquatic organisms is the limited amount of available information. Often the inclusion levels used for testing are those obtained for other species. In this study, as no information on Aflabalan® was available for other species, the inclusion levels consisted of a 2 g kg⁻¹ preventive dose based on the manufacturer's recommendations. A 2 g kg⁻¹ corrective dose of Mycosorb® was used because inadequate results were observed on terrestrial animals when it was included in aflatoxin-contaminated diets at levels ranging between 0.5 and 1.5 g kg⁻¹. Finally, a 2.5 g kg⁻¹ level of Mycofix plus® was selected as optimal results were observed on terrestrial animals fed with aflatoxincontaminated diets. The results obtained in this study showed that after feeding shrimp with an aflatoxin-contaminated diet supplemented with 2 g kg⁻¹ Aflabalan®, similar growth rates were obtained in comparison to those fed with non-contaminated diets (control diets). The addition of Mycosorb® and Mycofix-plus® slightly improved these parameters, although they were not significantly similar when compared to shrimp fed with non-contaminated diets. After comparing the ingredients of all test products, it was noted that Mycosorb® contains glucomannan cell walls from S. cerevisiae and cell walls from microalga, whereas Mycofix plus® contains bentonite, plant extracts, and some yeast or bacterial species purportedly useful for detoxifying several mycotoxins. Studies on broilers and rats have shown that some of these additives reverted some of the negative effects caused by the presence of mycotoxins (Politis et al., 2005; Abdel-Wahhab et al., 2006; Manoharan et al., 2008).



Figure 2. Feed intake in *Litopenaeus vannamei* juveniles fed with aflatoxin-contaminated diets. Each point represents the mean value of four replicates tanks along with its standard deviation. Different letters show significant differences (p < 0.05). CD = contaminated diet, UCD = uncontaminated diet.



Figure 3. Nitrogen retention efficiency (NRE) in *Litopenaeus vannamei* juveniles fed with aflatoxin-contaminated diets. Each point represents the mean value of four replicates tanks per treatment. Different letters show significant differences (p < 0.05). CD = contaminated diet, UCD = uncontaminated diet.

Despite the fact that positive results were obtained by including these additives on other species fed with mycotoxin-contaminated feed, this was not the case for shrimp. The different results may be explained by several factors such as the respective supplemented levels. More studies are needed in order to test higher levels that may counteract the effects of aflatoxicosis in shrimp.

We conclude that after feeding a juvenile population of the Pacific white shrimp *L. vannamei* diets that contain low aflatoxin levels, they had a significantly reduced growth rate, feed intake, and nitrogenretention efficiency, but their survival and feed conversion ratio were not affected. Feeding juvenile *L. vannamei* with aflatoxin-contaminated diets supplemented with Aflabalan®, Mycosorb® and Mycofix plus® at any of the levels we tested in this study did not reproduce the growth performance observed on shrimp fed with non-contaminated diets.

ACKNOWLEDGEMENTS

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnologia (CONACyT 2007-01-83000) and Programa de Apoyo a la Investigación Científica y Tecnológica (PAICYT-UANL) granted financial support. We would like to thank "Langostinos y Camarones" shrimp hatchery (Boca del Río, Veracruz, Mexico) for providing the shrimp to carry out the growth test. The NuteK company (Tehuacán, Puebla, Mexico) is acknowledged for providing contaminated corn. Animal handling and sample collection were performed in accordance to institutional, national, and international guidelines and regulations.

REFERENCIAS

ABDEL-WAHHAB, M. A., H. H. AHMED & M. H. HAGAZI. 2006. Prevention of aflatoxin B1-initiated hepatotoxicity in rat by marine algae extracts. *Journal of Applied Toxicology* 26: 229-238. DOI: 10.1002/jat.1127

- ANATER, A., L. MANYES, G. MECA, E. FERRER, F. L. BITTENCOURT, C. TURRA-PIMPÃO & G. FONT. 2016. Mycotoxins and their consequences in aquaculture: A review. *Aquaculture* 451: 1-10. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2015.08.022.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2006. Official Methods of Analysis of AOAC International. 18th Ed. Association of Analytical Chemistry, Mary Land, USA.
- ARANA, S., V. A. ALVESM, M. SABINO, Y. A. TABATA, S. NONOGAKI, M. L. ZAIDAN-DAGLI & F. J. HERNANDEZ-BLAZQUEZ. 2011. Evaluation of the efficacy of hydrated sodium aluminosilicate in the prevention of aflatoxin-induced hepatic cancer in rainbow trout. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 31: 751-755. DOI: 10.1590/S0100-736X2011000900005
- ARUNLERTAREE, C., L. SOONNGAM AND R. HUTACHAROEN. 2007. Vermiculite and hydrated sodium calcium aluminosilicates as the agent of Aflatoxin B1 absorption for black tiger shrimp diets. *Environment and Natural Resources Journal* 5 (1): 50-58.
- BINDER, E. M., D. HEIDLER, G. SCHATZMAYR, N. THIMM, E. FUCHS, M. SCHUH, R. KRSKA, & J. BINDER. 2001. Microbial detoxification of mycotoxins in animal feed. 2001. *In*: de Koe, W. J., R. A. Samson, H. P. van Egmond, J. Gilbert & M. Sabino (Eds.) *Mycotoxins and Phycotoxins in Perspective at the Turn of the Millennium*. Proceedings of the 10th International IUPAC Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins, Guaruja, Brazil. pp. 271-277.
- BOUDERGUE, C., CH. BUREL, S. DRAGACCI, M. CH. FAVROT, J. M. FREMY, C. MASSIMI, P. PRIGENT, P. DEBONGNIE, L. PUSSEMIER, H. BOUDRA, D. MORGAVI, I. OSWALD, A. PEREZ & G. AVANTAGGIATO. 2009. *Review of mycotoxin detoxifying* agents used as feed additives: mode of action, efficacy, and feed/ food safety. Scientific report submitted to EFSA. 192 p. Reference

number of the call for proposal: CFP/EFSA/FEEDAP/2009/01. DOI: 10.2903/sp.efsa.2009.EN-22

- CHENG, G., H. HAO, S. XIE, X. WANG, M. DAI, L. HUANG & Z. YUAN. 2014. Antibiotic alternatives: the substitution of antibiotics in animal husbandry? *Frontiers in Microbiology* 5: 1-15. DOI: 10.3389/fmicb.2014.00217
- DE-MIL T., M. DEVREESE, S. DE-BAERE, E. VAN-RANST, M. EECKHOUT, P. DE-BACKER & S. CROUBELS, S. 2015. Characterization of 27 mycotoxin binders and the relation with in vitro zearalenone adsorption at a single concentration. *Toxins* 7: 21-33. DOI: 10.3390/toxins7010021
- DEVREESE, M., P. DE BACKER & S. CROUBLES. 2013. Different methods to counteract mycotoxin production and its impact on animal health. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 82: 181-190. Available on line at: https://biblio.ugent.be/publication/4125573
- EL-BARABAY, M. I. & A. I. MEHRIM. 2009. Protective effect of antioxidant medicinal herbs, Rosemary and Parsley, on subacute aflatoxicosis in Nile Tilapia *O. niloticus. Journal of Fisheries and Aquatic Science* 4: 178-190. DOI: 10.3923/jfas.2009.178.190
- GARCÍA-PÉREZ, O. D., M. TAPIA-SALAZAR, M. G. NIETO-LÓPEZ, D. VILLARREAL-CA-VAZOS, L. E. CRUZ-SUÁREZ & D. RICQUE-MARIE. 2013. Effectiveness of aluminosilicate-based products for detoxification of aflatoxin-contaminated diets fed to pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* juveniles. *Ciencias Marinas* 39: 1-13. DOI: 10.7773/cm.v39i1.2165
- GOPINATH, R. & R. P. RAJ. 2009. Histological alterations in the hepatopancreas of *Penaeus monodon Fabricius* (1798) given aflatoxin B1-incorporated diets. *Journal of Aquaculture Research* 40: 1235-1242. DOI: 10.1111/j.1365-2109.2009.02207.x
- GOWDA N. K. S., SWAMY H. V. L. N. & P. MAHAJAN. 2013. Recent advances for control, counteraction and amelioration of potential aflatoxins in animal feeds. *In:* Razzaghi-Abyaneh M. (Ed.). *Aflatoxins: Recent advances and future prospects.* InTech, pp. 129-140. DOI: 10.5772/51779
- HAUPTMAN, B. S., F. T. BARROWS, S. S. BLOCK, T. G. GAYLORD, PATERSON J. A. & W. M. SEALEY. 2014. Potential for a mycotoxin deactivator to improve growth and performance of rainbow trout fed high levels of an ethanol industry co-product, grain distiller's dried yeast. North American Journal of Aquaculture 76: 297-304. DOI: 10.1080/15222055.2014.902891
- KOLOSOVA, A. & J. STROKA. 2011. Substances for reduction of the contamination of feed by mycotoxins: a review. *World Mycotoxin Journal* 4: 225-256. DOI: 10.3920/WMJ2011.1288
- MAHFOUZ, M. E. 2015. Ameliorative effect of curcumin on aflatoxin B1 induced changes in liver gene expression of *Oreochromis niloticus*. *Molecular Biology* 49: 275-286. DOI 10.1134/S0026893315020089
- MOLNAR, O., G. SCHATZMAYR, E. FUCHS & H. PRILLINGER. 2004. Trichosporon mycotoxinivorans sp. nov., A new yeast species useful in biological detoxification of various mycotoxins. Systematic and Applied Microbiology 27: 661-671. DOI 10.1078/0723202042369947

- MANOHARAN, N., P. SAMPATHKUMAR, B. DHEEBA, S. SHEIKABDULLA, G. VINOTHPRA-SANNA, R. VINOTHKANNAN, S. KALAVATHY, A. VIJAYAANAND & A. SHANMUGASUN-DARAM. 2008. Potential hepatoprotective effect of aqueous extract of *Gracilaria corticata* in AFB1 induced hepatotoxicity in wistar rats. *Journal of Biological Sciences* 8: 1352-1355. DOI: 10.3923/ jbs.2008.1352.1355
- MOHAPATRA, S., N. P. SAHU, A. K. PAL, A. K. PRUSTY, V. KUMAR & S. KUMAR. 2011. Haematoimmunology and histoarchitectural changes in *Labeo rohita* fingerlings: effect of dietary aflatoxin and mould inhibitor. *Fish Physiology and Biochemistry* 37: 177-186. DOI: 10.1007/s10695-010-9428-1.
- MONSON, M. S., R. A. COULOMBE & K. M. REED. 2015. Aflatoxicosis: lessons from toxicity and responses to aflatoxin B1 in poultry. *Agriculture* 5: 742-777.
- OGUZ, H., F. NIZMLIOGLU, I. DINC, K. UNEY & H. AYDIN. 2011. Determination of aflatoxin existence in mixed feed wheat flour and bulgur samples. *Eurasian Journal of Veterinary Sciences* 27:171-175. DOI: 10.3390/ agriculture5030742
- POLITIS I., K. FEGEROS, S. NITSCH, G. SCHATZMAYR & D. KANTAS. 2005. Use of *Trichosporon mycotoxinivorans* to suppress the effects of ochratoxicosis on the immune system of broiler chicks. *British Poultry Science* 46: 58-65. DOI: 10.1080/00071660400023904
- RINGØ, E., J. E. OLSEN, J. L. G. VECINO, S. WADSWORTH & S. Y. SONG. 2012. Use of immunostimulants and nucleotides in aquaculture: a review. *Journal of Marine Science: Research & Development* 2: 1-22. DOI: 10.4172/2155-9910.1000104
- SAHOO, P. K., S. C. MUKHERJEE, A. K. JAIN & A. MUKHERJEE. 2003. Histopathological and electron microscopic studies of gills and opisthonephros of Rohu, *Labeo rohita* to acute and subchronic aflatoxin B1 toxicity. *Asian Fisheries Science* 16: 257-268.
- SANTOS, G. A., I. RODRIGUES, K. NAEHRER & P. ENCARNACAO. 2010. Mycotoxins in aquaculture: Occurrence in feed components and impact on animal performance. *Aquaculture Europe* 35: 6-10. Available on line at: http://www.uanl.mx/utilerias/nutricion_acuicola/X/archivos/19-SantosGoncalo.pdf
- SELIM, K. M., H. EL-HOFY & R. H. KHALIL. 2014. The efficacy of three mycotoxin adsorbents to alleviate aflatoxin B1-induced toxicity in *Oreochromis niloticus. Aquaculture International* 22: 523-540. DOI: 10.1007/s10499-013-9661-6
- SUPPADIT, T., S. JATURASITHA & N. PRIPWAI. 2006. Utilization of hydrated sodium calcium aluminosilicate and vermiculite for aflatoxin B1 adsorption in pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) diets. *Journal of Applied Animal Research* 29: 129-132. DOI: 10.1080/09712119.2006.9706587
- SURAI, P. F. & J. E. DVORSKA. 2005. Effects of mycotoxins on antioxidant status and immunity. *In:* Diaz D. E. (Ed). *The Mycotoxin Blue Book*. Nottingham University Press, Nottingham, pp. 93-137.

