

Natalia María Arbeláez Merizalde

Universidad Nacional de Colombia Instituto de Estudios en Ciencias del Mar – CECIMAR Convenio Universidad Nacional de Colombia - INVEMAR Santa Marta, D.T.C.H., Colombia 2017

Natalia María Arbeláez Merizalde

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de: Magister en Ciencias - Biología

> Director (a): Ph.D. José Ernesto Mancera Pineda Codirectora: Ph.D. Beatriz Reguera Ramírez

> > Líneas de Investigación: Biología Marina

Grupos de Investigación: Modelación de ecosistemas costeros

Universidad Nacional de Colombia Instituto de Estudios en Ciencias del Mar – CECIMAR Convenio Universidad Nacional de Colombia - INVEMAR Santa Marta, D.T.C.H., Colombia 2017 A mis padres, mis guías en la vida. Quienes de pequeña me enseñaron que con dedicación y constancia todo es posible.

Agradecimientos

A mis padres y hermano por el apoyo incondicional y su hermosa manera de seguirme la corriente siempre que ha sido pertinente.

A mi director Ernesto Mancera quien de la manera más paciente y profesional logró tranquilizarme con sus recomendaciones y apoyo en los momentos más complejos de este proceso, ayudándome a aclarar las ideas con su experiencia y dándome el empujoncito que en ocasiones fue necesario.

A mi codirectora Beatriz Reguera, quien, a pesar de la distancia, siempre estuvo dispuesta a colaborarme y a ayudarme a mejorar mi escritura dándome recomendaciones fundamentales.

Al Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras "José Benito Vives de Andreis" – INVEMAR por su apoyo financiero mediante la beca Von Prahl y junto con el Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA) por permitirme emplear la información del proyecto regional "Establecimiento de una red de observaciones en el Caribe para evaluar la acidificación de los océanos y su impacto en las floraciones de algas nocivas, a través del uso de técnicas nucleares e isotópicas – RLA7/020" desarrollado por el INVEMAR y co-financiado por el Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible (MADS) a través del proyecto BPIN de INVEMAR y por el OIEA.

A Luisa Fernanda Espinosa, Coordinadora del programa de Calidad Ambiental Marina, CAM del INVEMAR, por su confianza y apoyo incondicional no solo durante este proceso sino cada día en el quehacer laboral.

A Edgar Arteaga por compartirme su conocimiento durante aquellas charlas fitoplanctónicas y por acompañarme en gran parte de este proceso "Animo compañero". Así como a Laura Perdomo por su apoyo y motivación. A los profes de la Universidad (Zven, Néstor y Arturo) por siempre estar disponibles para colaborarme cuando he necesitado resolver alguna duda y por supuesto a Ana Milena por su disponibilidad y gestión.

A quienes me tuvieron paciencia a la hora de emplear la estadística, principalmente a: Pili Martínez, Adolfo Sanjuan, Juan Carlos Narváez, Harold Castillo y María Paula Molina.

A mis amigos y amigas incondicionales: Andre Polanco, las Pilis, Pao, Maxi, My Queen (Karen), Julia, Lú, Julián, Nana y Juank, Vica, Moni Mox, la Mona, a mis compañeros del programa CAM, a Julián Franco por su apoyo laboral, a mis compañeros de la Universidad Nacional de maestría y doctorado, con quienes compartí muy poco debido a mis múltiples ocupaciones, pero siempre nos cruzábamos y conversábamos rápidamente sobre las experiencias y angustias por los proyectos, los traumas estadísticos con R y la entrega de la tesis.

Al Banco de Algas de Gran Canaria por haberme permitido realizar la pasantía en sus instalaciones, facilitándome la identificación de muchas de las especies observadas en el presente proyecto, especialmente a Emilio Soler Onís por su experiencia en este tema. Así mismo, al Jardín Botánico Canario "Viera y Clavijo" por permitirme obtener las micrografías en el microscopio electrónico de barrido.

Y a Santi Fraga por compartirme su conocimiento y responder mis dudas siempre que fue posible.

Resumen

Considerando que algunos dinoflagelados producen toxinas que pueden afectar a otros organismos incluidos los seres humanos, el presente estudio se realizó con el objetivo de evaluar la variación espacio-temporal de los dinoflagelados epifitos potencialmente tóxicos y el efecto de algunas variables ambientales sobre su composición y densidad en dos sistemas costeros de Chengue PNNT, Caribe colombiano. Entre enero de 2014 y diciembre de 2015 se recolectaron mensualmente hojas de Thalassia testudinum para obtener los dinoflagelados, adicionalmente se midieron la salinidad, temperatura, oxígeno disuelto, pH, nutrientes y sólidos suspendidos totales (SST) y se obtuvieron los datos de precipitación. Los organismos se identificaron y cuantificaron, expresándose su densidad en número de células (cél.) g⁻¹ peso húmedo (P.H). La información se analizó mediante pruebas estadísticas y modelos de regresión. Se observaron 14 especies correspondientes a cuatro géneros, siendo Prorocentrum el más representativo en número de especies. Los máximos de densidad, dominados por P. lima, se registraron en la Bahía durante la época de lluvias de 2014 (18452.46 y 20109.44 cél. g⁻¹ P.H), con salinidades >35.50, altas temperaturas (>29.60 °C), oxígeno disuelto >6.00 mg L⁻¹, pH cercano a 8.00 y SST >85.00 mg L⁻¹. Las densidades en la Laguna fueron inferiores a 80 cél. g⁻¹ P.H. con predominio de *Prorocentrum* sp1, bajo condiciones ambientales contrastantes. Mediante la relación entre las especies más abundantes (Bahía: P.lima, P. hoffmannianum y Ostreopsis cf. ovata y Laguna: Prorocentrum sp1 y P. rhathymum) y las principales variables ambientales, se plantearon modelos de nicho bajo los cuales podrían incrementar sus densidades. La presencia de éstos dinoflagelados representa un riesgo en la región mientras no se descarte su toxicidad. Se proponen recomendaciones que podrían optimizar el sistema de monitoreo para mejorar la evaluación del riesgo de ocurrencia de eventos tóxicos en la región.

Palabras clave: Dinoflagelados epifitos, ficotoxinas, Caribe colombiano, *Thalassia testudinum*, intoxicaciones.

Abstract

Considering that some dinoflagellates produce toxins that can affect other organisms including humans, the aim of this work was to evaluate the space-time variation of potentially toxic epiphytic dinoflagellates and the effect of some environmental variables in their composition and density in two coastal systems of Chengue, Tayrona National Natural Park, Colombian Caribbean. Between January 2014 and December 2015, leaves of Thalassia testudinum were collected monthly to obtain dinoflagellates. Salinity, temperature, dissolved oxygen, pH, nutrients and Total Suspended Solids (TSS) were measured and precipitation data was obtained. The organisms were identified and quantified. The density was measured as cells g⁻¹ substrate wet weight (W.W.). The information was analyzed using basic statistics and regression models. A total of 14 potentially toxic epiphytic dinoflagellate taxa from four genera were recovered. The genus Prorocentrum contained the largest number of species. The density peaks, dominated by P. lima, were found in Chengue Bay during the rainy season of 2014 (18452.46 and 20109.44 cells g⁻¹ W.W.), with salinity of >35.50, high temperatures (>29.60 °C), Dissolved Oxygen > 6.00 mg L^{-1} , pH close to 8.00 and TSS >85.00 mg L⁻¹. The densities in the Lagoon were lower than 80 cells g⁻¹ W.W. with highest values of Prorocentrum sp1, under contrasting environmental conditions. With the relationships between the most abundant species (Bay: P. lima, P. hoffmannianum y Ostreopsis cf. ovata and Lagoon: Prorocentrum sp1 y P. rhathymum) and the main environmental variables, fundamental niche models were proposed under which the densities of each specie could be increased. The presence of these dinoflagellates could represent a risk in the region until its toxicity is not discarded. Some recommendations were suggested to optimize the monitoring system to improve the risk evaluation of toxic events in the region.

Keywords: Epiphytic dinoflagellates, Phycotoxins, Colombian Caribbean, *Thalassia testudinum*, Poisoning events.

Contenido

| In | trodu | cción . | | .Х |
|----|-------|---------|--|-----|
| 1 | Ca | pítulo | 1 | . 1 |
| | 1.1 | Intro | oducción | . 2 |
| | 1.2 | Área | a de Estudio | . 3 |
| | 1.3 | Mate | eriales y Métodos | . 5 |
| | 1.3 | 5.1 | Fase de campo | . 5 |
| | 1.3 | .2 | Fase de laboratorio | . 6 |
| | 1.4 | Res | ultados y Discusión | . 8 |
| 2 | Ca | pítulo | 2 | 32 |
| | 2.1 | Intro | oducción | 33 |
| | 2.2 | Mate | eriales y Métodos | 36 |
| | 2.2 | .1 | Fase de campo | 36 |
| | 2.2 | .2 | Fase de laboratorio | 37 |
| | 2.2 | .3 | Análisis de la información | 38 |
| | 2.3 | Res | ultados | 42 |
| | 2.3 | 5.1 | Caracterización climática del área de estudio | 42 |
| | 2.3 | .2 | Caracterización de las estaciones de muestreo | 45 |
| | 2.3 | .3 | Caracterización estructural de los ensamblajes de dinoflagelad | os |
| | pot | encia | Imente tóxicos sobre Thalassia testudinum | 52 |
| | 2.3 | 5.4 | Relación entre los ensamblajes de dinoflagelados potencialmente tóxicos y | la |
| | var | iabilid | lad físico-química de las masas de agua | 59 |
| | 2.3 | 5.5 | Análisis poblacional | 61 |
| | 2 | 2.3.5.1 | l Variación interanual específica | 61 |
| | 2 | 2.3.5.2 | 2 Análisis de la relación entre las especies y las variables físico-química | s. |
| | | | | 62 |
| | 2.4 | Disc | cusión | 71 |
| | 2.4 | .1 | Composición y abundancia de dinoflagelados epifitos potencialmente tóxic | os |
| | sob | ore la | Thalassia testudinum en Chengue PNNT | 71 |
| | 2.4 | .2 | Condiciones ambientales favorables para la presencia y proliferación o | de |
| | din | oflage | elados epífitos potencialmente tóxicos en Chengue PNNT | 77 |
| | 2.4 | .3 | Implicaciones de la presencia de dinoflagelados potencialmente tóxicos sob | re |
| | las | prade | eras de Thalassia testudinum en Chengue PNNT | 86 |
| | 2.5 | Con | clusiones | 89 |
| | 2.6 | Rec | omendaciones | 91 |
| | 2.6 | 5.1 | Elección de las estaciones de muestreo, sustrato y variables a tener en cuer | nta |
| | | | | 91 |
| | 2.6 | 5.2 | Procesamiento y análisis de muestras | 94 |
| 3 | Bib | oliogra | fía | 97 |
| 4 | An | exos . | | 11 |

Lista de Figuras

| Figura 1-1: Mapa y estaciones de muestreo en la Bahía de Chengue Parque Nacional Natural Tayrona. El punto 1 corresponde a la estación de la Bahía y el punto 2 corresponde a la estación en la Laguna sur. Imagen tomada de |
|--|
| http://www.uniquecolombia.com Figura 1-2: Nomenclatura de la placas tecales para A. <i>Coolia monotis</i>, B. <i>Ostreopsis ovata</i> y C. <i>Gambierdiscus toxicus</i>. La línea punteada indica el área por donde se realiza la fisión de la célula y las flechas indican la dirección de superposición de las placas (tomado de Besada et al. 1982) |
| Figura 1-3: Micrografías de <i>Gambierdiscus</i> sp1 al microscopio óptico (A-E) y microscopio electrónico de barrido (F-G). A-B. Célula en vista antapical; C. Placa apical 2'; D. Placa antapical 2'''; E. Vista lateral, F. Vista antapical en MEB; G. Detalle de los poros que recubren la célula. Po: Poro apical. Barra de escala (A-F)= 20 µm, (G)= 5 µm 12 |
| Figura 1-4: Micrografías de <i>Gambierdiscus</i> sp2 al microscopio óptico (A-F) y al microscopio electrónico de barrido (G-H). A-B. Vista antapical; C-D. Detalles del sulcus; E. Placas y poro apical (Po); F. Vista lateral; G. Vista antapical al MEB; G. Detalle de los poros que recubren las placas celulares. Barra de escala (A-G)= 20 μm; (H)= 5 μm. |
| Figura 1-5: Micrografías de <i>Coolia</i> sp1 en microscopio óptico (A-E) y microscopio electrónico de barrido (F-H). A. Vista apical; B-C. Vista antapical (la flecha señala una de las membranas sulcales); D. Vista lateral; E-F. Vista ventral y detalles del sulcus; G. Vista apical en MEB; H. Vista antapical. Po: Poro apical. Barra de escala (A-E)= 20 μm, (F-G)= 5 μm. (H)= 10 μm. |
| Figura 1-6: Micrografías de <i>Coolia</i> sp2 en microscopio óptico. A. Vista antapical (la flecha señala las dos pequeñas membranas que se proyectan fuera del sulcus), B. Vista lateral de la célula, C. Vista ventral y detalles del sulcus y cingulum, Barra de escala= 20 µm |
| Figura 1-7: Micrografías de Ostreopsis cf. ovata observado al microscopio óptico. A. Vista apical; B. Detalle de las placas apicales; C. Vista antapical y detalle de placas; D. Detalles de la sutura de las placas y del complejo del poro apical (la flecha señala la sutura característica entre las placas); E. Vista apical con epifluorescencia. Po: Poro apical. Barra de escala = 20 µm. |
| Figura 1-8: Micrografías de Ostreopsis sp. al microscopio óptico (A-F) y microscopio electrónico de barrido (G-I). A. Célula en vista antapical; B. Detalle de placas apicales; C. Placas apicales teñidas con calcofluor y vistas con epifluorescencia; D-E. Vista antapical interna de las placas; F. Poro apical (Po) y poros en microscoío óptico; G. Vista apical en MEB; H. Detalle del Po, I. Poros que recubren la célula. Barra de escala (A-E)= 20 μm, (G)= 10 μm, (H)= 2 μm, (I)= 5 μm. |

Figura 1-9: Micrografías de Ostreopsis cf. lenticularis al microscopio óptico. A. Vista de la región apical de la célula indicando las placas y el poro apical (Po); B-C. Vista antapical interna de las placas; D. Detalle de los poros en las placas que recubren la célula (las flechas indican los dos tipos de poros). Barra de escala (A-C)= 20 µm... 20

- Figura 1-10: Micrografías de *Prorocentrum hoffmannianum* al microscopio óptico (A-C) y microscopio electrónico de barrido (A-B). A. Célula en vista ventral; B. Placa derecha con detalle de poros; C. Placa izquierda; D. Célula en vista ventral (MEB); E. Vista dorsal; F. Detalle del collar apical; G. Detalle de poros y areolas que recubren la célula; H. Vista lateral y banda intercalar; I-J. Área periflagelar (apical); K. Placas periflagelares y enumeración propuesta por Hoppenrath *et al* (2013). Pr: pirenoide; pa: poro accesorio; pf: poro flagelar. Barra de escala (A-C)= 20 μm, (D-E)= 10 μm, (F-G)= 2 μm, (H) = 10 μm, (I)= 5 μm, (J-K)= 1 μm.
- Figura 1-11: Micrografías de *Prorocentrum lima* al microscopio óptico (A-B) y microscopio electrónico de barrido (C-H). A. Célula en vista ventral; B. Placa derecha con poros tecales; C. Vista ventral al MEB; D. Célula en vista dorsal; E. Vista interna de la placa izquierda; F-G. Área periflagelar (apical); H. Placas periflagelares y enumeración propuesta por Hoppenrath *et al.* (2013). Pr: pirenoide; pa: poro accesorio; pf: poro flagelar. Barra de escala (A-B)= 20 μm, (C y E)= 10 μm, (D)= 5 μm, (F)= 2 μm, (G-H)= 1 μm.

Figura 1-12: Micrografías de *Prorocentrum emarginatum* al microscopio óptico (A-D) y microscopio electrónico de barrido (E-G). A-B. Célula en vista ventral; C. Teca derecha donde se observa levemente el patrón de poros; D. Teca izquierda; E. Detalle de los

dos tamaños de poros (flechas blancas) al MEB; F. Vista ventral; G. Detalle del área periflagelar y ala apical. Barra de escala (A-D)= 20 μm, (E)= 5 μm, (F)= 10 μm, (G)= 2 μm.

- Figura 1-15: Micrografías de *Prorocentrum* sp1 al microscopio óptico. A. Célula en vista ventral; B. Detalle de la célula adherida a una partícula (la flecha señala el mucus); C. Vista lateral de célula adherida a detritus. D. Vista ventral; E. Placa derecha; F. Detalle de la superficie tecal con pequeños poros. Pr: pirenoide. Barra de escala = 20 µm.....

Figura 1-16: Micrografías de *Prorocentrum* sp2 al microscopio óptico. A-B. Célula en vista ventral; C. Vista de la teca derecha con patrón de poros; D. Vista lateral; E. Separación de las tecas, la flecha señala la espina apical. Barra de escala = 20 μm... 31

Figura 2-1: Promedio histórico mensual de precipitaciones y días de lluvia de1980 a

- Figura 2-3: Índice Oceánico de "El Niño" (ONI) trimestral para los últimos 16 años. Valores positivos, mayores o iguales a 0.5 durante 5 o más meses consecutivos indican la ocurrencia de un evento "El Niño" (rojo); valores negativos, inferiores o iguales a -0.5

| durante 5 meses o más meses consecutivos indican la ocurrencia de un evento "La Niña" (azul) y valores por debajo de estos o iguales a cero indican años neutrales (gris). |
|--|
| Figura 2-4: Principales organismos asociados a las praderas de <i>Thalassia testudinum</i> en la estación ubicada en la Bahía de Chengue, PNNT |
| Figura 2-5: Principales organismos asociados a los parches de <i>Thalassia testudinum</i> en la estación ubicada en la Laguna de Chengue, PNNT, Barra de escala – 1 cm. 47 |
| Figura 2-6: Fluctuación mensual de las variables físico-químicas registradas en la Bahía y la Laguna de Chengue entre el 2014 y 2015. Los valores atípicos que sobresalen del grafico corresponden a 16.10 μg L ⁻¹ de nitratos (N-NO ₂ -) en la Bahía; 63.90 μg L ⁻¹ y 308.10 μg L ⁻¹ de fosfatos (P-PO ₄ ³⁻) para la Bahía y la Laguna respectivamente 49 |
| Figura 2-7: Resultados de la relación nitrógeno fosforo calculada para la Bahía y la Laguna de Chengue, durante 2014 y 2015. La línea punteada corresponde al valor de equilibrio (16), valores superiores indican que el fosforo actúa como factor limitante y por debaio de éste lo hace el nitrógeno |
| Figura 2-8: Resultados gráficos del ACP en el cual se muestran los factores abióticos que |
| dan una mejor explicación a la variabilidad existente en el agua de la Bahia (superior) y la Laguna de Chengue (inferior) durante el 2014 y 2015. S: salinidad, T: temperatura, OD: oxígeno disuelto, SST: sólidos suspendidos totales, Pr: precipitaciones, N: nitrógeno, P: fosforo, NO ₂ ⁻ : nitritos, NO ₃ ⁻ : nitratos, NH ₄ ⁺ : amonio y PO ₄ ³⁻ : fosfatos |
| Figura 2-9: Resultados de la análisis nMDS para la diferencia en composición y abundancia de dinoflagelados potencialmente tóxicos sobre las praderas de <i>T. testudinum</i> entre la Bahía y la Laguna (superior), y entre los años 2014 y 2015 en cada sitio (inferior). Izquierda (Bahía), derecha (Laguna) |
| Figura 2-10: Densidad total por mes de dinoflagelados potencialmente tóxicos (células por gramo de peso húmedo de <i>Thalassia testudinum</i>) en la Bahía (eje izquierdo) y la Laguna de Chengue PNNT (eie derecho), entre el 2014 y 2015, |
| Figura 2-11: Abundancia relativa de especies en los ensamblajes de dinoflagelados potencialmente tóxicos epifitos de <i>T. testudinum</i> en la Bahía (izquierda) y la Laguna de Chenque (derecha), entre el 2014 y 2015. |
| Figura 2-12: Abundancia relativa por especie de dinoflagelados potencialmente tóxicos epifitos de <i>T. testudinum</i> en la Bahía (izquierda) y la Laguna de Chengue (derecha), entre el 2014 y 2015 |
| Figura 2-13: Atributos ecológicos calculados para el ensamblaje de dinoflagelados potencialmente tóxicos epifitos de <i>T. testudinum</i> en la Bahía y la Laguna de Chengue, entre el 2014 y 2015 |
| Figura 2-14: Diagrama de caja y bigotes contrastando, para los dos años de muestreo (2014 y 2015), las densidades de cada especie de dinoflagelado seleccionada por su alta abundancia relativa (>18 %). Las gráficas de la izquierda corresponden a las especies más abundantes en la Bahía de Chengue y a la derecha las más abundantes en la Laguna. P: <i>Prorocentrum</i> , hoff: <i>hoffmannianum</i> , O: <i>Ostreopsis</i> , rha: <i>rhathymum</i> . |
| Figura 2-15: Densidad poblacional de las especies que presentaron abundancias relativas superiores al 18 %, durante el 2014 y 2015, sobre la <i>T. testudinum</i> en la Bahía de Chengue, PNNT |

| Figura 2-16: Densidad poblacional de las especies que presentaron abundancias |
|--|
| relativas superiores al 18 %, durante el 2014 y 2015, sobre la T. testudinum en la |
| Laguna de Chengue, PNNT70 |
| Figura 2-17: Fotografías submarinas de las praderas y parches de Thalassia testudinum |
| en la Bahía (A-B) y la Laguna de Chengue (C-D), que evidencian la mayor cobertura |
| de esta fanerógama en el primer sistema, así como mayor cantidad de sedimento |
| depositado sobre las hojas en la Laguna (C) 79 |
| Figura 2-18: Ostreopsis sp. con una forma de color rojo en su interior (flecha), indicando |
| el posible consumo de otro organismo. Barra de escala= 20 µm |
| Figura 2-19: Evidencia del pastoreo sobre las hojas de Thalassia testudinum en la Bahía |
| de Chengue PNNT. Barra de escala= 1 cm 86 |
| Figura 2-20. Sustrato artificial empleado para recolectar los dinoflagelados epibentónicos |
| potencialmente tóxico |

Lista de Tablas

| Tabla 1-1: asociad entre er | Clasificación taxonómica de los dinoflagelados potencialmente tóxicos los a las praderas de <i>Thalassia testudinum</i> en la Bahía y la Laguna de Chengue nero de 2014 y diciembre de 2015. Modificado de Almazán-Becerril <i>et al.</i> , 2015. |
|---|---|
| Tabla 1-2: | Presencia-ausencia y frecuencia (%) de las especies presentes en muestras |
| de <i>Thal</i> | assia testudinum en la Bahía (B) y la Laguna (L) de Chengue PNNT entre enero |
| de 2014 | 4 y diciembre de 2015 |
| Tabla 2-1: tempera <i>al</i> ., 201 | Métodos y equipos empleados para realizar la medición <i>in situ</i> de atura, salinidad, oxígeno disuelto y pH en las estaciones de muestreo (APHA <i>et</i> 2). N.A: no aplica |
| Tabla 2-2: | Métodos empleados en el laboratorio para realizar los análisis químicos |
| (Strickla | and y Parsons, 1972) y de sólidos suspendidos totales (APHA <i>et al.</i> , 2012). LD= |
| Limite c | le detección para el método |
| Tabla 2-3: durante | Valores de la relación N:P calculados para la Bahía y la Laguna de Chengue, 2014 y 2015 |
| Tabla 2-4: las esp grupos. | Resultados del análisis SIMPER para las diferencias entre lugares, incluyendo ecies que presentaron una mayor contribución respecto a la disimilitud entre Dis: disimilitud, Prom: promedio DE: desviación estándar y Cont: contribución. 54 |
| Tabla 2-5: | Resultados del Análisis BIO-ENV donde se relacionan las variables físico- |
| química | is y el ensamblaje de dinoflagelados en la Bahía y la Laguna de Chengue 2014 |
| y 2015 | . S: salinidad, T: temperatura, OD: oxígeno disuelto, NO ₂ ⁻ : nitritos, PO ₄ ³⁻ : |
| fosfatos | s, SST: sólidos suspendidos totales y Pr: precipitaciones |
| Tabla 2-6: | Resultados de la prueba de Durbin-Watson (DW) para cada una de las |
| especie | s seleccionadas, donde se descartan las autocorrelaciones temporales en los |
| residua | les de los datos |

Lista de Anexos

- Anexo D: Resultado de los Modelos Lineales Generalizados (MLG) aplicados a las especies que presentaron datos (Residuales) con distribución diferente a la normal. Para el caso de *Prorocentrum lima* y *Ostreopsis* cf. *ovata* en la Bahía, se aplicó el modelo con respuesta Gamma y función de enlace logaritmo, mientras que en *P. rhathymum* (Laguna) se empleó un modelo con respuesta Binomial y función de enlace logístico. Para el caso de *P. hoffmannianum* y *Prorocentrum* sp1 se presentan los resultados de los modelos de regresión múltiple normal. Exp: Exponencial; NA: No aplica.
- Anexo E: Gráficas del análisis de residuales para verificar la bondad de ajuste de los modelos estimados para *Prorocentrum lima, P. hoffmanianum* y *Ostreopsis* cf. *ovata* en la Bahía, y para *Prorocentrum* sp1 y *P. rhathymum* en la Laguna de Chengue PNNT.

Introducción

Como parte de un esfuerzo por comprender la dinámica de los dinoflagelados epifitos potencialmente tóxicos, surgen una gran cantidad de preguntas relacionadas con la identificación de las especies, su abundancia y variabilidad a través del tiempo y el espacio.

Tal es el caso del documento que se presenta a continuación, como un aporte relevante acerca de un grupo de organismos poco estudiados en el país, teniendo en cuenta que el principal enfoque que se ha dado al estudio del fitoplancton radica en organismos de hábitos planctónicos, dejando un vacío en información acerca de especies bentónicas y/o epifitas que rara vez se encuentran en la columna de agua y pasan desapercibidas, lo cual, para el caso, es fundamental teniendo en cuenta que la mayoría son productoras de toxinas que han generado intoxicaciones y enfermedades alrededor del mundo (Hallegraeff *et al.*, 2004)

Así pues, en primer lugar y como la base de la estructura desde el punto de vista taxonómico, se presenta un análisis detallado en donde se describen y se incluyen fotografías al microscopio óptico y electrónico de barrido para facilitar la identificación de las especies de los dinoflagelados potencialmente tóxicos asociadas a *Thalassia testudinum*, un pasto marino presente en el Caribe, particularmente en dos sistemas costeros de Chengue, Parque Nacional Natural Tayrona, Caribe colombiano, siendo este el escenario en el cual se desarrolló el presente estudio, considerando un período de dos años, influenciados por el fenómeno "El Niño".

Como complemento a lo anterior y teniendo presente los organismos que fueron evidentes sobre la fanerógama marina de cada sitio, fue fundamental tratar de comprender la dinámica espacio-temporal de estos dinoflagelados potencialmente nocivos en cada uno de los sistemas, en relación a la influencia de variables ambientales, moduladas por fluctuaciones en la climatológica de la región, tratando de determinar bajo qué condiciones ambientales podrían representar un mayor riesgo.

Finalmente, a manera de recomendaciones y como complemento teniendo en cuenta la experiencia obtenida, se plantean mejoras a los planes de monitoreo de los dinoflagelados epifitos potencialmente tóxicos, con el propósito de dar un mayor acercamiento acerca de los posibles moduladores de la dinámica de estos ensamblajes.

El presente estudio se llevó a cabo con el propósito de: 1) contrastar la composición y densidad de los dinoflagelados epifitos potencialmente tóxicos asociados a las praderas de *Thalassia testudinum* en dos sistemas costeros del Parque Nacional Natural Tayrona; 2) evaluar los cambios estacionales en la composición y densidad de estos organismos por un período de dos años, con énfasis en aquellas especies que presentaron mayores densidades; 3) establecer el efecto de las variables ambientales (salinidad, temperatura, oxígeno disuelto, pH, nutrientes: N-NO₂⁻, N-NO₃⁻, N-NH₄⁺ y P-PO₄³⁻, sólidos suspendidos totales y precipitaciones) sobre las densidades de los dinoflagelados; 4) identificar el riesgo que podrían representar estos organismos en la región y 5) plantear mejoras sobre el diseño de monitoreo de dinoflagelados epibentónicos potencialmente tóxicos, que permitan un mayor entendimiento acerca de la dinámica de estos organismos.

1 Capítulo 1

Dinoflagelados epifitos potencialmente tóxicos asociados a *Thalassia testudinum* en dos sistemas costeros del Caribe colombiano

1.1 Introducción

En las últimas décadas ha habido un incremento aparente en intoxicaciones de seres humanos y muerte de otros organismos asociado a la intensificación en las proliferaciones microalgales a nivel mundial (Hallegraeff *et al.*, 2004; Mancera-Pineda *et al.*, 2009). Los principales agentes de estos episodios son dinoflagelados planctónicos y epibentónicos (asociados a diversos sustratos) productores de potentes toxinas (Sar *et al.*, 2002; Hallegraeff *et al.*, 2004). A diferencia de las proliferaciones de células fitoplanctónicas, que pueden causar coloración del agua (mareas rojas), concentraciones incluso elevadas de dinoflagelados epibentónicos pueden pasar desapercibidas. No obstante, al igual que los planctónicos, sus toxinas se acumulan en diversos organismos marinos (peces o bivalvos), generando un riesgo a nivel de salud pública al ser consumidos por humanos (Álvarez, 1997; Álvarez, 1999; Gaitán, 2007).

Entre los principales dinoflagelados epibentónicos productores de toxinas se encuentran distintas especies pertenecientes a los géneros: *Ostreopsis*, responsables de intoxicaciones severas e inclusive letales al producir ovatoxinas, palitoxinas y análogos de éstas (Lenoir *et al.*, 2004; Brissard *et al.*, 2014); *Coolia*, productoras de cooliatoxina; *Prorocentrum*, causantes de envenenamiento diarreico por ingesta de mariscos (DSP siglas en ingles) y *Gambierdiscus*. Éste último es uno de los géneros más temidos, pues algunas especies son capaces de producir ciguatoxinas y maitotoxinas, que se acumulan en peces arrecifales (ej. *Sphyraena barracuda*) y al ser consumidos por seres humanos, ocasionan el síndrome tóxico denominado "ciguatera" (Yasumoto *et al.*, 1987; Álvarez, 1997; Álvarez, 1999; Gaitán, 2007). La ciguatera genera problemas gastrointestinales, neuronales, neuropsicológicos y cardíacos recurrentes e inclusive la muerte de seres humanos (Arcila-Herrera *et al.*, 2001; Vila *et al.*, 2001; Faust, 2009; Mancera-Pineda *et al.*, 2009).

La importancia del estudio de estos dinoflagelados epibentónicos radica en que no todas las especies son productoras de toxinas, pero debido a la amplia variabilidad morfológica que presentan, es frecuente que se realicen identificaciones erróneas. Es fundamental la identificación certera y detallada de las especies, lo cual no es sencillo empleando métodos ópticos de baja resolución.

1.2 Área de Estudio

La mayor parte de la información, así como las muestras empleadas para el desarrollo de la presente investigación proceden del proyecto regional *"Establecimiento de una red de observaciones en el Caribe para evaluar la acidificación de los océanos y su impacto en las floraciones de algas nocivas, a través del uso de técnicas nucleares e isotópicas – RLA7/020"* desarrollado por el INVEMAR y co-financiado por el Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible (MADS) a través del proyecto BPIN de INVEMAR y por el Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA).

Entre enero de 2014 y diciembre de 2015 se recolectaron muestras en dos estaciones de la Bahía de Chengue-Parque Nacional Natural Tayrona (PNNT), la primera ubicada en la Bahía hacia el costado suroccidental (11°19'07''N - 74°07'42''O) y la segunda cerca de la parte central de la Laguna sur (11°19'01''N - 74°07'36''O, Figura 1-1), sobre las praderas y parches de la fanerógama *Thalassia testudinum*.





Figura 1-1: Mapa y estaciones de muestreo en la Bahía de Chengue Parque Nacional Natural Tayrona. El punto 1 corresponde a la estación de la Bahía y el punto 2 corresponde a la estación en la Laguna sur. Imagen tomada de http://www.uniquecolombia.com

La Bahía de Chengue, ubicada en el Caribe colombiano, se encuentra aproximadamente a 14 km en dirección noreste de la ciudad de Santa Marta, (11°18′- 11°20′ N y 74°09′- 74°07′O), formando parte del Parque Nacional Natural Tayrona (PNNT; Álvarez-León *et al.*, 1995). Este Parque presenta una extensión aproximada de 150 km² y una longitud de 85 km desde el noreste de Taganga hasta la desembocadura del río Piedra (Solano, 1987). La Bahía tiene una superficie aproximada de 3,3 km² (Rodriguez-Ramírez *et al.*, 2004) y de igual manera que en las demás Bahías del Parque Tayrona, las estribaciones de la Sierra Nevada de Santa Marta se prolongan hacia el mar y sus formaciones rocosas determinan el litoral en ambos costados de la Bahía, mientras que al sur de ésta se encuentran playas estrechas como resultado de la acumulación de sedimentos.

Adyacentes a la Bahía se ubican tres lagunas costeras aisladas, una temporal y dos permanentes (Álvarez-León *et al.*, 1995; Figura 1-1). La principal, denominada Laguna sur, con un área aproximada de 0.5 km², se caracteriza por estar rodeada por una estrecha franja de manglar, compuesta principalmente por *Rhizophora mangle*. Hacia su extremo este, presenta una pequeña conexión con la Bahía de 4,8 m² aproximadamente, a través de la cual ingresa agua constantemente, sus principales aportes continentales provienen

de aguas de escorrentía y según Álvarez-León *et al.* (1995), de dos quebradas estacionales dispuestas en el margen sur de la Laguna.