- TAPIA-SALAZAR, M., O. D. GARCÍA-PÉREZ, R. A. VELÁSQUEZ-SOTO, M. G. NIETO-LÓ-PEZ, D. VILLARREAL-CAVAZOS, D., RICQUE-MARIE & L. E. CRUZ-SUAREZ. 2012. Growth, feed intake, survival and histological response of white shrimp *L. vannamei* fed diets containing grains naturally contaminated with aflatoxin. *Ciencias Marinas* 38: 491-504. DOI:10.7773/ cm.v38i3.2094
- TAPIA-SALAZAR, M., GARCÍA-PÉREZ, O. D., NIETO-LÓPEZ, M., RICOUE-MARIE, D., VILLARREAL-CAVAZOS, D., & L. E. CRUZ-SUÁREZ. 2010. USO de secuestrantes para disminuir la toxicidad de micotoxinas en alimentos para acuacultura. *In:* Cruz-Suarez, L. E., Ricque-Marie, D., Tapia-Salazar, M., Nieto-López, M.G., Villarreal-Cavazos, D. A. & J. Gamboa-Delgado (Eds.). *Avances en Nutrición Acuícola.* X -Memorias del Décimo Simposio Internacional de Nutrición Acuícola, 8-10 de noviembre,

San Nicolás de los Garza, N. L., México. ISBN 978-607-433-546-0. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, México, pp. 514-546.

- WIELOGÓRSKA, E., S. MACDONALD & C. T. ELLIOTT. 2016. A review of the efficacy of mycotoxin detoxifying agents used in feed in light of changing global environment and legislation. *World Mycotoxin Journal* 9 (3): 419-433. DOI: 10.3920/WMJ2015.1919
- ZENG S. L., W. Q. LONG, L. X. TIAN, S. W. XIE, Y. J. CHEN, H. J. YANG & Y. J. LIU. 2015. Effects of dietary aflatoxin B1 on growth performance, body composition, haematological parameters and histopathology of juvenile Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannemei*). *Journal of Aquaculture Nutrition*: 1-8. DOI: 10.1111/anu.12331

Caracterización parcial de proteasas digestivas del chucumite (Centropomus parallelus)

Partial characterization of digestive proteases of fat snook (Centropomus paralellus)

Fidel Jesús-Ramirez¹, Carlos Alfonso Álvarez-González¹, Héctor Gerardo Nolasco-Soria², Emyr Peña^{1,3}, Rafael Martínez-García¹, Susana Camarillo-Coop¹, Kevin Conway⁴ y Camilo Pohlenz⁴

¹Laboratorio de Acuicultura Tropical, División Académica de Ciencias Biológicas, UJAT. 0.5 km. Carretera Villahermosa-Cárdenas, Villahermosa, 86000, Tabasco. México ²Laboratorio de Fisiología Comparada, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR). Av. Instituto Politécnico Nacional 195, Playa Palo de Santa Rita Sur; La Paz, Baja California Sur, 23096. México ³CONACyT. Av. Insurgentes Sur 1582, Col. Crédito Constructor. Ciudad de México, 03940. México ⁴Department of Wildlife and Fisheries Sciences, Texas A&M University.College Station, TX, 77843, USA e-mail: alvarez_alfonso@hotmail.com *Recibido:* 21 de agosto de 2014. *Aceptado:* 28 de agosto de 2017.

Jesús-Ramirez F., C. A. Álvarez-González, H. G. Nolasco-Soria, E. Peña, R. Martínez-García, S. Camarillo-Coop, K. Conway y C. Pohlenz. 2017. Caracterización parcial de proteasas digestivas del chucumite (*Centropomus parallelus*). *Hidrobiológica* 27 (3): 419-427.

RESUMEN

Antecedentes. Diversos estudios han abordado la caracterización de las diversas enzimas digestivas, lo cual es esencial para entender los tipos, modos de acción y nivel de actividad de dichas enzimas. **Objetivos.** La caracterización parcial de las proteasas digestivas se estudió en juveniles del chucumite (*Centropomus parallelus*, Poey 1869). **Métodos.** Se utilizaron técnicas bioquímicas y electroforéticas para la caracterización de proteasas. **Resultados.** La actividad de proteasas ácidas (estomacales) fue mayor a las proteasas alcalinas (intestinales). Asimismo, la actividad de la quimotripsina fue superior a la actividad de la tripsina. El pH óptimo para las proteasas estomacales fue de 2 con una alta estabilidad en el rango de pH 2-8, mientras que las proteasas intestinales mostraron dos picos con actividad a pH 8 y 10, siendo altamente estables a los pH 8 y 12. Las temperaturas óptimas se obtuvieron a 45 y 55 °C para proteasa estomacales e intestinales, respectivamente. Mediante el uso de inhibidores de proteasas se comprobó la presencia de pepsina en los extractos estomacales y de diversas serina proteasas en los extractos intestinales. Los zimogramas mostraron cinco bandas con actividad proteolítica alcalina (79.5, 48.9, 37.0, 29.0 y 22.5 kDa), las cuales fueron fuertemente inhibidas con PMSF, SBT1 y ovoalbúmina. **Conclusiones.** Por lo anterior, se considera que *C. parallelus* tiene una alta capacidad digestiva similar a otros peces marinos carnívoros estrictos.

Palabras clave: Centropomus parallelus, pepsina, tripsina, inhibidores.

ABSTRACT

Background. Several studies have addressed the characterization of various digestive enzymes, which is essential to understanding the types, modes of action, and level of activity of these enzymes. **Goals.** The partial characterization of the digestive proteases was studied in fat snook juveniles (*Centropomus parallelus*, Poey 1869). **Methods.** Characterization was performed using electrophoretic and biochemical techniques. **Results.** Acidic proteases activity (stomach) is higher than alkaline proteases activity (intestine); also, chymotrypsin activity was superior to the trypsin activity. The optimal pH was 2 for stomach proteases with high stability in a wide range of pH 2-8, while the intestinal proteases showed two peaks with activity at pH 8 and 10 with stability at a pH of 8-12. Optimal temperatures were obtained between 45 to 55 °C for stomach and intestine proteases, respectively. Using proteases from intestine extracts. The zymograms showed 5 bands with alkaline proteolytic activity (79.5, 48.9, 37.0, 29.0, and 22.5 kDa), which were highly inhibited with PMSF, SBT1, and ovalbumin. **Conclusions.** *C. parallelus* is considered to have a high digestive capacity similar to those reported for other strictly carnivorous marine fish.

Key words: Centropomus parallelus, inhibitors, pepsin, trypsin.

INTRODUCCIÓN

Los estudios de caracterización de proteasas en organismos acuáticos se han enfocado en identificar el tipo de enzimas digestivas presentes en el tracto digestivo de especies de interés acuícola aprovechando su naturaleza bioquímica y su función dentro de la digestión de los alimentos y asimilación de nutrientes. Por lo tanto, estudiar la caracterización de las diversas enzimas digestivas es esencial si se pretende entender los tipos y modos de acción, así como el nivel de actividad que presentan (Alarcón et al., 1998). Para este fin se pueden evaluar factores como el efecto del pH y la temperatura sobre la actividad de las enzimas digestivas, la afinidad por sustratos específicos, los inhibidores específicos y la caracterización por técnicas electroforéticas (Cohen et al., 1981). Es así como varias investigaciones han abordado aspectos que van desde la descripción de los parámetros funcionales de las principales enzimas digestivas o los tipos de enzimas presentes en el estómago (pepsina) e intestino (tripsina, quimotripsina, carboxipeptidasas, aminopeptidasas, entre otras), hasta la forma en que éstas pueden ser utilizadas para modelar la digestión de una especie, así como su función de indicadores de la condición nutricional durante sus diferentes etapas de desarrollo (Moyano, 2006). Bajo este precepto, aunque la mayoría de los peces sintetizan enzimas digestivas similares, la actividad proteolítica varía en cada uno, ya que presentan actividades óptimas a diferentes condiciones de pH y temperatura; por lo tanto, se necesita conocer cuáles grupos de enzimas participan en la degradación proteínica, lo cual se logra con el uso de inhibidores específicos para cada grupo o enzima en particular. Existen múltiples estudios que han caracterizado las proteasas ácidas y alcalinas en distintas especies como el pez disco (Symphysodon aeguifasciata, Pellegrin 1904; Chong et al., 2002), lenguado (Solea senegalensis Kaup 1858; Sáenz et al., 2005), hurta (Pagrus auriga Valenciennes, 1843; Movano et al., 2005), atún aleta azul del Atlántico (Thunnus thynnus Linnaeus, 1758; Essed et al., 2002), atún aleta azul del Pacífico (Thunnus thynnus orientalis Emminck & Schlegel, 1844; Matus de la Parra et al., 2007), así como la sardina (Sardinella aurita Valenciennes, 1847; Ben et al., 2011) y, recientemente, el robalo blanco (Centropomus undecimalis Bloch, 1792; Concha-Frías et al., 2016); en ellos se observan valores entre 2 v 3 para la pepsina, y de 7 a 10 para las proteasas digestivas intestinales. En cuanto a la caracterización de las proteasas en relación con la temperatura, se ha detectado que son altamente termoresistentes, pues soportan temperaturas desde 45 °C hasta 65 °C para proteasas digestivas estomacales e intestinales (Essed et al., 2002; Moyano et al., 2005; Sáenz et al., 2005; Matus de la Parra et al., 2007; Ben et al., 2011; Concha-Frías et al., 2016). Debido a lo anterior, el objetivo en nuestro trabajo fue caracterizar las proteasas digestivas de C. parallelus (Poey, 1860), con la intención de sentar las bases para los estudios de requerimientos nutricionales de la especie en estudio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico. Los juveniles de *C. parallelus* fueron capturados en la laguna Mecoacán, ubicada en el poblado El Bellote, Paraíso, Tabasco. Los ejemplares fueron clasificados e identificados taxonómicamente al momento de su captura, de acuerdo con lo que mencionan Miller *et al.* (2009), y transportados vivos al Laboratorio de Acuicultura Tropical de la División Académica de Ciencias Biológicas de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco en un contenedor con capacidad de 1000 I de agua y oxigenación continua. Los organismos fueron depositados en

estanques circulares con capacidad de 1000 l para su adaptación en cautiverio; ello con la finalidad de dejarlos sin aporte de alimento por un periodo de 48 horas, antes de ser sacrificados para su disección.

Caracterización de proteasas digestivas. Para los ensayos de caracterización enzimática se utilizaron 35 robalos juveniles (40 a 65 g), los cuales fueron sacrificados por inmersión en agua hielo (1-4 °C). Los organismos fueron pesados en una balanza (OHAUS, CS2000, 2000 g x 1g), se disectaron a temperatura controlada (4 °C) y se extrajeron estómago e intestino por separado. Los tejidos fueron homogeneizados con un dispersor Ultra Turrax (modelo IKA T18 Basic) en búfer de glicina-HCI 0.1 M a pH 2 para estómagos, y búfer Tris-HCI 30 mM+CaCl₂ 12.5 mM pH 7.5 para intestinos, ambos homogenizados en relación 5:1 (peso/volumen). Las mezclas obtenidas se colocaron en tubos Eppendorf y centrifugaron a 16 000 g (Centrifuge 5810 R Eppendorf), a 4 °C durante 15 minutos. El sobrenadante se separó y el pH se ajustó a pH 2 para estómago con ácido clorhídrico (0.1 M) y a pH de 7.5 para intestino con hidróxido de sodio (0.1 M). Las alícuotas se almacenaron en tubos Eppendorf a -20 °C hasta su posterior análisis.

Cuantificación de proteína. La concentración de proteína soluble de los extractos crudos estomacales e intestinales se determinó mediante la técnica de Bradford (1976), usando albúmina bovina sérica como proteína estándar para la curva de calibración y la utilización microtécnica de acuerdo con lo descrito por el proveedor. Todos los ensayos se hicieron por triplicado.

Actividad proteolítica. La actividad de proteasa ácida de los extractos crudos (EC) estomacales se midió usando hemoglobina 1% como sustrato en búfer de glicina-HCl 100 mM a pH 2 por el método de Anson (1938), mientras que la actividad de proteasas alcalinas de los EC intestinales se evaluó usando caseína al 1% como sustrato en bufer Tris-HCl 100 mM + CaCl₂ 10 mM a pH 9 por el método de Kunitz (1947) modificado por Walter (1984). Se definió una unidad de actividad proteolítica como la cantidad de enzima necesaria para liberar un 1 μ g de tirosina por minuto con un coeficiente de extinción molar (MEC) de 5000 cm⁻¹M⁻¹. Todos los ensayos se hicieron por triplicado.

La actividad de quimotripsina se determinó usando BTEE 5 mM (N-Benzoilo-L-Tirosina Etilo Ester) como sustrato de acuerdo con el método reportado por Ásgeirsson & Bjarnason (1991), donde una unidad de actividad enzimática se definió como la cantidad de enzima necesaria para hidrolizar 1 µmol de BTEE por minuto usando un MEC de 964 cm⁻¹ M⁻¹. Todos los ensayos se hicieron por triplicado.

La actividad de tripsina se analizó por el método propuesto por Erlanger *et al.* (1961), usando BAPNA 3.5 mM (N- α -Benzoilo-DL-arginina-4-nitroanilida) como sustrato, donde una unidad de actividad enzimática se definió como la cantidad de enzima necesaria para liberar 1 µmol de p-nitroanilida liberada por minuto usando un MEC de 8800 cm⁻¹ M-¹. La actividad de las enzimas digestivas se ajustó con los miligramos de proteína soluble determinados son reportados como U mg de proteína⁻¹. Todos los ensayos se hicieron por triplicado.

Efecto del pH y la temperatura de proteasas digestivas. El pH óptimo de las proteasas ácidas y alcalinas se evaluó usando un búfer universal (Stauffer, 1989) con un rango de 2 a 12, siguiendo el procedimiento para determinación de actividad de proteasas descrito antes. Todos los ensayos se hicieron por triplicado.

La temperatura óptima de las proteasas ácidas y alcalinas se estableció usando diferentes temperaturas (25, 35, 45, 55 y 65 °C). El efecto del pH y la temperatura en la estabilidad de las proteasas ácidas y alcalinas se determinó preincubando los extractos crudos por 0, 30, 60 y 90 min con el búfer Stauffer (1989) y la temperatura y pH a probar. Todos los ensayos se hicieron por triplicado.

Efecto de inhibidores sobre las proteasas digestivas. La identificación del tipo de enzimas digestivas se realizó de acuerdo con lo mencionado por Dunn (1989). En el caso de las proteasas ácidas se utilizó el Pepstatin A (33.6 kDa) 1 mM como inhibidor. Para las proteasas alcalinas se usaron como inhibidores: fluoruro de fenilmetilsulfonilo 100 mM (PMSF), N- α -tosil-L-lisina-clorometilo cetona hidroclorada 10 mM (TLCK), inhibidor trípsico de soya 250 mM (SBT1), N- α -Tosil-L-fenilalanina clorometilo cetona 10 mM (TPCK), 1,10-fenantrolina10 mM (Fen), inhibidor trípsico tipo II-T ovoalbúmina de pavo 250 mM (Ovo) y ácido etilendiaminotetraacético 10 mM (EDTA).

Zimogramas de proteasas digestivas. Para las proteasas alcalinas, la electroforesis se realizó en condiciones desnaturalizantes utilizando dodecil sulfato sódico (SDS) y un sistema discontinuo (gel almacenador al 4% y un gel resolutivo al 10%), de acuerdo con la metodología descrita por Laemmli (1970) y adaptada por García-Carreño *et al.* (1993). Las electroforesis se realizaron en una cámara Mini PROTEAN® III Bio-Rad con 2 placas de geles verticales de 8 x 10 x 0.075 cm con capacidad para 10 muestras cada uno. El corrimiento de la electroforesis se realizó con un búfer SDS 0.1%, Tris 25 mM y glicina 192 mM, pH 8.3 a 100 volts, 24 mA por 120 min. Para detectar la actividad de proteasa alcalina, los geles se sumergieron en caseína Hammersten al 2% en búfer Tris-HCl 100 mM + CaCl₂ 10 mM, pH 9, durante 1 h a 4 °C; luego se transfirieron a otra solución de caseína a 37°C durante dos horas, posteriormente, se lavaron con agua destilada y se fijaron en una solución de ácido tricloroacético (TCA) al 12% durante 15 min.

Para la tinción se utilizó la metodología de Weber & Osborn (1969), con algunas modificaciones. Los geles permanecieron durante toda la noche a temperatura ambiente en la solución de tinción compuesta de 0.1% azul brillante de Coomassie (R- 250) en metanol-ácido acéticoagua destilada (40:10:50). Para revelar los geles se utilizó una solución de metanol-ácido acético-agua (40:10:50). Las bandas de actividad proteolítica se observaron como bandas claras sobre un fondo azul intenso (caseína embebida en el gel). Para esta técnica se incluyó un marcador de bajo peso molecular Bio-Rad (LRMWM; Sigma, M-3913, fosforilasa B 97 kDa, albúmina bovina sérica 66 KDA, ovoalbúmina 45 kDa, anhidrasa carbónica 29 kDa, tripsinígeno 24 kDa e inhibidor trípsico de soya 20 kDa). Para determinar los pesos moleculares de las bandas con actividad proteolítica se utilizó el programa Quality One V 4.6.5. de Bio-Rad.

Análisis estadísticos. Se comparó el control sin inhibir contra la actividad residual con uso de inhibidores por medio de la prueba de Kruskal-Wallis. A fin de detectar diferencias significativas entre los tratamientos, se aplicó la prueba *a posteriori* de Nemenyi. Todos los análisis se realizaron con un valor de significancia de 0.05. Para el análisis estadístico se utilizó el programa STATISTICA v. 7.

RESULTADOS

En la Tabla 1 se muestra que la actividad de la pepsina fue mayor a la actividad de las proteasas alcalinas, mientras que la quimotripsina presentó mayor actividad específica que la tripsina. Por otra parte, el pH óptimo para la actividad de proteasas ácidas fue pH 2.0 (Fig. 1a), y la estabilidad de la actividad relativa se mantuvo alrededor del 100% en los pH 2 y 4 durante 90 min de preincubación, mientras que para los pH 6 y 8 la estabilidad tiende a disminuir alrededor de un 20% desde los 60 min de preincubación. Por su parte, con pH de 10 y 12 la actividad residual cae abruptamente hasta llegar a 20% desde los 30 min de preincubación (Fig. 1b). La temperatura óptima fue a 45 °C (Fig. 1c), y su estabilidad mantuvo 100% de actividad residual a 25, 35 y 45 °C durante los 90 min de preincubación, mientras que para 55 y 65 °C se presenta una drástica caída a partir del minuto 30 de preincubación, al alcanzar solamente el 20% de actividad residual (Fig. 1d).

En otro orden de ideas, las proteasas alcalinas mostraron dos picos de mayor actividad: uno máximo, con pH 10, y otro con menor actividad con pH 8 (Fig. 2a). Mostraron una alta estabilidad con pH 6, 8,10 y 12 durante los 90 min de preincubación, mientras que la actividad residual con los pH 2 y 4 disminuye rápidamente a partir de los 30 min de preincubación (Fig. 2b). La temperatura óptima para la actividad de proteasas alcalinas fue a 55 °C (Fig. 2c), y fue altamente estables entre los 25, 35 y 45 °C (alrededor del 100% de actividad residual) durante los 90 min de preincubación, mientras que las temperaturas de 55 y 65 °C afectan fuertemente la actividad de las enzimas, que disminuyen abruptamente para mantener solamente un 20% de actividad residual a partir de 30 min de preincubación (Fig. 2d).

Para la caracterización de las proteasas presentes en los EC estomacales e intestinales de *C. parallelus*, se utilizaron inhibidores generales y específicos (Fig. 3). La actividad de las proteasas ácidas fue inhibida en un 80% con pepstatin A. Por otro lado, la actividad de las proteasas alcalinas se redujo en 10 y 40%, con ovoalbúmina y PMSF, respectivamente; el TPCK redujo la actividad en un 50%, mientras que el TLCK y SBT1 redujeron la actividad para la tripsina en un 15 y 25%, respectivamente. Los inhibidores EDTA y fenantrolina lograron reducir la actividad en 5 y 85%, respectivamente.

El zimograma de proteasas ácidas mostró una banda de actividad con un Rf de 0.35 kDa, inhibida totalmente por el pepstatin A (Fig. 4a). Para las proteasas alcalinas se detectaron cinco bandas de actividad con un peso molecular de 79.5, 48.9, 37.0, 29.0 y 22.5 kDa respectivamente. El PMSF inhibió tres bandas: 48.9, 37.0 y 29.0 kDa; el SBT1, dos bandas: 48.9 y 29.0 kDa; los inhibidores TPCK, TLCK y fenantrolina no inhibieron ninguna banda; la ovoalbúmina inhibió tres bandas: 48.9, 29.0 y 22.5 kDa, y el EDTA, dos bandas: 29.0 y 22.5 kDa (Fig. 4b).

Tabla 1. Actividad proteolítica de las enzimas digestivas ácidas y alcalinas en juveniles de *Centropomus parallelus*.

Тіро	U mg de proteina-1
Proteasa ácida	64.75 ± 5.23
Proteasa alcalina	0.019 ± 0.005
Quimotripsina	$0.04x10^{-3} \pm 0.002x10^{-4}$
Tripsina	$0.027 \times 10^{-5} \pm 0.59 \times 10^{-6}$

DISCUSIÓN

Desde el punto de vista bioquímico. C. parallelus es considerado un carnívoro estricto al estar provisto de un estómago verdadero, esto es, que la actividad de las proteasas ácidas fue mayor a la de las proteasas intestinales, lo cual comprueba que el estómago es donde se realiza la mayor parte de la hidrólisis de proteínas. A su vez, en el intestino se termina la hidrólisis hasta la liberación de aminoácidos, que posteriormente son absorbidos a través de los enterocitos (Wang et al., 2006). Este aspecto concuerda con los estudios realizados en otras especies de peces carnívoros con estómago verdadero, como el atún aleta azul (Thunnus thynnus thynnus Linnaeus, 1758; Essed et al., 2002), el pez disco (Symphysodon aequifasciata Pellegrin, 1904; Chong et al., 2002). cabrilla arenera (Paralabrax maculatofasciatus Steindachner, 1868; Álvarez-González, 2003), pejelagarto (Atractosteus tropicus Gill, 1863; Guerrero-Zárate et al., 2013) y robalo blanco (Centropomus undecimalis; Concha-Frías et al., 2016). En ellos hallaron una clara diferencia entre la actividad de las enzimas digestivas del estómago y la del intestino. El pH óptimo para las proteasas ácidas de *C. parallelus* fue de 2. que coincide con lo reportado para la mayoría de especies carnívoras, como el rodaballo (Scophthalmus maximus Linnaeus, 1758; Wang et al., 2006), el lenguado senegalés (S. senegalensis; Sáenz et al., 2005), la cabrilla arenera (P. maculatofasciatus; Álvarez-González, 2003), el atún aleta azul (T. thynnus; Essed et al., 2002), el pez disco azul (S. aequifasciata; Chong et al., 2002), el pez lengüihueso (Scleropages formosus Müller & Schlegel, 1844; Natalia et al., 2004) y el robalo blanco (Centropomus undecimalis) (Concha-Frías et al., 2016), que presentan un intervalo óptimo de pH entre 2 y 4. Complementariamente, las proteasas gástricas muestran ser muy estables con el pH de 2 a 8, desde los 30 minutos de preincubación, lo que demuestra que una vez que el esfínter pilórico se abre y el bolo alimenticio pasa al intestino, la pepsina mantiene su actividad a pesar del incremento gradual del pH; con ello se sostiene la hidrólisis de las proteínas hasta el momento de la acción de las proteasas alcalinas (tripsina y quimotripsina), cuando se ha alcanzado un pH neutro o alcalino (Álvarez-González, 2003). En otro aspecto, la disminución de la actividad enzimática digestiva en función de los cambios de pH ha sido descrita para otros peces, como P. maculatofasciatus (Álvarez-González, 2003), T. thynnus (Essed et al., 2002), A. tropicus (Guerrero-Zárate et al., 2013) y C. undecimalis (Concha-Frías et al., 2016), por lo que el intervalo de acción de las proteasas alcalinas de C. parallelus es bastante amplio en comparación con otras especies de peces carnívoros.