El régimen climático en el área está influenciado por el patrón típico de la costa Atlántica colombiana, compuesto por una época seca de diciembre a abril y una de lluvias de mayo a noviembre. Sin embargo, se han definido cuatro períodos climáticos típicos en la región: <u>seco mayor</u> que abarca los meses de diciembre a abril, con fuerte influencia de los vientos Alisios; <u>lluvia menor</u> de mayo a junio, con una disminución parcial de estos vientos, los cuales son reemplazados por unos de menor intensidad en dirección sudoeste-oeste, acompañados de leves precipitaciones; <u>seca menor</u> o veranillo de San Juan entre julio y agosto, donde dominan nuevamente los Alisios con menor fuerza e intensidad y <u>lluvia mayor</u> de septiembre a noviembre, en la cual predominan los vientos de suroeste-oeste, acompañados de lluvias frecuentes. No obstante, este patrón varía en relación a la intensidad y duración de cada época (Franco-Herrera, 2005), particularmente cuando se ve afectado por fenómenos climáticos como El Niño o La Niña (Montealegre, 2014).

1.3 Materiales y Métodos

1.3.1 Fase de campo

El muestreo de los dinoflagelados epifitos potencialmente tóxicos se enmarcó dentro del proyecto regional mencionado anteriormente, financiado por el Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA) y desarrollado por el Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras "Jose Benito Vives de Andreis" (INVEMAR).

Los dinoflagelados de interes se obtuvieron mensualmente, entre las 9:00 y las 10:00 h, recolectando muestras de *Thalassia testudinum* en las dos estaciones establecidas (Bahía y Laguna de Chengue PNNT), mediante buceo libre a menos de 1 m de profundidad y en un área inferior a 10 m². Manualmente se removieron hojas de la fanerógama halando suavemente para evitar el desprendimiento de los organismos adheridos y se introdujeron en bolsas plásticas Ziploc® de cierre hermético hasta ocupar una tercera parte de ésta (80

a100 g aproximadamente) (Okolodkov *et al.*, 2007; Reguera *et al.*, 2011) y se almacenaron en neveras de fibra de vidrio para su traslado a la unidad de laboratorios del INVEMAR

1.3.2 Fase de laboratorio

Para desprender los dinoflagelados adheridos a las hojas de *Thalassia testudinum* se adicionó agua de mar previamente filtrada (filtro de fibra de vidrio Whatman GF/F de 0,7 µm de poro) a las bolsas con la fanerógama y se agitaron enérgicamente durante 2 min. A continuación se extrajeron las hojas; se eliminó el exceso de humedad secándolas con toallas desechables y se pesaron en una balanza de precisión METTLER PJ 3600 (nivel de precisión= 0.01 g) registrando el valor como peso (gr) húmedo (P.H.). El agua presente en las bolsas se filtró por un tamiz de 200 µm para eliminar los residuos de gran tamaño; se depositó cada muestra en un vaso de precipitado de 1000 ml y se filtró nuevamente por un tamiz de 20 µm para obtener la fracción de 20 - 200 µm. El material contenido en el último tamiz se lavó con agua de mar filtrada con ayuda de un frasco lavador y se almacenó, en un frasco plástico rotulado tipo pastillero, al volumen total de la muestra (50 a 70 ml) se le adicionó 1 ml de formol al 40% para su fijación (Reguera *et al.*, 2011).

La identificación y medición de los dinoflagelados se realizó mediante un microscopio óptico de luz Carl Zeiss Primo Star con cámara AxioCam y el programa de análisis de imagen AxioVision 4.8. Las células se montaron en placas de vidrio, aplicando una gota de hipoclorito al 6 % para limpiar y separar sus placas tecales ejerciendo una leve presión sobre el cubreobjetos. Las imágenes con epifluorescencia se obtuvieron mediante un microscopio invertido Nikon eclipse TS100, luego de aplicar una gota de calcoflúor para teñir las placas y observar la muestra bajo un filtro de luz UV (Fritz y Trimer, 1985).

La descripción morfológica ultraestructural de las células se realizó mediante un microscopio electrónico de barrido (MEB) Jeol JSM 6360LV. Para preparar los montajes se depositaron en un filtro de 5 µm de poro, de tres a cinco gotas de muestra concentrada. Para eliminar las partículas de sal presente se realizaron lavados sucesivos con agua de mar filtrada diluida con agua destilada en diferentes concentraciones (10, 20, 30, 50, 80, 90 y 100%) dejando pasar el líquido por el filtro con un intervalo de 10 min entre lavados. A continuación se realizó la deshidratación de las células empleando etanol diluido hasta

alcanzar la concentración máxima (5, 15, 30, 50, 70 y 95%), nuevamente con pausas de 10 min entre concentraciones sucesivas. Los filtros con los organismos deshidratados se montaron sobre pequeños portamuestras de aluminio metálico y para eliminar la humedad presente se introdujeron en un horno a 50 °C por 24 h. Finalmente se realizó la metalización de las muestras con oro-paladio, en un metalizador Sputtering Polaron E5000 durante 5 min, bajo una atmosfera de gas argón y una corriente de metalización de 20 m Å. Se procuró que la capa de oro-paladio no superara un grosor de 250 Å.

Para la identificación de las especies se emplearon los documentos de Fukuyo (1981), Besada *et al.* (1982), Faust *et al.* (1999), Penna *et al.* (2005), Mohammad-Noor *et al.* (2007), Litaker *et al.* (2009), Hoppenrath *et al.* (2014) y Almazán-Becerril *et al.* (2015). Para la nomenclatura de placas de los géneros *Coolia, Gambierdiscus* y *Ostreopsis* se siguió la propuesta por Besada *et al.*, (1982), empleándose la fórmula tecal Po, 4', 6'', 5''', 2'''' y teniendo en cuenta la fisión celular y la superposición de algunas placas (Figura 1-2).



Figura 1-2: Nomenclatura de la placas tecales para A. *Coolia monotis*, B. *Ostreopsis ovata* y C. *Gambierdiscus toxicus*. La línea punteada indica el área por donde se realiza la fisión de la célula y las flechas indican la dirección de superposición de las placas (tomado de Besada *et al.*, 1982).

Cabe resaltar que la toxicidad de los organismos observados en el presente estudio no ha sido determinada. Sin embargo, la mayoría de las especies descritas han sido reportadas en otras zonas del Caribe como potenciales productoras de toxinas que afectaron a diversos organismos, incluyendo seres humanos (Besada *et al.*, 1982; Ballantine *et al.*, 1985; Delgado *et al.*, 2002; Hernández-Becerril y Almazán Becerril, 2004; Delgado, 2005; Okolodkov *et al.*, 2007; Valerio y Díaz, 2007, 2008; Moreira, 2010; Mancera-Pineda, 2014; Okolodkov *et al.*, 2014; Almazán-Becerril *et al.*, 2015).

1.4 Resultados y Discusión

Se identificaron un total de 14 dinoflagelados potencialmente tóxicos asociados a las hojas de *T. testudinum*, pertenecientes a dos órdenes, tres familias y cuatro géneros (Tabla 1-1). La clasificación taxonómica de los organismos se basó en la revisión realizada por Almazán-Becerril *et al.* (2015), con algunas modificaciones teniendo en cuenta información adicional (Guiry y Guiry, 2016).

Tabla 1-1:Clasificación taxonómica de los dinoflagelados potencialmente tóxicosasociados a las praderas de Thalassia testudinum en la Bahía y la Laguna de Chengueentre enero de 2014 y diciembre de 2015. Modificado de Almazán-Becerril et al., 2015.

```
      Orden Gonyaulacales Taylor 1980

      Familia Goniodomataceae Lindemann 1928

      Género Gambierdiscus Adachi et Fukuyo 1979

      Gambierdiscus sp1

      Gambierdiscus sp2

      Familia Ostreopsidaceae Lindemann 1928

      Género Coolia Meunier 1919

      Coolia sp1

      Coolia sp2

      Género Ostreopsis Schmidt 1901
```

| | | | <i>Ostreopsis</i> cf. <i>ovata</i> Fukuyo 1981 |
|-------|------------|---------------------|---|
| | | | Ostreopsis cf. lenticularis Fukuyo 1981 |
| | | | Ostreopsis sp. |
| Orden | Prorocentr | ales Lemmermann 1 | 910 |
| | Familia | Prorocentraceae Ste | ein 1883 |
| | | Género Prorocen | ntrum Ehrenberg 1834 |
| | | | Prorocentrum hoffmannianum Faust 1990 |
| | | | Prorocentrum lima (Ehrenberg) Stein 1878 |
| | | | Prorocentrum emarginatum Fukuyo 1981 |
| | | | <i>Prorocentrum rhathymum</i> Loeblich, Shirley et Schmidt 1979 |
| | | | Prorocentrum cf. concavum Fukuyo 1981 |
| | | | Prorocentrum sp1 |
| | | | Prorocentrum sp2 |
| | | | |

Entre los cuatro géneros presentes, *Prorocentrum* fue el más representativo durante el muestreo, con un aporte del 50 % en el número de especies, lo que coincide con lo reportado en estudios previos en otras partes del Caribe (Valerio y Díaz, 2008; Almazán-Becerril *et al.*, 2015), seguido por *Ostreopsis* con un 21 %. El número de especies fue similar entre ambos sistemas, con una diferencia de dos especies más en la Bahía. Sin embargo las diferencias fueron más evidente en términos de composición: *Coolia* sp1; *Coolia* sp2; *Ostreopsis* cf. *lenticularis* y *Prorocentrum emarginatum* sólo se observaron en la Bahía, mientras que *Gambierdiscus* sp2 y *Prorocentrum* sp2 se encontraron únicamente en la Laguna (Tabla 1-2). Estas diferencias se pueden atribuir a las preferencias de cada especie por determinadas condiciones ambientales óptimas para su desarrollo.

En la Bahía, *Prorocentrum lima*, *P. hoffmannianum* y *Ostreopsis* cf. *ovata* se consideraron como constantes, teniendo en cuenta su aparición en todas las muestras durante ambos años, mientras que Coolia sp2, *P. rhathymum, Gambierdiscus* sp1 y *Prorocentrum* sp1 se consideraron ocasionales. En contraste, *Prorocentrum* sp1 fue la especie más frecuente

(79 %) en la Laguna, seguida de *P. rhathymum* (71 %), mientras que *Gambierdiscus* sp2 y *P. cf. concavum* fueron esporádicas (Tabla 1-2).

Tabla 1-2:Presencia-ausencia y frecuencia (%) de las especies presentes en muestrasde *Thalassia testudinum* en la Bahía (B) y la Laguna (L) de Chengue PNNT entre enero de2014 y diciembre de 2015.

| Esnecie | Estaciones | | | |
|-----------------------------|------------|-----|---|----|
| Lapecie | В | % | L | % |
| Gambierdiscus sp1 | х | 4 | Х | 13 |
| Gambierdiscus sp2 | | 0 | Х | 4 |
| Coolia sp1 | х | 67 | | 0 |
| Coolia sp2 | х | 8 | | 0 |
| Ostreopsis cf. ovata | х | 100 | Х | 13 |
| Ostreopsis cf. lenticularis | х | 58 | | 0 |
| Ostreopsis sp. | х | 83 | Х | 33 |
| Prorocentrum hoffmannianum | х | 100 | х | 25 |
| Prorocentrum lima | х | 100 | Х | 46 |
| Prorocentrum emarginatum | х | 42 | | 0 |
| Prorocentrum rhathymum | х | 8 | Х | 71 |
| Prorocentrum cf. concavum | х | 29 | Х | 4 |
| Prorocentrum sp1 | х | 4 | Х | 79 |
| Prorocentrum sp2 | | 0 | Х | 17 |

A continuación se hace una descripción morfológica, toxinológica y del hábitat en el cual se pueden encontrar los dinoflagelados potencialmente tóxicos observados sobre las praderas de *Thalassia testudinum* en la Bahía y Laguna de Chengue PNNT, observados entre enero de 2014 y diciembre de 2015.

Gambierdiscus sp1

Descripción: Célula grande (L: $81.75 \pm 4.32 \mu$ m; A: $81.24 \pm 6.73 \mu$ m; n= 4). Presenta una forma semicircular, con una muesca sulcal notoria. En vista antapical el sulcus es profundo

y estrecho en forma de U. Cuerpo ligeramente comprimido en sentido apico-antapical. Superficie densamente provista de pequeños poros. Placa 2' rectangular (L: 47 μ m; A: 20-25 μ m), placa 2'''' pentagonal, ancha (L: 50 μ m; A: 37 μ m; Figura 1-3). Según las estructuras observadas, en particular la forma de las placas 2' y 2'''', y siguiendo las descripción realizada por Litaker *et al.* (2009) las características de la especie coinciden con las de *G. caribaeus*. Sin embargo, es necesaria una observación más detallada de los organismos para realizar esta afirmación.

Hábitat: Género típicamente circumtropical, comúnmente bentónico sésil sobre diversos sustratos incluyendo macroalgas, pastos marinos, arena y coral muerto en zonas protegidas del oleaje y alejadas de aportes de aguas continentales (Faust, 1995; Hallegraeff *et al.*, 2004; Tester *et al.*, 2014). En caso de perturbaciones pueden nadar desplazándose cortas distancias (Hallegraeff *et al.*, 2004).

Toxicidad: No confirmada para los especímenes observados en Chengue, sin embargo, algunas especies del género *Gambierdiscus* son las principales productoras de gambiertoxina y maitotoxina, toxinas causantes de la Ciguatera (Hallegraeff *et al.*, 2004; Litaker *et al.*, 2010; Parsons *et al.*, 2012).



Figura 1-3: Micrografías de *Gambierdiscus* sp1 al microscopio óptico (A-E) y microscopio electrónico de barrido (F-G). A-B. Célula en vista antapical; C. Placa apical 2'; D. Placa antapical 2'''; E. Vista lateral, F. Vista antapical en MEB; G. Detalle de los poros que recubren la célula. Po: Poro apical. Barra de escala (A-F)= 20 μm, (G)= 5 μm.

Gambierdiscus sp2

Descripción: Célula de gran tamaño (L: 76.30 µm; A: 70.00 µm; n= 1), comprimida en sentido apico-antapical. La forma es menos circular que en *Gambierdiscus* sp1 y el extremo dorsal izquierdo de la célula es ligeramente aguzada hacia la periferia (Figura 1-4). Sulcus profundo y ancho en forma de U evidente en vista antapical. Superficie de las placas cubierta por pequeños poros. Poro apical (Po) centrado y desplazado hacia la parte ventral (sulcus). La forma de las placa 2' y 2'''' no fue muy clara, lo cual hizo compleja su identificación a nivel de especie.



Figura 1-4: Micrografías de *Gambierdiscus* sp2 al microscopio óptico (A-F) y al microscopio electrónico de barrido (G-H). A-B. Vista antapical; C-D. Detalles del sulcus; E. Placas y poro apical (Po); F. Vista lateral; G. Vista antapical al MEB; G. Detalle de los poros que recubren las placas celulares. Barra de escala (A-G)= 20 µm; (H)= 5 µm.

Coolia sp1

Descripción: Forma pequeña (L: $29.96 \pm 2.59 \mu$ m; A: $28.01 \pm 2.38 \mu$ m; n= 18), redondeada y ligeramente comprimida en sentido anteroposterior, similar a una lenteja. En vista dorsal, el ápex se desplaza hacia atrás y el antápex se aproxima al área ventral, similar a lo observado por Fukuyo (1981) en *C. monotis*. Poro apical (Po) visible en microscopio óptico, situado entre las placas 2' y 4' en posición apical superior izquierda de la célula. Placas

apicales 4' y 5" amplias, similares en tamaño. Placa 3" centrada y amplia, ocupando gran parte del área ventral de la hipoteca. Presenta pequeños poros que recubren las placas que lo revisten. Sulcus estrecho, con dos membranas sulcales que se proyectan fuera de éste a cada lado (Figura 1-5). Las placas apicales poseen un patrón similar al observado en el género *Ostreopsis*. La especie es similar a *C. monotis*. Sin embargo, esta última tiene un sulcus profundo expandiéndose casi hasta ocupar una cuarta porción de la célula, mientras que en el organismo aquí observado el sulcus es corto, abriéndose hacia la base.

Hábitat: Género marino, común en aguas tropicales y subtropicales. Epifito/bentónico asociado a macroalgas y pastos marinos. La especie más frecuente, *C. monotis*, ha sido observada en muestras planctónicas, hábitat salobres, lagunas costeras y en zonas con manglar, en aguas someras y cálidas (Faust, 1992; Steidinger y Tangen, 1996).

Toxicidad: No confirmada en la zona de estudio, sin embargo, algunas especies del género son potencialmente tóxicas, productoras de cooliatoxina, una potente neurotoxina que puede ocasionar dificultades respiratorias y el bloqueo de algunos nervios fundamentales para el funcionamiento del sistema nervioso (Holmes *et al.*, 1995; Fraga *et al.*, 2008).





Figura 1-5: Micrografías de *Coolia* sp1 en microscopio óptico (A-E) y microscopio electrónico de barrido (F-H). A. Vista apical; B-C. Vista antapical (la flecha señala una de las membranas sulcales); D. Vista lateral; E-F. Vista ventral y detalles del sulcus; G. Vista apical en MEB; H. Vista antapical. Po: Poro apical. Barra de escala (A-E)= 20 μ m, (F-G)= 5 μ m, (H)= 10 μ m.

Coolia sp2

Descripción: Célula redondeada globular, epiteca ligeramente comprimida hacia uno de los extremos. Dimensiones del único organismo observado: L =38.89 μ m, A: 40.13 μ m. El sulcus es aún más estrecho que en *Coolia* sp1, con presencia de las dos pequeñas membranas sulcales que se proyectan fuera de éste a cada lado (Figura 1-6). No fue posible una observación más detallada de las placas, teniendo en cuenta que solo se encontró una célula en las muestras.



Figura 1-6: Micrografías de *Coolia* sp2 en microscopio óptico. A. Vista antapical (la flecha señala las dos pequeñas membranas que se proyectan fuera del sulcus), B. Vista lateral de la célula, C. Vista ventral y detalles del sulcus y cingulum, Barra de escala= 20 µm.

Ostreopsis cf. ovata

Descripción: Célula ovalada, alargadas y aguzada hacia el extremo ventral, similar a una lágrima. La forma del género más pequeña entre las observadas en las muestras (L: 66.17 \pm 3.51 µm; A: 39.85 \pm 3.29 µm; n= 35). El poro apical (Po) es estrecho y se encuentra notoriamente desplazado dorso-lateralmente hacia la izquierda de la zona apical, siendo casi imposible observar la placa 2'; sutura entre las placas suaves y poco visibles. La forma es similar a *O. ovata*, sin embargo, según las descripciones realizadas por Penna *et al.* (2005), el organismo difiere de ésta última en la forma de las placas 4', 3' y 2'''', similares a las observadas en *O. heptagona*, a excepción de la sutura señalada con la flecha en la Figura 1-7, pues en *O. heptagona* ésta entra en contacto directamente con la placa 4' y en la especie observada hace contacto con la placa 3'. La variabilidad morfológica de esta especie es bastante amplia y su clasificación taxonómica aún se encuentra en construcción empleando bases genéticas (Penna *et al.*, 2005).

Hábitat: *O. ovata* es una especie marina, bentónica, que puede estar adherida a macrófitas y a otros sustratos. Es común en zonas tropicales, subtropicales y templadas. Sin embargo, suele ser más frecuente en aguas cálidas (Parsons *et al.*, 2012). Se han observado ocasionalmente, al igual que *Ostreopsis* sp., en muestras planctónicas (INVEMAR, datos no publ.).

Toxicidad: La especie ha sido reportada como productora de diversas toxinas, incluyendo ostreocinas y palitoxinas (Granéli *et al.*, 2011) causantes de problemas gastrointestinales, respiratorios y dermatológicos en los seres humanos (Parsons *et al.*, 2012). Puede ocasionar la mortandad de otros organismos, sin embargo, su toxicidad no ha sido confirmada en la zona de estudio.



Figura 1-7: Micrografías de *Ostreopsis* cf. *ovata* observado al microscopio óptico. A. Vista apical; B. Detalle de las placas apicales; C. Vista antapical y detalle de placas; D. Detalles de la sutura de las placas y del complejo del poro apical (la flecha señala la sutura característica entre las placas); E. Vista apical con epifluorescencia. Po: Poro apical. Barra de escala = 20 μm.

Ostreopsis sp.

Descripción: Las células presentan una forma ovoide, algo puntiaguda hacia la parte ventral en vista apical. Dimensiones: L: $84.84 \pm 5.74 \mu m$; A: $64.61 \pm 5.49 \mu m$; n= 37. Comprimida dorso-ventralmente, las tecas presentan una ondulación evidente en vista lateral (Figura 1-8). Tecas cubiertas por un solo tipo de poros, algo distante entre ellos y en

el margen externo de las tecas es evidente una línea continua de éstos. Poro apical (Po) angosto y alargado con una curvatura paralela a la periferia superior izquierda de la célula. Es posible que este grupo esté conformado por más de una especie, teniendo en cuenta su variabilidad en tamaño y formas. Sin embargo, cabe resaltar que la descripción taxonómica de este género no es muy clara y la mayoría de las características se sobreponen entre especies, haciendo muy compleja su diferenciación. Penna *et al.* (2005) indican que es posible observar una alta variabilidad morfológica entre células de la misma especie y Almazán-Becerril *et al.*, (2015) mencionan que la taxonomía de este género es tan ambigua que hace imposible la diferenciación entre especies.

Toxicidad: No confirmada para los organismos de la zona. Varias especies pertenecientes al género son productoras de potentes toxinas, tales como ostreocinas y palitoxinas en otras partes del mundo (Granéli *et al.*, 2011).





Figura 1-8: Micrografías de *Ostreopsis* sp. al microscopio óptico (A-F) y microscopio electrónico de barrido (G-I). A. Célula en vista antapical; B. Detalle de placas apicales; C. Placas apicales teñidas con calcofluor y vistas con epifluorescencia; D-E. Vista antapical interna de las placas; F. Poro apical (Po) y poros en microscoío óptico; G. Vista apical en MEB; H. Detalle del Po, I. Poros que recubren la célula. Barra de escala (A-E)= 20 μ m, (G)= 10 μ m, (H)= 2 μ m, (I)= 5 μ m.

Ostreopsis cf. lenticularis

Descripción: Célula redondeada, lenticular, ligeramente puntiaguda hacia el sulcus. Dorsoventralmente comprimida y de mayor tamaño que las demás especies de este género observadas en las muestras. Dimensiones: L: $102.12 \pm 6.99 \mu$ m; A: $83.79 \pm 6.37 \mu$ m; n= 24. Las tecas están cubiertas por dos tipos de poros: unos pequeños y más abundantes y otros gruesos, ambos visibles al microscopio óptico. Po angosto y alargado (Figura 1-9). Presenta el mismo patrón de placas que *Ostreopsis* sp sin embargo, *O. cf. lenticularis*, aparte de presentar dos tipos de poros, es redondeado y carece de ondulación en las tecas, coincidiendo con la descripción realizada por Hallegraeff *et al.* (2004). Faust (1999) indica que la presencia de los dos tipos de poros se da en *O. siamensis*, sin embargo, Fukuyo (1981) y Parsons *et al.* (2012) coinciden en que esta característica es típica de *O. lenticularis*.

Hábitat: Especie bentónica adherida a rocas y otros sustratos o epifita de macrófitas en aguas circumtropicales someras (Hallegraeff *et al.*, 2004).

Toxicidad: La especie se ha registrado como potencialmente tóxica, productora de palitoxinas y otras toxinas análogas perjudiciales para diversos organismos, incluidos los humanos (Granéli *et al.*, 2011, Hallegraeff *et al.*, 2004, Hoppenrath *et al.*, 2014). No se ha confirmado su toxicidad en la zona.



Figura 1-9: Micrografías de *Ostreopsis* cf. *lenticularis* al microscopio óptico. A. Vista de la región apical de la célula indicando las placas y el poro apical (Po); B-C. Vista antapical interna de las placas; D. Detalle de los poros en las placas que recubren la célula (las flechas indican los dos tipos de poros). Barra de escala (A-C)= 20 μm.

Prorocentrum hoffmannianum

Sinonimia: *Exuviaella hoffmanniana* (Faust) McLachlan, Boalch et Jahn1997. *Exuviaella hoffmannianum* (Faust) McLachlan et Boalch (Hoppenrath *et al.*, 2014).
Descripción: La célula presenta una forma ovalada ancha, similar a una lágrima, algo más estrecha hacia el área apical, con un aplanamiento dorso-ventral más evidente hacia el centro de la célula, donde se ubica el pirenoide. Dimensiones: L: $50.59 \pm 3.06 \mu$ m; A: 37.28 $\pm 2.42 \mu$ m; n= 38. Superficie de las placas reticulada-excavada (Hoppenrath *et al.*, 2013), poros con forma arriñonada dispersos sobre las placas, ausentes en el centro de estas. Área periflagelar en forma de "V" con ocho placas (1-8) y un collar apical adyacente amplio; placa periflagelar 1 con tres hendiduras (Figura 1-10), coincidiendo con la descripción realizada por Hoppenrath *et al.* (2013). Su morfología presenta variaciones en forma y tamaño e inclusive se observaron células con el collar apical algo reducido. La especie es fácilmente confundida con *P. sabulosum, P. tropicale* y *P. belizeanum*, pero Herrera-Sepúlveda *et al.* (2015) confirmaron mediante análisis moleculares que no existe diferencia entre *P. hoffmannianum* y *P. belizeanum*. En cuanto a las demás especies, Hoppenrath *et al.* (2014) sugiere que es necesario realizar un análisis más detallado para establecer los límites que las separan.

Hábitat: Especie marina, bentónica, ampliamente distribuida en áreas tropicales y subtropicales, que suele encontrarse sobre diversos sustratos, tales como arena, rocas o fanerógamas (Chomérat *et al.*, 2010).

Toxicidad: Especie potencialmente tóxica, productora de ácido okadaico y sus análogos, los cuales generan envenenamiento diarreico por ingesta de moluscos (o DSP por sus siglas en inglés, Diarrhetic Shellfish Poisoning) (Faust *et al.*, 1999; Hoppenrath *et al.*, 2013). No se ha confirmado su toxicidad en el área de estudio.





Figura 1-10: Micrografías de *Prorocentrum hoffmannianum* al microscopio óptico (A-C) y microscopio electrónico de barrido (A-B). A. Célula en vista ventral; B. Placa derecha con detalle de poros; C. Placa izquierda; D. Célula en vista ventral (MEB); E. Vista dorsal; F. Detalle del collar apical; G. Detalle de poros y areolas que recubren la célula; H. Vista lateral y banda intercalar; I-J. Área periflagelar (apical); K. Placas periflagelares y enumeración

propuesta por Hoppenrath *et al* (2013). Pr: pirenoide; pa: poro accesorio; pf: poro flagelar. Barra de escala (A-C)= 20 μ m, (D-E)= 10 μ m, (F-G)= 2 μ m, (H) = 10 μ m, (I)= 5 μ m, (J-K)= 1 μ m.

Prorocentrum lima

Basionimia: Cryptomonas lima Ehrenberg 1860

Sinonimia homotípica: *Exuviaella lima* (Ehrenberg) Bütschli 1885, *E. marina* var. *lima* (Ehrenberg) Schiller 1931 (Guiry y Guiry, 2016).

Sinonimia heterotípicas: *Exuviaella marina* Cienkowski 1881, *Dinopyxis laevis* Stein 1883, *E. laevis* (Stein) Schroder 1900, *E. cincta* Schiller 1918, *E. ostenfeldi* Schiller 1933, *E. caspica* Kiselev 1940, P. marinum Dodge et Bibby 1973, P. arenarium Faust 1994 (Guiry y Guiry, 2016).

Descripción: Célula ovoide, ovalada oblonga. Dimensiones: L: $40.44 \pm 2.92 \mu$ m; A: 25.02 \pm 1.99 μ m (n= 42). En vista valvar es más estrecha hacia el área periflagelar y lenticulada elipsoidal en vista lateral, ligeramente aplanada hacia la parte central, donde se ubica internamente un prominente pirenoide visible al microscopio óptico (Figura 1-11). Superficie tecal suave con pequeños poros dispersos (ovalados y redondos) que forman una hilera marginal, inclusive rodeando el área periflagelar, porción central de ambas tecas desprovistas de poros. Área periflagelar en forma de "V" con ocho placas (1-8) adyacentes al poro flagelar (Hoppenrath *et al.*, 2013). La especie presenta una amplia variabilidad de formas y tamaños, lo que genera inconvenientes en su identificación.

Hábitat: Especie marina, epibentónica, incrustada en la arena o adherida a diversos sustratos incluyendo macrófitas. Ampliamente distribuida en aguas tropicales (Hoppenrath *et al.*, 2013; Hoppenrath *et al.*, 2014). Fukuyo (1981) indica que al realizar cultivos de esta especie, normalmente se adhiere a las paredes del recipiente y es raro encontrarlas nadando libremente. Sin embargo, la especie se ha observado esporádicamente y con bajas densidades en muestras planctónicas (Vila *et al.*, 2001, Levasseur *et al.*, 2003, INVEMAR, datos no pub.).

Toxicidad: No se ha confirmado su toxicidad en el área de estudio. Sin embargo la especie se considera potencialmente tóxica, productora de ácido okadaico y otras toxinas análogas, ocasionando envenenamiento diarreico por ingesta de moluscos (Murakami *et al.*, 1982; Lee *et al.*, 1989; Torigoe *et al.*, 1988).





Figura 1-11: Micrografías de *Prorocentrum lima* al microscopio óptico (A-B) y microscopio electrónico de barrido (C-H). A. Célula en vista ventral; B. Placa derecha con poros tecales; C. Vista ventral al MEB; D. Célula en vista dorsal; E. Vista interna de la placa izquierda; F-G. Área periflagelar (apical); H. Placas periflagelares y enumeración propuesta por Hoppenrath *et al.* (2013). Pr: pirenoide; pa: poro accesorio; pf: poro flagelar. Barra de escala (A-B)= 20 μ m, (C y E)= 10 μ m, (D)= 5 μ m, (F)= 2 μ m, (G-H)= 1 μ m.

Prorocentrum emarginatum

Descripción: Célula asimétrica, redondeada, ligeramente ovalada, un poco menos ancha hacia el extremo apical. En vista lateral las tecas se ven ligeramente comprimidas dorsoventralmente. Dimensiones: L: $36.66 \pm 1.97 \mu m$; A: $32.04 \pm 1.45 \mu m$ (n= 8). Teca de textura suave con dos tipos de poros en filas (Figura 1-12), dispuestos radialmente desde la periferia hacia el centro de la célula, sin estar del todo presentes en la porción central de la teca. Área periflagelar en forma de "V" fuertemente marcada, nueve placas periflagelares (1 2 3 4 5 6 a, b 7 8) (Hoppenrath et al., 2013). En vista ventral es posible observar que los dos hombros apicales son desiguales, siendo el derecho romo y el izquierdo algo más aguzado. En el área periflagelar sobresale una estructura en forma de ala que bordea la placa periflagelar 1 hacia el extremo derecho de la célula, difícil de detectar al microscopio óptico (Figura 1-12). La especie puede confundirse con Prorocentrum fukuyoi y con P. scuptile. Sin embargo, a diferencia de P. fukuyoi, las células observadas no presentan pequeños poros en el centro de la teca y tampoco poseen una superficie tecal reticuladaexcavada como ocurre en P. scuptile, coincidiendo con la descripción de P. emarginatum realizada por Hoppenrath et al. (2013). Sin embargo, se requiere una revisión más detallada tanto a nivel morfológico como molecular para establecer una clara diferencia entre estas tres especies y lograr comprender la variabilidad de las diferentes características.

Hábitat: Especie marina epibentónica, común en aguas del Caribe. Faust (1999) la reporta en bajas densidades, sobre sedimento como rocas o coral muerto, adherida a macrófitas e inclusive sobre material flotante.

Toxicidad: No se ha confirmada la toxicidad de esta especie. Sin embargo, su presencia se ha asociado con la de otros dinoflagelados bentónicos productores de toxinas (Faust *et al.*, 1999).





Figura 1-12: Micrografías de *Prorocentrum emarginatum* al microscopio óptico (A-D) y microscopio electrónico de barrido (E-G). A-B. Célula en vista ventral; C. Teca derecha donde se observa levemente el patrón de poros; D. Teca izquierda; E. Detalle de los dos tamaños de poros (flechas blancas) al MEB; F. Vista ventral; G. Detalle del área periflagelar y ala apical. Barra de escala (A-D)= 20 µm, (E)= 5 µm, (F)= 10 µm, (G)= 2 µm.

Prorocentrum rhathymum

Descripción: Célula asimétrica, ovalada y oblonga. Dimensiones: L: $32.08 \pm 3,83 \mu$ m; A: 22,38 ± 2,00 µm (n= 5). Pirenoide presente; superficie de las tecas de textura suave, presentando un patrón de poros característico, una hilera de poros apicales y algunas hileras de poros radiales hacia la el extremo posterior. Porción central de las tecas desprovistas de poros. Área periflagelar estrecha en forma de "V"; uno de los extremos de la placa periflagelar 1 se extiende en forma de espina proyectándose hacia el extremo apical derecho de la célula (Figura 1-13); nueve placas periflagelares (1 2 3 4 5 6a,b 7 8) (Hoppenrath *et al.*, 2013). La especie tiende a confundirse con *P. mexicanum*. En un principio se estableció que el nombre se trataba de una sinonimia, pero Cortés-Altamirano y Sierra-Beltrán (2003) confirmaron la diferencia en cuanto a las formas y ornamentaciones entre ambas especies, así como su hábitat, siendo *P. mexicanum* planctónica y *P. rhathymum* epibentónica.

Hábitat: Especie marina, epibentónica, común sobre macroalgas y otros sustratos. Se encuentra ampliamente distribuida en aguas tropicales y templadas (Hallegraeff *et al.*, 2004).