Figuras 1a-d. Efecto del pH y la temperatura sobre las proteasas digestivas estomacales de *Centropomus parallelus:* a) pH óptimo. b) Estabilidad a pH. c) Temperatura óptima. d) Estabilidad a la temperatura.



Figuras 2a-d. Efecto del pH y la temperatura sobre las proteasas digestivas intestinales de juveniles de *Centropomus parallelus*: a) pH óptimo. b) Estabilidad a pH. c) Temperatura óptima. d) Estabilidad a la temperatura.

Por otra parte, las proteasas intestinales mostraron dos picos de mayor actividad proteolítica, con pH de 8 y 10. Datos similares se han reportado para la dorada (Sparus aurata Linnaeus, 1758; Munilla & Saborido, 1996), el dentón (Dentex dentex Linnaeus, 1758; Alarcón et al., 1998), P. maculatofasciatus (Álvarez-González, 2003), S. aequifasciata (Chong et al., 2002) y C. undecimalis (Concha-Frías et al., 2016), así como para peces agástricos, como la sardina Monterrev (Sardinops sagax caerulea Jenyns, 1842; Castillo-Yañez et al., 2005) y S. aurita (Ben et al., 2011). Esto sugiere la presencia de al menos dos grupos principales de proteasas alcalinas donde la actividad máxima generalmente ha sido detectada con el pH de 8, lo que se debe principalmente a la alta actividad de la tripsina, y se ha demostrado que el pH óptimo para esta enzima se encuentra entre 7 y 9 (Das & Tripathi, 1991). En particular, la quimotripsina de C. parallelus parece ser la responsable del segundo pico de actividad cuando el pH es 10, similar a lo reportado por Guerrero-Zárate et al. (2013) en A. tropicus, y por Concha-Frías et al. (2016) en C. undecimalis. En esos casos consideran que inicialmente se libera la tripsina, que funciona como una enzima activadora de otras proteasas digestivas intestinales, como la quimotripsina. En este aspecto, la tripsina y la quimotripsina son de origen pancreático y pertenecen al grupo de las serinas proteasas, las cuales tienen su acción

sobre los enlaces peptídicos internos (endopeptidasas), por lo que son las principales enzimas responsables de concluir la hidrólisis fina de los péptidos previamente hidrolizados en el estómago, en conjunto con la acción de las exopeptidasas (amino- y carboxipeptidasas), principalmente de origen intestinal (Moyano *et al.*, 1996).

Es así que los resultados aquí presentados son similares a los reportados para diversas especies de peces marinos y dulceacuícolas de hábitos carnívoros estrictos, como el atún tongol (*Thunnus tonggol* Whitley, 1936; Prasertsan & Prachumratana, 2008a; 2008b), *S. senegalensis* (Sáenz *et al.*, 2005), *T. thynnus* (Essed *et al.*, 2002), *Scleropages formosus* (Natalia *et al.*, 2004) y *C. undecimalis* (Concha-Frías *et al.*, 2016), en cuanto a que presentan una baja cantidad de bandas con actividad proteólitica, generalmente una para pepsina (tipo A de aproximadamente 30 kDa), y no más de cinco bandas para la actividad digestiva intestinal, la cual está fuertemente representada por la presencia de tripsina y quimotripsina (20 y 22 kDa, respectivamente). En este mismo sentido, existen grandes diferencias con peces de hábitos omnívoros o herbívoros, como el piracanjuba (*Brycon orbignyanus* Valenciennes, 1850; García-Carreño *et al.*, 2002), el híbrido de carpa plateada (*Hypophthalmichthys molitrix* Valenciennes, 1844) o la carpa cabeza grande (*Aristichthys nobilis* Richardson, 1845; Kumar *et al.*, 2005), donde se ha detectado que las proteasas intestinales se presentan en un gran número de isoformas tipo tripsina y quimitripsina, generalmente en más de seis bandas, además de que muestran una mayor actividad digestiva en comparación con la estomacal, donde tanto la tripsina como la quimotripsina son las enzimas responsables de la hidrólisis total de las proteínas al ser afines a las cadenas polipeptídicas que contienen fenilalanina, triptófano y tirosina (Chong *et al.*, 2002).

En otro orden de ideas, la respuesta de la actividad de proteasas digestivas en función de los cambios de la temperatura para C. para-Ilelus permitió determinar que el óptimo de actividad de las proteasa estomacales e intestinales se dio con 45 y 55 °C respectivamente. En este sentido, se considera que ambos tipos de proteasas son termolábiles, ya que solamente se mantienen activas entre 25 y 45°C, y su actividad disminuye a partir de los 55°C, lo que difiere de lo reportado para C. undecimalis (Concha-Frías et al., 2016), donde se muestra una temperatura óptima a los 30 °C para proteasas estomacales, y de 75 °C para proteasas intestinales. Cabe mencionar que la determinación de la temperatura óptima y la estabilidad a los cambios térmicos no corresponden a parámetros fisiológicos de las especies, sino a la afinidad de la enzima con su sustrato a una determinada temperatura al alcanzar la máxima catálisis, por lo que la actividad enzimática digestiva, desde el punto de vista del organismo, se encuentra fuertemente disminuida a la temperatura ambiental donde habita el pez, lo que se compensa con el incremento en el tiempo de retención de los alimentos en el estómago e intestino, además de la acción conjunta de las hormonas digestivas (colecistoquinina y gastrina), que incrementan los movimientos peristálticos y el cierre de los esfínteres cardiaco, pilórico y del recto, con lo que favorecen la hidrólisis de las proteínas alimentarias (Navarro-Guillén *et al.*, 2017).

En referencia a otro aspecto, nuestros resultados muestran que el pepstatin A inhibió las enzimas estomacales (pepsina tipo A) en más de un 80%, mientras que para las proteasas digestivas intestinales, el PMSF, SBT1 y la ovoalbúmina inhibieron fuertemente las serinas proteasas, mientras que el EDTA y la fenantrolina inactivaron a las enzimas de mayor peso molecular que generalmente pertenecen al grupo de las metalo-proteasas (carboxipeptidasas y aminopeptidasas); finalmente, los inhibidores específicos de TLCK y TPCK disminuyeron la actividad de tripsina y quimotripsina respectivamente. En este sentido, se ha identificado a la pepsina tipo A como la principal proteasa aspártica en el estómago de muchas especies de peces, la cual actúa como la primera enzima proteolítica encargada de la hidrólisis de los polipéptidos de cadena larga en el interior de las cadenas (Tengjaroenkul et al., 2000; Chong et al., 2002; Sáenz et al., 2005). Es así que se determinó que la principal proteasa digestiva en C. parallelus fue la pepsina A, al ser altamente inhibida por el pepstatin A y revelarse una sola banda en el zimograma, lo que concuerda con lo reportado para C. undecimalis, al detectarse un solo tipo de pepsina (Concha-Frías et al., 2016). Sin embargo, en otras especies de peces se ha reportado la presencia de dos isoformas de pepsina (pepsina I y pepsina II) (Castillo-Yañez et al., 2004; Cao et al., 2011).



Figura 3. Actividad residual de las proteasas digestivas de los extractos multienzimáticos de juveniles de *Centropomus parallelus* resultante del uso de los inhibidores: Control (proteasas ácidas y alcalinas sin inhibidor), pepstatin A (Inhibidor de pepsina tipo A), EDTA (ácido etilendiaminotetraacético), ovoalbúmina, TLCK (tosil-lisinaclorometil cetona), SBT1 (inhibidor trípsico de soya), PMSF (fluoruro de fenilmetilsulfonilo), TPCK (tosil-fenilalanina-clorometil cetona), fenantrolina.



Figuras 4a-b. Zimograma de actividad de las proteasas ácidas A) y alcalinas B) con diferentes inhibidores. a) pozo 1: Control ácido (proteasas ácidas sin inhibidor), pozo 2: pepstatin A (Inhibidor de pepsina tipo A 33.6 kDa). b) Marcador molecular: fosforilasa B 97 kDa, albúmina bovina sérica 66 KDA, ovoalbúmina 45 kDa, anhidrasa carbónica 29 kDa, tripsinógeno 24 kDa e inhibidor trípsico de soya 20 kDa; pozo 1: (Control de proteasas alcalinas sin inhibidor), pozo 2: PMSF (fluoruro de fenilmetilsulfonilo), pozo 3: SBT1 (inhibidor trípsico de soya), pozo 4: TPCK (N-α-Tosil-L-fenilalanina clorometilo cetona), pozo 5: TLCK (N-α-Tosil-L-lisina-clorometilo cetona hidroclorada), pozo 6: Fen (Fenantrolina), pozo 7: Ovo (Ovoalbúmina de pavo), pozo 8: EDTA (ácido etilendiaminotetraacético).

Por otro lado, el hecho de que el estudio de inhibición enzimática de proteasas digestivas intestinales mostró altas inhibiciones, tanto de serina-proteasas como de metalo-proteasas, indica que C. parallelus es una especie altamente carnívora. Esto concuerda con lo encontrado por Essed et al. (2002), quienes señalan que la cantidad de tripsina es mayor al principio, por lo que funciona como la enzima clave activadora de otros zimógenos, como la quimotripsina en peces como la trucha o la dorada; mientras que Eshel et al. (1993) indican que la contribución de la tripsina a la hidrólisis de las proteasas en el intestino de peces carnívoros marinos es de 40 a 50%, como se ha reportado para S. aequifasciata, S. formosus y S. senegalensis (Chong et al., 2002; Natalia et al., 2004; Sáenz et al., 2005). De acuerdo con lo anterior, el extracto enzimático de juveniles de C. parallelus está compuesto principalmente por proteasas alcalinas del tipo tripsina y quimotripsina, las cuales fueron inhibidas 4 y 10% al usar los inhibidores de serina proteasas PMSF v ovoalbúmina respectivamente. lo anterior ha sido reportado para diversas especies de peces por autores como Jonas et al. (1983), Dimes et al. (1994), Munilla-Morán & Saborido-Rey (1996), García-Carreño et al. (2002), Chong et al. (2002), Chakrabarti et al. (2006), quienes indican la presencia de serinas proteasas como las principales enzimas digestivas presentes en el intestino. En este mismo sentido, Concha-Frías et al. (2007) reportó en C. undecimalis una inhibición similar a la obtenida con C. parallelus, en ese caso el TPCK redujo en un 50% la actividad para quimotripsina. Asimismo, la inhibición de proteasas digestivas alcalinas usando SBT1 y TLCK (15 y 25%, respectivamente) en C. parallelus es similar a la de los estudios reportados por Alarcón et al. (1998) y Chakrabarti et al. (2006) en Sparus aurata (20%), Denter dentex (26%) y C. undecimalis (17%) (Concha-Frías et al., 2016). De esta forma, el resultado conjunto de la inhibición con SBT1 y TLCK en ensayos in vitro y el zimograma SDS-PAGE indican la importancia de la tripsina y la quimotripsina para llevar a cabo la última etapa de digestión en C. parallelus, aunque también se detectó la posible presencia de metaloproteasas relacionadas con enzimas tipo aminopeptidasas y carboxipeptidasa. De esta manera, los resultados de la actividad pro-

teolítica digestiva en juveniles de *C. parallelus* demuestran que esta especie es estrictamente carnívora, aunque es necesario profundizar en las investigaciones sobre el desarrollo de alimentos balanceados, así como la posibilidad de sustituir la harina de pescado por otros ingredientes (vegetales y animales terrestres) seleccionados con base en la capacidad fisiológica digestiva de la especie.