Toxicidad: Potencial productora de toxinas. Bomber y Aikman (1989) registraron la presencia de toxinas hemolíticas en cultivos de la especie. No se ha confirmado su toxicidad en el área de muestreo.



Figura 1-13: Micrografías de *Prorocentrum rhathymum* al microscopio óptico. A-B. Célula en vista ventral (la flecha señala la espina apical); C. Vista de las teca izquierda y patrón de poros; D. Separación de las tecas, en el centro material citoplasmático. Pr: pirenoide. Barra de escala (A-D) = 20 µm.

Prorocentrum cf. concavum

Descripción: Célula ancha, redondeada ovoide, algo más estrecha hacia la parte apical. Dimensiones: L: 44.91 \pm 0.59 µm; A: 39.32 \pm 1.34 µm; (n = 3), con presencia de pirenoide (Figura 1-14). Superficie de las placas reticulada-excavada con poros, los cuales no se encuentran en el centro de las placas de mayor tamaño. Área periflagelar amplia en forma de "V", ocho o nueve placas periflagelares (1 a, b 2 3 4 5 6 7 8) (Hoppenrath *et al.*, 2013).

No fue posible hacer un estudio más detallado del organismo para confirmar la especie debido a que sólo se observaron un par de células en las muestras.

Hábitat: Organismo marino, frecuentemente asociado a macroalgas y sobre sedimento (Faust *et al.*, 1999), tanto en el Pacifico (Fukuyo, 1981) como en el Caribe (Valerio y Díaz, 2007; Almazán-Becerril *et al.*, 2015).

Toxicidad: Se ha demostrado que *P. concavum* es capaz de producir potentes toxinas, incluyendo ácido okadaico y algunos compuestos ictiotóxicos no definidos (Faust *et al.*, 1999; Bomber y Aikman, 1989; Hoppenrath *et al.*, 2014), pero no se ha comprobado la toxicidad de este organismo en la zona de muestreo.



Figura 1-14: Micrografías de *Prorocentrum* cf. *concavum* al microscopio óptico. A-C. Célula en vista ventral; D. Placa derecha con poros tecales. pr: pirenoide; Barra de escala = 20 μm

Prorocentrum sp1

Descripción: Célula simétrica, ovalada oblonga, ocasionalmente redondeada. Dimensiones: L: 40.95 μ m ± 2.27; A: 33.82 μ m ± 2.37 (n = 24), con pirenoide presente. Superficie de las placas de textura suave cubierta por pequeños poros (Figura 1-15). Área periflagelar en

forma de "U" poco marcada. Se requiere un estudio más detallado del organismo para determinar su especie.



Figura 1-15: Micrografías de *Prorocentrum* sp1 al microscopio óptico. A. Célula en vista ventral; B. Detalle de la célula adherida a una partícula (la flecha señala el mucus); C. Vista lateral de célula adherida a detritus. D. Vista ventral; E. Placa derecha; F. Detalle de la superficie tecal con pequeños poros. Pr: pirenoide. Barra de escala = 20 µm.

Prorocentrum sp2

Descripción: Célula asimétrica ovalada oblonga. Dimensiones: L: 46.95 μ m ± 1.04; A: 31.95 μ m ± 1.59 (n = 8), en forma de frijol, con una curvatura hacia el margen izquierdo de la célula. Margen derecho de la célula redondeado y el izquierdo presenta una curvatura hacia el centro de la célula. Superficie de las tecas de textura suave, varias hileras de poros radiales hacia el extremo posterior de la célula. Área periflagelar poco profunda en forma de "V" de la cual sobresale una espina apical alargada, no siempre visible en todas las células debido a que parece ubicarse de forma horizontal sobre el área periflagelar (Figura 16). La especie presenta características similares a las de *P. rhathymum*, pero difiere de

esta en su forma y tamaño. Es necesario un estudio más detallado del organismo para identificarlo a nivel de especie. No fue posible obtener mayor información debido a su baja frecuencia en las muestras durante el período de muestreo.





Es evidente, tanto en la descripción como en las imágenes obtenidas, la variación en tamaño y forma de muchos de los organismos, lo cual hace que la identificación a nivel de especie sea compleja e inclusive confusa. Es necesario implementar varias estrategias para hacer correctamente la identificación. Entre ellas, establecer cultivos con el fin de conseguir suficientes células para observarlas en microscopio electrónico de barrido y lograr su análisis desde diferentes ángulos. Así mismo, es fundamental complementar el análisis óptico con el genético, aplicando técnicas moleculares, para apoyar los resultados. La correcta identificación de las especie es fundamental para cualquier estudio que pretenda aportar elementos para la gestión del riesgo frente a efectos tóxicos o nocivos por dinoflagelados bentónicos.

2 Capítulo 2

Variación espacio-temporal de los dinoflagelados epifitos potencialmente tóxicos y su relación con variables ambientales en dos sistemas costeros del Caribe colombiano

2.1 Introducción

En los últimos años se ha evidenciado un interés global por el conocimiento de los efectos negativos que varias especies de microalgas pueden generar. Algunos de estas especies bajo condiciones particulares, incrementan su número y/o se agregan formando Floraciones Algales Nocivas - FANs (Hallegraeff *et al.*, 2004; Mancera-Pineda *et al.*, 2009), pudiendo ocasionar la muerte de diversos organismos debido a causas físicas, tales como el agotamiento de oxígeno del medio o por estructuras morfológicas de las células que generan graves lesiones en las branquias de los peces (Hallegraeff *et al.*, 2004). No obstante, la mayor preocupación radica en una centena de especies que, como parte de su metabolismo, producen potentes toxinas, resultando letales para algunos seres vivos incluyendo el ser humano (Sar *et al.*, 2002; Hallegraeff *et al.*, 2004; Gómez *et al.*, 2011; Mancera-Pineda *et al.*, 2009). Estas microalgas marinas tóxicas pueden causar impactos negativos aún en bajas densidades celulares (1x10³ cél. L⁻¹), generando importantes pérdidas económicas, como ha sido reportado en varios países costeros que soportan su economía en los servicios ecosistémicos proporcionados por el mar (Delgado, 2005).

Entre las microalgas tóxicas, los dinoflagelados poseen la mayor cantidad de especies productoras de toxinas (Gómez et al., 2011). Algunos de los géneros más perjudiciales son Alexandrium, Gymnodinium, Pyrodinium causantes de la intoxicación paralizante por ingesta de moluscos (PSP-Paralytic Shellefish Poisoning), Karenia que ocasiona la intoxicación neurotóxica por consumo de moluscos (NSP-Neurotoxin Shellefish Poisoning) y Dinophysis, ocasionando intoxicación diarreica (DSP-Diarrheic Shellfish Poisoning) asociada a varias toxinas (Hallegraef et al., 2004). Entre los dinoflagelados epibentónicos, varios integrantes del género Ostreopsis son responsables de intoxicaciones severas e inclusive letales al producir ovatoxinas, palitoxinas y análogos de éstas (Hallegraeff et al., 2004; Lenoir et al., 2004; Granéli et al., 2011; Bravo et al., 2012; Brissard et al., 2014; Hoppenrath et al., 2014), Coolia productora de cooliatoxina y especies del genero Prorocentrum causantes de DSP. Gambierdiscus, es uno de los géneros que ha ocasionado mayor controversia pues varias especies son capaces de producir maitotoxinas y gambiertoxina las cuales al acumularse en algunos peces se transforman en ciguatoxinas (Nordström, 2013) y se biomagnifican a través de la trama trófica hasta llegar al ser humano en el cual se produce la ciguatera (CFP-Ciaguatera Fish Poisoning; Álvarez, 1997; Álvarez,

1999; Gaitán, 2007). Esta enfermedad genera diversos problemas gástricos, neuronales y cardiacos, que pueden ser temporales, permanentes e inclusive mortales (Arcila-Herrera *et al.*, 2001; Vila *et al.*, 2001; Faust, 2009; Mancera-Pineda *et al.*, 2009).

La ciguatera suele tener una mayor incidencia en áreas tropicales y subtropicales, donde las aguas son cálidas a lo largo del año, por tal motivo se tiene un menor conocimiento acerca de esta. Sin embargo, debido al incremento en la temperatura del agua como consecuencia de cambios climáticos, esta enfermedad ha expandido sus fronteras y cada vez es más recurrente en otras zonas del mundo (Chateau-Degat *et al.*, 2005), afectando entre 25000 y 500000 personas al año (Lewis y Stelin 1992, Stinn, *et al.*, 2000, Gingold *et al.*, 2014), de las cuales menos del 10% de los casos son reportados (Friedman *et al.*, 2008).

Así mismo, en las últimas décadas en el Pacifico sur los casos se han incrementado en un 60% (Skinner *et al.*, 2011) y en el Caribe aproximadamente en un 32% (Tester *et al.*, 2010; Celis y Mancera, 2015). Diversas investigaciones concuerdan en que las variaciones ambientales, particularmente las relacionadas con cambios en la temperatura, pueden tener efecto positivos sobre las densidades de los dinoflagelados bentónicos/epifitos tóxicos, por tal motivo se ha hipotetizado que eventos como el cambio climático global podría actuar como potencializador de estas proliferaciones en diversas zonas costeras del mundo, intensificando los episodios de ciguatera y otras intoxicaciones asociadas (Hallegraeff *et al.*, 2004; Accoroni, 2012; Gingold *et al.*, 2014).

Los dinoflagelados epibentónicos tóxicos anteriormente mencionados se encuentran en ambientes con condiciones particulares y como en muchas otras microalgas su desarrollo se debe, en parte, a la fijación de carbono inorgánico y a la captación de nutrientes disponibles en el agua, procesos que se ven influenciados por la intensidad lumínica, la disponibilidad de estos nutrientes y la temperatura. A diferencia del fitoplancton presente en la columna de agua, los dinoflagelados epibentónicos están en aguas poco profundas asociados a diferentes sustratos, entre los más comunes se encuentran macroalgas, pastos marinos, restos de coral, rocas y sedimentos (Aligizaki *et al.*, 2009; Cohu *et al.*, 2011; Accoroni, 2012).

Se ha registrado que tanto la presencia como la abundancia celular de estos dinoflagelados se encuentran influenciadas por variables ambientales que incluyen factores físicos

(temperatura, intensidad de los vientos, cantidad de luz disponible, oleaje y corrientes) y químicos (salinidad, pH, nitratos, nitritos amonio, fosfatos), que parecen relacionarse a su vez con la variabilidad climática local (Delgado, 2005; Mancera-Pineda *et al.*, 2014).

Aunque algunos autores han observado patrones en las variaciones estacionales relacionadas con las altas densidades de estos dinoflagelados, evidenciando picos durante algunos meses del año (Okolodkov *et al.*, 2007; 2014; Accoroni, 2012), sin embargo, este comportamiento no parece ser claro en la mayoría de los estudios (Ballantine *et al.*, 1985). De igual manera sucede con las relaciones entre estos organismos y las variables fisicoquímicas del agua, pues aunque en algunas investigaciones se demuestra el incremento de dinoflagelados epifitos tóxicos en ambientes con luminosidad, temperaturas y disponibilidad de nutrientes altas, baja salinidad y poco movimiento del agua (Okolodkov *et al.*, 2014; Fraga *et al*, 2012), otros no coinciden en señalar este comportamiento (Ballantine *et al.*, 1985; Okolodkov *et al.*, 2007; Valerio y Díaz, 2008). Inclusive, en investigaciones desarrolladas en otros continentes, se han expuesto resultados contradictorios acerca de estas relaciones, indicando que posiblemente cada especie presenta preferencias por determinados ambientes, manteniéndose y presentando un incremento su abundancia bajo condiciones tanto espaciales como temporales específicas (Accoroni, 2012).

En Colombia, es escasa la información publicada en relación con los dinoflagelados bentónicos/epifitos potencialmente tóxicos, sin embargo, el incremento en la mortandad de especies e intoxicaciones asociadas con la ingesta de organismos marinos (Mancera-Pineda *et al.*, 2009; Rodríguez *et al.*, 2010; Martínez-Orozco y Cruz-Quintero, 2013; Celis y Mancera-Pineda, 2015) en particular en ciudades costeras del Atlántico, Magdalena, Bolívar y San Andrés islas, donde se han reportados varios brotes de ciguatera (Álvarez, 1997; Álvarez, 1999; Gaitán, 2007; Mancera-Pineda *et al.*, 2009; 2014; Martínez-Orozco y Cruz-Quintero, 2013), aún no se considera la presencia de estos dinoflagelados como una amenaza que podría poner en riesgo los ecosistemas, la salud pública y el ingreso económico, lo cual podría generar un fuerte impacto no solo en la producción pesquera y el comercio de productos provenientes del mar, sino también afectando el sector turístico, el cual se considera una de las actividades que genera la mayor cantidad de ingreso a los

ciudades costeras del país, principalmente las pertenecientes a las regiones mencionadas con antelación (Aguilera-Días *et al.*, 2006).

Por tanto, el escaso conocimiento acerca de los dinoflagelados epibentónicos toxinogénicos a nivel local, en un país donde las condiciones parecen ser favorables teniendo en cuenta la climatología, así como la presencia de suficiente sustrato, principalmente pastos marinos de la especie *Thalassia testudinum*, el cual, a pesar de no ser considerado como el mejor sustrato para el asentamiento de estos organismos (Morton y Faust, 1997), sus altas abundancias en algunas zonas del Caribe colombiano, así como su disponibilidad a lo largo del año, en contraste con la mayoría de macroalgas que solo se encuentran durante algunos meses, hacen que la región presente una mayor vulnerabilidad frente a eventos indeseados atribuidos a estos organismos.

2.2 Materiales y Métodos

2.2.1 Fase de campo

El presente estudió se realizó como complemento del descrito en el capítulo 1 de este documento, en el cual se describen en detalle las estaciones observadas en la Bahía y la Laguna de Chengue Parque Nacional Natural Tayron - PNNT), así como la metodología empleada para la obtención y análisis de los dinoflagelados epifitos de *Thalassia testudinum*, entre enero de 2014 y diciembre de 2015.

Adicionalmente, tanto en la Bahía como en la Laguna se realizaron mediciones *in situ* de salinidad, temperatura, oxígeno disuelto y pH (Tabla 2-1), y se recolectaron directamente muestras de 1 L de agua en frascos plásticos, previamente lavados con ácido sulfúrico y agua desionizada, para el análisis de sólidos suspendidos totales (SST) y nutrientes inorgánicos disueltos (N-NO₂⁻, N-NO₃⁻, N-NH₄⁺ y P-PO₄³⁻). Para su traslado a la unidad de laboratorios del INVEMAR, las muestras para el análisis físico-químico se almacenaron en neveras de fibra de vidrio con abundante hielo para preservarlas a temperaturas inferiores a 4 °C (APHA *et al.*, 2012).

Tabla 2-1: Métodos y equipos empleados para realizar la medición *in situ* de temperatura, salinidad, oxígeno disuelto y pH en las estaciones de muestreo (APHA *et al.*, 2012). N.A: no aplica.

| Variable | Unidades | Método de análisis | Equipo utilizado para la medición |
|-----------------|--------------------|---------------------|--------------------------------------|
| Temperatura (T) | C° | Electrométrico SM | Conductímetro digital |
| Temperatura (T) | | 2510-B | portátil WTW 3210 |
| Salinidad (S) | N.A. | Electrométrico SM | Conductímetro digital |
| Saliniuau (S) | | 2510-B | portátil WTW 3210 |
| Oxígeno | ma I ⁻¹ | Electrométrico 4500 | Oxímetro digital |
| disuelto (OD) | ing L | O-G | portátil WTW 3205 |
| nH | NA | Potenciométrico SM | pH-metro digital |
| | | 4500 H-G | portátil WTW 315i |

2.2.2 Fase de laboratorio

Los análisis químicos se realizaron siguiendo los estándares del laboratorio de calidad de aguas LABCAM del INVEMAR (Tabla 2-2). Las concentraciones de N, P y SST se determinaron mediante un espectrofotómetro Shimatzu UV-2600. Para el caso de los nutrientes se tuvo en cuenta únicamente la masa del elemento (N o P) en lugar del ión completo.

Tabla 2-2:Métodos empleados en el laboratorio para realizar los análisis químicos(Strickland y Parsons, 1972) y de sólidos suspendidos totales (APHA *et al.*, 2012). LD=Limite de detección para el método.

| Variable | Método de análisis | LD | Unidad |
|--|---|------|--------|
| Nitritos (N-NO ₂ -) | Método colorimétrico de la sulfanilamida | 0.70 | µg L⁻¹ |
| Nitratos (N-NO ₃ ⁻) | Método colorimétrico, reducción con cadmio | 2.10 | µg L⁻¹ |

| Variable | Método de análisis | LD | Unidad |
|---|--|------|--------------------|
| Amonio (N-NH₄⁺) | Método colorimétrico del azul de indofenol | 3.10 | µg L⁻¹ |
| Fosfatos (P-PO ₄ ³⁻) | Método colorimétrico del ácido ascórbico | 2.40 | µg L-1 |
| Sólidos suspendidos totales (SST) | Filtración en membrana de fibra de vidrio Whatman GF/C de 1,2 µm de poro, secado a 103-105°C y gravimetría | 0.54 | mg L ⁻¹ |

El conteo de los dinoflagelados epifitos potencialmente tóxicos se llevó a cabo con una cámara de recuento Sedgewick-Rafter (S-R) mediante un microscopio óptico (Carl Zeiss) a 100 aumentos. Se realizo el conteo de los organismos contenidos en 0.5 - 1 ml. En las muestras con bajo número de células se cuantificó el área total de la placa, mientras que en las muestras con altas densidades celular se observó hasta cuantificar un total de 400 células, revisando la placa en zig-zag de izquierda a derecha y en algunas ocasiones fue necesario diluir la alícuota debido a la gran cantidad de sedimento presente (Okolodkov *et al.*, 2007, Reguera *et al.*, 2011).

2.2.3 Análisis de la información

Para describir la variabilidad climática en el área de estudio y estimar los períodos de lluvia y sequía, se elaboró un climograma representando la suma de precipitación mensual y el promedio de temperatura ambiente. Así mismo, se utilizó el Índice oceánico de "El Niño" – (ONI; trimestral para los últimos 16 años), para determinar la posible influencia del ENSO (El Niño Southern Oscillation) sobre el clima. Los datos de precipitaciones y temperatura ambiente fueron suministrados por el Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales de Colombia - IDEAM (estación aeropuerto Simón Bolívar) y los valores del ONI se tomaron de la página de la NOAA (2016). Debido a la fuerte influencia del fenómeno "El Niño" en la zona durante el período de muestreo, no fue posible realizar análisis estadísticos basados en las épocas climáticas (seca vs lluvia) teniendo en cuenta la falta de equidad entre éstas (seca >> lluvia). Por tanto la escala, temporal se analizó teniendo

en cuenta los años, considerando el 2014 algo más influenciado por las lluvias respecto al 2015.

Para calcular la relación N:P, se cambiaron las unidades de los nutrientes a μ mol L⁻¹ dividiendo la concentración obtenida (μ g L⁻¹) sobre el peso molecular del N y el P. A continuación se realizó la sumatoria mensual de las concentraciones de los tres nutrientes nitrogenados y el resultado se dividió sobre los fosfatos.

Las densidades de dinoflagelados que conformaron el ensamblaje se expresaron en términos de células por gramo de peso húmedo de *T. testudinum* (cél. g⁻¹ P.H.), estableciendo la cantidad de organismos presentes en el volumen total de la muestra concentrada con agua de mar filtrada y dividiendo por el peso de la fanerógama colectada (Reguera *et al.*, 2011).

Se realizaron análisis exploratorios (descriptivos) de los datos tanto abióticos como bióticos, mediante la construcción de matrices y gráficas para establecer patrones específicos, determinar tratamientos, detectar datos ausentes y hallar valores atípicos. Para realizar una descripción más detallada de la distribución de las variables físico-químicas, se realizó un contraste espacio-temporal multivariado, basado en una matriz de similitud con distancia euclidiana, mediante la prueba no paramétrica PERMANOVA con 4999 permutaciones y un α = 0.05 (Anderson *et al.*, 2008; Anderson y Walsh, 2013). A continuación, se trató cada variable de manera independiente, mediante análisis paramétrico y no paramétrico para el caso de las variables que no cumplieron con los supuestos preestablecidos (Zar, 2010; Clarke y Warwick, 2001). Para cada estación se realizaron análisis de componentes principales (ACP) para diagnosticar que factores representaron en mayor medida la variabilidad existente (Clarke y Warwick, 2001).

Como complemento de los análisis estructurales del ensamblaje de dinoflagelados, se calcularon los siguientes atributos ecológicos: riqueza específica (S), Índice de diversidad de Shannon-Wiener (H'), uniformidad de Pielou (J) y predominio de Simpson (λ). Los gradientes espacio-temporales del ensamblaje de dinoflagelados potencialmente tóxicos epifitos de *T. testudinum* se observaron mediante análisis de ordenación (nMDS) empleando el índice de similitud de Bray-Curtis, tras aplicarse una transformación de Ln(x+1) a los datos. Así se consideraron los valores de cero en las observaciones,

incrementándose la importancia de las especies raras y reduciendo el efecto de las dominantes (Clarke, 1993; Clarke y Warwick, 2001; McCune y Grace, 2002). Cuando fue relevante, se aplicó el análisis SIMPER para definir las especies que contribuyeron en la separación de los grupos formados en el análisis de ordenación. A continuación, con el fin de identificar la existencia de diferencias en la composición y abundancia celular de los dinoflagelados de interés en relación a la variabilidad espacio-temporal, se realizó un análisis multivariado no paramétrico PERMANOVA, basado en una matriz de similitud de Bray-Curtis, con 4999 permutaciones y $\alpha \leq 0.05$ (Anderson *et al.*, 2008; Anderson y Walsh, 2013).

Con el fin de determinar qué combinaciones de variables ambientales en conjunto pudieron dar explicación a la variación en términos de composición y abundancia de los dinoflagelados, se realizó un análisis BIO-ENV por estación, mediante correlaciones basadas en el coeficiente armónico por rangos de Spearman (pw; Clarke y Ainsworth, 1993; Clarke y Warwick, 2001). Los análisis anteriormente mencionados se realizaron con el programa PRIMER 6.0 y PERMNOVA + (Clarke y Gorley, 2006; Anderson *et al.*, 2008).

A nivel monoespecífico, se tuvieron en cuenta las especies de cada estación que presentaron una abundancia relativa superior al 18 % (*Prorocentrum lima, P. hoffmannianum* y *Ostreopsis* cf. *ovata* para la Bahía y *Prorocentrum* sp1 y *P. rhathymum* en la Laguna), realizando el análisis de cada una por separado. Una vez comprobados los supuestos estadísticos, se transformaron las densidades de cada especie con la función Logaritmo natural (Ln) y para aquellas que presentaron ceros en su matriz, se aplicó Ln(x+1). Teniendo en cuenta el cumplimiento de los supuestos en los residuales de los datos, se realizaron pruebas t-student para establecer diferencias significativas entre las densidades de cada especie (variable respuesta-dependiente) respecto a los dos años de muestreo (variable independiente). Las pruebas de contraste de hipótesis para los componentes bióticos (monoespecíficos) y abióticos se realizaron con el programa Statgraphics Centurion XV.

Con el propósito de establecer patrones y poder obtener algún indicio acerca de las preferencias de cada especie por condiciones ambientales particulares, se aplicaron regresiones múltiples entre las densidades de cada una de las especies seleccionadas para los análisis monoespecíficos y las 11 variables ambientales medidas (salinidad,

temperatura, oxígeno disuelto, pH, nitritos, nitratos amonio fosfatos sólidos suspendidos totales, precipitación y días de lluvia) para cada estación. Luego de comprobar los supuestos mediante el análisis de residuales y descartando la existencia de autocorrelación temporal de los datos aplicando la prueba de Durbin-Watson (Boomsma, 2014), se realizó una reducción del modelo (función stepAIC de la librería MASS - R) siguiendo el criterio de información de Akaike (AIC), considerando que el modelo con menor AIC presenta un mejor ajuste (Wood, 2006). Teniendo en cuenta la presencia de sesgos positivos en la distribución de las densidades de las especies Prorocentrum lima y Ostreopsis cf. ovata, se aplicaron Modelos Lineales Generalizados (GLM- Generalized Lineal Model) con respuesta Gamma y función de enlace Logaritmo considerando las variables del modelo reducido. Para el caso de P. rhathymum, teniendo en cuenta la cantidad de valores nulos en las observaciones, las densidades se transformaron en términos categóricos de presencia (1) y ausencias (0) y se aplicó un GLM con respuesta binomial y enlace logístico. Para el caso de Prorocentrum hoffmannianum y Prorocentrum sp1 se mantuvo el modelo múltiple simple, debido a que la distribución de los residuales se aproximó a la normal. La ventaja de aplicar estos modelos radica en que no es necesario partir de una variable respuesta con distribución normal obligatoriamente. De este modo, es posible ampliar el rango de aplicación y emplear variables respuesta generadas a partir de distribuciones de familia exponencial, permitiendo mayor flexibilidad en los modelos (Wood, 2006). Todos los procedimientos relacionados con las modelos de regresión se realizaron mediante el paquete estadístico R 3.3.2.

2.3 Resultados

2.3.1 Caracterización climática del área de estudio

Mediante la sumatoria mensuales de precipitación, proporcionados por el Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales de Colombia - IDEAM, para la región del Magdalena (estación aeropuerto Simón Bolívar) fue posible observar, durante el período de estudio, una variabilidad tanto en el volumen de precipitación como en el número de días de lluvia (Figura 2-1). Los promedios de precipitación total anual para el 2014 (28.11 ± 42.05 mm) y 2015 (24.18 ± 43.74 mm) fueron notoriamente inferiores al promedio histórico de los últimos 35 años (44.98 ± 38.13 mm), lo cual también se observó en el número de días de lluvia, con un promedio de 5.00 ± 6.00 días en 2014 y de 3.00 ± 3.00 días para 2015, respecto al histórico (7.00 ± 5.00 días). Durante ambos años se presentó una sequía prolongada durante los primeros cinco meses. En junio y julio, a pesar de observarse leves precipitaciones, estas estuvieron muy por debajo de los mínimos históricos de los últimos 35 años.

Los años muestreados fueron anómalos no solo por ser más secos respecto a la media histórica, sino que también se caracterizaron por que algunos de los meses más lluviosos excedieron los promedios registrados para dichos meses en los últimos 35 años. Así, en 2014 los niveles máximos de lluvia se presentaron en octubre (109.50 mm), seguido de agosto (104.80 mm; 16 días), excediendo el promedio histórico (66.32 ± 48.13 mm; 13 ± 5 días). En noviembre de 2015 se alcanzó un máximo (138.80 mm) que superó el promedio histórico (65.70 ± 66.41g mm) pero no el número de días.



Figura 2-1: Promedio histórico mensual de precipitaciones y días de lluvia de1980 a 2015 (barras), comparado con la sumatoria de precipitación para 2014 (línea continua) y 2015 (línea punteada) para la región del Magdalena, estación aeropuerto Simón Bolívar (IDEAM).

Al realizar un climograma de los últimos seis años fue posible ratificar la característica de sequía predominante de los años de observación en la región del Magdalena (estación aeropuerto Simón Bolívar). En el 2014 se presentaron tres meses considerados como lluviosos (agosto, septiembre y octubre), mientras que para el 2015 solo correspondió a dos (octubre y noviembre; Figura 2-2).

La condición de alta sequía también se confirmó en los análisis realizados por el IDEAM, la NOAA (La Administración Nacional Oceánica y Atmosférica), el IRI (Instituto Internacional de Investigación sobre el Clima y la Sociedad de Estados Unidos) y el CIIFEN (Centro Internacional para la Investigación del Fenómeno "El Niño"), quienes clasificaron 2014 y 2015 como años "El Niño". De acuerdo con el Índice Oceánico del Niño (ONI por sus siglas en inglés) en 2014 se presentó un Niño débil que incrementó hasta categoría de Niño muy intenso en el segundo semestre de 2015 y se prolongó hasta el primer trimestre de 2016 (Figura 2-3) considerándose como el segundo "El Niño" más fuerte de los últimos 65 años (IDEAM, 2014).



Figura 2-2: Climograma basado en la sumatoria mensual de las precipitaciones (barras) y el promedio de la temperatura ambiente (línea continua) de 2010 a 2015 para la región del Magdalena, estación aeropuerto Simón Bolívar (IDEAM).



Figura 2-3: Índice Oceánico de "El Niño" (ONI) trimestral para los últimos 16 años. Valores positivos, mayores o iguales a 0.5 durante 5 o más meses consecutivos indican la ocurrencia de un evento "El Niño" (rojo); valores negativos, inferiores o iguales a -0.5

durante 5 meses o más meses consecutivos indican la ocurrencia de un evento "La Niña" (azul) y valores por debajo de estos o iguales a cero indican años neutrales (gris).

2.3.2 Caracterización de las estaciones de muestreo

La Bahía de Chengue presentó aguas con transparencia del 100% durante la mayoría de los meses en los cuales se llevó a cabo el muestreo. En esta estación, sobre un sedimento constituido principalmente por arena fina (prom: 71 % partículas inferiores a 63 µm) y cascajo, con poco contenido de materia orgánica volátil (3 %), *Thalassia testudinum* crece formando praderas amplias y frondosas que permanecen durante el año con densidades estimadas del 70-80 % y un promedio de tamaño de hoja de 18.06 ± 5.07 cm (n= 29). Se encuentran restringidas a profundidades menores de 3 m y bordeando la costa hasta aproximarse a la playa y al manglar en la parte más somera (<1 m). Asociadas a estas praderas se observaron algas verdes del género *Halimeda*, algunos erizos (*Tripneustes*), pequeñas colonias de *Siderastrea, Pseudodiploria y Milepora*, moluscos (*Melongena*), poliquetos (*Hermodice*) y algunos peces como *Diodon, Acanthurus, Sparisoma*, entre otros (Figura 2-4).



Figura 2-4: Principales organismos asociados a las praderas de *Thalassia testudinum* en la estación ubicada en la Bahía de Chengue, PNNT.

En la estación ubicada en la Laguna Sur el sedimento estuvo compuesto principalmente por limo fino y arcilla, con un porcentaje promedio de 74 % de partículas menores a 63 μ m y 7 % de materia orgánica volátil, lo cual hace que el agua tienda a ser turbia. *T. testudinum* en esta Laguna no suele ser tan abundante, con una cobertura estimada de 30-40%, un promedio de tamaño de hoja de 21.63 ± 5.97 cm (n= 29) y una distribución en parches, a profundidades menores de 0.5 m. Normalmente se observó la presencia de pequeños

moluscos, principalmente el género *Nerita*, ascidias (*Botryllus*) y algunos huevos sobre las hojas de *T. testudinum*, macroalgas temporales como *Hypnea*, *Caulerpa*, *Acanthophora* y remanentes de otros pastos marinos del género *Syringodium*. No fue común observar peces cerca de los parches de *T. testudinum* en este sistema (Figura 2-5).





Figura 2-5: Principales organismos asociados a los parches de *Thalassia testudinum* en la estación ubicada en la Laguna de Chengue, PNNT. Barra de escala = 1 cm.

El principal aporte de agua de la Laguna procede de la Bahía, lo cual explica la semejanza en las tendencias de variación temporal de los factores abióticos considerados (Figura 2-6; Anexo A). No obstante, debido a las características físicas de cada sistema, estos exhibieron rangos estadísticamente diferentes para la mayoría de variables como lo mostró el análisis PERMANOVA (Pseudo-F= 8.19; p= 0.00), siendo la Laguna un cuerpo de agua

menos transparente, con una mayor variabilidad de la salinidad; oxígeno disuelto y pH inferiores, concentraciones de nutrientes inorgánicos disueltos un poco mayores, y aunque no significativo (p>0.05), cantidades superiores de sólidos suspendidos totales (SST)

Si bien 2014 y 2015 fueron años en los cuales predominó la seguía, la variación climática a lo largo del tiempo generó cambios en las características fisicoquímicas del agua en los dos sitios de estudio, siendo posible diferenciar períodos de lluvia y seguía. Sin embargo, por considerarse años atípicos, algunas de las variables, como por ejemplo la salinidad y algunos nutrientes inorgánicos disueltos, presentaron una menor variación, con valores inferiores respecto a años anteriores (de 2010 a 2012; Anexo A), cuando las precipitaciones fueron intensas y prolongadas. En la Bahía, al presentarse las lluvias durante el período de estudio, la salinidad disminuyó levemente, alcanzando mínimos de 35.20 y 35.80, acompañados de temperaturas máximas superiores a 29.00 °C, niveles de oxígeno disuelto entre 4.17 y 6.82 mg L⁻¹, pH superior a 7.88, incremento de la cantidad de SST durante 2014 y bajas concentraciones de nutrientes con leve aumento de N en forma de nitritos (N- NO_2). Durante los meses en los cuales predominó la seguía, la salinidad alcanzó valores superiores a 37 con poca fluctuación y la temperatura disminuyó alcanzando mínimos de 25°C durante los primeros meses, en el 2014 ésta incrementó a partir de marzo hasta alcanzar sus máximos al inicio de la época de lluvias. Las concentraciones de oxígeno disuelto fluctuaron entre 4.63 y 9.72 mg L⁻¹, el pH se mantuvo cercano a 8.00, alcanzando los valores máximos en mayo de 2015. Los SST fueron menores durante los primeros y últimos meses de cada año (enero, febrero y diciembre) y las concentraciones de nutrientes continuaron bajas, con algunos picos de N en forma de nitratos (N-NO₃) e incremento de los fosfatos (P-PO_{4³⁻}) a mediados de ambos años (Figura 2-6).



Figura 2-6: Fluctuación mensual de las variables físico-químicas registradas en la Bahía y la Laguna de Chengue entre el 2014 y 2015. Los valores atípicos que sobresalen del grafico corresponden a 16.10 μ g L⁻¹ de nitratos (N-NO₂⁻) en la Bahía; 63.90 μ g L⁻¹ y 308.10 μ g L⁻¹ de fosfatos (P-PO₄³⁻) para la Bahía y la Laguna respectivamente.