AGRADECIMIENTOS

El autor agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt) por la beca otorgada para los estudios de posgrado, al Programa Institucional de Superación Académica de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco por la beca otorgada, al Programa de Movilidad Estudiantil de la UJAT por el apoyo para la estancia de investigación en Baja California Sur (Cibnor), así como al proyecto de investigación "Expanding native marine fish aquaculture in the Gulf of Mexico: Unraveling the early development of *Centropomus* spp. through international collaboration" TAMU-Conacyt 2012-023

REFERENCIAS

- ALARCÓN, F., J. M. DÍAZ., F. J. MOYANO & E. ABELLÁN. 1998. Characterization and functional properties of digestive proteases in two sparids; gilthead seabream (*Sparus aurata*) and common dentex (*Dentex dentex*). *Fish Physiology and Biochemestry* 19: 257-267. DOI: 10.1023/A:1007717708491
- ÁLVAREZ-GONZÁLEZ, C. A. 2003. Actividad enzimática digestiva y evaluación de dietas para el destete de larvas de la cabrilla arenera *Paralabrax maculatofasciatus* (Percoidei: serranidae). Tesis doctoral. CICIMAR. La Paz, Baja California Sur, México. 180 p.
- ÁSGEIRSSON, B. & J. B. BJARNASON. 1991. Structural and kinetic properties of chymotrypsin from Atlantic cod (*Gadus morhua*). Comparison with

bovine chymotrypsin. *Comparative Biochememestry Physiology* 99B (2): 327-335. DOI: 10.1016/0305-0491(91)90050-N

- ANSON, M. L. 1938. The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin. *The Journal of General Physiology* 22: 79-89.
- BEN, K. H., K. JELLOULI, N. SOUISSI, S. GHORBEL, A. BARKIA & M. NASRI. 2011. Purification and characterization of three trypsin isoforms from viscera of sardinelle (*Sardinella aurita*). *Fish Physiology and Biochememestry* 37: 123-133. DOI: 10.1007/s10695-010-9424-5
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- CAO, M. J.,W. Q. CHEN, C. H. Du, A. YOSHIDA, W. G. LAN, G. M. LIU & W. J. SU. 2011. Pepsinogens and pepsins from Japanese seabass (*Lateola-brax japonicus*). *Comparative Biochemistry and Physiology- Part B* 158 (4): 259-265. DOI:10.1016/j.cbpb.2010.12.003
- CASTILLO-YAÑEZ, F. J., R. PACHECO-AGUILAR, F. L. GARCÍA-CARREÑO & M. A. NAVA-RRETE DEL TORO. 2004. Characterization of acidic proteolytic enzymes from Monterey sardine (*Sardinops sagaxcaerulea*) viscera. *Food Chemestry* 85 (3): 343-350. DOI: 10.1016/j.foodchem.2003.07.008
- CASTILLO-YAÑEZ, F. J, R. PACHECO-AGUILAR, F. L. GARCÍA-CARREÑO, F. L. & M. A. NAVARRETE DEL TORO. 2005. Isolation and characterization of trypsin from pyloric caeca of Monterey sardine (*Sardinops sagaxcaerulea*). *Comparative Biochemistry and Physiology* 140B: 91-98.DOI: 10.1016/j.cbpc.2004.09.031
- CHAKRABARTI, R., R. M. RATHORE, P. MITTAL & S. KUMAR. 2006. Functional changes in digestive enzymes and characterization of proteases of silver carp (♂) and bighead carp (♀) hybrid, during early ontogeny. *Aquaculture* 253: 694-702. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2005.08.018
- COHEN, T., A. GERTLER & Y. BIRK. 1981. Pancreatic proteolytic enzymes from carp (*Cyprinus carpio*): Purification and physical properties of trypsin. Chymotrypsin. elastase and carboxypeptidase. *Comparative Biochemistry and Physiology* 69B: 639-646. DOI: 10.1016/0305-0491(81)90364-3
- CHONG, A., Y. NATALIA, R.HASHIM & A. ALI. 2002. Characterization of protease activity in developing discus *Symphysodon aequifasciatus* larva. *Aquaculture Research* 33: 663-672. DOI: 10.1046/j.1365-2109.2002.00702.x
- CONCHA-FRÍAS, B., C. A. ÁLVAREZ-GONZÁLEZ, M. G. GAXIOLA-CORTÉS, A. E. SILVA-ARANCIBIA, P. H. TOLEDO-AGÜERO, R. MARTÍNEZ-GARCÍA, S. CAMARILLO-COOP, L. D. JIMENEZ-MARTINEZ & J. L. ARIAS-MOSCOSO. 2016. Partial characterization of digestive proteases in the common snook *Centropomus undecimalis. International Journal of Biology* 8 (4): 1-11. DOI: 10.5539/ijb.v8n4p1
- DAS, K. M. & S. D. TRIPATHI. 1991. Stuidies on the digestive enzymes of grass carp, *Ctenopharygodon donidella* (Val.). *Aquaculture* 92: 21-32. DOI:10.1016/0044-8486(91)90005-R
- DIMES, L. E., N. F. HAARD, F. M. DONG, B. A. RASCO, I. P. FORSTER, W. T.FAIRGRIEVE, R. ARNDT, R. W. HARDY, F. T. BARROWS & D. T. HIGGS. 1994. Estimation of protein digestibility: In vitro assay of protein in salmonid feeds. *Comparative Biochemistry and Physiology* 108A: 363-370. DOI: 10.1016/0300-9629(94)90107-4

- DUNN, B. M. 1989. Determination of protease mechanism. *In:* R.J. Beynon y J.S. Bond (Eds.). *Proteolytic Enzymes: A practical approach*. I.R.L. Press. Oxford, Inglaterra. pp. 57-81.
- ESHEL, A., P. LINDNER, P. SMIRNOFF, S. NEWTON & S. HARPAZ. 1993. Comparative study of proteolytic enzymes in the digestive tracts of the European sea bass and hybrid striped bass reared in freshwater. *Comparative Biochemistry and Physiology* 106A: 627-634. DOI: 10.1016/0300-9629(93)90371-A
- ESSED, Z., I. FERNÁNDEZ, F. J. ALARCÓN & F. J. MOYANO. 2002. Caracterización de la actividad proteasa digestiva de atún rojo *Thunnus thynnus* (Linnaeus, 1758). *Boletín Instituto Español de Oceanografía* 18 (1-4): 99-107.
- GARCÍA-CARREÑO, F. L., L. E. DIMES & N. F. HAARD. 1993. Substrate-gel electrophoresis for composition and molecular weight of proteinases or proteinaceous proteinase inhibitors. *Analytical Biochemistry* 214: 65-69. DOI:10.1006/abio.1993.1457
- GARCÍA-CARREÑO, F. L., C. C. ALBUQUERQUE, M. A. NAVARRETE DEL TORO & F. E. ZANIBONI. 2002. Digestive proteinases of *Bryconor bignyanus* (Characidae, Teleostei): Characteristics and effects of protein quality. *Comparative Biochemistry and Physiology* 132B: 343-352. DOI: 10.1016/S1096-4959(02)00038-6
- GUERRERO-ZÁRATE, R., C. A. ÁLVAREZ-GONZÁLEZ, M. A. OLVERA-NOVOA, N. PERALES-GARCÍA, C. A. FRÍAS-QUINTANA, R. MARTÍNEZ-GARCÍA & W. M. CONTRERAS-SÁN-CHEZ. 2014. Partial characterization of digestive proteases in tropical gar Atractosteus tropicus juveniles. Fish Physiolology Biochemistry 40: 1021-1029. DOI: 10.1007/s10695-013-9902-7
- JONAS, E., M. RAGYANSKI, J. OLAH & L. BORROS. 1983. Proteolytic digestive enzymes of carnivorous (*Silurus glanis*, L.), herbivorous (*Hypophthalmichthys molitrix*, Val) and omnivorous (*Cyprinus carpio*, L.) fishes. *Aquaculture* 30: 145-154. DOI:10.1016/0044-8486(83)90158-8
- KUMAR, S., R. M. RATHORE & R. CHAKRABARTI. 2005. Digestive enzyme study of hybrid of silver carp (Hypophthalmichthys molitrix) x Bighead (Aristichthysnobilis) during ontogeny. Larvi'05 – Fish & Shellfish Larviculture Symposium, Belgium.
- KUNITZ, M. 1947. Crystalline soybean trypsin inhibitor II. General properties. *The Journal of General Physiology* 30: 291-310.
- LAEMMLI, U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685.
- MATUS DE LA PARRA, A., A. ROSAS, J. P. LAZO & M. T. VIANA. 2007. Partial characterization of the digestive enzymes of Pacific bluefin tuna *Thunnus thynnus orientalis* under culture conditions. *Fish Physiology* and Biochemistry 33: 223-231.DOI: 10.1007/s10695-007-9134-9
- MOYANO, F.J., M. DIAZ, F. J. ALARCON & M. C. SARASQUETE. 1996. Characterization of digestive enzyme activity during larval development of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Fish Physiology and Biochemistry* 15: 121-130. DOI: 10.1007/BF01875591
- MOYANO, F. J., M. A. BARROS, A. PRIEGO, J. P. CAÑAVETE & S.CÁRDENAS. 2005. Evaluación de la ontogenia de enzimas digestivas en larvas de Hurta, *Pargus auriga* (Pisces: Sparidae). *AquaTIC* 22: 39-47.
- MOYANO, F. J. 2006. Bioquímica digestiva en especies acuacultivadas: Aplicaciones en nutrición. In: Elizabeth C. (Eds.). Avances en nutri-

ción acuícola. VIII Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. 15-17 Noviembre. Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey. Nuevo León. México. 396 p. ISBN 970-694-333-5.

- MILLER, R. R., & W. L. S. N. NORRIS. 2009. Peces Dulceacuícolas de México. 4ta. Edición. Museo de Zoología, Universidad de Michigan, E.U.A. 652 p.
- MUNILLA-MORÁN, R. & F. SABORIDO-REY. 1996. Digestive enzymes in marine species. I. Proteinase activities in gut from red fish (*Sebastes mentella*), seabream (*Sparus aurata*) and turbot (*Scophthalmus maximus*). Comparative. *Biochemistry and Physiology* 113B: 395-402. DOI: 10.1016/0305-0491(95)02057-8
- NATALIA, Y., R. HASHIM, A. ALI & A. CHONG. 2004. Characterization of digestive enzymes in a carnivorous ornamental fish, the Asian bony tongue *Scleropages formosus* (Osteoglossidae). *Aquaculture* 233: 305-320. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2003.08.012
- NAVARRO-GUILLÉN, C., I. RØNNESTAD, A. O. JORDAL, F. J. MOYANO & M. YÚFERA. 2017. Involvement of cholecystokinin (CCK) in the daily pattern of gastrointestinal regulation of Senegalese sole (*Solea senegalensis*) larvae reared under different feeding regimes. *Comparative Biochemistry and Physiology* 203A: 126-132. DOI: 10.1016/j. cbpa.2016.09.003
- PRASERTSAN, P. & T. PRACHUMRATANA. 2008a. Comparison and selection of protease and lipase sources from visceral organs of three tuna species. Songklanakarin Journal of Science and Technology 30: 73-76.