Al calcular la relación N:P para cada uno de los dos sistemas, Bahía y Laguna, se encontró que tanto el N como el P actuaron como factores limitantes en diferentes meses durante ambos años (Tabla 2-3). Al presentarse lluvias durante el 2014, la relación N:P fue alta (siendo el P el principal factor limitante), particularmente en la Laguna. Durante el 2015 la concentración de nutrientes inorgánicos disueltos disminuyó y el N pudo ser el factor limitante, particularmente durante los últimos meses del año (Figura 2-7).

| Año | Mes | Bahía | Laguna | Año | Mes | Bahía | Laguna |
|------|------------|--------|--------|------|------------|--------|--------|
| 2014 | Enero | 6.51 | 11.33 | 2015 | Enero | 7.98 | 8.05 |
| | Febrero | 36.40 | 55.65 | | Febrero | 15.92 | 8.77 |
| | Marzo | 15.39 | 19.98 | | Marzo | 5.44 | 17.93 |
| | Abril | 14.00 | 12.78 | | Abril | 27.00 | 13.93 |
| | Mayo | 3.14 | 24.48 | | Mayo | 106.26 | 21.92 |
| | Junio | 3.72 | 15.20 | | Junio | 3.91 | 2.89 |
| | Julio | 16.54 | 5.53 | | Julio | 3.02 | 2.50 |
| | Agosto | 21.55 | 78.72 | | Agosto | 22.08 | 19.72 |
| | Septiembre | 12.23 | 83.74 | | Septiembre | 23.72 | 2.95 |
| | Octubre | 13.90 | 15.69 | | Octubre | 0.16 | 0.05 |
| | Noviembre | 66.64 | 12.81 | | Noviembre | 2.75 | 5.20 |
| | Diciembre | 116.24 | 33.14 | | Diciembre | 4.05 | 11.25 |

Tabla 2-3:Valores de la relación N:P calculados para la Bahía y la Laguna deChengue, durante 2014 y 2015.



Figura 2-7: Resultados de la relación nitrógeno fosforo calculada para la Bahía y la Laguna de Chengue, durante 2014 y 2015. La línea punteada corresponde al valor de equilibrio (16), valores superiores indican que el fosforo actúa como factor limitante y por debajo de éste lo hace el nitrógeno.

Mediante el análisis de componentes principales en la Bahía se extrajeron cuatro componentes, los cuales explicaron un 75 % de la varianza total de los datos. La gráfica en dos dimensiones mostró que el primer componente (33 % de varianza explicada) se asoció principalmente con un recurso (concentración de N como nitritos) y tres reguladores ecológicos: la precipitación, temperatura y salinidad, ésta última con un comportamiento inverso al de las otras variables. El segundo componente (17 % de varianza explicada) se relacionó con los SST, actuando inversamente respecto a los nitratos (Figura 2-8 superior).

En la Laguna, un 72 % de la varianza se explicó igualmente mediante cuatro componentes. El primero (33 % de varianza explicada) se relacionó con las precipitaciones, la temperatura y los nitritos e inversamente el pH y el oxígeno, mientras que el segundo componente (18 % de varianza explicada) presentó una relación positiva con los nitratos y el amonio. En este sistema las concentraciones de fosfatos y la salinidad presentaron un comportamiento inverso (Figura 2-8 inferior).



Figura 2-8: Resultados gráficos del ACP en el cual se muestran los factores abióticos que dan una mejor explicación a la variabilidad existente en el agua de la Bahía (superior) y la Laguna de Chengue (inferior) durante el 2014 y 2015. S: salinidad, T: temperatura, OD: oxígeno disuelto, SST: sólidos suspendidos totales, Pr: precipitaciones, N: nitrógeno, P: fosforo, NO_2^- : nitritos, NO_3^- : nitratos, NH_4^+ : amonio y PO_4^{3-} : fosfatos..

2.3.3 Caracterización estructural de los ensamblajes de dinoflagelados potencialmente tóxicos sobre *Thalassia testudinum*

Se identificaron un total de 14 especies de dinoflagelados potencialmente tóxicos pertenecientes a cuatro géneros, de los cuales *Prorocentrum* presentó la mayor cantidad de especies, seguido por *Ostreopsis*. La composición y frecuencia de estos dinoflagelados observados en las muestras se explica con más detalle en el primer capítulo del presente documento.

Durante la mayoría de los meses muestreados se encontraron dinoflagelados potencialmente tóxicos sobre las praderas de *Talassia testudinum*, siendo mayor el número de especies en la Bahía respecto a la Laguna. Utilizando la técnica de Escalamiento Multidimensional No Métrico (nMDS) y comprobando la significancia de los resultados mediante el Análisis PERMANOVA, se observó que la composición y abundancia de los ensamblajes de dinoflagelados fueron significativamente diferentes entre la Laguna y la Bahía (Pseudo-F= 77.47; p= 0.00), siendo menor la variabilidad de estos dos atributos en el ensamblaje encontrado en la Bahía. A nivel temporal, los análisis mostraron que las diferencias no fueron significativas (Pseudo-F= 1.98; p= 0.064), a pesar de haber una interacción significativa entre lugar y año (Pseudo-F= 2.34; p=0.03). Esto indica que la variación anual de los ensamblajes es diferente en cada lugar, lo cual no permite realizar comparaciones generalizadas entre la Bahía y la Laguna. No obstante, al realizar el análisis para cada sistema por separado, se confirmó que no fueron evidentes ni significativas las diferencias en los ensamblajes de 2014 y 2015 para ninguno de los sistemas (Bahía: t= 1.27; p=0.16; Laguna: t= 1.52; p=0.06; Figura 2-9).



Figura 2-9: Resultados de la análisis nMDS para la diferencia en composición y abundancia de dinoflagelados potencialmente tóxicos sobre las praderas de *T. testudinum*

entre la Bahía y la Laguna (superior), y entre los años 2014 y 2015 en cada sitio (inferior). Izquierda (Bahía), derecha (Laguna).

Mediante el análisis SIMPER fue posible establecer que las diferencias que separan los ensamblajes por lugares, con un porcentaje de disimilitud del 90.39 %, se atribuyeron principalmente a las especies *Ostreopsis* cf. *ovata*, seguida de *Prorocentrum lima* y *P. hoffmannianum* (Tabla 2-4), siendo estas las especies más abundantes en la Bahía. Por otra parte, la similitud dentro de cada ensamblaje fue superior en la Bahía, con un promedio total de similitud de 72.36 % respecto al 36.43 % obtenido en la Laguna. La similitud en la Bahía fue aportada por *Prorocentrum lima* (26 %), *P. hoffmannianum* (24.42 %) y O. cf *ovata* (24.40 %), mientras que en la Laguna por *Prorocentrum.* sp1 (52.79 %) y *P. rhathymum* (28.72 %). La baja similitud entre las muestras de este sistema soporta el alto grado de dispersión de las observaciones en el nMDS (Figura 2-9).

Tabla 2-4: Resultados del análisis SIMPER para las diferencias entre lugares, incluyendo las especies que presentaron una mayor contribución respecto a la disimilitud entre grupos. Dis: disimilitud, Prom: promedio DE: desviación estándar y Cont: contribución.

| Especie | Dis./Prom. | Dis./DE | Cont. (%) |
|----------------------------|------------|---------|-----------|
| Ostreopsis cf. ovata | 17.72 | 3.01 | 19.60 |
| Prorocentrum lima | 17.60 | 3.79 | 19.47 |
| Prorocentrum hoffmannianum | 17.13 | 2.84 | 18.95 |
| Ostreopsis sp. | 10.63 | 1.86 | 11.76 |
| Coolia sp1 | 7.05 | 1.07 | 7.80 |
| Prorocentrum sp1 | 5.49 | 1.46 | 6.08 |

Las densidades totales de dinoflagelados a lo largo de los 24 meses de estudio, fluctuaron entre 446.20 y 20109.44 cél. g⁻¹ peso húmedo (P.H.) de *Thalassia testudinum* en la Bahía y entre 0 y 83.10 cél. g⁻¹ P.H. en la Laguna, siendo evidentes los valores más altos en la Bahía, principalmente en agosto y septiembre de 2014 (18452.46 y 20109.44 cél. g⁻¹ P.H.), meses correspondientes a período de lluvias (Figura 2-10). En 2015 las densidades fueron inferiores, con dos leves incrementos a lo largo del año en la Bahía, uno en marzo (9347.24 cél. g⁻¹ P.H.) y otro de menor tamaño en mayo (6406.17 cél. g⁻¹ P.H.). En la Laguna las

densidades no superaron las 83.10 cél. g⁻¹ P.H., presentándose picos tanto en época seca como en períodos de lluvias durante ambos años, particularmente en enero y noviembre de 2015. En este sistema no se observaron dinoflagelados en las muestras correspondientes a febrero y octubre del 2014.



Figura 2-10: Densidad total por mes de dinoflagelados potencialmente tóxicos (células por gramo de peso húmedo de *Thalassia testudinum*) en la Bahía (eje izquierdo) y la Laguna de Chengue PNNT (eje derecho), entre el 2014 y 2015.

Las densidades más altas en la Bahía de Chengue se atribuyeron principalmente a *Prorocentrum lima, Ostreopsis* cf. *ovata y P. hoffmannianum* con porcentajes de abundancia relativa totales de 48 %, 24 % y 19 % respectivamente, en tanto que en la Laguna se debieron a *Prorocentrum* sp1 (48 %), *P. rhathymum* (19 %) y *Ostreopsis* sp. (17 %; Figura 2-11).



Figura 2-11: Abundancia relativa de especies en los ensamblajes de dinoflagelados potencialmente tóxicos epifitos de *T. testudinum* en la Bahía (izquierda) y la Laguna de Chengue (derecha), entre el 2014 y 2015.

Respecto a la variación mensual de abundancias relativas, en la Bahía *Prorocentrum lima* fue la especie más abundante en febrero (73 %) y septiembre (79 %) de 2014, sin embargo, el mayor porcentaje de ésta (91.21 %) se observó en marzo de 2015. *Ostreopsis* cf. *ovata* fue abundante en varios meses, particularmente en mayo (78 %), junio (87 %) y diciembre (79 %) de 2015, mientras que *P. hoffmannianum* presentó los porcentajes más altos en octubre (81 %) y en noviembre (94 %) de 2014 (Figura 2-12 izquierda).

En la Laguna, *Prorocentrum* sp1 fue la especie más abundante en la mayoría de meses, particularmente en junio de 2014 (96 %) y durante septiembre (83 %), octubre (79 %) y noviembre (89 %) de 2015. *P. lima* fue la única especie presente en marzo de 2014, mientras que *Ostreopsis* sp. constituyó el 95 % del ensamblaje en enero de 2014 (Figura 2-12 derecha).


Figura 2-12: Abundancia relativa por especie de dinoflagelados potencialmente tóxicos epifitos de *T. testudinum* en la Bahía (izquierda) y la Laguna de Chengue (derecha), entre el 2014 y 2015.

Debido al bajo número de especies presentes, los valores de riqueza de especies, uniformidad, diversidad y predominio, fueron bajos (Anexo B). En la Bahía, la riqueza de especies incrementó levemente durante los períodos secos. Al presentarse las lluvias en el 2014, se favorecieron especies dominantes como *Prorocentrum lima* y *P. hoffmannianum* (Figura 2-12), con descensos en la riqueza, uniformidad y diversidad del ensamblaje. En el 2015, el cual se caracterizó por un período prolongado de sequía, la distribución de las especies fue más uniforme, particularmente después de julio, cuando se alcanzó la mayor uniformidad y diversidad (Figura 2-13). Por otra parte, la riqueza, uniformidad y diversidad de especies en la Laguna fueron muy variables, especialmente en el 2014, sin ningún patrón evidente. Este sistema presentó una riqueza de especies inferior respecto a la Bahía. La uniformidad y diversidad de especies disminuyó en septiembre, octubre y noviembre de 2015, cuando se incrementó el predominio de la especie *Prorocentrum* sp1 (Figura 2-12).



Figura 2-13: Atributos ecológicos calculados para el ensamblaje de dinoflagelados potencialmente tóxicos epifitos de *T. testudinum* en la Bahía y la Laguna de Chengue, entre el 2014 y 2015

2.3.4 Relación entre los ensamblajes de dinoflagelados potencialmente tóxicos y la variabilidad físico-química de las masas de agua

El análisis BIO-ENV para la Bahía de Chengue indicó una correlación baja pero significativa (pw= 0.29 y p = 0.01) entre el componente abiótico y la composición y densidad del ensamblaje de los dinoflagelados. Esta correlación se observó principalmente con la salinidad, la concentración de nitritos, SST y precipitación. En la Laguna la correlación fue aún menor, con un pw= 0.27 cercano a la significancia (p= 0.053). Para este sistema, el grupo de variables que mejor explicó el comportamiento del ensamblaje fueron la salinidad, temperatura, oxígeno disuelto y SST (Tabla 2-5).

Los bajos valores de significancia (pw) sugieren que hubo otras variables no tenidas en cuenta, como por ejemplo la disponibilidad de sustrato, la competencia con otros epífitos y la herbivoría, que posiblemente ejercieron una alta influencia sobre la estructura de los ensamblajes. No obstante lo anterior, se destacaron variables como la salinidad y la concentración de sólidos en suspensión, que resultaron significativas en ambos sistemas. Así mismo fue posible encontrar algunos patrones en la composición y densidad celular de estos dinoflagelados epifitos que coinciden con la variación climática.

Tabla 2-5: Resultados del Análisis BIO-ENV donde se relacionan las variables físicoquímicas y el ensamblaje de dinoflagelados en la Bahía y la Laguna de Chengue 2014 y 2015. S: salinidad, T: temperatura, OD: oxígeno disuelto, NO_2 ⁻: nitritos, PO_4^3 ⁻: fosfatos, SST: sólidos suspendidos totales y Pr: precipitaciones.

| Estación | Número de | Combinación | Correlación |
|----------|-----------|---|-------------------|
| | variables | | (p _w) |
| Bahía | 4 | S, NO ₂ ⁻ , SST, Pr | 0.29 |
| | 3 | S, SST, Pr | 0.29 |
| | 5 | S, NO ₂ ⁻ , PO ₄ ³⁻ , SST, Pr | 0.28 |
| | 3 | NO ₂ ⁻ , SST, Pr | 0.27 |
| | 4 | NO ₂ ⁻ , PO ₄ ³⁻ , SST, Pr | 0.26 |
| | 3 | S, NO ₂ ⁻ , Pr | 0.25 |
| | 4 | S, NO ₂ ⁻ , PO ₄ , SST | 0.25 |

| Estación | Número de | Combinación | Correlación |
|----------|-----------|--|-------------------|
| | variables | | (p _w) |
| | 4 | S, PO ₄ ³⁻ , SST, Pr | 0.25 |
| | 3 | NO ₂ ⁻ , PO ₄ ³⁻ , SST | 0.24 |
| | 3 | S, NO ₂ , Pr | 0.24 |
| Laguna | 4 | S, T, OD, SST | 0.27 |
| | 4 | S, T, OD, NO ₂ - | 0.25 |
| | 3 | S, T, OD | 0.25 |
| | 5 | S, T, OD, NO ₂ , SST | 0.24 |
| | 5 | S, T, OD, SST, Pr | 0.23 |
| | 3 | T, OD, SST | 0.22 |
| | 5 | S, T, OD, NO ₂ ⁻ , Pr | 0.22 |
| | 3 | T, OD, NO ₂ - | 0.21 |
| | 4 | S, T, NO ₂ ⁻ , SST | 0.20 |
| | 3 | S, T, NO ₂ - | 0.20 |

Las mayores densidades de dinoflagelados potencialmente tóxicos asociados a *Thalassia testudinum* se registraron en la Bahía en agosto y septiembre de 2014 (período de lluvias), particularmente en este último mes. Este hecho se asoció con una disminución de la diversidad y la uniformidad, siendo *Prorocentrum lima* la especie dominante. En ambos casos se registraron salinidades relativamente bajas (35.60 y 35.50 respectivamente) atribuidas a la presencia de lluvias, las cuales se aproximaron a 104,80 y 70.20 mm. Durante estas fechas se presentó un incremento de la temperatura (>29.60 °C), oxígeno disuelto de 6.80 y 6.20 mg L⁻¹, pH básico alrededor de 8.00 y bajas concentraciones de nutrientes característica de estas aguas al ser sistemas oligotróficos (INVEMAR, 2016), con un leve incremento de nitritos respecto a los demás meses (1.30 y 2.40 µg L⁻¹), sólidos suspendidos totales elevados, entre 85.00 y 88.50 mg L⁻¹ y relación de N:P de 21.55 y 12.33 respectivamente.

En la Laguna las mayores densidades se presentaron en enero del 2015 y noviembre del mismo año (Figura 2-10), atribuidas en ambos casos a *Prorocentrum* sp1. Sin embargo, en enero, *Ostreopsis* sp. y *O*. cf. *ovata* también contribuyeron. Estos dos picos se presentaron

bajo condiciones contrastantes. Enero de 2015 correspondió a un mes de sequía, registrándose alta salinidad (37.70), con la mínima anual de temperaturas del agua (25.40 °C), oxígeno disuelto de 5.70 mg L⁻¹, pH básico aproximándose a 8.00, bajas concentraciones de nitritos y nitratos (1.20 μ g L⁻¹y <2.10 μ g L⁻¹), amonio cercano a 10.00 μ g L⁻¹ fosfatos de 3.30 μ g L⁻¹ y sólidos suspendidos totales bajos (6.90 mg L⁻¹). El segundo incremento (noviembre de 2015) ocurrió durante el mes de máximas precipitaciones y por consiguiente, salinidades relativamente bajas (35.10), temperaturas elevadas (29.10 °C), niveles bajos de oxígeno disuelto (3.30 mg L⁻¹), pH de 7.40, nitritos de 4.40 μ g L⁻¹, nitratos inferiores al límite de detección (<2.10 μ g L⁻¹), concentraciones de amonio y fosfatos de 8.30 y 5.80 μ g L⁻¹ respectivamente y sólidos suspendidos totales de 54.20 mg L⁻¹. En ambos casos la relación N:P fue baja (<8.05).

2.3.5 Análisis poblacional

Para definir las poblaciones de dinoflagelados más influyentes en el ensamblaje, se tuvieron en cuenta los resultado del SIMPER, coincidiendo con las especies que presentaron abundancias relativas totales superiores al 18 % en cada estación, siendo *Prorocentrum lima* (48 %), *Ostreopsis* cf. *ovata* (24 %) y *P. hoffmannianum* (19 %) representantes de la Bahía y *Prorocntrum* sp1 (48 %) y *P. rhathymum* (19 %) de la Laguna.

2.3.5.1 Variación interanual específica

Si bien al comparar a nivel de ensamblajes los años 2014 y 2015 no se encontraron diferencias significativas en la Bahía, la comparación entre algunas de sus principales poblaciones si mostró diferencias. En 2014 las densidades de *Prorocentrum lima* y *P. hoffmannianum* fueron superiores a las de 2015 (t= 2.51 p= 0.02 y t= 1.80 p= 0.34 respectivamente). En contraste las densidades de *Ostreopsis* cf. *ovata* no difirieron entre años (t= 0.44 p= 0.66; Figura 2-14), aunque en el 2014 se registraron 3318 cél.g⁻¹ P.H. más que en el 2015.

Respecto a la Laguna, las densidades de *Prorocentrum* sp1 fueron significativamente diferentes entre los años de muestreo (t= -2.92 p= 0.01), observándose la mayor densidad durante el 2015. Por su parte, *P. rhathymum* no presentó diferencias (t= -1.64 p= 0.12), sin



embargo, las densidades registradas en el 2015 superaron en casi el doble a las del 2014 (Figura 2-14).

Figura 2-14: Diagrama de caja y bigotes contrastando, para los dos años de muestreo (2014 y 2015), las densidades de cada especie de dinoflagelado seleccionada por su alta abundancia relativa (>18 %). Las gráficas de la izquierda corresponden a las especies más abundantes en la Bahía de Chengue y a la derecha las más abundantes en la Laguna. P: *Prorocentrum*, hoff: *hoffmannianum*, O: *Ostreopsis*, rha: *rhathymum*.

2.3.5.2 Análisis de la relación entre las especies y las variables físicoquímicas

Las regresiones múltiples y los MLG pueden dar un indicio acerca de las preferencias de cada especie por alguna condición ambiental en particular, ayudando a comprender de manera integral los resultados descriptivos. Al comprobar los supuestos y luego de aplicar la prueba de Durbin-Watson sobre los residuales, se comprobó que no existieron

autocorrelaciones temporales entre los residuales de los datos (p>0.05; Tabla 4), continuando con los análisis para muestras independientes.

Tabla 2-6: Resultados de la prueba de Durbin-Watson (DW) para cada una de las especies seleccionadas, donde se descartan las autocorrelaciones temporales en los residuales de los datos.

| Lugar | Especie | DW | р |
|--------|----------------------------|------|------|
| Bahía | Prorocentrum lima | 1.62 | 0.13 |
| | Ostreopsis cf. ovata | 1.99 | 0.61 |
| | Prorocentrum hoffmannianum | 2.49 | 0.41 |
| Laguna | Prorocentrum sp1 | 2.29 | 0.43 |
| | Prorocentrum rhathymum | 2.21 | 0.35 |

Luego de aplicar en todos los casos las regresiones múltiples con las 11 variables explicativas establecidas y al reducir el número de éstas en el modelo, siguiendo el Criterio de Información de Akaike (AIC; Anexo C), los resultados obtenidos para las especies de la Bahía seleccionadas indicaron que, para *Prorocentrum lima* en conjunto, los nitritos, el amonio, los sólidos suspendidos totales y la precipitación pudieron influir significativamente sobre las variaciones de su densidad (R² ajustado= 0.28; p<0.05; Anexo C). Al emplear el GLM con respuesta Gamma y función de enlace logaritmo (teniendo en cuenta el sesgo positivo que presentó la distribución de los datos) fue posible establecer que de las cuatro variables únicamente los SST presentaron un efecto significativos (p<0.05; Anexo D) y positivo sobre las densidades de *P. lima*. Esto indicó que probablemente otras variables no consideradas en el estudio podrían dar una mejor explicación a los cambios en las densidades de la especie.

Para *Ostreopsis* cf. *ovata* las variables en conjunto que tuvieron un efecto significativo sobre sus densidad fueron la salinidad, los nitritos, los nitratos, el amonio y la precipitación (R² ajustado= 0.46; p<0.05; Anexo C). Al aplicar igualmente el GLM con respuesta Gamma y función de enlace logaritmo, se obtuvo que las variables con efectos significativos fueron,

los nitritos, el amonio y la salinidad, siendo negativo el efecto de los nitritos y la salinidad, y positivo el del amonio (Anexo D).

P. hoffmannianum se ajustó adecuadamente al modelo normal con una distribución de los residuales aproximadamente simétrica, por tanto, se mantuvo el modelo lineal múltiple, presentando un coeficiente R^2 ajustado de 0.67; p<0.05 (Anexo C). Los resultados para esta especie indicaron que, en conjunto, las variables con un posible efecto sobre su densidad fueron la salinidad, el oxígeno disuelto, el pH, los fosfatos, la precipitación y los días de lluvia, particularmente la salinidad, los días de lluvia y el pH en orden de significancia (p<0.05), con un efecto negativo de la primera variable y positivo de las dos restantes.

En cuanto a las especies más abundantes en la Laguna, *Prorocentrum* sp1, al igual que *P. hoffmannianum*, se ajustó adecuadamente al modelo múltiple normal. En este caso las variables que parecieron tener mayor efecto en conjunto sobre las densidades fueron la precipitación, los días de lluvia, el oxígeno disuelto y los nitritos, (R^2 ajustado= 0.45 y p<0.05; Anexo C), siendo todas significativas excepto la última variable mencionada. Para este caso, el efecto de la precipitación sobre las densidades fue positivo, en tanto que el de los días de lluvia y el oxígeno disuelto fue negativos (Anexo C).

Para *P. rhathymum* la salinidad, la temperatura, el pH y los nitratos representaron, en conjunto, un mejor ajuste del modelo, indicando el posible efecto de este grupo de variables sobre las densidades de la especie (p<0.05; Anexo C). Al aplicar un GLM con respuesta binomial y función de enlace logístico, teniendo en cuenta las características de los datos, los resultados indicaron que las variables con efecto significativo sobre las densidades de la especie (a especie fueron la salinidad y la temperatura (Anexo D).

Finalmente los gráficos cuantil cuantil "QQ-plot" de probabilidad para las cinco especie, corroboraron el buen ajuste de los modelos seleccionados, mostrando que la mayoría de los residuales, para los cinco casos, se ajustaron a la recta esperada y dentro de las bandas de confianza, lo cual es una evidencia de una distribución bastante cercana a la normal, así mismo, no se evidenciaron tendencias ni correlación con los valores predichos por el modelo, confirmando la homogeneidad de los residuales (Anexo E).

Teniendo en cuenta las fluctuaciones específicas entre año y lugar, así como la distribución temporal de las mismas, a continuación se menciona, para cada una de las 14 especies observadas, cuándo se registró su densidad máxima y bajo qué condiciones ambientales.

Gambierdiscus sp1: Se registró en ambos sistemas de forma ocasional, exhibiendo mayor frecuencia y densidad en la Laguna. Durante el 2014 no se observó la especie en la Bahía. Sin embargo, durante agosto del 2015 estuvo presente con una densidad aproximada de 1.56 cél. g⁻¹ P.H., en aguas con valores relativamente altos de salinidad y temperatura (36,70 y 28,5 °C), precipitaciones muy por debajo del promedio histórico (Figura 2-1), oxígeno disuelto superior a 6.00 mg L⁻¹, pH de 8.02, bajas concentraciones de nutrientes, SST >57.00 mg L⁻¹ y un ambiente limitado por P.

En la Laguna se presenció durante julio de 2014, y en abril y agosto de 2015, correspondiendo las mayores densidades (2.26 cél. g⁻¹ P.H.) a abril del 2015. En este mes no se registraron precipitaciones y se observaron altos valores de salinidad (38.80) y temperatura (28.90 °C), bajos niveles de oxígeno disuelto (2,80 mg L⁻¹), pH de 7.81, valores de nitritos de 5.10 μ g L⁻¹, nitratos <2.10 μ g L⁻¹ (límite de detección), 12.70 μ g L⁻¹ de amonio y 3,00 μ g/L de fosfatos, SST >24 mg L⁻¹ y una relación de N:P <16, indicando una limitación por N.

Gambierdiscus sp2: Solo estuvo presente en la Laguna durante julio de 2014, alcanzando una densidad aproximada de 1.00 cél. g⁻¹ P.H. En el momento de su colecta, el agua presentó uno de los valores más altos de salinidad registrados durante los dos años (39.40), temperatura de 27,50 °C, bajas concentraciones de oxígeno disuelto (3.60 mg L⁻¹), pH de 7.80, niveles de nitritos y nitratos de 3.00 y 2.40 µg L⁻¹ respectivamente, 11.10 µm L⁻¹ de amonio, 7.00 µg L⁻¹ de fosfatos, elevada concentración de SST (111.30 mg L⁻¹) y relación N:P baja, actuando como limitando el N. Las precipitaciones durante este mes fueron bajas, con registros cercanos a 11.40 mm en la estación del aeropuerto.

Coolia sp1: Fue ocasional y exclusiva de la Bahía, con densidades que oscilaron entre 0 y 1453.30 cél. g⁻¹ P.H., valor correspondiente a agosto de 2014, contribuyendo con uno de los picos más altos de densidades totales. Este máximo se observó al registrarse incrementos en las precipitaciones (104.80 mm) y la consiguiente disminución de la salinidades, las temperaturas más altas durante los dos años (30.10 °C), valores de oxígeno

disuelto de 6,80 mg L⁻¹, pH de 8,12, bajas concentraciones de nitritos, nitratos y fosfatos (1.30, <2.10 y <1.50 μ g L⁻¹ respectivamente), amonio de 9.30 μ g L⁻¹, SST altos y P como factor limitante.

Coolia sp2: De igual manera que C. sp1 la especie sólo estuvo presente en la Bahía en septiembre y noviembre de 2015, correspondiendo su mayor densidad (2.00 cél. g⁻¹ P.H.) al último mes mencionado. En éste se dio un aumento de las precipitaciones (138.80 mm), el mínimo de salinidad anual (35.80) y alta temperatura (29.10 °C), disminución en el oxígeno disuelto (5.30 mg L⁻¹) y en el pH (7.88), incremento en los nitritos, nitratos por debajo de 2.10 μ g L⁻¹, los niveles de fosfatos máximos de los dos años (63.90 μ g L⁻¹, correspondienso a un valor atípico) SST cercanos a 30.00 mg L⁻¹ y relación N:P <3, actuando como factor limitante el N.

Ostreopsis cf. ovata: La especie se observó en ambos sistemas, sin embargo, en la Bahía presentó una frecuencia del 100 %, mientras que en la Laguna fue del 12.5 %. El máximo de densidad (5650.31 cél. g⁻¹ P.H) en la Bahía se alcanzó durante abril del 2014. En mayo de 2015 presentó un segundo pico algo más bajo (5034.43 cél. g⁻¹ P.H.; Figura 2-15). En general su mayor densidad se dio bajo condiciones de escasas precipitaciones, salinidades superiores a 36.00, temperaturas cercanas a 28 °C, oxígeno disuelto superior a 7.00 mg L⁻¹ y pH de 8.00, bajas concentraciones de nitritos, 5.70 µg L⁻¹ de nitratos, altas concentraciones de amonio (15.50 µg L⁻¹), 3.40 µg L⁻¹ de fosfatos, SST moderadamente altos, superando los 66,00 mg L⁻¹ y como factores limitantes el N en abril y el P en mayo.

En la Laguna sólo se observó en noviembre y diciembre de 2014 y en enero de 2015, siendo en este último mes cuando se observó el máximo (21.87 cél. g⁻¹ P.H.), en un período de sequía con salinidad altas (<37.00) y la temperatura mínima anual (25.40 °C). El máximo de oxígeno disuelto en el año (5.70 mg L⁻¹), pH cercano a 8.00, bajas concentraciones de nitritos, nitratos y fosfatos, 10.00 μ g L⁻¹de amonio aproximadamente, el mínimo de SST (6.90 mg L⁻¹) y N como factor limitante.

Ostreopsis cf. *lenticularis:* Fue exclusivo de la Bahía con densidades inferiores a 100 cél. g⁻¹ P.H., alcanzando su mayor concentración en agosto de 2015 (90.26 cél. g⁻¹ P.H.). Este incremento coincidió con la aparición de *Gambierdiscus* sp1 en condiciones ambientales similares.

Ostreopsis sp: Especie presente tanto en la Bahía como en la Laguna, con frecuencia y densidades más elevadas en el primer sistema, donde alcanzó el máximo (1591.08 cél. g⁻¹ P.H.) en septiembre de 2014. Este valor coincidió con un descenso relativo de la salinidad (35.50) atribuido a las precipitaciones, alta temperatura (29.60 °C), oxígeno disuelto <6.00 mg L⁻¹, pH de 8.02, concentraciones de nitritos 2.40 y 2.70 µg L⁻¹ de nitratos, amonio y fosfatos inferiores al límites de detección de la técnica, altos niveles de SST y N como factor limitante.

En contraste, en la Laguna no superó las 41.86 cél. g⁻¹ P.H., densidad registrada durante enero del 2014, que se caracterizó por presentar altos valores de salinidad (período seco), bajas temperaturas (24.80 °C), alto oxígeno disuelto atribuido a la influencia de los vientos Alisios, pH de 7.84, nitritos de 2.10 μ g L⁻¹, bajas concentraciones de nitratos, amonio y fosfatos (4.50, 9.50 y 3.40 μ g L⁻¹ respectivamente), SST <35.00 mg L⁻¹ y N como factor limitante.

Prorocentrum lima: La especie se observó tanto en la Bahía como en la Laguna, sin embargo fue notoriamente más abundante y frecuente en el primer sistema, alcanzando un máximo de 15866.57 cél. g⁻¹ P.H. en septiembre de 2014, coincidiendo con las mayores densidades de *Ostreopsis* sp., en las mismas condiciones ambientales, principalmente influenciadas por el período de lluvias. En el 2015 las densidades no superaron las 8525.50 cél. g⁻¹ P.H., valor correspondiente a marzo (Figura 2-15).

En la Laguna se observó un incremento (5.15 cél. g⁻¹ P.H.) en agosto de 2014, pero el máximo se presentó en marzo de 2015 con 6.95 cél. g⁻¹ P.H. Este valor coincidió con I un pequeño pico observado en la Bahía, en condiciones de sequía, asociadas con el máximo de salinidad (39.50) registrado en los dos años, disminución de la temperatura, leve incremento del oxígeno disuelto (5.00 mg L⁻¹), valores de pH altos en comparación con los demás meses, 2.40 µg L⁻¹ de nitritos, bajas concentraciones de nitratos, amonio y fosfatos y el máximo de SST (165.00 mg L⁻¹), actuando como factor limitante el P.

Prorocentrum hoffmannianum: Estuvo presente en ambos sistemas, siendo más frecuente y abundante en la Bahía, donde alcanzó el máximo (6487.54 cél. g⁻¹ P.H.) en noviembre de 2014 (Figura 2-15) y un incremento menor en agosto del mismo año, en condiciones de disminución de la salinidad (35.20), temperaturas superiores a 29.00 °C,

concentraciones de oxígeno cercanas a 5.00 mg L^{-1,} pH de 8.10, bajas concentraciones de nitratos y fosfatos (< al límite de detección), 19.00 μ g L⁻¹ de amonio y el máximo de SST de los dos años (112.80 mg L⁻¹). En el 2015 las densidades de esta especie no superaron las 633.05 cél. g⁻¹ P.H.

En la Laguna la especie se observó durante varios meses, con densidades inferiores a 3.00 cél. g⁻¹ P.H. en noviembre del 2015. En este mes se registraron las mayores precipitaciones, coincidiendo con el segundo pico de densidad total de dinoflagelados epifitos potencialmente tóxicos registrado en el sistema, bajo las mismas características ambientales.

Prorocentrum cf. emarginatum: Se detectó únicamente en la Bahía con bajos porcentajes de frecuencia y bajas densidades. Los máximos de 30.15 y 31.05 cél. g⁻¹ P.H. se observaron en octubre y noviembre de 2015. En ese mismo mes y bajo las mismas condiciones ambientales se presentó el máximo de *Coolia* sp2.

La especie presentó ligeros incrementos en la densidades (<21.35 cél. g⁻¹ P.H.) diferentes de los máximos, a lo largo del período de muestreo coincidiendo febrero y mayo de ambos años con valores un poco más altos en el 2014.

Prorocentrum rhathymum: Estuvo presente en ambos sistemas, con baja frecuencia (8.33 %) y abundancia relativa (0.02 %) en la Bahía, donde se observó exclusivamente en diciembre de 2014 y en marzo de 2015. En este último mes se observó la densidad más alta (20.54 cél. g⁻¹ P.H.), bajo la influencia de un período de sequía, aguas con alta salinidad (>37.00), disminución de la temperatura, oxígeno disuelto de 7.00 mg L⁻¹, pH cercano a 8.30, concentraciones de nutrientes por debajo del límites de detección, SST de 66.17 mg L⁻¹ y N como factor limitante.

En contraste, en Laguna la especie fue mucho más frecuente (71 %) y abundante (19 %). El máximo de densidad se alcanzó en agosto de 2014 (22.65 cél. g⁻¹ P.H.; Figura 2-16), coincidiendo con el período de lluvias, en el cual se presentó un descenso de la salinidad (de 39.40 a 37.10), temperatura >30.50 °C, oxígeno disuelto de 3.90 mg L⁻¹, pH de 7.50, 3.30 µg L⁻¹ de nitritos, concentración de nitratos relativamente alta (17.80 µg L⁻¹), 21.60 µg L⁻¹ de amonio y bajas concentraciones de fosfatos, SST elevados de 108.00 mg L⁻¹, con el

P como factor limitante. Durante el 2015 la especie fue aún más frecuente y presentó un máximo de 17.77 cél. g⁻¹ P.H. en julio.

Prorocentrum cf. *concavum*: Se observó tanto en la Bahía como en la Laguna, presentando baja frecuencia y abundancia relativa en ambos sistemas, particularmente en la Laguna, con una única observación, alcanzando una densidad de 1.38 cél. g⁻¹ P.H. en noviembre de 2015. Este mes se caracterizó por presentar el segundo valor más bajo de salinidad (35.10) atribuido a la influencia climática, temperatura >29 °C, bajos niveles de oxígeno disuelto (3.30 mg L⁻¹), disminución del pH (7.40), concentraciones relativamente altas de nitritos (4.40 μg L⁻¹) respecto a los demás valores obtenidos y bajas de nitratos, 8.30 μg L⁻¹ de amonio y 5.80 μg L⁻¹ de fosfatos, SST de 54.20 mg L⁻¹ y N como nutriente limitante.

En la Bahía alcanzó densidades máximas de 44.20 cél. g⁻¹ P.H. en septiembre de 2014, de igual manera que *Ostreopsis* sp. y *P. lima*, contribuyendo con el máximo de densidad total registrada para el ensamblaje (Figura 2-10). En ambos sistemas se observó durante meses en los cuales se presentaron precipitaciones.

Prorocentrum sp1: De igual manera que la mayoría de especies registradas, la especie estuvo presente en ambos sistemas, sin embargo, en la Bahía solo se observó en abril de 2014 con 59.90 cél. g⁻¹ P.H. mes en el cual también se observaron las mayores densidades de *O*. cf. *ovata*.

En la Laguna fue una de las especies más frecuentes y abundantes, registrándose, su máximo de densidad en noviembre de 2015 (64.69 cél. g⁻¹ P.H.; Figura 2-16), coincidiendo con la presencia de *P.* cf. *concavum*.

Prorocentrum sp2: Esta especie se detectó únicamente en la Laguna, observándose en cuatro meses (abril, mayo, julio de 2014 y en marzo de 2015). La mayor densidad (3.86 cél. g⁻¹ P.H.) se presentó en abril de 2014, durante el período de sequía, con salinidad alta (37.50), temperatura >28.00 °C, 5.20 mg L⁻¹ de oxígeno disuelto, pH ligeramente superior a 8.00, bajas concentraciones de nitritos, 9.40 y 31.90 µg L⁻¹ de nitratos y amonio respectivamente, 7.20 µg L⁻¹ de fosfatos, SST >123.00 mg L⁻¹, con una relación N:P <14.00, actuando como limitante el N.



Figura 2-15: Densidad poblacional de las especies que presentaron abundancias relativas superiores al 18 %, durante el 2014 y 2015, sobre la *T. testudinum* en la Bahía de Chengue, PNNT.



Figura 2-16: Densidad poblacional de las especies que presentaron abundancias relativas superiores al 18 %, durante el 2014 y 2015, sobre la *T. testudinum* en la Laguna de Chengue, PNNT.

2.4 Discusión

El presente estudio contiene información básica y relevante que confirma la presencia de dinoflagelados epifitos potencialmente tóxicos asociados a las praderas de *T. testudinum* en dos sistemas costeros del Parque Nacional Natural Tayrona, Caribe colombiano y su variabilidad estacional por un período de dos años influenciados por el fenómeno "El Niño", siendo evidentes su preferencia por ambientes particulares, al estar sometidos a las fluctuaciones fisicoquímicas del medio que habitan.

2.4.1 Composición y abundancia de dinoflagelados epifitos potencialmente tóxicos sobre la *Thalassia testudinum* en Chengue PNNT

Los dinoflagelados epifitos potencialmente tóxicos estuvieron presentes durante la mayoría de los meses muestreados tanto en la Bahía como en la Laguna de Chengue PNNT, siendo evidente la presencia de especies pertenecientes a los géneros *Gambierdiscus, Coolia* (sólo en la Bahía), *Ostreopsis* y *Prorocentrum*, los cuales también se han observado en varios estudios desarrollados en el Caribe y en otras zonas costeras del mundo (Fukuyo, 1981; Besada *et al.*, 1982; Faust *et al.*, 1999; Delgado *et al.*, 2006 a; Okolodkov *et al.*, 2007; Parsons y Preskitt, 2007; Rodriguez *et al.*, 2010; Almazán-Becerril *et al.*, 2015).

En términos generales, la riqueza de especies en la zona de estudio fue baja (14 especies), característica que parece ser común en estos ensamblajes, teniendo en cuenta que diversos autores (Fukuyo, 1981; Vila *et al.*, 2001; Delgado *et al.*, 2006 a; Okolodkov *et al.*, 2007; Peraza y Moreira, 2012; Martínez-Cruz *et al.*, 2015) reportan menos de 20 especies conformando los ensamblajes descritos en sus investigaciones, con una composición de especies similar a la observada en las Bahía y la Laguna de Chengue. Sin embargo, en muchos de estos estudios se incluyen otras especies a parte de las potencialmente nocivas.

Las máximas densidades registradas en las praderas de la Bahía de Chengue en septiembre de 2014 (20109.40 cél. g⁻¹ P.H.) fueron inferiores a las observadas por Okolodkov *et al.* (2007) en una zona arrecifal semi-protegida, de Veracruz, Golfo de México, quienes registraron, sobre *Thalassia testudinum*, un máximo de 31467 cél. g⁻¹ P.H. durante mayo de 2005, mes que presentó condiciones poco extremas y aguas con características

similares a las de la Bahía de Chengue. Sin embargo, en la estación del Golfo de México se presenta una mayor exposición al flujo enérgico de aguas marinas. Por otra parte, las concentraciones celulares del presente estudio superaron la encontrada por Martínez-Cruz et al. (2015), en una zona costera de la Península de Yucatán, al sur este del Golfo México, quienes reportaron dos picos durante el período de estudio, el máximo (2000 cél. g⁻¹ P.H.) en agosto de 2012 y uno menor de 1380 cél. g⁻¹ P.H. aproximadamente, en abril de 2013 sobre hojas del mismo sustrato. Estos autores observaron que la mayor concentración de dinoflagelados epifitos suelen presentarse en el área apical (más antigua) de las hojas, particularmente en los meses de lluvias moderadas, como fue evidente en el presente estudio. Igualmente, los valores superaron las densidades reportadas por Delgado et al. (2006 a) en Jaimanitas, noreste de las costas de Cuba, siendo evidente un incremento en la concentración de dinoflagelados epifitos entre mayo y octubre de 1999 y 2001, con un máximo de 1100 cél. g⁻¹ P.H. en junio de ambos años, considerado por los autores como temporada de lluvias de verano, condiciones similares a las del presente estudio (Anexo F). Cabe resultar que estos autores evaluaron los dinoflagelados epifitos sobre macroalgas, por tanto, la variación en el tipo de sustrato pudo ser causante de la diferencia en las densidades.

Así mismo, Tindall y Morton (1998) indican que las altas densidades en estos organismos son ocasionales y que los máximos comunes para las especies epífitas se encuentran entre los 100 y 10000 cél. g⁻¹ P.H. Por tanto, las densidades presentes en la Bahía de Chengue durante el período de estudio, se pueden considerar como altas al encontrarse dentro de este rango e inclusive superándolo en agosto y septiembre de 2014. Sin embargo, varios autores han registrado densidades superiores a 1 x 10⁵ cél. g⁻¹ P.H. de especies pertenecientes a los géneros *Gambierdiscus* y *Ostreopsis*, sobre diversas macroalgas (Carlson y Tindall, 1985; Mangilajo *et al.*, 2008; Totti *et al.*, 2010; Mangilajo *et al.*, 2011).

El género *Prorocentrum* fue el predominante, presentando una alta frecuencia y abundancia, en ambos sistemas, lo cual suele ser común coincidiendo con lo observado por varios autores en otros lugares del Caribe (Delgado, 2005; Okolodkov *et al.*, 2007; Faust, 2009; Rodríguez *et al.*, 2010; Almazán-Becerril *et al.*, 2012; 2015; Mancera-Pineda *et al.*, 2014; Martínez-Cruz *et al.*, 2015). El género se encuentra ampliamente distribuido, presentando un extenso número de especies epibentónicas, en aguas someras

subtropicales, en lagunas costeras asociadas a manglar, así como en zonas templadas (Carlson y Tindall, 1985; Hoppenrath *et al.*, 2013). Su representatividad ha sido evidente no sólo asociado a pastos marinos y de diversos sustratos (Fukuyo 1981; Ballantine *et al.*, 1985; Mancera-Pineda *et al.*, 2014; Navarro-Vargas *et al.*, 2014; Almazán-Becerril *et al.*, 2015), sino también especies como *Prorocentrum gracile, P. mexicanum, P. micans, P. mínimum, P. sigmoides*, entre otros, que presentan hábitos planctónicos (Hernández-Becerril *et al.*, 2000; Muciño-Márquez *et al.*, 2011; Munir *et al.*, 2013; Muciño-Márquez *et al.*, 2015) y Croome y Tyler (1987) reportaron dos especies de *Prorocentrum* planctónicas en una laguna costera de agua dulce en Tasmania, *P. playfairii* y *P. foveolata.*

El segundo género de importancia fue *Ostreopsis*, que de igual manera se encuentra ampliamente distribuido (Chang *et al.*, 2000; Ismael y Halim, 2012; Parsons *et al.*, 2012; Penna *et al.*, 2012; Tawong *et al.*, 2014). Navarro-Vargas *et al.* (2014) atribuyen su éxito en parte a la capacidad que tienen las especies de excretar mucílago que favorece su fijación al sustrato. Así mismo, al incrementar su densidad, la masa que contiene estos organismos se desprende de las superficies, facilitando su dispersión, por tanto, es esporádica su presencia en muestras de la columna de agua (INVEMAR, datos no publ.).

Coincidiendo con los resultados de estudios previos, tanto en muestras de *T. testudinum* como de otras fanerógamas marinas (Marasigan *et al.*, 2001; Delgado, 2005; Delgado *et al.*, 2006 a; Delgado *et al.*, 2006 b; Okolodkov *et al.*, 2007; Valerio y Díaz 2007; 2008; Hernández, 2008; Okolodkov *et al.*, 2014; Martínez-Cruz *et al.*, 2015), *Prorocentrum lima* fue una de las especies dominantes, siendo importante su contribución en los máximos de densidades registradas en la Bahía. La especie se considerada como cosmopolita, presente en ambientes planctónicos y epibentónicos, en aguas tropicales, subtropicales y templadas (Fukuyo, 1981; Hoppenrath *et al.*, 2014), ha sido reportada en Norteamérica (Canadá - Marr *et al.*, 1992; McLachian *et al.*, 1994; Golfo de California - Heredia-Tapia *et al.*, 2002), Mar Mediterráneo (Grecia - Aligizaki y Nikolaidis 2006; Aligizaki *et al.*, 2009; Túnez - Aissaoui *et al.*, 2014; Mallorca y las costas catalanas - Vila *et al.*, 2001), región del Caribe (Belice - Faust, 2009; Cuba - Delgado *et al.*, 2014; Florida - Morton *et al.*, 1992; México - Okolodkov *et al.*, 2017; Martínez-Cruz *et al.*, 2015; Venezuela - Valerio y Díaz, 2007; 2008; Navarro-Vargas *et al.*, 2014), Atlántico Norte (España – Bravo *et al.*, 2001; Reino Unido - Foden *et*

al., 2005; Nascimento *et al.*, 2005); Filipinas - Marasigan *et al.*, 2001); Océano Índico (Bouaïcha *et al.*, 2001); entre otros, confirmando su amplia distribución y adaptabilidad, atribuida principalmente a la variabilidad morfológica que presenta, confiriéndoles la habilidad para desarrollarse en diversos hábitats (Fukuyo, 1981; Marasigan *et al.*, 2001; Valerio y Díaz, 2007; Hoppenrath *et al.*, 2013).

Okolodkov *et al.* (2007) observaron las mayores densidades de *P. lima* sobre *T. testudinum* en Veracruz, Golfo de México, durante mayo de 2005 (29756 cél. g⁻¹ P.H.), superando las densidades máximas reportadas en el presente estudio, en agosto y septiembre de 2014 (9600.56 y 15866.57 cél. g⁻¹ P.H.). Por otra parte, esta última densidad fue superior a la registrada por Foden *et al.* (2005) en la Laguna Flet en Inglaterra (13000 cél. g⁻¹ P.H.), asociadas a otras especies de pastos marinos en agosto de 2002 y a las observadas por Martínez-Cruz *et al.* (2015) quienes registraron en la Península de Yucatán, en abril de 2013, un máximo de 1100 cél. g⁻¹ P.H. aproximadamente, sobre *T. testudinum*.

Después de *Prorocentrum lima*, *P. hoffmannianum* y *Ostreopsis* cf. *ovata* fueron también dominantes en algunas muestras, presentando una alta frecuencia y abundancia relativa en la Bahía de Chengue. *P. hoffmannianum* es común en el Caribe (Faust y Gulledge, 2002), donde ha sido observada sobre pastos marinos, macroalgas, sedimentos, detritus flotante (Faust *et al.*, 1999; Rodríguez *et al.*, 2010; Mancera-Pineda *et al.*, 2014) y en ambientes con presencia de manglar en Belice (Faust *et al.*, 1999; Faust, 2009). Martínez-Cruz *et al.* (2015) registraron esta especie cerca de la zona costera de la Península de Yucatán, Golfo de México, asociada a *T. testudinum* con densidades por debajo de 200 cél. g⁻¹ P.H. (agosto de 2012), inferiores a las presentes en la Bahía de Chengue, las cuales alcanzaron un máximo de 6487.50 cél. g⁻¹ P.H. en noviembre de 2014.

Por otra parte *O.* cf. *ovata* forma parte de un género controversial, teniendo en cuenta que, debido a su similitud morfológica intraespecífica, la mayoría de las especies del género se han confundido unas con otras, siendo necesaria la implementación de métodos moleculares para garantizar su correcta identificación (Penna *et al.*, 2012). *O. ovata* es la única especie que, por su forma de lágrima y su pequeño tamaño puede distinguirse de las demás. Sin embargo, debido a un par de caracteres morfológicos que difieren respecto a las descripciónes de Fukuyo (1981) y Penna *et al.* (2005), se consideró denominarla como *Ostreopsis* cf. *ovata*. De igual manera que las dos especies anteriormente discutidas, *O.*

ovata presenta una amplia distribución geográfica (Granéli et al., 2011; Parsons et al., 2012; Accoroni, 2012), particularmente sobre macrófitas en áreas tropicales y subtropicales, aunque también ha sido reportada en aguas templadas (Chang et al., 2000; Cohu et al., 2011; Parsons et al., 2012). Rodríguez et al. (2010) la reportan en Colombia asociada a varios sustratos, particularmente sobre T. testudinum. Las densidades máximas de esta especie en la Bahía de Chengue, registradas en abril de 2014 (5650.31 cél. g⁻¹ P.H.) y mayo de 2015 (5034.46 cél. g⁻¹ P.H.), fueron notoriamente inferiores a las registradas por Cohu et al. (2011) en Mónaco, donde alcanzó un pico cercano a 2.8 x 10⁶ cél. g⁻¹ P.H. durante el verano de 2007 (julio), siendo una de las densidades más altas registradas para esta especie. Cabe resaltar que, estos autores sólo consideraron macroalgas como sustrato, similar al enfoque de otros autores en el Mediterráneo, quienes igualmente observaron densidades superiores a 1 x 10⁶ cél. g⁻¹ P.H. de estos dinoflagelados sobre diversas macroalgas durante el período de verano en los años de estudio (Mangialajo et al., 2008; Totti et al., 2010; Mangialajo et al., 2011). Esto sugiere que probablemente, como lo mencionaron Morton y Faust (1997), T. testudinum no sea el sustrato preferido por estos organismos.

En la Laguna de Chengue, las densidades no sólo fueron inferiores a las reportadas en la Bahía del presente estudio, sino también respecto a las reportadas por Okolodkov *et al.* (2007) en una laguna arrecifal ubicada en Veracruz, Golfo de México, durante julio de 2005, con un máximo de 6826 cél. g⁻¹ P.H. frente a las 83 cél. g⁻¹ P.H en la Laguna de Chengue (enero de 2015). Cabe resaltar que estas Lagunas presentaron características diferentes. Según Okolodkov *et al.* (2007) la Laguna muestreada en Veracruz es similar al sistema de tipo II descrito por Tindall y Morton (1998), quienes lo definen como "una zona plana permanentemente sumergida de arrecifes algales o piscinas de marea que se extienden hacia el mar, protegidas por arrecifes o por masas de tierra, presentando una moderada a alta densidad de fanerógamas marinas". Por tanto es probable que debido a esto y a características tales como la transparencia del agua, se den tales diferencias en las densidades de los dinoflagelados epfitos.

Las especies de mayor importancia en la Laguna de Chengue fueron *Prorocentrum* sp.1 y *P. rhathymum* por ser las más representativas en este sistema, con abundancias relativas inferiores al 50 % y densidades por debajo de 64.70 cél. g⁻¹ P.H. (noviembre de 2015),

atribuidas a la primera especie mencionada. Las observaciones de Okolodkov *et al.* (2014) coinciden con los resultados obtenidos, los autores indican que *P. rhathymum* fue abundante y frecuente sobre una mezcla de macroalgas y pastos marinos de una laguna costera al norte de la Península de Yucatán. Sin embargo, debido posiblemente a la mezcla de fanerógamas y a las condiciones de cada lugar, las densidades reportadas por éstos autores superaron notoriamente a las observadas en la Laguna de Chengue.

En el presente estudio, fue evidente la presencia exclusiva de algunas especies en cada sistema, demostrando la preferencia de éstas por condiciones específicas. En la Bahía, el género Coolia contribuyó con altas densidades en agosto del 2014. Coolia sp1 alcanzó un máximo de 1453.30 cél. g⁻¹ P.H., superior al reportado por Martínez-Cruz et al. (2015) en la Península de Yucatán (100 cél. g⁻¹ P.H. aproximadamente). Sin embargo, la especie observada por estos autores parece coincidir con las características de Coolia sp2 del presente estudio (Figura 1-6), la cual sólo se observó en septiembre y noviembre con densidades de 1.60 y 2.30 cél. g⁻¹ P.H. respectivamente. De igual manera, O. cf. lenticularis y P. emarginatum fueron exclusivas de la Bahía de Chengue. O. cf. lenticularis presentó bajas densidades, con un máximo (90.26 cél. g⁻¹ P.H.) en agosto de 2015. Éstos resultados difirieren de lo observado por Ballantine et al. (1987) para la misma especie, quienes reportaron entre 2000 y 7000 cél. g⁻¹ P.H. en aguas costeras de Costa Rica entre octubre de 1983 y diciembre de 1984, correspondiendo la mayor densidad a octubre del último año. Por otra parte, Fukuyo (1981) la observó sobre diversas macroalgas en la Isla Gambier, en la Sociedad de islas de la Polinesia Francesa y Nueva Caledonia, mientras que Faust (2009) la reportó en Belice sobre T. testudinum. P. emarginatum fue esporádica, con densidades aun menores, presentando un incremento en octubre y noviembre de 2015. Otros autores la han reportado asociada a macroalgas en islas de Japón y Colombia (Fukuyo, 1981; Rodríguez et al., 2010).

Por otra parte, *Gambierdiscus* sp2 y *Prorocentrum* sp2 fueron exclusivas de la Laguna. *Gambierdiscus* fue un género raro (bajas frecuencia y abundancias) en ambos sistemas, presentando sus especies densidades mucho menores (<2,30 cél. g⁻¹ P.H.) a la reportadas por otros autores (Yasumoto *et al.*, 1980; Ballantine *et al.*, 1985; Tindall y Morton, 1998) y en la mayoría de los caso, sobre sustratos diferentes a *T. testudinum*

Respecto a los atributos ecológicos, de acuerdo con lo reportado por Tindall y Morton (1998) y Okolodkov *et al.* (2007), y como se mencionó anteriormente, se confirma que la riqueza de especies en estos ensamblajes suele ser baja sobre las fanerógamas, lo cual fue evidente en el presente estudio en ambos sistemas, particularmente en la Laguna. Los meses con mayor diversidad, como ocurrió de agosto a noviembre de 2015 en la Bahía y durante varios meses en la Laguna, indican la coexistencia de especies de dinoflagelados sobre *Thalassia testudinum*, haciendo que la comunidad sea homogénea y disminuya el predominio. Sin embargo, de agosto a noviembre de 2014 en la Bahía y durante algunos meses del mismo año en la Laguna (Figura 2-13), fue evidente una disminución en la diversidad e incremento del predominio, pues al presentarse variaciones en el medio, siempre habrá una especie favorecida al adaptarse al cambio. Lo anterior genera inconvenientes cuando se trata de los dinoflagelados mencionados anteriormente, pues es probable que en este escenario se produzcan floraciones potencialmente tóxicas.

Cabe resaltar que las comparaciones con otros estudios son complejas, ya que distintos autores tienden a emplear diversas metodologías. Las muestras se obtienen comúnmente de una mezcla de varias fanerógamas (incluyendo pastos marinos y macroalgas) o de la columna de agua al presentarse floraciones evidentes, registrándose en varias ocasiones el peso seco del sustrato en vez de peso húmedo. En algunos estudios sólo se recolectan muestras durante unos cuantos meses del año. Por todo lo anterior, los datos no son comparables en la mayor parte de los casos.

2.4.2 Condiciones ambientales favorables para la presencia y proliferación de dinoflagelados epífitos potencialmente tóxicos en Chengue PNNT

El ensamblaje de dinoflagelados potencialmente tóxicos observado en la *Thalassia testudinum* de la Bahía fue notoriamente diferentes del presente en Laguna de Chengue. Este hecho puede atribuirse principalmente a las características propias de cada ambiente, siendo evidentemente más favorables las condiciones que ofreció la Bahía para el incremento de estos organismos.

Pistocchi *et al.* (2011), afirmaron que las condiciones ambientales son claves en el medio marino, siendo los principales reguladores de los procesos que llevan a cabo los organismos y, para este caso, uno de los posibles factores detonantes que determinen la proliferación de dinoflagelados epibentónicos potencialmente tóxicos. Sin embargo, como lo indicaron Carlson y Tindall (1985), la distribución y abundancia de éstos y de muchos otros organismos epibentónicos, no está limitada por la influencia de una variable actuando independientemente sobre el organismo, sino por el conjunto de varias de éstas en el sistema en el cual permanecen y se desarrollan. Así pues, cada especie presenta un nicho con un rango de condiciones bajo las cuales no sólo puede existir y mantenerse (Faust *et al.*, 1999; Bravo *et al.*, 2010; Fraga et al., 2012), sino que también es probable que se den condiciones óptimas que le permitan incrementar sus densidades hasta alcanzar niveles que incluso superen su rango normal.

En este contexto, varios autores sugieren que el aumento en las densidades de algunas especies pertenecientes al grupo de los dinoflagelados epifitos/bentónicos ocurre al incrementarse la temperatura y la salinidad, considerándose estas dos variables como las principales moduladoras del comportamiento de éstos dinoflagelados (Bomber *et al.*, 1988; Granéli *et al.*, 2011; Yamaguchi *et al.*, 2012; Tawong *et al.*, 2015), acompañados de bajas concentración de nutrientes, en ambientes someros con poco movimiento y bien iluminados (Pistocchi *et al.*, 2011; Fraga *et al.*, 2012), teniendo en cuenta que, a su vez, algunas de estas características se encuentran reguladas por las condiciones climáticas.

Las características anteriormente mencionadas son similares a las observadas en la Bahía de Chengue durante el período de estudio, en el que se presentó una buena disponibilidad de luz y leves fluctuaciones de algunas variables, observándose cambios poco drásticos con las precipitaciones. Así mismo, las praderas de *Thalassia testudinum* fueron continuas y abundantes (Figura 13), representando así una mayor área de asentamiento para los dinoflagelados.



Figura 2-17: Fotografías submarinas de las praderas y parches de *Thalassia testudinum* en la Bahía (A-B) y la Laguna de Chengue (C-D), que evidencian la mayor cobertura de esta fanerógama en el primer sistema, así como mayor cantidad de sedimento depositado sobre las hojas en la Laguna (C).

El período de lluvias de 2014 fue fundamental para el desarrollo de los dinoflagelados epifitos potencialmente tóxicos en la Bahía. Tal como se evidenció durante los dos años en los cuales se llevó a cabo el estudio, el fenómeno "El Niño" tuvo una fuerte influencia sobre la climatología típica de la zona, particularmente en el 2015. Los días de lluvia y las precipitaciones fueron un poco mayores en el 2014 coincidiendo los meses de lluvias moderadas con las máximas densidades de dinoflagelados potencialmente tóxicos registradas sobre *Thalassia testudinum*. De igual manera, estas densidades estuvieron explicadas, aunque con una baja pero significativa correlación (Tabla 2-5), por un conjunto de variables ambientales, siendo claves la salinidad, los nitritos, los SST, así como las precipitaciones. La condiciones se resumen en: disminución de la velocidad de los vientos provenientes del norte, ligero descenso de la salinidad a causa de las lluvias leves, aumentos en la temperatura, y presencia de nutrientes (N y P). Estas condiciones, similares a las observadas por otros autores, en relación con incrementos de dinoflagelados epifitos

(Delgado *et al.*, 2006 a; Valerio y Días, 2008; Pistocchi *et al.*, 2011; Fraga *et al.*, 2012), coincidieron con el incremento de especies como *P. lima, P. hoffmannianum, O. cf. ovata, Ostreopsis* sp., *Coolia* sp1, *y P. cf. concavum* (Bahía de Chengue). La variabilidad estacional de los dinoflagelados observados en el 2014 no fue reiterativa en el 2015, posiblemente por ser años con condiciones diferentes. Así pues, es probable que éstos organismos no sigan un patrón constante, debido a la evidente variabilidad climática observada entre años (Figura 2-2).

En estudios realizados en el Mediterráneo se encontró que el incremento de algunos de estos dinoflagelados epifito ocurrió durante primavera y verano, cuando las aguas son transparentes y tibias, asociado principalmente con la mayor abundancia de las fanerógamas hospederas (Vila et al., 2001). Esto se traduce en la cantidad de sustrato disponible para el asentamiento de epífitos, por lo tanto, cuando la temperatura disminuye durante invierno, cuando se presentan fenómenos meteorológicos o al producirse lluvias fuertes y persistentes que afectan las fanerógamas (Ballesteros, 1992), la reducción y/o desaparición de macroalgas y pastos marinos suele reflejarse en la disminución de los dinoflagelados asociados. Pearce et al (2012) aseguran que los dinoflagelados epífitos de pastos marinos, tanto en bahías como en lagunas templadas a lo largo de la costa este de Tasmania, presentaban una distribución limitada, prefiriendo ambientes con alta salinidad, baja turbidez y bajas concentraciones de nutrientes, con incrementos principalmente de Ostreopsis durante el verano. En el Caribe, donde las variaciones climáticas no suelen ser tan extremas como en zonas templadas y frías, la estacionalidad de estos organismos no parece ser tan clara, como se evidenció en los estudios realizados por Okolodkov et al. (2007), Carlson y Tindall (1985). Como lo observaron Delgado (2005) y Delgado et al. (2006) b), es muy probable que durante períodos con fuertes y prolongadas precipitaciones, las densidades de estos organismos tiendan a ser menores. Esto último no fue evidente en los ensamblajes de Chengue, como se mencionó anteriormente, por efectos de la anomalía climatológica producida por "El Niño" entre 2014 y 2015, condiciones que pudieron haber favorecido el incremento de éstos organismos en el área de estudio.

Mediante los resultados obtenidos y al emplear modelos de regresión sobre las especies con mayor contribución al ensamblaje de la Bahía, se propone que, *Prorocentrum lima*, entre otras variables no tenidas en cuenta, podría incrementar sus densidades bajo

condiciones de lluvias moderadas con aumentos en los SST (<87.00 mg L⁻¹), nutrientes en bajas concentraciones y, aunque no pareció tener efecto directo, salinidad y temperatura elevadas. Las densidades máximas (9600.56 y 15866.57 cél. g⁻¹ P.H.) se alcanzaron al presentarse salinidades entre 35 y 36, y temperaturas cercanas a los 30 °C, coincidiendo los valores de estas dos variables con lo observado por Delgado (2005) y Aquino-Cruz (2012), y un poco mayores a los reportados por Morton et al. (1992), en cultivos de esta especie. Por otra parte, los mismos autores así como Tindall y Morton (1998) y Delgado et al. (2006 a) afirman que los ambientes eutróficos favorecen el incremento de ésta especie y Okolodkov et al. (2014) observaron una correlación positiva entre sus densidades y las altas concentraciones de amonio en el medio. Las bajas concentraciones de nutrientes inorgánicos en Chengue indican que aún en ambientes oligotróficos, estos dinoflagelados pueden desarrollarse y alcanzar altas densidades. P. hoffmannianum presentó un comportamiento similar al de P. lima. Morton et al. (1994) evidenciaron en cultivos de esta especie que su tasa de crecimiento óptima se alcanzó a 27 °C y salinidades de 34, valores un poco inferiores a los observados en el presente estudio, al registrarse las densidades máximas.

Así pues, fueron evidentes dos modelos claros en la Bahía de Chengue. El primero está determinado por la coexistencia de *Prorocentrum lima* y *P. hoffmannianum*, especies que parecen tener nichos similares y que alcanzaron su máximo durante el período de lluvias de 2014, al presentarse altas temperaturas, precipitaciones moderadas y una leve disminución de la salinidad. Sin embargo, *P. hoffmannianum* alcanzó su máximo una vez *P. lima* disminuyó, siendo posible una competencia por recursos, tanto de sustrato para su fijación como de nutrientes, principalmente nitrogenados.

El segundo modelo estuvo determinado por la presencia de *Ostreopsis* cf. *ovata*, que también incrementó su densidad al presentarse baja salinidad, confirmándose así la importancia de esta variable de acuerdo con los resultados mencionado por Tindall y Morton (1998). Sin embargo, las mayores densidades de la especie se presentaron en época seca de ambos años, modulada principalmente por baja concentración de nutrientes, pero favoreciéndose con leves incrementos en el N disponible como amonio. Fraga *et al.* (2012) mencionan que en estos organismos, al estar más asociados al fondo, la remineralización de nutrientes cumple un papel fundamental, principalmente cuando la temperatura es alta.

Este sería el panorama en Chengue, donde como suplemento adicional se liberan nutrientes del sedimento (producción regenerada) que escapan con frecuencia al nivel de detección de los análisis, al ser capturados inmediatamente por otras microalgas bentónicas y fanerógamas. Por otra parte, Holmes et al. (1988) y Pearce et al. (2001) observaron en pruebas realizadas con cultivos, que al emplear un medio con concentraciones elevadas de nutrientes inorgánicos, las células de O. ovata y otras especies del mismo género, presentaron malformaciones y no crecieron adecuadamente, en tanto que al diluir el medio las células se desarrollaron adecuadamente e incrementaron en número. Lo anterior soporta el hecho de que algunos dinoflagelados epibentónicos estén adaptados a crecer y mantenerse en condiciones de bajos nutrientes (Pearce et al., 2001; Pistocchi et al., 2011). En Chengue, como es común a lo largo de las costas de la región del Magdalena, las concentraciones de nutrientes son bajas, típicas de ambientes oligotróficos, aún más teniendo en cuenta que esta Bahía no presenta ningún aporte de aguas continentales como ríos o descargas de otro tipo de aguas que puedan generar un aporte significativo de estos compuestos (INVEMAR, 2016). Adicionalmente, aparte de adaptarse a medios oligotróficos, no se descarta la idea de que estos dinoflagelados sean mixótrofos. Así, en el presente estudio algunas células de Ostreopsis presentaron en su interior una forma de color rojo (Figura 2-18), indicando el posible consumo de otro organismo como lo mencionan Fraga et al. (2012). Las mayores densidades de la especie fueron evidentes al presentarse pequeñas disminuciones en la salinidad y temperaturas superiores a 27 °C, similar a lo reportado por Mangialajo et al. (2008) en Italia y confirmando lo observado por Granéli et al. (2011) y Yamaguchi et al. (2012), quienes mediante pruebas en laboratorio, evidenciaron que esta especie aumenta su tasa de crecimiento y biomasa en un rango de temperaturas entre los 26 y 30 °C, coincidiendo con los picos más altos en las densidades de la especie durante los dos años de muestreo en la Bahía de Chengue y similar a lo reportado por Brahim, et al., 2015 en una Isla en la costa sur de Túnez.