- PRASERTSAN, P. & T. PRACHUMRATANA. 2008b. Properties of protease and lipase from whole and individual organ of viscera from three tuna species. Songklanakarin Journal of Science and Technology 30: 77-86.
- SÁENZ, R. M., F. J. ALARCÓN, M. I. MARTÍNEZ, F. RUIZ, M. DÍAZ & F. J. MOYANO. 2005. Caracterización de las proteasas digestivas del lenguado senegalés Solea senegalensis Kaup, 1858. Boletín Instituto Español de Oceanografía 21 (1-4): 95-104.
- STAUFFER, C. 1989. Enzyme Assays for Food Scientists. Van Nostand Reinhold/AVI. Nueva York. 317 p.
- TENGJAROENKUL, B., B. B. SMITH, T. CACECI & S. A. SMITH. 2000. Distribution of intestinal enzyme activities along the intestinal tract of cultured Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture* 182: 317-327. DOI: 10.1016/S0044-8486(99)00270-7
- WALTER, H. E. 1984. Proteinases: methods with hemoglobin, casein and azocoll as substrates. *In*: Bergmeyern, H. J. (Eds). *Methods of Enzymatic Analysis*. Vol. V, Verlag Chemie. Weinham. pp. 270-277.
- WANG, H., Y. WANG, Q. WANG, C.XUE & M. SUN. 2006. Purification and characterization of stomach protease from the turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Fish Physiology and Biochemistry* 32: 179-188. DOI:10.1007/s10695-006-0010-9
- WEBER, K. & M. OSBORN. 1969. The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis. *The Journal of Biological Chemistry* 244: 4406-4412.

NOTAS

First record of Placozoa from the Gulf of Mexico

Primer registro de Placozoa para el Golfo de México

Tania Shazel Ortega Tecuatl¹, Rodrigo Arreola Alemón² and Rodrigo Cuervo González¹

¹ Laboratorio de Evolución y Embriología, Facultad de Ciencias Biológico y Agropecuarias Universidad Veracruzana. Carretera Tuxpan-Tampico Km 7.5 Tuxpan, Veracruz, 92860. México ² Departamento de Psiquiatría Genética, Instituto Nacional de Psiquiatría, "Ramón de la Fuente". Calzada México-Xochimilco 101, Colonia Lorenzo Huipulco, Tlalpan, 14370. CDMX, México e-mail:rodcuervo@uv.mx

Recibido: 24 de diciembre de 2016. Aceptado: 23 de septiembre de 2017.

Ortega Tecuatl T. S., R. Arreola Alemón and R. Cuervo González. 2017. First record of Placozoa from the Gulf of Mexico. Hidrobiológica 27 (3): 429-432.

ABSTRACT

Background. Placozoa is a phylum with only one species: Trichoplax adhaerens (F. E. Schulze, 1883); recent genetic studies suggest, however, that several haplotypes inhabit tropical and subtropical waters around the world. Placozoans have been found usually close to littoral zones where mangrove forests occur. Goals. To provide the second record of this species from the coasts of Mexico and describe a new filament structure observed in the upper epithelium. Methods. Photographic images were taken of Placozoans found in glass slides introduced in marine aquariums. Some specimens were collected and stained with Mito Tracker, DAPI and Lyso Tracker fluorescent dyes according to the manufacturer instructions. Results. Puerto Morelos in the Mexican Caribbean Sea and Florida in the Atlantic coast are the closest places to the Gulf of Mexico were Placozoans have been recorded. We report here the first record of Trichoplax adhaerens in the Gulf of Mexico. The organisms were found in sea water aquariums built with materials, water, and invertebrates obtained from the Tuxpan reef (21.016667 N, 97.186389 W), an emerged platform that belongs to the Lobos-Tuxpan Reef System. Conclusions. This finding is the first record of Trichoplax for the coasts of the western Gulf of Mexico and includes the description of a filament structure in the upper epithelium not reported before.

Key words: Gulf of Mexico, Placozoa, Trichoplax adhaerens.

RESUMEN

Antecedentes. Placozoa es un phylum con solo una especie: *Trichoplax adhaerens* (F. E. Schulze, 1883); sin embargo, estudios genéticos recientes sugieren que varios haplotipos habitan en aguas tropicales y subtropicales alrededor del mundo. Generalmente los Placozoarios

han sido encontrados cerca de zonas litorales donde hay bosques de manglar. Objetivos. Proporcionar el segundo registro de esta especie para las costas de México y describir una nueva estructura filamentosa observada en el epitelio superior. Métodos. Se tomaron imágenes fotográficas de Placozoarios hallados en laminillas de vidrio introducidas en acuarios marinos. Algunos especímenes fueron colectados y teñidos con los colorantes fluorescentes mitotracker, DAPI y lysotracker siguiendo las instrucciones de los fabricantes. Resultados. Puerto Morelos en el mar Caribe mexicano y la costa atlántica de Florida, son los lugares más cercanos al Golfo de México donde los Placozoarios han sido registrados. Aquí reportamos por primera vez a Trichoplax adhaerens en el Golfo de México. Los organismos fueron encontrados en acuarios marinos construidos con materiales, agua e invertebrados obtenidos del arrecife Tuxpan (21.016667 N, 97.186389 O), una plataforma emergente que pertenece al sistema arrecifal Lobos-Tuxpan. Conclusiones. Este hallazgo representa el primer registro de Trichoplax para las costas del Oeste del Golfo de México, e incluye la descripción de una estructura filamentosa en el epitelio superior no reportada antes.

Palabras claves: Golfo de México, Placozoa, Trichoplax adhaerens.

Placozoans are the simplest free-living animals and probably the most primitive Eumetazoan. With only six cell types organized as an irregular ciliated flat disc (Smith *et al.*, 2014), **their body plan is com**prised of marginal *versus* interior and top *versus* bottom regions and no symmetry axes are evident. These organisms posses san upper and lower epithelium -with no basal lamina or extracellular matrix- that **en**-close a loose network of interconnected branched cells called fiber cells. Discovered by F. E. Shultz in the 19th century, *Trichoplax adhaerens* is the only described species of the phylum Placozoa (Schulze, 1883). Its simplicity and taxonomic basal position make Placozoans unique organisms to study early metazoan evolution. A recent phylogenomic study

that compared the relationships of early diverging metazoan lineages, unambiguously placed Porifera as the sister group of all Metazoans; Ctenophora emerged as the second branch of Eumetazoa and Placozoa resulted the basal taxon of the clade Placozoa+Cnidarian+Bilateria (Simion *et al.*, 2017).

Placozoans have been found in tropical and subtropical waters around the world (Eitel *et al.*, 2013) and despite their identical morphology, molecular studies imply the existence of many species and different lineages occurring sympatrically (Voigt *et al.*, 2004). In one extensive study about the biodiversity found in the Gulf of Mexico,the phylum Placozoa is listed as part of the species of several phyla found (Felder & Camp, 2009); however, no additional data, formal description, or scientific publication was done.

Here, we describe findings dozens of Placozoans adhered to the glass walls of a seawater aguarium after performing several partial changes of water obtained from the Tuxpan reef in June and July 2015. The Tuxpan reef is an emerged platform located 12 km from the coastline in the Southwest of the Gulf of Mexico. This littoral region has estuarine waters with mangrove swamps an Tuxpan harbour is situated at the mouth of the Tuxpan. River. It is known that the ocean currents in the Gulf of Mexico transports water along the coastal line from the Southeast (Campeche Bank) to the Southwest (Zavala-Hidalgo et al., 2003). Parallel to this coastal line, several reefs form an ecological corridor (Ortiz-Lozano et al., 2013), which are inhabited by species that arise from the Caribbean Sea. Therefore, the Placozoans we found may be a native population but derived from the Caribbean zone, probably related with the H1-4 haplotypes (Grell & López-Ochoterena, 1987; Voigt et al., 2004). The aquarium that harbors the Placozoans is three years old and has colonies of corals, sponges, and sea grass beds that were obtained from the same reef. No synthetic water, exotic species, or commercial food for corals were introduced in the aquarium. The setup, with a volume of 400 L, has a sump filter with live rock obtained from the reef zone and the temperature is maintained at 26-28 °C. Three organisms were fixed in 4% glutaraldehyde in seawater and registered as Voucher specimens in the National Collection of Phylum Porifera, UNAM (catalog number CNPGG-1488, CNPGG-1489, and CNPGG-1490).

Most Placozoans were around 600 μ m in diameter although some smaller or larger specimens were also found (ranging from 200 to 1500 μ m). They showed an irregular "hairy plate" form ("tricho-plax") and gliding movement (Figs 1a-b). The characteristic birefringent vesicles or "shiny spheres" of this taxon were clearly observed on the upper side (Fig. 1c), except in the outer margin where upper and lower epithelium apposed (Fig. 1e). Images also show yellow bodies scattered below the upper epithelium containing vacuoles of digested algae (Fig. 1c). The *Trichoplax* moved constantly with amoeboid movements but without a particular direction; at intervals, the margins folded such that the lower epithelium formed transient grooves (Fig. 1a, arrows). We observed that sometimes one groove was extended from side to side and the Placozoan slides on its own lower epithelium (Fig. 1f). Occasionally, the edges rose and enclosed the upper epithelium for a few minutes (Fig. 1g-k).

We observed two of the four modes of reproduction reported in the literature: binary fission (Fig. 1d) and flagellated, hollow swarmers (Figs 1I-n) (Thiemann & Ruthmann, 1991). By scraping the glass walls of the aquariums, spinning swarmers were obtained mostly adhered to algae. On glass slides introduced in the aquarium and examined one week later, we observed one spherical form of *Trichoplax* that slowly

rotated, maintaining a strong adhesion to the substrate without signs of degeneration (Fig. 1o). This spherical Trichoplax appears to be of the type previously reported as "hollow sphere with interior compartment" (Thiemann & Ruthmann, 1990). Interestingly, on other glass slides we captured some Trichoplax with a long protuberance in the upper side (Figs. 1p-q). This structure lasts for several hours but disappears after 24h. It seems to be the same slender threadlike extension of around 1 mm long that was often observed in those Trichoplax living in areas where the water flow is stronger (Fig. 1r). This filamentous structure swings with the stream of water and maintains a constant size for hours; it is probably used to sense the currents of water. To our knowledge, this structure has never been reported before. Finally, we assayed fluorescent dyes to stain specific cellular structures, such as the nucleus (DAPI), mitochondrion (Mito Tracker, Molecular Probes) (Fig. 1s), and acidic organelles (Lyso Tracker, Molecular Probes) (Fig. 1t) to confirm the staining patterns reported in other studies (Smith et al, 2014).

Placozoans grew and multiplied well with these aquarium condictions and grazed upon *Feldmannia* sp. algae that grew on the glass walls (Fig. 1b). They shared a micro-ecosystem with an assemblage of small organisms such as *Vorticella*, ciliates, heliozoans, nematodes, metamorphosing sponges, and cyanobacteria. Ciliates and nematodes made contact randomly with Placozoans but they did not elicit any specific response or reaction.

We have been able to maintain a healthy ecosystem in the marine aquarium with the appropriate conditions to obtain a constant supply of *Trichoplax*, making it possible to perform other experiments, for example, molecular studies to determine the haplotype of this strain.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Dr. Christopher Wood for his careful reading of the manuscript. Also, we thank Dra. Patricia Gómez of the Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM, for helping us with the Voucher specimens. This work was supported by Grant 151757 from the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT).