Figura 2-18: Ostreopsis sp. con una forma de color rojo en su interior (flecha), indicando el posible consumo de otro organismo. Barra de escala= 20 µm.

En la Laguna el panorama fue diferente, observándose condiciones menos favorables para los dinoflagelados epifitos en la Thalassia testudinum. Esto se vio reflejado en las bajas densidades celulares, pues aunque se encuentra cerca de la Bahía, intercambian agua y están bajo la influencia de las mismas condiciones climáticas, la Laguna es un sistema acuático semicerrado, con algunas características similares a las del sistema de tipo IV descritas por Tindall y Morton (1998) y representado como una "laguna de manglar " con baja tasa de renovación del agua y alta evaporación, principalmente durante los años en los cuales se llevó a cabo el estudio (particularmente 2015), una alta carga orgánica atribuida al manglar, la cual limita en el crecimiento de microalgas. Así pues, el escenario fue algo más extremo respecto a la Bahía, lo cual se evidenció con los valores de salinidad, pH, algunos nutrientes, SST (Figura 2-6) y las característica del aguas, la cual fue bastante turbia debido a la composición del sedimento constituido principalmente por limo-arcilloso de color negro oscuro y con una cantidad un poco mayor de materia orgánica. Álvarez-León et al. (1995) observaron que la transparencia en la Laguna de Chengue tiende a disminuir al alejarse de la entrada de agua de la Bahía por acción tanto de las corrientes como del viento y su efecto en la resuspensión y transporte de sedimento fino, en particular teniendo en cuenta la poca profundidad a la cual se encontraban los parches de T. testudinum (<0.5 m de profundidad). Delgado et al. (2006 a y b) afirmaron que en lugares en los que el sedimento resuspendido se deposita sobre las fanerógamas, la presencia y densidad de los dinoflagelados bentónicos se pueden ver limitadas por la reducción de superficie disponible y la dificultad para adherirse con firmeza al sustrato. Lo anterior coincide con

varias observaciones realizadas al colectar las muestras, en las cuales fue evidente una mayor cantidad de sedimento sobre las hojas de *T. testudinum* de la Laguna (Figura 2-17).

La temporalidad en este cuerpo de agua (Laguna) no fue tan clara, teniendo en cuenta que los dos máximos celulares se observaron tanto en la época seca como en la lluviosa, siendo mayores los picos en el 2015, lo cual puede atribuirse a la alta variabilidad que presentó este sistema. Así mismo, aunque las variables consideradas no alcanzaron la significancia y explicaron en una menor cantidad el comportamiento del ensamblaje de dinoflagelados potencialmente tóxicos, nuevamente la salinidad, temperatura, oxígeno disuelto y el N en forma de nitritos, dieron un indicio de ser las variables moduladoras de este ensamblaje, confirmando la importancia de la salinidad sobre el comportamiento de estos organismos. Las mayores densidades ocurridas en enero se atribuyeron al incrementos de las especies *Ostreopsis* sp., *Prorocentrum* sp1 y O. cf. *ovata* y fue evidente un segundo aumento algo menor en noviembre atribuido en su mayoría, a *Prorocentrum* sp1, al presentarse precipitaciones un poco mayores.

La dominancia del género *Prorocentrum* confirmó la capacidad de algunas especies para adaptarse a diversas condiciones (Fukuyo, 1981; Marasigan *et al.*, 2001; Valerio y Díaz, 2007; Hoppenrath *et al.*, 2013), siendo algunas de ellas las responsables de los máximos de densidad en la Laguna, principalmente *Prorocentrum* sp1. Mediante lo observado y soportado por las regresiones realizadas, se plantean dos modelos para este sistema.

En este sistema, el primer modelo se relaciona con la especie *Prorocentrum* sp1, para la cual se propone una preferencia por condiciones influenciadas por ligeras lluvias ocurridas durante un menor número de días, asociadas con un descenso en el oxígeno disuelto, bajas concentraciones de nutrientes y aunque la salinidad no pareció tener un efecto representativo, las mayores densidades coincidieron con el mínimo de salinidad (35.10) reportado durante el estudio acompañado de altas temperaturas (29 °C).

El segundo modelo estuvo basado en el comportamiento de *P. rhathymum*, segunda especie en importancia de aporte a las altas densidades. Esta especie presentó un nicho diferente, con una mayor posibilidad de estar presente bajo períodos de sequía o lluvias leves asociados con valores altos de salinidad y temperatura, como ha sido evidente para otros dinoflagelados bentónicos (Fraga *et al.*, 2012; López-Rosales *et al.*, 2014). Lo anterior

soporta lo mencionado por varios autores (Faust *et al.*, 1999, Bravo *et al.*, 2010), quienes consideran que cada especie presenta rangos de preferencia o "ventanas ambientales óptimas" de incremento celular, respecto a las condiciones donde se encuentre.

La ausencia de dinoflagelados potencialmente tóxicos sobre las hojas de *Thalassia testudinum* en la Laguna durante febrero y octubre del 2014 es compleja de explicar, teniendo en cuenta que ocurrió durante dos épocas diferentes y no fueron evidentes condiciones inusuales durante estos meses ni durante los que los procedieron en relación con las variables abióticas, a excepción de la baja temperatura registrada en esta estación durante febrero (24.30 °C). Por tanto se considera que su ausencia podría atribuirse a factores diferentes no tenidos en cuenta.

Es evidente que, aparte de las variables consideradas, existen otras que posiblemente expliquen en mayor medida las fluctuaciones en los ensamblajes de estos dinoflagelados. Al igual que lo observado previamente por Valerio y Díaz (2007) y Valerio y Díaz (2008), fue evidente la presencia de diatomeas bentónicas y cianobacterias en la mayoría de las muestras analizadas, inclusive en densidades superiores a las de los dinoflagelados presentes. Aunque la información acerca de estos grupos coexistiendo sobre un mismo sustrato es escasa, probablemente otros grupos de microalgas epifitas puedan actuar como reguladores del ensamblaje de los dinoflagelados de interés, al generarse una presión por competencia tanto por el recurso, en este caso nutrientes, como por el espacio disponible para su fijación (*T. testudinum*). Así mismo, es posible la existencia de otro tipo de interacciones como la alelopatía, simbiosis y parasitismo que podrían beneficiar o afectar a algunas especies.

Respecto a variables como la predación, es poco lo que se sabe acerca de los predadores que controlan las poblaciones de dinoflagelados epibentónicos. Sin embargo, Fraga *et al.* (2012) consideran que el papel de los invertebrados en el sistema puede ser importante. Esto fue evidente en la Laguna, siendo notoria una gran cantidad de caracoles sobre las hojas de *T. testudinum*, los cuales no sólo se alimentan de lo que se adhiere a esta fanerógama, sino que también depositan huevos sobre sus hojas (INVEMAR datos no publ.), generando una disminución del área de asentamiento disponible para los dinoflagelados. Así mismo, la presencia de erizos de mar y peces herbívoros que se alimentan de los pastos marinos (Figura 2-19) genera una disminución tanto del sustrato

para asentarse como de los organismos adheridos, limitando el incremento de su densidad (Fraga *et al.*, 2012).



Figura 2-19: Evidencia del pastoreo sobre las hojas de *Thalassia testudinum* en la Bahía de Chengue PNNT. Barra de escala= 1 cm.

2.4.3 Implicaciones de la presencia de dinoflagelados potencialmente tóxicos sobre las praderas de *Thalassia testudinum* en Chengue PNNT

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos, las altas densidades de *P. lima* registradas en la Bahía de Chengue se consideran riesgosas, debido a la capacidad que tiene la especie de producir ácido okadaico y sus análogos como parte de su metabolismo, ocasionando intoxicaciones diarreicas por la ingesta de mariscos (DSP-diarrhetic shellfish poisoning; Yasumoto *et al.*, 1987; Lee *et al.*, 1989), lo cual ha sido demostrado por otros autores para el Caribe (Delgado, 2005; Delgado *et al.*, 2005). Al igual que en *P. lima*, también se han aislado estas toxinas en células de *P. hoffmannianum* (Morton y Bomber, 1994) y *P. rhathymum* (An *et al.*, 2010). Así mismo, se han confirmado efectos negativos con implicaciones en la salud humana asociados con *O. ovata* (Ciminiello *et al.*, 2011; Gorbi *et al.*, 2012; Nascimento *et al.*, 2012; Brissard *et al.*, 2014), generando principalmente intoxicaciones por inhalación de aerosol marino tóxico e irritaciones en la piel y mucosas de los bañistas y otras personas expuestas en zona de playas (Tichadou *et al.*, 2010, Tubaro *et al.*, 2011). El género *Coolia* ha sido reportado como principal productor de cooliatoxina,

particularmente la especie *C. monotis* (Holmes *et al.* 1995; Rhodes et al., 2000). Sin embargo no ha sido evidente su efecto negativo en humanos.

Por otra parte, a pesar de haberse encontrado en bajas densidades, la presencia del género Gambierdiscus en una zona en la cual se han reportado casos de ciguatera por consumo de pescado años atrás (Álvarez, 1997; 1999; Gaitán, 2007), genera preocupación, teniendo en cuenta que no se descarta la posibilidad de que puedan encontrarse en mayor densidad sobre otro sustrato diferente a Thalassia testudinum. Si bien algunos estudios indican que esta fanerógama es apropiada para el asentamiento de estos dinoflagelados (Okolodkov et al. 2007), otros autores (Morton y Faust, 1997), al realizar comparaciones entre varios sustratos, indicaron que a pesar de ser la macrófita más abundante y frecuente en los lugares muestreados, T. testudinum presentó las densidades más bajas de dinoflagelados epifitos. Esto último fue particularmente notorio para el género Gambierdiscus, siendo mejores hospederas macroalgas feófitas y rodófitas. Estas observaciones coinciden con las de Ballantine et al. (1985) y Tindall y Morton (1998). Las macroalgas predilectas por los dinoflagelados epífitos, tienen la capacidad de liberar sustancias como polifenoles, compuestos nitrogenados, nutrientes, vitaminas, entre otros, que actúan como factores de crecimiento y podrían beneficiar a estos organismos Morton y Faust, 1997). Por otra parte, se ha comprobado que T. testudinum, también produce metabolitos secundarios (sustancia fenólicas, etanólicas y taninos) (Regalado et al., 2009; 2011; De la Torre et al., 2011; Ansoar et al., 2014) que actúan como sustancias bioactivas antivirales, antibióticas y antifúngicas (Jensen et al., 1998), pudiendo ser las responsables de que algunas especies sientan repulsión por estos compuestos, al ser exudados por la planta, evitando esta fanerógama como sustrato.

Otra implicación preocupante radica en que en la región del Magdalena, principalmente en varios sectores del Parque Nacional Natural Tayrona, se encuentran Bahías que presentan características muy similares a las observadas en Chengue, con presencia de diversas fanerógamas marinas y otros sustratos que pueden ser aprovechados por los dinoflagelados epibentónicos potencialmente tóxicos. Es muy probable que estos organismos también se encuentren allí y puedan proliferar bajo las condiciones idóneas, como se ha observado en algunas muestras al emplear sustratos artificiales en Bahías

aledañas y al revisar muestras de césped que se transporta a la deriva (drift) y se acumula sobre el suelo marino somero (INVEMAR y Arteaga datos no publ.).

En cuanto al riesgo por toxicidad, cabe resaltar que aunque no ha sido comprobada aún, la presencia de toxinas en las especies observadas tanto en la Bahía como en la Laguna de Chengue, no puede descartarse. Hales et al. (1999); Chateau-Degat et al. (2005) y Granéli et al. (2011) evidenciaron que incrementos en la temperatura superficial del agua durante eventos como "El Niño" se asociaron con una mayor incidencia en los casos de intoxicaciones en Europa y ciguatera en algunas islas del Pacifico. Así mismo, Ashton et al, (2003) observaron que al exponer cultivos de Ostreopsis lenticularis a altas temperaturas (>30 °C), fue evidente una mayor producción de toxinas, comparado con células expuestas a temperaturas inferiores (25-26°C), en tanto que Granéli et al. (2011) concluyeron que las altas temperaturas generan un incremento en la densidad celular de O. ovata y disminuye su toxicidad, pero a menores temperaturas (<22 °C) disminuyen su densidad e incrementa la producción de toxinas. Respecto a Prorocentrum, varios autores han demostrado que en ambientes con alta temperatura, salinidad e intensidad lumínica, condiciones similares a las observadas en la Bahía de Chengue, P. lima pueden incrementar la producción de toxinas (Heredia-Tapia et al., 2002; Delgado et al., 2005), generando un aumento de riesgo en los casos de intoxicaciones diarreicas. De igual manera, Heredia-Tapia et al. (2002) citan que el mayor riesgo de intoxicación puede producirse al haber resuspensión del sedimento causado por afloramientos de agua repentinos por anomalías climáticas o por efecto de huracanes. Aunque las demás especies presentaron bajas densidades, no pueden subestimarse ni considerarse inocuas, pues en caso de ser tóxicas y verse favorecidas por determinadas condiciones ambientales podrían generar inconvenientes.

Desde la perspectiva ecológica, la mayor consecuencia de los dinoflagelados epifitos potencialmente tóxicos radica en que sus toxinas pueden biomagnificarse a través de la trama trófica (Ramos y Vasconcelos, 2010), generando inconvenientes al consumidor final, que en estos casos sería el ser humano o considerando que el aerosol marino asociado con sus proliferaciones (*Ostreopsis* principalmente) puede causar irritaciones dérmicas y de las vías respiratorias (Gallitelli *et al.*, 2005; Tubaro *et al.*, 2011; Del Favero *et al.*, 2012; Ciminiello *et al.*, 2014). Sin embargo, es necesario realizar aislamientos y cultivos, así como análisis de las especies bajo sospecha para corroborar la presencia de éstas toxinas en los

dinoflagelados epifitos de Chengue y poder descartar o confirmar el riesgo que realmente representan en la zona.

Teniendo en cuenta que las condiciones descritas anteriormente coinciden y prevalecen en la zona de estudio, así como en varios sectores del Caribe colombiano, se considera que existe el riesgo de que se produzcan intoxicaciones asociadas a estos organismos, mientas no se descarte la presencia de toxinas.

2.5 Conclusiones

• Se confirmó la presencia de dinoflagelados potencialmente tóxicos asociados a las praderas de *T. testudinum* en el Parque Nacional Natural Tayrona, Caribe colombiano con representantes de los géneros *Prorocentrum, Ostreopsis, Coolia y Gambierdiscus*.

• La composición y densidad de los ensamblajes de dinoflagelados epifitos potencialmente tóxicos fluctuó entre los dos lugares muestreados, pero no pareció ser diferente entre el 2014 y el 2015, sin embargo las mayores densidades se presentaron durante el período de lluvias moderadas de 2014.

• Las praderas de *T. testudinum* en la Bahía de Chengue ofrecieron condiciones favorables para el mantenimiento e incremento de estos dinoflagelados, teniendo en cuenta que las densidades máximas registradas en esta estación fueron 240 - 250 veces mayores a las presentes en la Laguna.

 Aunque las variables físico-químicas consideradas, particularmente, la salinidad, temperatura, precipitaciones y nutrientes (nitrogenados principalmente) dieron un acercamiento sobre la preferencia de algunas especies de dinoflagelados epifitos potencialmente tóxicos por condiciones particular, es complejo asegurar en que preciso momento incrementaran, teniendo en cuenta que es probable que otras variables no consideradas puedan tener una mayor influencia sobre estos.

• Fue evidente la preferencia de cada especie por ambientes determinados. Sin embargo, bajo condiciones con alta salinidades, temperaturas, irradiación y remineralización, así como una buena disponibilidad de sustrato, en conjunto crean un

ambiente propicio para el mantenimiento e incremento de estos dinoflagelados epifitos potencialmente tóxicos.

• Es probable que durante períodos de fuertes y prolongadas precipitaciones, las densidades de estos organismos tiendan a ser menores, lo cual no fue evidente en los ensamblajes de Chengue durante el período de estudio, por efectos de la anomalía climática producida por "El Niño", condiciones que pudieron haber favorecido, en parte, al incremento de estos organismos.

• Las altas densidades de especies pertenecientes a los géneros *Prorocentrum* y *Ostreopsis*, particularmente *P. lima, P. hoffmannianum* y *O. cf. ovata*, en la Bahía de Chengue hacen que la región sea considerada como un área susceptible a intoxicaciones por ingesta de mariscos contaminados con toxinas diarreicas (toxinas DSP-Diarrhetic shellfish poisoning) y/o irritaciones dérmicas y de las vías respiratorias por inhalación de aerosol marino. Sin embargo, es necesario realizar análisis de toxinas para dar certeza a esta aseveración.

• Aunque la presencia del género *Gambierdiscus* sobre la *Thalassia testudinum* en Chengue fue ocasional y en densidades poco considerables, éstas podrían ser más abundantes asociadas a otro sustrato por tanto, su presencia genera preocupación, particularmente en la región del Magdalena en la cual se han registrado unos cuantos casos de ciguatera, asociados al consumo de pescado.

2.6 Recomendaciones

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en el presente estudio, a continuación se dan algunas recomendaciones que pueden ser útiles, con el fin de realizar mejoras en los monitoreos de dinoflagelados epibentónicos potencialmente tóxicos.

2.6.1 Elección de las estaciones de muestreo, sustrato y variables a tener en cuenta

Es necesario contar con una estrategia de muestreo continuo y sistemático, siendo relevante un conocimiento previo del lugar en el cual se recolectaran las muestras, contando con información básica acerca de la dinámica ambiental que se presenta en la zona, en particular información hidrológica y meteorológica que pueda tener influencia sobre el ensamblaje de interés. Así mismo, es fundamental identificar cualquier tipo de aporte de aguas que desemboquen cerca de la zona de muestreo, ya sea río, quebrada o drenajes de aguas mezcladas.

Es evidente que no todas las especies de dinoflagelados bentónicos prefieren el mismo lugar de asentamiento. Así pues, se debe tratar de recolectar, en lo posible, muestras de diferentes sustratos, teniendo en cuenta que varios autores los han reportado no sólo sobre fanerógamas, sino también sobre piedras, coral muerto, adheridos a raíces de manglar, en la arena e inclusive sobre diversos materiales que derivan a merced de la corriente, tanto en la superficie como en el fondo de aguas poco profundas (drift), donde, en algunos casos han exhibido densidades inclusive superiores a las presente sobre T. testudinum. Sin embargo, esto puede generar inconvenientes a la hora de realizar los cálculos de densidad de forma estandarizada en relación con el área o peso (húmedo o seco), por tanto los resultados en estos otros sustratos servirían sólo para realizar un análisis cualitativo del ensamblaje. Teniendo en cuenta lo anterior y en base a lo reportado en otros estudios, es considerable evaluar los dinoflagelados potencialmente tóxicos presentes en macroalgas como feófitas (ej. Dictyota) y rodófitas (ej. Acanthophora), pues se han observado altas densidades de los géneros Gambierdiscus y Ostreopsis sobre éstas (Ballantine et al., 1985; Tindall y Morton, 1998). Así pues, es necesario tener en cuenta especies de macrófitas que sean constantes durante períodos anuales completos en el sistema evaluado. De igual manera, se debe aprovechar la persistencia de fanerógamas abundantes como T.

testudinum para obtener los dinoflagelados epifitos asociados. Es importante no mezclar los diferentes tipos de sustrato, pues de esta manera no será posible determinar con certeza cuáles especies se encontraban ni en qué densidad sobre el material recolectado.

Para los análisis cuantitativos es recomendable tomar muestras eligiendo el mismo sustrato en todos los muestreos. Se debe tener en cuenta que, para realizar comparaciones entre estaciones, el material de análisis debe ser equitativo, en cantidad y en el tipo de sustrato que se desee analizar. Es probable que si se selecciona alguna especie de macrófita temporales, como se mencionaba anteriormente, ésta podrá estar presente por un período y desaparecer al variar las condiciones ambientales, por tanto es necesario que el sustrato esté disponible y en cantidad adecuada a lo largo del monitoreo, siendo necesario un conocimiento previo de la permanencia de estas fanerógamas por un tiempo prolongado.

Las muestras de sustrato en el cual se encuentren los dinoflagelados deben ser representativas, para esto es necesario recolectar muestras una cantidad representativa de muestra, tratando de abarcar la mayor área posible, para esto se deben establecer cuatro o más estación en la zona de interés, o en caso de presentar gran cantidad de sustrato, como es el caso de *T. testudinum* en la bahía de Chengue, es posible seleccionar un área de mínimo 10 m² y colectar el sustrato aleatoriamente (teniendo en cuenta al menos dos réplicas por área). Si la zona está influenciada por algún aporte de aguas terrestres directas, es importante establecer una estación cerca de este punto y otra lo suficientemente lejos, que permita su contraste.

Para detectar cambios a cortos plazo en la comunidad de dinoflagelados bentónicos, se deben realizar muestreos continuos, evitando períodos prolongados de tiempo entre cada muestreo. La frecuencia de monitoreo debe ser mensual, siendo preferible un período de tiempo menor (cada 15 días de ser posible).

Como alternativa de muestreo, Tester *et al.* (2014) recomiendan el uso de sustratos artificiales (maya de fibra de vidrio) como un método adecuado para colectar dinoflagelados bentónicos. Entre las ventajas de este método se incluyen que permite normalizar la forma de reportar las densidades de los dinoflagelados; evitar inconvenientes al emplear diferentes unidades de medida (área, peso o volumen); resuelve los inconvenientes asociados a la variabilidad espacio-temporal del sustrato natural y se elimina la presión por
herbivoría. La malla de este sustrato artificial debe ser ubicada preferiblemente cerca de donde se encuentra el sustrato en el cual se han observado los organismos, se fondea durante 24 horas de forma que quede suspendida sobre el sustrato y luego se retira con mucha delicadeza para su análisis. Utilizando este período de tiempo, los autores anteriormente citados observaron la mayor similitud entre las densidades registradas en las mallas y las del medio natural. Sin embargo, en algunos ensayos realizados por el INVEMAR, empleando esta metodología sobre las praderas de *Thalassia testudinum* en la bahía de Chengue PNNT (Figura 2-20), se han encontrado algunas diferencias, principalmente en la composición a de los dinoflagelados presentes (datos no publ.).



Figura 2-20. Sustrato artificial empleado para recolectar los dinoflagelados epibentónicos potencialmente tóxico.

Con el propósito de obtener información relevante, se deben realizar mediciones y análisis de la mayor cantidad de variables ambientales tanto físicas como químicas que puedan tener influencia sobre el ensamblaje de dinoflagelados bentónicos. Entre las más relevantes para considerar son la transparencia, salinidad, temperatura del agua, nutrientes inorgánicos disueltos (nitritos, nitratos, amonio y fosfatos) y sólidos suspendidos totales (incluyendo su caracterización química). Éstas deben ser medidas a la profundidad a la cual se recolectan las muestras o superficiales en caso de que la columna de agua sea menor

a 1 m y no se encuentre estratificada por el aporte de otro cuerpo de agua. Es fundamental tener un registro continuo de las variables (temperatura y salinidad principalmente), de ser posible mediante la instalación de hobos (censor de datos continuo), con el fin de obtener detalles más frecuentes de cambios en el medio. De igual manera, es fundamental realizar un análisis breve de la cobertura de la macrófita hospedera, pues la presencia de dinoflagelados epibentónicos se encuentra limitada por el área disponible de sustrato para asentarse.

Por otra parte, así como las variables abióticas pueden dar algunos indicios sobre el comportamiento sobre la dinámica de estos organismos, es necesario considerar que la presencia de otras variables como las bióticas también pueden tener un efecto directo sobre éstos mediante diversas interacciones, de esto se hablara más adelante (sección 2.6.2.).

2.6.2 Procesamiento y análisis de muestras

El desprendimiento de los dinoflagelados de su sustrato es un paso fundamental, pues del desarrollo cuidadoso de éste depende la precisión de las estimaciones de densidad. Por tal motivo, es necesario que no solo se agite la bolsa en la cual se encuentran las fanerógama, también es importante ejercer algunos movimientos entre las hojas (frotándolas) para asegurar el desprendimiento de éstos. A continuación, se debe filtrar el agua contenida en la bolsa y repetir el procedimiento dos a tres veces tras enjuagar la fanerógama con agua de mar filtrada para garantizar que no queden organismos en la bolsa o recipiente empleado. La primera filtración debe hacerse con un tamiz de poro no menor de 200 µm para eliminar partículas de gran tamaño, pues al emplear un tamiz de poros igual o menor de 100 se corre el riesgo de retener células de algunos géneros de mayor tamaño, tales como *Ostreopsis* o *Gambierdiscus*. Luego se filtran con un tamiz inferior a 30 µm teniendo en cuenta que *Coolia* y *Amphydinium* presentan tamaños inferiores. El mayor inconveniente que presenta esta filtración con un tamaño de poro tan pequeño es que de haber sedimento sobre la fanerógama, éste no se eliminará quedando concentrado en la muestra, lo cual dificultará las observaciones al microscopio.

Luego del procesamiento de las muestras la fijación es fundamental para garantizar su preservación. Como se menciona en Reguera *et al.* (2011), los fijadores más recomendados

son el lugol y el formol, presentando cada uno sus ventajas y desventajas, las cuales se citan a continuación:

<u>Lugol (básico)</u>: Su mayor ventaja, aparte de no ser tan tóxico como el formol, es que permite hacer el recuento de dinoflagelados atecados. Sin embargo, sólo es efectivo para preservar las muestras durante algunos meses.

<u>Formol (neutro)</u>: Teniendo en cuenta que algunas muestras presentan una gran cantidad de sedimento y materia orgánica, la cual puede generar una descomposición rápida del material, se recomienda emplear formol en una proporción considerable si se desea almacenar las muestras por períodos prolongados de tiempo, aunque esto eliminará algunas estructuras como los flagelos y organismos sin tecas, como es el caso del genero *Amphidinium* (dinoflagelado bentónico potencialmente tóxico).

Al realizar los análisis cuantitativos de las muestras, no sólo se deben tener en cuenta los dinoflagelados presentes, también deben considerarse otras microalgas, tales como diatomeas o cianobacterias bentónicas, que de igual manera aprovechan el sustrato para asentarse. Estos grupos podrían actuar como moduladoras del ensamblaje de dinoflagelados, teniendo en cuenta que es muy probable que se genere una presión por competencia, principalmente por recursos (nutrientes y espacio). Estas variables bióticas (interacciones biológicas) deben ser consideradas. Por otra parte, es importante describir la presencia de otros organismos que se encuentren en la zona de muestreo, teniendo en cuenta que algunos pueden tener un control indirecto sobre los ensamblajes de estos dinoflagelados, al alimentarse de la macrófitas sobre la cual están asentados (herbivoría), tales como peces herbívoros, equinodermos, moluscos, entre otros.

Es importante ser muy detallado y cuidadoso en la identificación de las especies de dinoflagelados presentes, particularmente de aquéllas que podrían ser potencialmente tóxicas. En algunos casos es necesario emplear microscopía electrónica de barrido para evitar confusiones y errores de identificación, aunque, para poder observar diferentes planos de la célula es necesario contar con una alta densidad de éstas. En caso de incertidumbres en la identificación, se recomienda separar los organismos por morfotípos, obteniendo en todos los casos registros fotográficos lo más detallados posibles de éstos.

De ninguna manera se debe intentar generalizar las preferencias por alguna condición por parte de estos organismos, pues es evidente que cada especie o incluso cada cepa (estadio de ciclo de vida de cada especie), presenta un nicho en el cual demuestra un mejor desarrollo. Por ello, los estudios deben enfocarse en cada una de las especies o morfos identificados. Por este motivo, es necesario continuar con los análisis monoespecíficos, tratar de establecer cultivos y realizando bioensayos para determinar aspectos más específicos de cada población relacionados con su ciclo de vida, su respuesta ante diversas fluctuaciones en el medio, así como su potencial para producir toxinas.

Finalmente se considera que es necesario, a nivel mundial, establecer una metodología estándar para la toma de muestras y análisis de la información obtenida, debido a que, como ocurrió en el presente estudio, las comparaciones con otras investigaciones son casi imposibles (uso de procedimientos distintos con mezcla de sustratos, registro de las densidades celulares en relación con peso seco o húmedo). Esta falta de homogeneidad en la metodología, limita la exploración y el contraste entre la información existente.

3 Bibliografía

- Accoroni, S. 2012. Ecology, morphological variability and life cycle stages of the toxic benthic dinoflagellate *Ostreopsis* cf. *ovata*. Tesis de doctorado en biología y ecología marina. Università politecnica delle marche. Roma, Italia, 37 p.
- Aguilera-Díaz, M.M., C. Bernal-Mattos y P. Quintero-Puentes. 2006. Turismo y desarrollo en el Caribe colombiano. Documentos de trabajo sobre economía regional. Banco de la Republica, centro de estudios económicos regionales (CEER), Cartagena, Colombia. 63 p.
- Aissaoui, A. Z. Armi, F. Akrout, y O.K. Ben Hassine. 2014. Environmental factors and seasonal dynamics of *Prorocentrum lima* population in coastal waters of the Gulf of Tunis, south Mediterranean. Water. Environ. Res., 86(12): 2256-2270.
- Aligizaki, K. y G. Nikolaidis. 2006. The presence of the potentially toxic genera *Ostreopsis* and *Coolia* (Dinophyceae) in the North Aegean Sea, Greece. Harmful Algae 5(6): 717–730.
- Aligizaki, K., A., P. Katikou y G. Nikolaidi. 2009. Toxic benthic dinoflagellates and potential risk in the Mediterranean Sea. International conference of molluscan shellfish safety. Nantes, Francia. 6 p.
- Almazán-Becerril, A., Rosiles-González, G., Escobar-Morales, S., Rodríguez Palacios M. y
 D. U. Hernández-Becerril. 2012. Dinoflagelados bentónicos del Arrecife
 Mesoamericano: Caribe Mexicano. Centro de Investigación Científica de Yucatán.
 Unidad de Ciencias del Agua. Informe final SNIB-CONABIO. Proyecto No. HJ033
 México D. F. 24 p.
- Almazán-Becerril. A., S. Escobar-Morales, G. Rosiles-Gonzalez y F. Valadez. 2015. Benthic-epiphytic dinoflagellates from the northern portion of the Mesoamerican Reef System. Botánica Marina, 58(2): 115–128.
- Álvarez, R. 1997. Primer caso de ciguatera en el Caribe colombiano por Soriola zonata (Mitchill, 1815) (Pisces: Carangidae). Biomédica, 17: 67-68.
- Álvarez, R. 1999. Tres brotes de ictiosarcotoxicosis por ingestión de *Sphyraena barracuda* (Walbaum) y *Soriola zonata* (Mitchill) en el Caribe colombiano. Biomédica, 19: 35-38.
- Álvarez-León, R., G. Ramírez-Triana y E. Wedler. 1995. Registro de las condiciones ambientales de la Laguna sur (Bahía de Chengue, Caribe colombiano) entre 1981-1984. Rev. Acad. Colomb. Cienc., 19 (74): 509-525.
- An, T., J. Winshell, G. Scorzetti, J.W. Fell y K.S. Rein. 2010. Identification of okadaic acid production in the marine dinoflagellate *Prorocentrum rhathymum* from Florida Bay. Toxicon, 55(2-3): 653–657.

- Anderson, M.J., R.N. Goley y K.R. Clarke. 2008. PERMANOV+ for PRIMER. Guide to software and statictical methods. PRIMER-E Ltd. Plymouth, Reino Unido. 214 p.
- Anderson, M.J. y D.C.I. Walsh. 2013. PERMANOVA, ANOSIM, and the mantel test in the face of heterogeneous dispersions: what null hypothesis are you testing? Ecol. Monogr., 83: 557–574.
- Ansoar, Y., S. Díaz-Llera, J. Piloto, J. Morffi, Y. Frión, R. Menéndez, M.D. Fernández e I. Rodeiro. 2014. Genotoxic potential of BM-21, an aqueous-ethanolic extract from *Thalassia testudinum* marine plant. Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research, 2(6): 183-193.
- APHA (American Public Health Association), AWWA (American Water Works Association) y WEF (Water Environment Federation). 2012. Standard methods for the examination of water and wastewater, 22 edición. Washington, EE.UU. 1463 p.
- Aquino-Cruz, A. 2012. Effect of increasing seawater temperature on the growth and toxin production of three harmful benthic dinoflagellates isolated from the Fleet Lagoon, Dorset, UK. Tesis de doctorado. University of Southampton, Faculty of Natural and Environmental Science, School of ocean and earth science. Southampton, Inglaterra, Reino Unido. 170 p.
- Arcila-Herrera, H., J. Mendoza-Ayora, F. González-Franco, L. Montero-Cervantes y A. Castelo-Navarrete. 2001. Revisión de una enfermedad poco conocida: la ciguatera. Rev Biomed., 12:27-34.
- Ashton, M., T. Tosteson y C. Tosteson. 2003. The effect of elevated temperature on the toxicity of the laboratory cultured dinoflagellate *Ostreopsis lenticularis* (Dinophyceae). Rev. Biol. Trop., 51(4): 1-6.
- Ballantine, D.L., A.T. Bardales, T.R. Tosteson y H. Dupont. 1985. Seasonal abundance of *Gambierdiscus toxicus* and *Ostreopsis* sp. in coastal waters of Southwest Puerto Rico. Proc.5th International Coral Reef Congress, Tahití. 4: 1-6.
- Ballesteros, E. 1992. Els vegetals i la zonació litoral: espècies, comunitats i factors que influeixen en la seva distribució. Institut d'Estudis Catalans. Barcelona, España. 616 p. En. Delgado, G. 2005. Dinoflagelados bentónicos tóxicos asociados a la ciguatera: abundancia, toxicidad y relación con los factores ambientales en un área del litoral noroccidental de Cuba. Tesis de doctorado en Ciencias del Mar. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C. La Paz, Cuba. 72 p.
- Besada, E.G., L.A. Loeblich y A.R. Loeblich. 1982. Observations on tropical, benthic dinoflagellates from ciguatera-endemic areas: *Coolia*, *Gambierdiscus* and *Ostreopsls*. B. Mar. Sci., 32(3): 723-735.
- Bomber, J. W. y K. E. Aikman. 1989. The ciguatera dinoflagellates. Biol. Oceanogr., 6: 291– 311.

- Bomber J.W., R.R.L. Guillard, W.G. Nelson. 1988. Rôles of temperature, salinity, and light in seasonality, growth, and toxicity of ciguatera-causing *Gambierdiscus toxicus* Adachi et Fukuyo (Dinophyceae). J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 115: 53-65.
- Boomsma, A. 2014. Regression Diagnostics with R. Regrdiag R.tex. Department of Statistics & Measurement Theory, University of Groningen. Groninga, Paises Bajos. 22 p.
- Bouaïcha, N., A. Chézeau, J. Turquet, J.P. Quod y S. Puiseux-Dao. 2001. Morphological and toxicological variability of *Prorocentrum lima* clones isolated from four locations in the south-west Indian Ocean. Toxicon, 39(8): 1192-1202.
- Brahim, M.B., M. Feki y A. Bouain. 2015. Occurrences of the toxic dinoflagellate *Ostreopsis ovata* in relation with environmental factors in Kerkennah Island (Southern coast of Tunisia) Journal of Coastal Life Medicine, 3(8): 596-599.
- Bravo, I., M.L. Fernández, I. Ramilo y A. Martínez. Toxin composition of the toxic dinoflagellate *Prorocentrum lima* isolated from different locations along the Galician coast (NW Spain). Toxicon, 39: 1537-1545.
- Bravo, I., M. Vila, S. Magadán, P. Rial, F. Rodriguez, S. Fraga, J. M. Franco, P. Riobó y M.M. Sala. 2010. Studies on cultures of *Ostreopsis* cf. *ovata*: life cycle observations. Progress on *Ostreopsis* physiological ecology, phylogeny & toxicology. 14th International ICHA Conference Proceedings. Hersonissos, Grecia. 3-5 p.
- Bravo, I., M. Vila, S. Casabianca, F. Rodríguez, P. Rial, P. Riobó y A. Penna. 2012. Life cycle of the benthic palytoxin-producing dinoflagellate *Ostreopsis* cf. *ovata* (Dinophyceae). Harmful algae, 18: 24-23.
- Brissard, C., C. Herrenknecht, V. Séchet, F. Hervé, F. Pisapia, J. Harcouet, R. Lémée, N. Chomérat, P. Hess y Z. Amzil. 2014. Complex toxin profile of French Mediterranean Ostreopsis cf. ovata strains, seafood accumulation and ovatoxins prepurification. Mar Drugs, 12(5): 2851-2876.
- Carlson, R.D. y D.R. Tindall. 1985. Distribution and periodicity of toxic dinoflagellates in the Virgin Islands. En: Anderson, D.M., A.W. White y D.G. Baden (Eds.). Toxic dinoflagellates. Elsevier Science Publishing. New York, USA. 171-176.
- Celis, J.S. y J.E. Mancera-Pineda. 2015. Análisis histórico de la incidencia de ciguatera en las islas del Caribe durante 31 años: 1980 2010. Bol. Invest. Mar. Cost., 44: 7-32.
- Chang, F.H., Y. Shimizu, B. Hay, R. Stewart, G. Mackay y R. Tasker. 2000. Three recently recorded Ostreopsis spp. (Dinophyceae) in New Zealand: temporal and regional distribution in the upper North Island from 1995 to 1997. NZ. J. Mar. Freshwater Res., 34: 29–39.
- Chateau-Degat, M., M. Chinain, N. Cerf, S. Gingras, B. Hubert y E. Dewailly. 2005. Seawater temperature, *Gambierdiscus* spp. variability and incidence of ciguatera poisoning in French Polynesia. Harmful Algae, 4(6): 1053-1062.

- Chomérat, N., D.Y. Sellos, F. Zentz y E. Nézan. 2010. Morphology and molecular phylogeny of *Prorocentrum consutum* sp nov. (Dinophyceae), a new benthic dinoflagellate from south Brittany (northwestern France). J. Phycol., 46(1): 183-194.
- Ciminiello, P., C. Dell'Aversano, E. Fattorusso, M. Forino, L. Tartaglione, C. Grillo y N. Melchiorre. 2011. Putative palytoxin and its new analogue, ovatoxin-a, in *Ostreopsis ovata* collected along the Ligurian coasts during the 2006 toxic outbreak. J. Am. Soc. Mass. Spect., 19: 111-120.
- Ciminiello, P., C. Dell'Aversano, E. Dello Iacovo, E. Fattorusso, M. Forino, L. Tartaglione, G. Benedettini, M. Onorari, F. Serena, C. Battocchi, S. Casabianca y A. Penna. 2014.
 First finding of *Ostreopsis* cf. *ovata* toxins in marine aerosols. Environ. Sci. Technol., 48(6): 3532-3540.
- Clarke, K.R. 1993. Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. Aust. J. Ecol., 18: 117-143.
- Clarke, K.R. y M. Ainsworth. 1993. A method of linking multivariate community structure to environmental variables. Mar. Ecol. Prog., 92: 205–219.
- Clarke, K.R. y R.M. Warwick. 2001. Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation, 2nd edition. PRIMER-E. Plymouth, Reino Unido. 172p.
- Clarke, K.R. y R.N. Gorley. 2006. PRIMER v6: User Manual/Tutorial. PRIMER-E Ltd. Plymouth, Reino Unido.193 p.
- Cohu, S., T. Thibaut, L. Mangialajo, J.-P. Labat, O. Passafiume, A. Blanfuné, N. Simon, J.-M. Cottalorda y R. Lemée. 2011. Occurrence of the toxic dinoflagellate *Ostreopsis* cf. *ovata* in relation with environmental factors in Monaco (NW Mediterranean). Mar. Pollut. Bull., 62(12): 2681-2691.
- Cortés-Altamirano, R. y A.P. Sierra-Beltrán. 2003. Morphology and taxonomy of *Prorocentrum mexicanum* and reinstatement of *Prorocentrum rhathymum* (Dinophyceae). J. Phycol., 39: 221-225.
- Croome, R. L., y P. A. Tyler. 1987. *Prorocentrum playfairii* and *Prorocentrum foveolata*, two new dinoflagellates from Australian freshwaters. Br. Phycol. J., 22: 67-75.
- De la Torre, E, I. Rodeiro, R. Menéndez y D. Pérez. 2012. *Thalassia testidinun*, una planta marina con potencialidades terapéuticas. Rev. Cubana. Plant. Med., 17: 288-296.
- Del Favero, G., S. Silva, M. Pelin, E. D'Orlando, C. Florio, P. Lorenzon, M. Poli y A. Tubaro. 2012. Sanitary problems related to the presence of *Ostreopsis* spp. in the Mediterranean Sea: a multidisciplinary scientific approach. Ann. Ist. Super. SANITÁ, 48(4): 407-414.
- Delgado, G. 2002. Nuevo registro de dinoflagelados tóxicos epibenticos en Cuba. Rev. Invest. Mar., 23(3): 229-231.

- Delgado, G. 2005. Dinoflagelados bentónicos tóxicos asociados a la ciguatera: abundancia, toxicidad y relación con los factores ambientales en un área del litoral noroccidental de Cuba. Tesis de doctorado en Ciencias del Mar. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C. La Paz, Cuba, 72 p.
- Delgado, G., G. Popowski, C. García, N. Lagos y C.H. Lechuga-Devéz. 2005. Presence of DSP-toxins in *Prorocentrum lima* (Ehrenberg) dodge in Cuba. Rev. Invest. Mar., 26(3): 229-234.
- Delgado, G., C. Lechuga-Devéze, G. Popowski, L. Troccoli y C. Salinas. 2006 <u>a.</u> Epiphytic dinoflagellates associated with ciguatera in the northwestern coast of Cuba. Rev. Biol. Trop., 54(2): 299-310.
- Delgado, G., C. Lechuga-Devéze, L. Troccoli y K. Santos. 2006 <u>b.</u> Variación espaciotemporal de cuatro especies del género Prorocentrum al NW de Cuba. Revista Cubana de Investigación Pesquera, 24: 1-5.
- Faust, M.A. 1992. Observations on the morphology and sexual reproduction of *Coolia monotis* (Dinophyceae). J. Phycol., 28: 94-104.
- Faust, M.A. 1995. Observation of sand-dwelling toxic dinoflagellates (Dinophyceae) from widely differing sites, including two new species. J. Phycol., 31: 996-1003.
- Faust, M.A. 2009. Ciguatera-causing dinoflagellates in a coral-reef-mangrove ecosystem, Belize. Atoll Research Bulletin, 569: 1-32.
- Faust, M.A., J. Larsen y Ø. Moestrup. 1999. Potentially Toxic Phytoplankton. 3. Genus Prorocentrum (Dinophyceae). ICES Identification Leaflets for Plankton. Ed. J.A. Lindley. Natural Environment Research Council, Copenhague, Dinamarca. 24 p.
- Faust, M. y R. Gulledge. 2002. Identifying Harmful marine dinoflagellates. Contributions from the United States national herbarium, 42:144 pp.
- Foden, J., D.A. Purdie, S. Morris y S. Nascimento. 2005. Epiphytic abundance and toxicity of *Prorocentrum* populations in the Fleet Lagoon, UK. Harmful Algae, 4: 1063–1074.
- Fraga, S., A. Penna, I. Bianconi, B. Paz y M. Zapata. 2008. *Coolia canariensis* sp nov. (Dinophyceae), a new nontoxic epiphytic benthic dinoflagellate from the Canary Islands. J. Phycol., 44: 1060–1070.
- Fraga, S. 2012. *Gambierdiscus, Ostreopsis* y *Coolia*. XIII Curso COI-AECID-IEO Taxonomía de Fitoplancton Marino Nocivo Vigo. Centro Oceanográfico de Vigo. Presentación no publicada.
- Fraga, S., F. Rodríguez, I. Bravo, M. Zapata y E. Marañón. 2012. Review of the main ecological features affecting benthic dinoflagellate blooms. Cryptogamie, Algologie, 33(2): 171-179

- Franco-Herrera, A. 2005. Una aproximación a la oceanografía de la ensenada de Gaira: El Rodadero, más allá que un centro turístico. Universidad Jorge Tadeo Lozano, Santa Marta. 58 p.
- Friedman, M., E. Lora, L.E. Fleming, M. Fernández, P. Bienfang, K. Schrank, R. Dickey, M.Y. Bottein, L. Backer, R. Ayyar, R. Weisman., S. Watkins, R. Granade y A. Reich. 2008. Ciguatera fish poisoning: treatment, prevention and management. Review. Mar. Drugs., 6: 456-479.
- Fritz L. y R.E. Trimer. 1985. A rapid and simple technique utilizing calcofluor white MR2 for visualization of dinoflagellate technology. J. Phycol., 21: 662-64.
- Fukuyo, Y. 1981. Taxonomical study on benthic dinoflagellates collected in coral reefs. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 47:967–78.
- Gaitán, J.D. 2007. Ictiotoxismo por consumo de barracuda (*Sphyraena barracuda*) y morena manchada (*Gymnothorax moringa*) en la comunidad de pescadores artesanales de Tasajera, Caribe colombiano. DUAZARY, 4(2): 160-167.
- Gallitelli, M., N. Ungaro, L.M. Addante, V. Procacci, N.G. Silveri y C. Sabbá. 2005. Respiratory illness as a reaction to tropical algal blooms occurring in a temperate climate. JAMA, 293(21): 2599-2600.
- Gingold, D.B., M.J. Strickland y J.J. Hess. 2014. Ciguatera Fish Poisoning and Climate Change: Analysis of National Poison Center Data in the United States, 2001–2011. Environmental Health Perspectives, 122(6): 580-586.
- Gómez, F., D. Moreira y P. López-García. 2011. Avances en el estudio de los dinoflagelados (Dinophyceae) con la filogenia molecular. Hidrobiológica, 21(3): 343-364.
- Gorbi, S., R. Bocchetti, A. Binelli, S. Bacchiocchi, R. Orletti, L. Nanetti, F. Raffaelli, A. Vignini,S. Accoroni, C. Totti y F. Regoli. 2012. Biological effects of palytoxin-like compounds from *Ostreopsis* cf. *ovata*: A multibiomarkers approach with mussels Mytilus galloprovincialis. Chemosphere, 89: 623-632.
- Granéli, E., N.K. Vidyarathna, E. Funari, P.R.T. Cumaranatunga y R. Scenati. 2011. Can increases in temperature stimulate blooms of the toxic benthic dinoflagellate *Ostreopsis ovata*? Harmful Algae, 10: 165–172.
- Guiry, M.D. y Guiry, G.M. 2016. AlgaeBase. Worldwide electronic publication, National University of Ireland, Galway. (http://www.algaebase.org; Consultado 15/01/2016).
- Hales, S., P. Weinstein, y A. Woodward. 1999. Ciguatera fish poisoning, El Niño, and sea surface temperature. Ecosyst. Health, 5: 20-25.
- Hallegraeff, G.M., D.M. Anderson y A.D. Cembella. 2004. Manual on harmful marine microalgae. Monographs on Oceanographic Methodology, UNESCO, Paris, Francia. 793 p.

- Heredia-Tapia, A., B.O. Arredondo-Vega, E.J. Nuñez-Vázquez, T. Yasumoto, M. Yasuda y J.L. Ochoa. 2002. Isolation of *Prorocentrum lima* (Syn. *Exuviaella lima*) and diarrhetic shellfish poisoning (DSP) risk assessment in the Gulf of California, Mexico. Toxicon, 40(8): 1121–1127.
- Hernández, T. 2008. Distribución y abundancia de dinoflagelados epífitos potencialmente tóxicos asociados a la ciguatera en Playa Baracoa, costa noroccidental de Cuba.
 Tesis de diplomado. Facultad de Biología, Universidad de La Habana. Ciudad de la Habana, Cuba. 41 p.
- Hernández-Becerril, D.U. y A. Almazán Becerril. 2004. Especies de dinoflagelados del género *Gambierdiscus* (Dinophyceae) del Mar Caribe mexicano. Rev. Biol. Trop., 52(Suppl. 1): 77-87.
- Hernández-Becerril, R. R. Cortés Altamirano y R. Alonso. 2000. The dinoflagellate genus *Prorocentrum* along the coasts of the Mexican Pacific. Hydrobiologia, 418: 111-121.
- Herrera-Sepúlveda, A., L. Medlin, G. Murugan, A.P. Sierra-Beltrán, A.A. Cruz-Villacorta y N.Y. Hernández-Saavedra. 2015. Are *Prorocentrum huffmannianum* and *Prorocentrum belizeanum* (Dinophyceae, Prorocentrales), the same species? An integration of morphological and molecular data. J. Phycol., 51: 173-188.
- Holmes, M., R. Lewis, A. Jones y A. Wong. 1995. Cooliatoxin, the first toxin from *Coolia monotis* (Dinophyceae). Nat. Toxins, 3: 355-362.
- Holmes, M.J., N.C. Gillespie y R.J. Lewis. 1988. Toxicity and morphology of Ostreopsis cf. siamensis cultured from a ciguatera endemic region of Queensland, Australia. En: Choat, J.H., D. Barnes, M.A. Borowitzka, J.C. Coll, P.J. Davies, P. Flood, B.G. Hatcher, D. Hopley, P.A. Hutchings y D. Kinsey. (Eds.), Proceedings of the 6th International Coral Reef Symposium. Townsville, Australia. 49–54.
- Hoppenrath, M., N. Chomérat, T. Horiguchi, M. Schweinkert, Y. Nagahama y S. Murray.
 2013. Taxonomy and phylogeny of the benthic *Prorocentrum* species (Dinophyceae)
 A proposal and review. Harmfull Algae, 27: 1-28.
- Hoppenrath, M., S. A. Murray, N. Chomérat y T. Horiguchi. 2014. Marine benthic dinoflagellates – unveiling their worldwide biodiversity. Ed. Senckenberg. Alemania. 276 p.
- IDEAM. 2014. Sala de prensa: el niño continúa en su fase de mayor intensidad. Bogotá D.C. (http://www.ideam.gov.co/ consultado: 05/04/2016).
- INVEMAR. 2016. Sistema de Información Ambiental Marina de Colombia SIAM. Base de datos de la Red de vigilancia para la conservación y protección de las aguas marinas y costeras de Colombia - REDCAM. INVEMAR - CORPAMAG. (http://www.invemar.org.co/siam/redcam. consultado: 28/07/2016).

- Ismael, A. y Y. Halim. 2012. Potentially harmful *Ostreopsis* spp. in the coastal waters of Alexandria Egypt. Medit. Mar. Sci., 13(2): 208-212.
- Jensen, P.R., K.M. Jenkins, D. Porter y W. Fenical. 1998. Evidence that a new antibiotic flavone glycoside chemically defends the sea grass *Thalassia testudinum* against zoosporic fungi. Appl. Environ. Microbiol., 64(4): 1490–1496.
- Lee, J.S., T. Igarashi, S. Fraga, E. Dahl, P. Hovgaard y T. Yasumoto. 1989. Determination of diarrhetic shellfish toxins in various dinoflagellate species. J. Appl. Phycol., 1: 147-152.
- Lenoir, S., L. Ten-Hage, T. Turquet, J.P. Quod, C. Bernard y M.C. Hennion. 2004. First evidence of palytoxin analogues from an *Ostreopsis mascarenensis* (Dinophyceae) benthic bloom in southwestern Indian Ocean. J. Phycol., 40: 1042–1051.
- Levasseur, M., J. Couture, A.M. Weise, S. Michaud, M. Elbrächter, G. Sauvé y E. Bonneau. 2003. Pelagic and epiphytic summer distributions of *Prorocentrum lima* and *P. mexicanum* at two mussel farms in the Gulf of St. Lawrence, Canada. Aquat. Microb. Ecol., 30: 283–293.
- Lewis, R. y M. Stelin. 1992. Multiple ciguatoxins in the flesh of fish. Toxicon, 30 (8): 915-919.
- Litaker, R.W., M. Vandersea, M. Faust, S. Kibler, M. Chinain, M. Holmes, W. Holland y P. Tester. 2009. Taxonomy of *Gambierdiscus* including four new species, *Gambierdiscus caribaeus*, *Gambierdiscus carolinianus*, *Gambierdiscus carpenteri* and *Gambierdiscus ruetzleri* (Gonyaulacales, Dinophyceae). Phycologia, 48(5): 344–390.
- Litaker, R.W., M. Vandersea, M. Faust, S. Kibler, A.W. Nau, W. Holland, M. Chinain, M. Holmes y P.A. Tester. 2010. Global distribution of ciguatera causing dinoflagellates in the genus *Gambierdiscus*. Toxicon, 56: 711–730.
- López-Rosales, L., J.J. Gallardo-Rodríguez, A. Sánchez-Mirón, M. Cerón-García, E.H. Belarbi, F. García-Camacho y E. Molina-Grima. 2014. Simultaneous Effect of Temperature and Irradiance on Growth and Okadaic Acid Production from the Marine Dinoflagellate *Prorocentrum belizeanum*. Toxins, 6: 229-253.
- Mancera-Pineda, J.E., B. Gavio y G. Arencibia. 2009. Floraciones algales nocivas, intoxicación por microalgas e impactos en el desarrollo regional: El caso de San Andrés isla, Caribe colombiano: 46-62. En: Mancera-Pineda, J.E., O. Sierra y S. Pérez. 2009. Cuadernos del Caribe No. 13. Reserva de Biosfera Seaflower. Problema Ambiental. Universidad Nacional de Colombia, sede Caribe. San Andrés Islas, Colombia. 78 p.

- Mancera-Pineda, J.E., M. Montalvo-Talaigua y B. Gavío. 2014. Dinoflagelados potencialmente tóxicos asociados a material orgánico flotante (drift) en San Andrés Isla, Reserva Internacional de la Biosfera Seaeaflower. Caldasia, 36(1): 139-156.
- Mangialajo, L., R. Bertolotto, R. Cattaneo-Vietti, M. Chiantore, C. Grillo, R. Lemee, N. Melchiorre, P. Moretto, P. Povero y N. Ruggieri. 2008. The toxic benthic dinoflagellate Ostreopsis ovata: quantification of proliferation along the coastline of Genoa, Italy. Mar. Poll. Bull., 56: 1209–1214.
- Mangialajo, L., N. Ganzin, S. Accoroni, V. Asnaghi, A. Blanfuné, M. Cabrini, R. Cattaneo-Vietti, F. Chavanon, M. Chiantore, S. Cohu, E. Costa, D. Fornasaro, H. Grossel, F. Marco-Miralles, M. Masó, A. Reñé, A.M. Rossi, M.M. Sala, T. Thibaut, C. Totti, M. Vila y R. Lemée. 2011. Trends in *Ostreopsis* proliferation along the Northern Mediterranean coasts. Toxicon 57: 408–420.
- Marr, J. C., Jackson, A. E., and McLachlan, J. L. 1992. Occurrence of *Prorocentrum lima*, a DSP toxin-producing species from the Atlantic coast of Canada. J. Appl. Phycol., 4: 17-24.
- Marasigan, A.N., A.F. Tamse y Y. Fukuyo. 2001. *Prorocentrum* (Prorocentrales: Dinophyceae) populations on seagrass-blade surface in Taklong Island, Guimaras Province, Philippines. Plankton Biol. Ecol., 48(2): 79-84.
- Martínez-Cruz, M.E., Y. Okolodkov, A.C. Aguilar-Trujillo y J.A. Herrera-Silveira. 2015. Epiphytic dinoflagellates on the seagrass *Thalassia testudinum* at Dzilam, southeastern Gulf of Mexico. Cymbella, 3: 2-9.
- Martínez-Orozco, J. y A. Cruz-Quintero. 2013. Revisión y guía para diagnóstico y tratamiento de ciguatera. Guía de manejo y protocolos. Revista ciencias biomédicas, 4(1): 2215-7840.
- McCune, B. and J. B. Grace. 2002. Analysis of Ecological Communities. MjM Software design. Oregon, EE.UU. 304 p.
- McLachian, J.L., J.C. Marr, A. Conlon-Kelly y A. Adamson. 1994. Effect of nitrogen concentration and cold temperature on DPS-toxin concentrations in the dinoflagellate *Prorocetrum lima* (Prorocentrales, Dinophyceae) Nat. Toxins, 2: 663-267.
- Mohammad-Noor N., N. Daugbjerg, Ø. Moestrup y A. Anton. 2007. Marine epibenthic dinoflagellates from Malaysia a study of live cultures and preserved samples based on light and scanning electron microscopy. Nord. J. Bot., 24(6): 629-690.
- Montealegre, J.E. 2014. Actualización del componente Meteorológico del modelo institucional del IDEAM sobre el efecto climático de los fenómenos El Niño y La Niña en Colombia, como insumo para el Atlas Climatológico. Informe final. Instituto de hidrología, meteorología y estudios ambientales, IDEAM. Bogotá, D.C., Colombia. 134 p.

- Moreira, A. 2010. Ostreopsis ovata Fukuyo y O. siamensis Schmidt, dos nuevos registros de dinoflagelados bentónicos tóxicos para Cuba. Rev. Invest. Mar., 31(2):96-100.
- Morton, S.L. y M.A. Faust. 1997. Survey of toxic epiphytic dinoflagellates from the Belizean barrier reef ecosystem. B. Mar. Sci., 61(3): 899-906.
- Morton, S.L. y J.W. Bomber. 1994. Maximizing okadaic acid content from *Prorocentrum hoffmannianum* Faust. J. Appl. Phycol., 6: 41-44.
- Morton, S.L., D.R. Norris y J.W. Bomber. 1992. Effect of temperature, salinity and light intensity on the growth and seasonality of toxic dinoflagellates associated with ciguatera. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 157: 79-90.
- Morton, S.L., J.W. Bomber y D.R. Tindall. 1994. Environmental effects on the production of okadaic acid from *Prorocentrum hoffmannianum* Faust: I. Temperature, light and salinity. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 178: 67-77
- Muciño-Márquez R.E., M.G. Figueroa-Torres y I. Gárate-Lizárraga. 2011. Variación nictemeral del género *Prorocentrum* (Dinophyceae) en la laguna costera Sontecomapan, Veracruz, México. Revista Digital del Departamento E-BIOS, El Hombre y su Ambiente, 1: 3-13.
- Muciño-Márquez R.E., I. Gárate-Lizárraga y D.J. López-Cortés. 2015. Variación estacional del género *Prorocentrum* (DINOPHYCEAE) en dos granjas atuneras en la Bahía de la Paz, México. Acta biol. Colomb., 20:195-206.
- Munir, S., Z. Burhan, T. Naz, P.J.A. Siddiqui, S. Morton. 2013. Morphotaxonomy and seasonal distribution of planktonic and benthic Prorocentrales in Karachi waters, Pakistan Northern Arabian Sea. Chin. J. Oceanol. Limn., 31(2): 267–281.
- Murakami, Y., Y. Oshima y T. Yasumoto. 1982. Identification of okadaic acid as a toxic component of a marine dinoflagellate *Prorocentrum lima*. Nippon Suisan Gakkaishi, 48: 69–72.
- Nascimento, S.M., D.A. Purdie y J. Morris. 2005. Morphology, toxin composition and pigment content of *Prorocentrum lima* strains isolated from a coastal lagoon in southern UK. Toxicon, 45: 633–649.
- Nascimento, S., E.V. Corrêa, M. Menezes, D. Varela, J. Paredes y S. Morris. 2012. Growth and toxin profile of *Ostreopsis* cf. *ovata* (Dinophyta) from Río de Janeiro, Brazil. Harmful Algae, 13: 1-9.
- Navarro-Vargas, G., J.R. Díaz-Ramos, L. Troccoli-Ghinaglia y S. Subero-Pino. 2014. Dinoflagelados epibentónicos presentes en diferentes sustratos en la bahía Turpialito, Golfo de Cariaco, Venezuela. Bol. Inst. Oceanogr. Venezuela, 53 (2): 161-170.

- NOAA National Weather Service, Center for Weather and Climate Prediction. 2016. Old & warm episodes by season. (http://www.cpc.ncep.noaa.gov. Consultado 14/03/2016).
- Nordström, S. 2013. Ciguatera fish poisoning Increasing due to reef destruction? Tesis de maestría en ciencias, biología marina. Biology Education Centre, Uppsala University, and Livsmedelsverket. Uppsala, Suecia 41 p.
- Okolodkov, Y.B., G. Campos-Bautista, I. Gárate-Lizárraga, J.A.G. González-González, M. Hoppenrath y V. Arenas. 2007. Seasonal changes of benthic and epiphytic dinoflagellates in the Veracruz reef zone, Gulf of Mexico. Aquat. Microb. Ecol., 47(3): 223-237.
- Okolodkov, Y., F. Merino-Virgilio, J. Aké- Castillo, A. Aguilar-Trujillo, S. Espinosa-Matías y J. Herrera-Silveira. 2014. Seasonal changes in epiphytic dinoflagellate assemblages near the northern coast of the Yucatan Peninsula, Gulf of Mexico. Acta Botanica Mexicana, 107: 121-151.
- Parsons ML y L.B. Preskitt. 2007. A survey of epiphytic dinoflagellates from the coastal waters of the island of Hawai'i. Harmful Algae, 6: 658–669.
- Parsons, M.L., K. Aligizaki, M.Y. Dechraoui Bottein, S. Fraga, S.L. Morton, A. Penna, Lesley Rhodes. 2012. *Gambierdiscus* and *Ostreopsis*: Reassessment of the state of knowledge of their taxonomy, geography, ecophysiology, and toxicology. Harmful Algae, 14: 107–129.
- Pearce, I., J.A. Marshall y G.M. Hallegraeff. 2001. Toxic epiphytic dinoflagellates from east coast Tasmania, Australia. En: Hallegraeff GM, Blackburn SI, Bolch CJ, Lewis RJ (eds) Harmful algal blooms 2000. Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Hobart, Tasmania. 54–57.
- Penna, A., M. Vila, S. Fraga, M.G. Giacobbe, F. Andreoni, P. Riobó y C. Vernesi. 2005. Characterization of *Ostreopsis* and *Coolia* (Dinophyceae) isolates in the western Mediterranean Sea based on morphology, toxicity and internal transcribed spacer 5.8s rDNA sequences. J. Phycol., 41: 212–225.
- Penna, A., S. Fraga, C. Nattocchi, S. Casabianca, F. Perini, S. Capellacci, A. Casabianca, P. Riobo, M.G. Giacobbe, C. Totti, S. Accoroni, M. Vila, A. René, M. Scardi, K. Aligizaki, L. Nguyen-Ngoc y C. Vernesi. 2012. Genetic diversity of the genus *Ostreopsis* Schmidt: phylogeographical considerations and molecular methodology applications for field detection in the Mediterranean Sea. Cryptogamie Algologie, 33(2): 153-163.
- Peraza, R. y Á. Moreira. 2012. Composición y abundancia de dinoflagelados epibentónicos tecados potencialmente tóxicos de la Ensenada Guajimico, región Centro-Sur de Cuba. Revista Cubana de Investigaciones Pesquera, 29: 59-66.

- Pistocchi, R., L. Pezzolesi, F. Guerrini, S. Vanucci, C. Dell'Aversano y E. Fattorusso. 2011. A review on the effects of environmental conditions on growth. Toxicon, 51: 421-428.
- Ramos. V. y V. Vasconcelos. 2010. Review: palytoxin and analogs: biological and ecological effects. Mar. Drugs, 8(7): 2021-2037.
- Regalado, E.L., M. Rodríguez, R. Menéndez, Á.A. Concepción, C. Nogueiras, A. Laguna,
 A.A. Rodríguez, D.E. Williams, P. Lorenzo-Luaces, O. Valdés y Y. Hernandez. 2009.
 Repair of UVB-Damaged Skin by the Antioxidant Sulphated Flavone Glycoside
 Thalassiolin B Isolated from the Marine Plant *Thalassia testudinum* Banks ex König.
 Mar. Biotechnol., 11:74-80.
- Regalado E.L., M. Rodríguez, R. Menéndez, X. Fernandez, I. Hernández, R.A. Morales.
 M.D. Fernández, O.P. Thomas, J.A. Pino, Á.R. Concepción y A. Laguna. 2011.
 Photoprotecting action and phytochemical analysis of a multiple radical scavenger lipophilic fraction obtained from the leaf of the seagrass *Thalassia testudinum*. Photochem. Photobiol., 87(5):1058-66.
- Reguera, B., R. Alonso, A. Moreira y S. Méndez. 2011. Guía para el diseño y puesta en marcha de un plan de seguimiento de microalgas productoras de toxinas. IOC Manuals and Guides 59, COI de UNESCO y OIEA, Paris y Viena. 46 p + Anexos.
- Rhodes, L., J. Adams, T. Suzuki, L. Briggs y I. Garthwaite. 2000. Toxic marine epiphytic dinoflagellates, *Ostreopsis siamensis* and *Coolia monotis* (Dinophyceae), in New Zealand. New Zeal. J. Mar. Fresh., 34: 371-383.
- Rodríguez-Ramírez, A., J. Nivia-Ruíz y J. Garzón-Ferreira. 2004. Características estructurales y funcionales del manglar de *Avicennia germinans* en la Bahía de Chengue (Caribe colombiano). Bol. Invest. Mar. Cost., 33: 223-244.
- Rodríguez, A., J.E. Mancera-Pineda y B. Gavio. 2010. Survey of benthic dinoflagellates associated to beds of *Thalassia testudinum* in San Andrés Island, Seaflower Biosphere Reserve, Caribbean Colombia. Acta biol. Colomb. 15(2): 231 248.
- Sar, E.A., M.E. Ferrario y B. Reguera (Eds.). 2002. Floraciones algales nocivas en el cono sur Americano. Instituto Español de Oceanografía. Madrid, España. 311 p.
- Skinner, M., T. Brewer, R. Johnstone, L. Fleming y R. Lewis. 2011. Ciguatera fish poisoning in the Pacific Islands (1998 to 2008). PLoS Negl Trop. Dis., 5 (12): 1-7.
- Solano, O.D. 1987. Estructura y Diversidad de la Comunidad de Corales Hermatípicos en la Bahía de Chengue. Tesis de maestría en. Biología Marina. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. 111 p.
- Steidinger, K. y K. Tangen. 1996. Dinoflagellates. En: C.R. Tomas (Eds.). 1996. Identifying marine diatoms and dinoflagellates, Academic press, Nueva York. 387-598.