Figures 1a-t. Placozoans confined in marine aquariums. a) Living Trichoplax showing the characteristic epithelial grooves and irregular shape. b) Gliding Trichoplax adhered to Feldmannia sp. algae. c) The characteristic yellow vacuoles of digested algae (arrow) and the shiny spheres (arrow head). d) Asexual reproduction by binary fission. e) Detail of the upper marginal region showing the characteristic shiny spheres (arrow heads) and radially aligned fiber cells. f) Bent Trichoplax with apposed lower epithelium. g) Time-lapse image of Trichoplax bending the epithelial borders up ward. h) Downward movement of the marginal epithelia. i) With seconds, Trichoplax extends the marginal epithelia. j) Trichoplax returns to extended position. k) Extended Trichoplax starts the gliding movement. I) Small-size open-sphere swarmer. m) Medium size open-sphere swarmer, arrow heads point to the opening. n) Cup shape swarmer. o) Spherical form of Trichoplax. p) Specimen with upper rod-like protuberance. q) Close-up showing the upper protuberance. r) Trichoplax with upper filament (arrow). s) Fluorescence image of Mito Tracker and DAPI-stained Trichoplax. t) Lyso Tracker stained lipophilic vesicles (shiny spheres); arrows point to small vesicles stained in marginal epithelium. Scale bars: $a = 100 \mu m$; $m = 50 \mu m$, scale apply to Fig. I and n.



REFERENCES

- EITEL, M., H. J. OSIGUS, R. DE SALLE & B. SCHIERWATER. 2013. Global diversity of the Placozoa. *PLoS ONE* 8 (4): e57131. DOI: 10.1371/journal. pone.0057131
- FELDER, D. L. & D. K. CAMP. 2009. Gulf of Mexico Origin, Waters, and Biota. Texas A & M University Press. Vol1, Biodiversity. 1th ed.Texas. 1393 p. DOI: 10.1086/659907
- GRELL, K. & E. LÓPEZ-OCHOTERENA. 1987. A new record of *Trichoplax adhaerens* (Phylum Placozoa) in the Mexican Caribbean Sea. *Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología-UNAM* 14: 255-256.
- ORTIZ-LOZANO, L., H. PÉREZ-ESPAÑA, A. GRANADOS-BARBA., C.GONZÁLEZ-GÁNDARA., A. GUTIÉRREZ-VELÁZQUEZ & J. MARTOS. 2013. The reef corridor of the Southwest Gulf of Mexico: Challenges for its management and conservation. *Ocean & Coastal Management* 86: 22-32. DOI: 10.1016/j. ocecoaman.2013.10.006
- SIMION, P., H. PHILIPPE, D. BAURAIN, M. JAGER, D. J. RICHTER, A. DI FRANCO, B. ROURE, N. SATOH, E. QUEINNEC, A. ERESKOVSKY, P. LAPEBIE, E. CORRE, F. DELSUC, N. KING, G. WÖRHEIDE & M. MANUEL. 2017. A large and consistent phylo-

genomic dataset supports sponges as the sister group to all other animal. *Current Biology* 27: 1-10. DOI: 10.1016/j.cub.2017.02.03

- SMITH, C. L., F. VAROQUEAUX, M. KITTELMANN, R. N. AZZAM, B.COOPER, C. A. WIN-TERS, M. EITEL, D. FASSHAUER & T. S. REESE. 2014. Novel cell types, neurosecretory cells, and body plan of the early-diverging metazoan *Trichoplax adhaerens. Current Biology* 24: 1565-1572. DOI: 10.1016/j.cub.2014.05.046
- THIEMANN, M. & A. RUTHMANN. 1990. Spherical forms of *Trichoplax adhaerens* (Placozoa). *Zoomorphology* 110: 37-45. DOI: 10.1007/ BF01632810
- THIEMANN, M. & A. RUTHMANN. 1991. Alternative modes of asexual reproduction in *Trichoplax adhaerens* (Placozoa). *Zoomorphology* 110: 165-174. DOI: 10.1007/BF01632872
- VOIGT, O., A. G. COLLINS, V. B. PEARSE, J. S. PEARSE, A. ENDER, H. HADRYS & B. SCHIERWATER. 2004. Placozoa - No longer a phylum of one. *Current Biology* 14: 944-945. DOI: 10.1016/j.cub.2004.10.036
- ZAVALA-HIDALGO, J., S. L. MOREY & J. J. O'BRIEN. 2003. Seasonal circulation on the western shelf of the Gulf of Mexico using a high-resolution numerical model. *Journal of Geophysical Research* 108 (C12) :1-19. DOI: 10.1029/2003JC001879

Hidrobiológica

Índice del volumen 27, 2017

Sánchez-Serrano S. y J. Cáceres-Martínez Primer registro helmintológico de la sardina monterrey <i>Sardinops sagax</i> en Baja California, México, durante dos estaciones del año	1-11	Rivera-Hernández J. R. , C. Green-Ruiz, L. Pelling-Salaza and A. Trejo-Alduenda Hydrochemistry of the Mocorito river coastal aquifer, Sinaloa water quality assessment for human consumption and	a, Mexico:
Wurl J., C. N. Martínez García y M. Á. Imaz Lamadrid Respuesta hidrológica al cambio climático en regiones áridas: caso de estudio en los Comondú, Baja California Sur, México	13-22	agriculture suitability NOTAS CIENTÍFICAS	103-113
López-Fuerte F. O., D. A. Siqueiros-Beltrones, L. Veleva and D. A. Huerta-Quintanilla Species composition and assemblage structure of microfouling diatoms growing on fiberglass plates off the coast of Yucatán, Mexico	23-37	Fuentealba-Jara C., G. D'Elia, F. González y C. Franco-Ja Reconstrucción filogenética de Sphaeriidae (Veneroida: Biva posición filogenética de <i>Pisidium chilense</i> Siqueiros Beltrones D. A., J. M. Murillo Jiménez and B. F. García Gómez	ccard ılvia) y la 115-117
Hernández-Olascoaga A., L. D. Olivera-Gómez and B. Morales-Vela		Recent observations supporting the hypothesis of the coloni thrombolite platforms by mangroves	zation of 119-121
Helminth parasites in feces of Antillean manatees <i>Trichechus m</i> <i>manatus</i> (Sirenia:Trichechidae) in Mexico: Gulf of Mexico and Caribbean	<i>anatus</i> 39-44	Morales-Azpeitia R., J. López-Martínez and J. E. Valdez- New bathymetric record for the fish bighead mora, <i>Laemonem</i> <i>verecundum</i> (Gadiformes: Moridae) in the Gulf of California.	• Holguín a
Godínez-Ortega J. L., M. G. Oliva-Martínez, M. A. Escobar-Ol v B. Mondoza-Carfiac	liva	Mexico	123-126
Diversidad algal del Parque Nacional Lagunas de Zempoala, Mé excepto diatomeas	éxico, 45-58	Jakes-Cota U., A. Tripp-Valdez and F. O. López-Fuerte Length-weight relationship and relative condition factor of t Scorpionfish <i>Scorpaena mystes</i> in the central area of the	he Stone
Trinidad-Ocaña C., J. F. Miranda-Vidal, J. Juárez-Flores v F. Barha-Macías		Gulf of California, Mexico	127-129
Distribución y densidad de moluscos invasores de la familia Thiar diferentes ambientes dulceacuícolas de Tabasco, México	ridae en 59-68	Reyes-Bonilla H., A. López-Pérez, D. A. Paz-García, G. Parra-Madrazo, P. Medina-Rosas y E. F. Balart	
López-Rojas V. I., R. Flores-Garza, P. Flores-Rodríguez, C. Torreblanca-Ramírez y S. García-Ibáñez La clase Bivalvia en citige recessos de las Pagiones Marinas Pric	vritariae	Distribución del coral arrecifal <i>Pocillopora inflata</i> (Scleractin en el Pacífico Mexicano y comentarios sobre su situación taxonómica	ia) 131-135
en Guerrero, México: riqueza de especies, abundancia y distribución	69-86	Instrucciones para autores	137-140
Guerrero-Jiménez G., R. Rico-Martínez y M. Silva-Briano		Instructions for authors	141-144
Monitoreo de una planta tratadora de aguas residuales mediani pruebas de toxicidad aguda con el cladócero <i>Daphnia magna</i> y el rotífero de agua dulce <i>Lecane quadridentata</i>	te 87-92	Albarrán Mélzer N. C., L. J. Rangel Ruiz, L. M.Gama Cam J. A. Arévalo de la Cruz, E. Moguel-Ordoñez	pillo,
Cony N. L., N. C. Ferrer and E. J. Cáceres Dynamics of the phytoplankton community of an Argentine Parr wetland in relation to water environmental variables	1pean 93-102	 y C. J. Pacheco Figueroa Tolerancia a la salinidad aguda de gasterópodos dulceacuíc nativos e introducidos en Tabasco, México 	olas 145-151

Análisis funcional comparativo de fitobacterias productoras de ácido indolacético aisladas de plantas *Lemna gibba* de la zona chinampera de Xochimilco, México 153-161

Reyes-Ramírez H., R. Florido, N. Álvarez-Pliego, A. J. Sánchez y M. Á. Salcedo

Hábitos alimenticios de *Cathorops aguadulce* (Siluriformes: Ariidae) en un ecosistema estuarino al sur del Golfo de México 163-173

Aragón-Noriega E. A.

Edad y crecimiento de la almeja chocolata *Megapitaria squalida* (Bivalvia: Veneridae) en la costa oriental del Golfo de California 175-184

Armas-Vargas F., O. Escolero, D. García de Jalón, L. Zambrano, M. González del Tánago and S. Kralisch

Proposing environmental flows based on physical habitat simulation for five fish species in the Lower Duero River Basin, Mexico 185-200

Coria-Monter E. and E. Durán-Campos

The relationship between the massive nesting of the olive ridley sea turtle (*Lepidochelys olivacea*) and the local physical environment at La Escobilla, Oaxaca, Mexico, during 2005 201-209

Jacobson B. J., A. Cervantes-Martínez and M. A. Gutiérrez-Aguirre

Selectivity of *Incilius valliceps* (Anura: Bufonidae) tadpoles on freshwater zooplankton 211-217

Góngora-Gómez A. M., M. García-Ulloa, N. P. Muñoz-Sevilla, A. L. Domínguez-Orozco, B. P. Villanueva-Fonseca,

J. A. Hernández-Sepúlveda and R. Ortega Izaguirre.

Heavy-metal contents in oysters (*Crassostrea gigas*) cultivated on the southeastern coast of the Gulf of California, Mexico 219-227

Alarcón-Ortega L. C., A. Leví Cupul-Magaña,

A. P. Rodríguez-Troncoso y F. G. Cupul-Magaña

Diversidad y distribución de los caprélidos (Crustacea: Amphipoda: Caprellidae) en la región del Pacífico oriental tropical: revisión documental 229-239

Cantoral Uriza E. A., A. D. Asencio Martínez y M. Aboal Sanjurjo

Cianotoxinas: efectos ambientales y sanitarios. Medidas de prevención 241-251

Cervantes Duarte R., L. M. Rodríguez Mata y S. López López

Efecto de la marea en la concentración de nutrientes, ció	profila- <i>a</i>
y parámetros físicos y químicos en una laguna costera	
subtropical (Bahía Magdalena, México)	253-264

Olivares-Rubio H. F. , L. Salazar-Coria and A. Vega-López

Oxidative stress, lipid metabolism, and neurotransmission in freshwater snail (*Pomacea patula*) exposed to a water-accommodated fraction of crude oil

Muciño-Márquez R. E., A. Aguirre-León y M. G. Figueroa-Torres

Evaluación del estado trófico en los sistemas fluvio-lagunares Pom-Atasta y Palizada del Este, Campeche, México 281-291

Siqueiros Beltrones D. A., U. Argumedo Hernández and O. U. Hernández Almeida

High species diversity (H[°]) of benthic diatoms in a coastal lagoon located within a natural protected area 293-300

Hernández O. E., A. Sentíes, K. M. Dreckmann, V. Cassano and M. T. Fujii

Species diversity and biogeographical patterns of *Laurencia sensu* stricto (Rhodophyta) in the Atlantic Ocean 301-314

Palma Ortiz C. A., K. M. Dreckmann, M. L. Núñez Resendiz y A. Sentíes

Variación genética en Meristotheca cylindrica (Solieriaceae, Rhodophyta) en Campeche, México 315-326

Maceda R., R. Tavera y E. Novelo

(Litopenaeus vannamei)

Ecología de cianoprocariontes epífitas que habitan ambientes lóticos de la Cantera Oriente, Ciudad de México 327-336

S. Castillo O., S. G. Torres-Badajoz, C. A. Núñez-Colín,

V. Peña-Caballero, C. H. Herrera Méndez y J. R. Rodríguez-Núñez Producción de biodiésel a partir de microalgas: avances y perspectivas biotecnológicas 337-352

Villarreal-Cavazos D. A., L. E. Cruz-Suárez, M. Tapia-Salazar,

M. Nieto-López, J. Gamboa-Delgado, A. Lemme y D. Ricque-Marie Efecto de la lixiviación de heces sobre los coeficientes de digestibilidad aparente en camarón blanco del Pacífico

353-357

265-280

Garduño Dionate M., P. Alejandro Pérez Velázquez, R. María Lorán Núñez y F. Rolando Martínez Isunza

Crecimiento y mortalidad del langostino moya *Macrobrachium tenellum* (Decápoda: Palaemonidae) en el río San Pedro Mezquital, Nayarit, México 359-367

De la Lanza-Espino G. y F. J. Gutiérrez-Mendieta

Intervalos de parámetros no-conservativos en sistemas acuáticos costeros de México 369-389

Yee-Duarte J. A., B. P. Ceballos-Vázquez, E. Shumilin, K. Kidd and M. Arellano-Martínez

Evidence of health impairment of Megapitaria squalida (Bivalvia: Veneridae) near the "hot spot" of a mining port, Gulf of California 391-398

Urcádiz-Cázares F. J., V. H. Cruz-Escalona, E. H. Nava-Sánchez y A. Ortega-Rubio

Clasificación de unidades del fondo marino a partir de la distribución espacial de los sedimentos superficiales de la Bahía de La Paz, Golfo de California 399-409

Tapia-Salazar M., O. D. García-Pérez, M. G. Nieto-López, D. A. Villarreal-Cavazos, J. Gamboa-Delgado, L. E. Cruz-Suárez and D. Ricque-Marie

Evaluating the efficacy of commercially available aflatoxin binders for decreasing the effects of aflatoxicosis on Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* 411-418

Jesús-Ramirez F., C. A. Álvarez-González, H. G. Nolasco-Soria, E. Peña, R. Martínez-García, S. Camarillo-Coop, K. Conway y C. Pohlenz

Caracterización parcial de proteasas digestivas del chucumite (*Centropomus parallelus*) 419-427

NOTA CIENTÍFICA

Ortega Tecuati T. S., R. Arreola Alemón and R. Cuervo GonzálezFirst record of Placozoa from the Gulf of Mexico429-432

Indice de volumen	433-435
Índice de autores	437-438

Hidrobiológica

Índice de autores

Aboal Sanjurjo M.	241	Ferrer N. C.	93
Aguirre-León A.	281	Figueroa-Torres M. G.	281
Alarcón-Ortega L. C.	229	Flores-Garza R.	69
Albarrán Mélzer N. C.	145	Flores-Rodríguez P.	69
Álvarez-González C. A.	419	Florido R.	163
Álvarez-Pliego N.	163	Franco-Jaccard C.	115
Aragón-Noriega E. A.	175	Fuentealba-Jara C.	115
Arellano-Martínez M.	391	Fujii M. T.	301
Arévalo de la Cruz J. A.	145	Gama Campillo L. M.	145
Argumedo Hernández U.	293	Gamboa-Delgado J.	353, 411
Armas-Vargas F.	185	García de Jalón D.	185
Arreola Alemón R.	429	García-Ibáñez S.	69
Asencio Martínez A. D.	241	García Gómez R. E.	119
Balart E. F.	131	García-Pérez O. D.	411
Barba-Macías E.	59	García-Ulloa M.	219
Cáceres E. J.	93	Garduño Dionate M.	359
Cáceres-Martínez J.	1	Green-Ruiz C.	103
Camarillo-Coop S.	419	Godínez-Ortega J. L.	45
Cantoral Uriza E. A.	241	Góngora-Gómez A. M.	219
Cassano V.	301	González del Tánago M.	185
Castillo O. S.	337	González F.	115
Ceballos-Vázquez B. P.	391	Guerrero-Jiménez G.	87
Cervantes Duarte R.	253	Guerrero-Zúñiga L. A.	153
Cervantes-Martínez A.	211	Gutiérrez-Aguirre M. A.	211
Conway K.	419	Gutiérrez-Mendieta F. J.	369
Cony N. L.	93	Hernández Almeida O. U.	293
Coria-Monter E.	201	Hernández-Olascoaga A.	39
Cruz-Escalona V. H.	399	Hernández O. E.	301
Cruz-Suárez L. E.	353, 411	Hernández-Sepúlveda J. A.	219
Cuervo González R.	429	Herrera Méndez C. H.	337
Cupul-Magaña F. G.	229	Huerta-Quintanilla D. A.	23
De la Lanza-Espino G.	369	Imaz Lamadrid M. A.	13
D'Elia G.	115	Jacobson B. J.	211
Domínquez-Orozco A. L.	219	Jakes-Cota U.	127
Dreckmann K. M.	301, 315	Jesus-Ramirez F.	419
Durán-Campos E.	201	JUAI EZ-FIORES J.	59
Escolero O.	185		391
Escobar-Oliva M. A.	45	Kraiisch S.	185

Lemme A.	353	Pohlenz C.	419
Leví Cupul-Magaña A.	229	Olivares-Rubio H. F.	265
López-Fuerte F. O.	23, 127	Ortega Izaguirre R.	219
López-López E.	153	Ortega Tecuatl T. S.	429
López López S.	253	Rangel Ruiz L. J.	145
López-Martínez J.	123	Reyes-Bonilla H.	131
López-Pérez A.	131	Reyes-Ramírez H.	163
López-Rojas V. I.	69	Rico-Martínez R.	87
Maceda R.	327	Ricque-Marie D.	353, 411
María Lorán Núñez R.	359	Rivera-Hernández J. R.	103
Martínez García C. N.	13	Rodríquez-Dorantes A. M.	153
Martínez Isunza F. Rolando	359	Rodríguez Mata L. M.	253
Medina-Rosas P.	131	Rodríguez-Núñez J. B.	337
Mendoza-Garfias B.	45	Bodríguez-Tovar A V	153
Miranda-Vidal J. F.	59	Rodríguez-Troncoso A P	220
Moguel-Ordoñez E.	145	Salazar-Coria I	225
Morales-Azpeitia R.	123	Salaza-Cona L.	203
Morales-Vela B.	39		103
Muciño-Márquez R. E.	281	Sanchez A. J.	103
Muñoz-Sevilla N. P.	219	Sanchez-Serrano S.	I 001 015
Murillo Jiménez J. M.	119	Senties A.	301, 315
Nava-Sánchez E. H.	399	Shumilin E.	391
Nieto-López M.	353	Silva-Briano M.	87
Nieto-López M. G.	411	Siqueiros-Beltrones D. A.	23, 119, 293
Nolasco-Soria H. G.	419	Tapia-Salazar M.	353, 411
Novelo E.	327	Tavera R.	327
Núñez-Colín C. A.	337	Torreblanca-Ramírez C.	69
Núñez Resendiz M. L.	315	Torres-Badajoz S. G.	337
Olivera-Gómez L. D.	39	Trejo-Alduenda A.	103
Oliva-Martínez M. G.	45	Trinidad-Ocaña C.	59
Ortega-Acosta 0.	153	Tripp-Valdez A.	127
Ortega-Rubio A.	399	Urcádiz-Cázares F. J.	399
Pacheco Figueroa C. J.	145	Valdez-Holguín J. E.	123
Palma Ortiz C. A.	315	Vega-López A.	265
Parra-Madrazo G.	131	Veleva L.	23
Paz-García D. A.	131	Villanueva-Fonseca B. P.	219
Pelling-Salazar L.	103	Villarreal-Cavazos D. A.	353, 411
Peña-Caballero V.	337	Wurl J.	13
Peña, R. Martínez-García E.	419	Yee-Duarte J. A.	391
Pérez Velázquez P. Alejandro	359	Zambrano L.	185

HIDROBIOLÓGICA

Revista del Departamento de Hidrobiología

VOLUMEN 27	Número 3	2017
Muciño-Márquez R. E., A. Aguirre-León y Evaluación del estado trófico en los sistem	y M. G. Figueroa-Torres ıas fluvio-lagunares Pom-Atasta y Palizada del Este, Campeche, México	281-291
Siqueiros Beltrones D. A., U. Argumedo I High species diversity (H [°]) of benthic diator	Hernández and O. U. Hernández Almeida ms in a coastal lagoon located within a natural protected area	293-300
Hernández O. E., A. Sentíes, K. M. Drecku Species diversity and biogeographical patt	mann, V. Cassano and M. T. Fujii erns of <i>Laurencia sensu</i> stricto (Rhodophyta) in the Atlantic Ocean	301-314
Palma Ortiz C. A., K. M. Dreckmann, M. L Variación genética en <i>Meristotheca cylindr</i>	 Núñez Resendiz y A. Sentíes <i>ica</i> (Solieriaceae, Rhodophyta) en Campeche, México	315-326
Maceda R., R. Tavera y E. Novelo Ecología de cianoprocariontes epífitas que	habitan ambientes lóticos de la Cantera Oriente, Ciudad de México	327-336
Castillo O. S., S. G. Torres-Badajoz, C. A. Producción de biodiésel a partir de microal	Núñez-Colín, V. Peña-Caballero, C. H. Herrera Méndez y J. R. Rodríguez-Núñez Igas: avances y perspectivas biotecnológicas	337-352
Villarreal-Cavazos D. A., L. E. Cruz-Suáro Efecto de la lixiviación de heces sobre los o (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	ez, M. Tapia-Salazar, M. Nieto-López, J. Gamboa-Delgado, A. Lemme y D. Ricque coeficientes de digestibilidad aparente en camarón blanco del Pacífico	- Marie 353-357
Garduño Dionate M., P. A. Pérez Velázqu Crecimiento y mortalidad del langostino m Mezquital, Nayarit, México	ez, R. M. Lorán Núñez y F. R. Martínez Isunza oya <i>Macrobrachium tenellum</i> (Decápoda: Palaemonidae) en el río San Pedro	359-367
De la Lanza-Espino G. y F. J. Gutiérrez-N Intervalos de parámetros no-conservativos	Aendieta s en sistemas acuáticos costeros de México	369-390
Yee-Duarte J. A., B. P. Ceballos-Vázquez Evidence of health impairment of Megapita California	, E. Shumilin, K. Kidd and M. Arellano-Martínez aria squalida (Bivalvia: Veneridae) near the "hot spot" of a mining port, Gulf of	391-398
Urcádiz-Cázares F. J., V. H. Cruz-Escalor Clasificación de unidades del fondo marino La Paz, Golfo de California	1a, E. H. Nava-Sánchez y A. Ortega-Rubio o a partir de la distribución espacial de los sedimentos superficiales de la Bahía de	399-409
Tapia-Salazar M., O. D. García-Pérez, M. and D. Ricque-Marie Evaluating the efficacy of commercially ava white shrimp <i>Litopenaeus vannamei</i>	G. Nieto-López, D. A. Villarreal-Cavazos, J. Gamboa-Delgado, L. E. Cruz-Suárez ailable aflatoxin binders for decreasing the effects of aflatoxicosis on Pacific	411-418
Jesús-Ramirez F., C. A. Álvarez-Gonzále y C. Pohlenz Caracterización parcial de proteasas diges	z, H. G. Nolasco-Soria, E. Peña, R. Martínez-García, S. Camarillo-Coop, K. Conwa tivas del chucumite (<i>Centropomus parallelus</i>)	y 419-427
NOTA CIENTÍFICA	· · · /	
Ortega Tecuati T. S., R. Arreola Alemón a First record of Placozoa from the Gulf of M	and R. Cuervo González exico	429-432
Índice del volumen		433-435
Índice de autores		437-438

Casa abierta al tiempo UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA-IZTAPALAPA