- Stinn, J.F., D.P. De Sylva, L.E. Fleming y E. Hack. 2000. Geographic Information Systems (GIS) and ciguatera fish poisoning in the tropical Western Atlantic region. Proc. 1998 Geographic Information Systems in Public Health, 3rd National Conference San Diego, California. 11 p.
- Strickland, D.H. y T.R. Parsons. 1972. A practical handbook of seawater analysis. Bulletin 167. 2a ed. Fisheries Research. Board of Canada, Otawa. 310 p.
- Tawong, W., T. Nishimura, H. Sakanari, S. Sato, H. Yamaguchi y M. Adachi. 2014. Distribution and molecular phylogeny of the dinoflagellate genus *Ostreopsis* in Thailand. Harmful Algae, 37: 160-171.
- Tawong, W., T. Yoshimatsu, H. Yamaguchi y M. Adachi. 2015. Effects of temperature, salinity and their interaction on growth of benthic dinoflagellates Ostreopsis spp. from Thailand. Harmful Algae, 44: 37-45.
- Tester, P., R. L. Feldman, A. W. Nau, S. R. Kibler y R.W. Litaker. 2010. Ciguatera fish poisoning and sea surface temperatures in the Caribbean Sea and the West Indies. Toxicon, 56: 698-710.
- Tester, P.A., S. Kibler, W. Holland, G. Usup, M. Vandersea, C.P. Leaw, L.P. Teen, J. Larsen, N. Mohammad-Noor, M.A. Faust, R.W. Litaker. 2014. Sampling harmful benthic dinoflagellates: Comparison of artificial and natural substrate methods. Harmful Algae, 39: 8–25.
- Tichadou, L., M. Glaizal, A. Armengaud, H. Grossel, R. Lemée, R. Kantin, J.L. Lasalle, G. Drouet, L. Rambaud, P. Malfait y L. De Haro. 2010. Health impact of unicellular algae of the *Ostreopsis* genus blooms in the Mediterranean Sea: experience of the French Mediterranean coast surveillance network from 2006 to 2009. Clinical Toxicology, 48(8): 839-844.
- Tindall, D.R. y S.L. Morton. 1998. Community dynamics and physiology of epiphytic/benthic dinoflagellates associated with Ciguatera. En: Anderson, D.A., A.D. Cembella y G.M. Hallegraeff (Eds). Physiological ecology of harmful algal blooms. Springer-Verlag, Berlin, p 293–313
- Torigoe, K., M. Murata y T. Yasumoto. 1988. Prorocentrolide, a toxic nitrogenous macrocycle from a marine dinoflagellate, *Prorocentrum lima*. J. Am. Chern. Soc., 110: 7876-7877.
- Totti, C., S. Accoroni, F. Cerino, E. Cucchiari y T. Romagnoli. 2010. *Ostreopsis ovata* bloom along the Conero Riviera (northern Adriatic Sea): Relationships with environmental conditions and substrata. Harmful algae, 9: 233-239.
- Tubaro A., P. Durando, G. Del Favero, F. Ansaldi, G. Icardi, J.R. Deeds, y S. Sosa. 2011. Case definitions for human poisonings postulated to palytoxins exposure. Toxicon, 57(3): 478-495.

- Valerio, L. y J. Díaz. 2007. Dinoflagelados epifitos potencialmente tóxicos presentes en praderas de *Thalassia testudinum* en las costas nororientales de Venezuela. Rev. Fav. Agron., 24(1): 39-43.
- Valerio, L. y J. Díaz. 2008. Distribución de dinoflagelados epifitos potencialmente tóxicos asociados a praderas de *Thalassia testudinum* en la Isla la Tortuga, la Bahía de Mochima y Golfo de Cariaco, Venezuela. Bol. Inst. Oceanogr., 47(1): 47-58.
- Vila, M., E. Garcés y M. Masó. 2001. Potentially toxic epiphytic dinoflagellate assemblages on macroalgae in the NW Mediterranean. Aquat. Microb. Ecol., 26: 51–60.
- Wood, S.N. 2006. Generalized Additive Models: An Introduction with R. Chapman & Hall/CRC Texts in Statistical Science. EE.UU. 384 p.
- Yamaguchi, H., T. Yoshimatsu, Y. Tanimoto, S. Sato, T. Nishimura, K. Uehara y M. Adachi. 2012. Effects of temperature, salinity and their interaction on growth of the benthic dinoflagellate Ostreopsis cf. ovata (Dinophyceae) from Japanese coastal waters. Phycol. Res., 60(4): 297–304.
- Yasumoto, T., N. Seino, Y. Murakami y M. Murata. 1987. Toxins produced by benthic dinoflagellates. Biol. Bull. 172: 128-131.
- Yasumoto, T., Y. Oshima, Y. Murakami, I. Nakajima, R. Bagnis y Y. Fukuyo. 1980. Toxicity of benthic dinoflagellates. Bull. Jpn. Soc. Fish., 46:327–331.
- Zar, J. H. 2010. Biostatistical analysis. Ed. Pearson Prentice-Hall. 5ta edición. Upper Saddle River, Nueva Jersey. 944 p.

4 Anexos

Anexo A: Diagramas de caja y bigotes de las variables fisicoquímicas salinidad, temperatura, oxígeno disuelto, pH y nutrientes inorgánicos disueltos (N-NO₂⁻, N-NO₃⁻, N-NH₄⁺ y P-PO₄³⁻), de los últimos 6 años, medidas en la Bahía y la Laguna de Chengue PNNT. B: Bahía; L: Laguna.



Anexo A: (Continuación)



Anexos

Anexo B: Índices ecológicos del ensamblaje de dinoflagelados potencialmente
 tóxicos asociados a las praderas de T. testudinum en la Bahía y la Laguna de Chengue,
 entre el 2014 y 2015. S: riqueza de especies, N: abundancia, J': uniformidad de Pielou, H':
 diversidad de Shannon-Wiener (log e), λ: predominio de Simpson.

| Estación | Mes | Año | S | Ν | J' | Н' | λ |
|----------|------------|------|---|-------|------|------|------|
| | Enero | | 4 | 3060 | 0.64 | 0.89 | 0.45 |
| | Febrero | | 7 | 4954 | 0.46 | 0.89 | 0.56 |
| | Marzo | | 5 | 1311 | 0.74 | 1.2 | 0.41 |
| | Abril | | 6 | 8206 | 0.48 | 0.86 | 0.53 |
| | Мауо | | 7 | 2624 | 0.63 | 1.22 | 0.40 |
| | Junio | 2014 | 6 | 616 | 0.75 | 1.35 | 0.29 |
| | Julio | 2014 | 7 | 4293 | 0.58 | 1.13 | 0.40 |
| | Agosto | | 5 | 18452 | 0.77 | 1.24 | 0.35 |
| | Septiembre | | 6 | 20109 | 0.43 | 0.77 | 0.64 |
| | Octubre | | 6 | 3140 | 0.35 | 0.62 | 0.69 |
| Pahía | Noviembre | | 3 | 6849 | 0.20 | 0.22 | 0.90 |
| | Diciembre | | 7 | 989 | 0.71 | 1.38 | 0.27 |
| Dallia | Enero | | 5 | 1296 | 0.65 | 1.05 | 0.45 |
| | Febrero | | 7 | 1185 | 0.67 | 1.3 | 0.33 |
| | Marzo | | 7 | 9347 | 0.21 | 0.42 | 0.83 |
| | Abril | | 4 | 2915 | 0.7 | 0.98 | 0.42 |
| | Мауо | | 7 | 6406 | 0.34 | 0.67 | 0.65 |
| | Junio | 2015 | 5 | 2603 | 0.31 | 0.5 | 0.77 |
| | Julio | 2013 | 6 | 626 | 0.57 | 1.03 | 0.49 |
| | Agosto | | 8 | 624 | 0.84 | 1.74 | 0.19 |
| | Septiembre | | 9 | 718 | 0.7 | 1.54 | 0.24 |
| | Octubre | | 7 | 2065 | 0.72 | 1.4 | 0.27 |
| | Noviembre | | 7 | 446 | 0.74 | 1.43 | 0.28 |
| | Diciembre | | 4 | 647 | 0.51 | 0.71 | 0.65 |
| | Enero | | 3 | 44 | 0.21 | 0.23 | 0.9 |
| | Febrero | 2014 | 0 | 0 | **** | 0 | **** |
| Laguna | Marzo | 2014 | 1 | 2 | **** | 0 | 1 |
| | Abril | | 5 | 10 | 0.88 | 1.42 | 0.27 |

| Estación | Mes | Año | S | N | J' | Н' | λ |
|----------|------------|------|---|----|------|------|------|
| | Мауо | | 3 | 19 | 0.61 | 0.67 | 0.63 |
| | Junio | | 2 | 15 | 0.24 | 0.17 | 0.92 |
| | Julio | | 6 | 20 | 0.73 | 1.31 | 0.37 |
| | Agosto | | 3 | 31 | 0.69 | 0.76 | 0.58 |
| | Septiembre | | 3 | 8 | 0.94 | 1.03 | 0.38 |
| | Octubre | | 0 | 0 | **** | 0 | **** |
| | Noviembre | | 3 | 5 | 0.82 | 0.9 | 0.46 |
| | Diciembre | | 5 | 12 | 0.81 | 1.31 | 0.32 |
| | Enero | | 4 | 83 | 0.85 | 1.18 | 0.32 |
| | Febrero | | 4 | 33 | 0.75 | 1.04 | 0.44 |
| | Marzo | | 4 | 28 | 0.8 | 1.1 | 0.4 |
| | Abril | | 4 | 25 | 0.81 | 1.12 | 0.39 |
| | Мауо | | 2 | 23 | 0.89 | 0.62 | 0.57 |
| | Junio | 2015 | 2 | 26 | 1 | 0.69 | 0.5 |
| | Julio | 2013 | 3 | 30 | 0.87 | 0.96 | 0.43 |
| | Agosto | | 3 | 13 | 0.88 | 0.97 | 0.41 |
| | Septiembre | | 2 | 3 | 0.65 | 0.45 | 0.72 |
| | Octubre | 1 | 4 | 19 | 0.53 | 0.73 | 0.65 |
| | Noviembre | | 5 | 73 | 0.31 | 0.5 | 0.79 |
| | Diciembre | | 2 | 3 | 1 | 0.69 | 0.5 |

Anexo C: Resultado de los modelos de regresión múltiple incluyendo 11 variables y del modelo reducido "paso a paso" siguiendo el Criterio de Información de Akaike (AIC), aplicado a las densidades de las especies de dinoflagelados que representaron más del 18% de abundancias relativas en las muestras de la Bahía y la Laguna.

| Lugar | Especie | Modelo | R ² ajustado | F | р | AIC |
|--------|---------------------|----------|----------------------------|------|-------|--------|
| Bahía | Prorocentrum lima | Completo | 0.03 | 1.06 | 0.46 | 472.99 |
| | | Reducido | 0.28 | 3.20 | 0.04 | 462.97 |
| | Ostreopsis cf. | Completo | 0.34 | 2.09 | 0.11 | 420.11 |
| | ovata | Reducido | 0.46 | 4.89 | 0.01 | 413.23 |
| | Prorocentrum. | Completo | 0.61 | 4.33 | 0.09 | 407.23 |
| | hoffmannianum | Reducido | 0.67 | 8.72 | 0.00 | 401.99 |
| Laguna | Prorocentrum sp1 | Completo | 0.23 | 1.62 | 0.21 | 198.18 |
| | i lolooonii am op i | Reducido | 0.45 | 5.63 | 0.004 | 187.22 |
| | Prorocentrum | Completo | 0.20 | 1.54 | 0.23 | 157.21 |
| | rhathymum | Reducido | 0.39 | 4.81 | 0.01 | 147.60 |

Anexo D: Resultado de los Modelos Lineales Generalizados (MLG) aplicados a las especies que presentaron datos (Residuales) con distribución diferente a la normal. Para el caso de *Prorocentrum lima* y *Ostreopsis* cf. *ovata* en la Bahía, se aplicó el modelo con respuesta Gamma y función de enlace logaritmo, mientras que en *P. rhathymum* (Laguna) se empleó un modelo con respuesta Binomial y función de enlace logístico. Para el caso de *P. hoffmannianum* y *Prorocentrum* sp1 se presentan los resultados de los modelos de regresión múltiple normal. Exp: Exponencial; NA: No aplica.

| LeightLeightValueestimadocoeficienteestándarCPPPIntercepto5,69295,530,609,441,32e-08Nitratos0,051,050,051,080.29Amonio-0,050,950,03-1,730,10ST0,031,030,013,830,01Precipitación0,0021,000,010,390,70Precipitación0,0021,000,010,390,70Precipitación0,0166,69 x 102418,973.010,01Amonio-1,340,160,43-4,230,001Precipitación-1,3400,160,43-4,230,001Amonio0,061,060,022,840,01Precipitación0,0011,000,010,110,92Precipitación0,0011,000,010,110,92Precipitación0,0011,000,011,130,93Amonio0,0611,000,010,110,92Precipitación-1,318,07NA16,360,990,56Salinidad-1,318,07NA199,152,630,02Precipitación-93,94NA1,9512,630,02Precipitación-93,94NA1,9583,360,03Precipitación-93,94NA1,9583,360,03Precipitación-94,94NA1,9583,360, | Lugar | Especie | Variable | Coeficiente | Exp. del | Error | | n | AIC final | | |
|--|--------|------------------------------|---------------------|-------------|--------------------------|-----------|-------|----------|-----------|--|--|
| Interception5,69295,530,609,441,32e-08Niratos0,051,050,051,080,29Amonio-0,050,950,03-1,730,10SST0,031,030,013,830,001Precipitación0,0021,000,010,390,70Precipitación0,0021,000,010,390,70Salinidad-1,340,260,51-2,640,02Nitratos-0,050,950,04-1,350,01Ostreopsis ciNitritos-1,800,160,434,230,001Nitratos-0,050,950,04-1,350,100,01Ostreopsis ciNitratos-0,050,950,04-1,350,10Nitratos-0,050,950,04-1,350,010,01Precipitación0,061,060,022,840,01Precipitación0,061,060,022,840,02Precipitación0,061,060,022,840,02Oxigeno-1,318,07NA16,360,990,560,56Salinidad-1.318,07NA199,152,630,02Precipitación-9,49NA7,02-1,350,19Días delluvia182,51NA199,152,630,02Precipitación-9,49NA7,02-1,350,19Días delluvia182,51NA19,832,1 | Lugai | Lapecie | Vallable | estimado | coeficiente | estándar | | P | | | |
| Proceentrum limaNitratos0,051,050,051,080,29Amonio-0,050,950,03-1,730,10SST0,031,030,013,830,001Precipitación0,0021,000,010,390,70Precipitación0,0021,000,010,390,70Precipitación0,0021,000,010,390,70Ostreopsis (ovata)Intercepto57,166,69 x 10 ²⁴ 18,973.010,01Nitritos-1,800,160,43-4,230,001Amonio0,061,060,04-1,350,19Amonio0,0011,060,04-1,350,19Nitritos-0,050,9550,04-1,350,19Amonio0,061,060,022,840,01Precipitación0,0011,060,010,110,92NaminianuIntercepto9,722,32NA16.360,990,59ProrocentrumIntercepto9,722,32NA16.360,990,56Salinidad-1.318,07NA357,313,680,002Precipitación-9,49NA7,021,350,19precipitación-93,94NA1,959,152,630,001precipitación-93,94NA57,631,630,19precipitación-94,91NA20,842,130,001precipitación-94,94NA12,8 | | | Intercepto | 5,69 | 295,53 | 0,60 | 9,44 | 1,32e-08 | | | |
| ImaAmonio-0,050,950,03-1,730,10400.88ST0,031,030,013,830,001Precipitación0,0021,000,010,390,70Precipitación0,0021,000,010,390,70Salinidad-1,340,260,51-2,640,02Ostreopsis cl. ovataNitritos-1,800,160,43-4,230,001Mitros-0,050,950,04-1,350,19Amonio0,061,060,022,840,01Precipitación0,0011,000,010,110,92Amonio0,061,060,022,840,00Precipitación0,0011,000,010,110,92Precipitación9,722,32NA16,360,990,590,56Salinidad-1,318,07NA357,31-3,680,002Precipitación9,729,32NA16,360,990,590,56Salinidad-1,318,07NA357,31-3,680,002Precipitación9,94NA1,959,152,630,02Precipitación-9,49NA7,02-1,350,19Precipitación-9,49NA12,983.360,003sp1Nitros-2,60NA1,931,350,19Precipitación0,35NA0,094,060,001Jias de lluvia-3,09NA0,07 | | | Nitratos | 0,05 | 1,05 | 0,05 | 1,08 | 0,29 | 400.88 | | |
| Initial SST 0,03 1,03 0,01 3,83 0,001 Precipitación 0,002 1,00 0,01 0,39 0,70 Intercepto 57,16 6,69 x 10 ²⁴ 18,97 3.01 0,01 Salinidad -1,34 0,26 0,51 -2,64 0,02 Ostreopsis cf. Nitritos -1,80 0,16 0,43 -4,23 0,001 Minitatos -0,05 0,955 0,04 -1,35 0,19 Amonio 0,06 1,06 0,02 2,84 0,01 Amonio 0,061 1,00 0,01 0,11 0,92 Amonio 0,061 1,00 0,01 0,11 0,92 Amonio 0,061 1,00 0,01 0,11 0,92 Salinidad -1.18,07 NA 16360,99 0,56 3 Salinidad -1.318,07 NA 10,95 5,63 0,02 Precipitación -9.394 NA 7, | | lima | Amonio | -0,05 | 0,95 | 0,03 | -1,73 | 0,10 | | | |
| Precipitación 0,002 1,00 0,01 0,39 0,70 Intercepto 57,16 6,69 x 10 ²⁴ 18,97 3.01 0,01 Salinidad -1,34 0,26 0,511 -2,64 0,02 ovata Nitritos -1,80 0,16 0,43 -4,23 0,001 Nitratos -0,05 0,95 0,04 -1,35 0,19 Amonio 0,06 1,06 0,02 2,84 0,01 Precipitación 0,001 1,00 0,01 0,11 0,92 Amonio 0,061 1,06 0,02 2,84 0,01 Precipitación 0,001 1,00 0,11 0,92 Salinidad -1.318,07 NA 357,31 -3,68 0,002 Oxigeno -404,14 NA 1959,15 2,63 0,02 prococetrum pH 5.155,18 NA 1.959,15 0,13 0,19 Días de lluvia 182,51 NA 1.93 | | mna | SST | 0,03 | 1,03 | 0,01 | 3,83 | 0,001 | | | |
| Intercepto $57,16$ 6.69×10^{24} $18,97$ 3.01 0.01 Salinidad $-1,34$ $0,26$ $0,51$ -2.64 0.02 ovata Nitritos $-1,80$ $0,16$ $0,43$ $-4,23$ $0,001$ Nitratos -0.05 0.95 0.04 $-1,35$ $0,19$ Amonio $0,006$ $1,06$ $0,02$ $2,84$ $0,01$ Procepitación $0,001$ $1,00$ $0,01$ $0,11$ 0.92 Procepitación $0,001$ $1,00$ $0,01$ $0,11$ 0.92 Procepitación $0,001$ $1,00$ $0,01$ $0,11$ $0,92$ Procepitación $0,021$ $2,84$ $0,002$ $2,84$ $0,002$ Procepitación $-1.318,07$ NA $16.360,99$ $0,56$ $0,022$ Procepitación $-9.3,94$ NA $1.95,155$ $0,02$ $0,060$ pH $51.55,18$ NA $1.92,9$ $0,01$ | | | Precipitación | 0,002 | 1,00 | 0,01 | 0,39 | 0,70 | | | |
| Salinidad $-1,34$ $0,26$ $0,51$ $-2,64$ $0,02$ Ostreopsis cf. ovataNitritos $-1,80$ $0,16$ $0,43$ $-4,23$ $0,001$ Nitratos $-0,05$ $0,95$ $0,04$ $-1,35$ $0,19$ Amonio $0,06$ $1,06$ 0.02 $2,84$ $0,01$ Precipitación $0,001$ $1,00$ $0,01$ $0,11$ $0,92$ Intercepto $9.722,32$ NA $16.360,99$ $0,59$ $0,56$ Salinidad $-1.318,07$ NA $357,31$ -3.68 $0,002$ ProrocetrumOxígeno disuelto $-404,14$ NA $200,84$ $2,01$ $0,060$ PH $5.155,18$ NA $1.959,15$ $2,63$ $0,02$ Precipitación $-9.39,44$ NA $57,63$ -1.63 $0,12$ Precipitación -9.49 NA 7.02 -1.35 $0,19$ Precipitación -9.49 NA $57,63$ -1.63 $0,12$ Precipitación -9.49 NA $57,63$ -1.63 $0,12$ Precipitación -9.49 NA $57,63$ -1.63 $0,02$ Precipitación -9.49 NA $51,65$ $2,77$ 0.01 Na $19.59,15$ 2.63 $0,02$ -1.35 $0,19$ Precipitación -9.49 NA $51,65$ $2,77$ 0.01 Precipitación -9.48 NA $2,11$ $2,29$ $0,03$ 91 Nitritos -2.60 NA $1,93$ $-1,35$ $0,1$ | | | Intercepto | 57,16 | 6,69 x 10 ²⁴ | 18,97 | 3.01 | 0,01 | | | |
| Ostreopsis cf. ovataNitritos-1,800,160,43-4,230,001367,31BahiaNitratos-0,050,950,04-1,350,19367,31367,31367,31BahiaMiratos0,061,060,022,840,010.010,110,92Amonio0,0011,000,010,110,920,560,56311,630,02367,313680,002Precipitación0,001-1.318,07NA357,31-3,680,002366311,99367,91366311,99ProrocetrumÓxigeno disuelto-404,14NA200,84-2,010,0600,012411,99Precipitación-9,99NA1.959,152,630,0220,06041,9941,99Precipitación-9,49NA1.959,152,630,0220,06041,99Precipitación-9,49NA7,02-1,350,1911,99Días de lluvia182,51NA65.832,770,0111,73Prorocentrum sp1Intercepto43,57NA12,983.360,003187,22Precipitación0,35NA0,094,060,01187,22187,22Prorocentrum sp1Nitritos-2,60NA1,93-1,350,19Precipitación0,35NA0,094,060,001187,22Precipitación0,35NA0,094,060,001 <td></td> <td></td> <td>Salinidad</td> <td>-1,34</td> <td>0,26</td> <td>0,51</td> <td>-2,64</td> <td>0,02</td> <td></td> | | | Salinidad | -1,34 | 0,26 | 0,51 | -2,64 | 0,02 | | | |
| Bahia Nitratos $-0,05$ 0.95 0.04 $-1,35$ $0,19$ Bahia Amonio $0,06$ $1,06$ 0.02 $2,84$ $0,01$ Precipitación $0,001$ $1,00$ $0,01$ $0,11$ $0,92$ Intercepto $9.722,32$ NA $16.360,99$ $0,59$ 0.56 Salinidad $-1.318,07$ NA $357,31$ $-3,68$ $0,002$ Oxígeno $-404,14$ NA $200,84$ $-2,01$ $0,060$ Diffmannianum pH $5.155,18$ NA $1.959,15$ $2,63$ $0,022$ Precipitación $-9,49$ NA $57,63$ $-1,63$ $0,12$ Precipitación $-9,49$ NA $57,63$ $-1,63$ $0,12$ Precipitación $-9,49$ NA 7.02 $-1,35$ $0,19$ Días de lluvia $182,51$ NA $12,98$ 3.36 $0,003$ sp1 Nitritos $-2,60$ NA | | Ostreopsis cf. | Nitritos | -1,80 | 0,16 | 0,43 | -4,23 | 0,001 | 267 21 | | |
| BahíaAmonio0,061,060,022,840,01Precipitación0,0011,000,010,110,92Intercepto9.722,32NA16.360,990,590,56Salinidad-1.318,07NA357,31-3,680,002Oxígeno disuelto-404,14NA200,84-2,010,060Prorocetrum hoffmannianumpH5.155,18NA1.959,152,630,02Precipitación-93,94NA57,63-1,630,12Precipitación-9,49NA7,02-1,350,19Días de Iluvia182,51NA65.832,770.01Días de Iluvia182,51NA12,983.360,003sp1Íntercepto-2,60NA1,93-1,350,19Proccentrum sp1Nitritos-2,60NA1,93-1,350,19Precipitación0,35NA0,094,060,001Días de Iluvia-3,09NA0,07-1,900,05Proccentrum rhathymumIntercepto-95,862,33 x 10 ⁻²⁴ 48,29-1,990,05NA1,735,630,862,010,04NA | | ovata | Nitratos | -0,05 | 0,95 | 0,04 | -1,35 | 0,19 | 307,31 | | |
| $\begin{tabular}{ c c c c c c c } \hline $$ $$ $$ $$ $$ $$ $$ $$ $$ $$ $$ $$ $$ | Bahía | | Amonio | 0,06 | 1,06 | 0,02 | 2,84 | 0,01 | | | |
| $\begin{tabular}{ c c c c c } \hline $ $ $ $ $ $ $ $ $ $ $ $ $ $ $ $ $ $ $ | | | Precipitación | 0,001 | 1,00 | 0,01 | 0,11 | 0,92 | | | |
| $\begin{tabular}{ c c c c c } \hline $ Salinidad & $-1.318,07$ & NA & $357,31$ & $-3,68$ & $0,002$ \\ \hline $ Oxígeno \\ disuelto & $-404,14$ & NA & $200,84$ & $-2,01$ & $0,060$ \\ \hline $ Disal celto & $-3155,18$ & NA & $1.959,15$ & $2,63$ & $0,02$ \\ \hline $ Precipitación & $-93,94$ & NA & $1.959,15$ & $2,63$ & $0,02$ \\ \hline $ Fosfatos & $-93,94$ & NA & $57,63$ & $-1,63$ & $0,12$ \\ \hline $ Precipitación & $-9,49$ & NA & $7,02$ & $-1,35$ & $0,19$ \\ \hline $ Precipitación & $-9,49$ & NA & $7,02$ & $-1,35$ & $0,19$ \\ \hline $ Dias de lluvia & $182,51$ & NA & 65.83 & $2,77$ & 0.01 \\ \hline $ Dias de lluvia & $182,51$ & NA & 65.83 & $2,77$ & 0.01 \\ \hline $ Dias de lluvia & $182,51$ & NA & $12,98$ & 3.36 & $0,003$ \\ \hline $ Oxígeno $ $0xígeno $ $-4,84$ & NA & $1,93$ & $1,35$ & $0,19$ \\ \hline $ Sp1$ & $Nitritos$ & $-2,60$ & NA & $1,93$ & $-1,35$ & $0,19$ \\ \hline $ Nitritos$ & $-2,60$ & NA & $1,93$ & $-1,35$ & $0,19$ \\ \hline $ Precipitación$ & $0,35$ & NA & $0,09$ & $4,06$ & $0,001$ \\ \hline $ Precipitación$ & $0,35$ & NA & $0,09$ & $4,06$ & $0,001$ \\ \hline $ Precipitación$ & $0,35$ & NA & $0,77$ & $4,04$ & $0,001$ \\ \hline $ Prococentrum$ $ hathymum$ & $Salinidad$ & $1,73$ & $5,63$ & $0,86$ & $2,01$ & $0,04$ \\ \hline $ Procentrum$ $ hathymum$ & $Salinidad$ & $1,73$ & $5,63$ & $0,86$ & $2,01$ & $0,04$ \\ \hline $ Precipitación$ & $0,75$ & $0,95$ & $0,95$ \\ \hline $ Procentrum$ $ Prococentrum$ $ hathymum$ & $Salinidad$ & $1,73$ & $5,63$ & $0,86$ & $2,01$ & $0,04$ \\ \hline $ Precipitación$ & $0,75$ & $1,99$ & $0,05$ \\ \hline $ Precipitación$ & $0,55$ & $0,86$ & $2,01$ & $0,04$ \\ \hline $ Precipitación$ & $0,55$ & $0,86$ & $2,01$ & $0,04$ \\ \hline $ Precipitación$ & $0,55$ & $0,55$ & $0,86$ & $2,01$ & $0,04$ \\ \hline $ Precipitación$ & $0,55$ & $0,55$ & $0,86$ & $2,01$ & $0,04$ \\ \hline $ Precipitación$ & $0,55$ & $0,55$ & $0,86$ & $2,01$ & $0,04$ \\ \hline $ Precipitación$ & $0,55$ & $0,55$ & $0,86$ & $2,01$ & $0,04$ \\ \hline $ Precipitación$ & $0,55$ & $0,55$ & $0,86$ & $2,01$ & $0,04$ \\ \hline $ Precipitación$ & $0,55$ & $0,55$ & $0,86$ & $2,01$ & $0,04$ \\ \hline $ Precipitación$ & $0,55$ & $0,55$ & $0,86$ & $2,01$ $ | | Prorocetrum hoffmannianum | Intercepto | 9.722,32 | NA | 16.360,99 | 0,59 | 0,56 | | | |
| $\begin{tabular}{ c c c c c } \hline $Prorocetrum$ $hoffmannianum$ $hoffmannianum$ $hoffmannianum$ $hoffmannianum$ $hoffmannianum$ $hoffmannianum$ p P $Fosfatos$ $-93,94$ NA $1.959,15$ $2,63$ $0,02$ $$Fosfatos$ $-93,94$ NA $57,63$ $-1,63$ $0,12$ $$Precipitación$ $-9,49$ NA $57,63$ $-1,63$ $0,12$ $$Precipitación$ $-9,49$ NA $7,02$ $-1,35$ $0,19$ $$Precipitación$ $-9,49$ NA $7,02$ $-1,35$ $0,19$ $$Precipitación$ $182,51$ NA 65.83 $2,77$ 0.01 $$Precipitación$ $0,35$ NA $12,98$ 3.36 $0,003$ $$Prorocentrum$ $$p1 $$Intercepto$ $43,57$ NA $12,98$ 3.36 $0,003$ $$Precipitación$ $$Oxígeno$ $-4,84$ NA $2,11$ $2,29$ $0,03$ $$Precipitación$ $$Oxígeno$ $$Oxígeno$ $$-2,60$ NA $1,93$ $2,11$ $$-2,29$ $$0,03$ $$Precipitación$ $$Oxigeno$ $$0,35$ NA $0,09$ $$4,06$ $0,001$ $$Precipitación$ $$0,35$ NA $0,09$ $$4,06$ $$0,001$ $$Precipitación$ $$0,35$ NA $0,09$ $$4,06$ $$0,001$ $$Precipitación$ $$0,35$ NA $$0,77$ $$4,04$ $$0,001$ $$Precipitación$ $$0,35$ NA $$0,77$ $$4,04$ $$0,001$ $$$Precipitación$ $$0,35$ $$NA$ $$0,77$ $$4,04$ $$0,001$ $$$Precipitación$ $$0,35$ $$NA$ $$0,86$ $$2,01$ $$0,04$ $$$$$$$Precipitación$ $$$0,05$ $$$$$$$$$$$$$$$$$$$$$$$$$$$$$$ | | | Salinidad | -1.318,07 | NA | 357,31 | -3,68 | 0,002 | | | |
| $\begin{tabular}{ c c c c c c } \hline $h$$ $h$$ $h$$ $h$$ $h$$ $h$$ $h$$ $$ | | | Oxígeno disuelto | -404,14 | NA | 200,84 | -2,01 | 0,060 | | | |
| $\begin{tabular}{ c c c c c c c } \hline Fosfatos & -93,94 & NA & 57,63 & -1,63 & 0,12 \\ \hline Fosfatos & -93,94 & NA & 57,63 & -1,63 & 0,12 \\ \hline Precipitación & -9,49 & NA & 7,02 & -1,35 & 0,19 \\ \hline Días de lluvia & 182,51 & NA & 65.83 & 2,77 & 0.01 \\ \hline Días de lluvia & 182,51 & NA & 12,98 & 3.36 & 0,003 \\ \hline Oxígeno & -4,84 & NA & 2,11 & -2,29 & 0,03 \\ \hline Oxígeno & -4,84 & NA & 2,11 & -2,29 & 0,03 \\ \hline Oxígeno & -4,84 & NA & 1,93 & -1,35 & 0,19 \\ \hline Nitritos & -2,60 & NA & 1,93 & -1,35 & 0,19 \\ \hline Precipitación & 0,35 & NA & 0,09 & 4,06 & 0,001 \\ \hline Precipitación & 0,35 & NA & 0,77 & -4,04 & 0,001 \\ \hline Días de lluvia & -3,09 & NA & 0,77 & -4,04 & 0,001 \\ \hline Prorocentrum \\ hathymum & Salinidad & 1,73 & 5,63 & 0,86 & 2,01 & 0,04 \\ \hline \end{tabular}$ | | | рН | 5.155,18 | NA | 1.959,15 | 2,63 | 0,02 | 401.99 | | |
| $\begin{tabular}{ c c c c c } \hline Precipitación & -9,49 & NA & 7,02 & -1,35 & 0,19 \\ \hline Días de lluvia & 182,51 & NA & 65.83 & 2,77 & 0.01 \\ \hline Días de lluvia & 182,51 & NA & 12,98 & 3.36 & 0,003 \\ \hline Oxígeno & -4,84 & NA & 12,98 & 3.36 & 0,003 \\ \hline Oxígeno & -4,84 & NA & 2,11 & -2,29 & 0,03 \\ \hline Oxígeno & -4,84 & NA & 1,93 & -1,35 & 0,19 \\ \hline Nitritos & -2,60 & NA & 1,93 & -1,35 & 0,19 \\ \hline Precipitación & 0,35 & NA & 0,09 & 4,06 & 0,001 \\ \hline Precipitación & 0,35 & NA & 0,07 & -4,04 & 0,001 \\ \hline Días de lluvia & -3,09 & NA & 0,77 & -4,04 & 0,001 \\ \hline Prorocentrum \\ rhathymum & Intercepto & -95,86 & 2,33 \times 10^{-24} & 48,29 & -1,99 & 0,05 \\ \hline NA & NA & 0,08 & 2,01 & 0,04 \\ \hline \end{tabular}$ | | | Fosfatos | -93,94 | NA | 57,63 | -1,63 | 0,12 | | | |
| $\begin{tabular}{ c c c c c c } \hline $Dias $de $lluvia$ $182,51$ NA 65.83 $2,77$ 0.01 0.01 0.01 0.01 0.003 $0.003$$ | | | Precipitación | -9,49 | NA | 7,02 | -1,35 | 0,19 | | | |
| $\begin{tabular}{ c c c c c c } $Intercepto $& $43,57$ & NA $& $12,98$ & 3.36 & $0,003$ \\ $Oxigeno $& $Oxigeno $& $-4,84$ & NA $& $2,11$ & $-2,29$ & $0,03$ \\ $disuelto $& $disuelto $& $-2,60$ & NA $& $1,93$ & $-1,35$ & $0,19$ \\ $Nitritos $& $-2,60$ & NA $& $1,93$ & $-1,35$ & $0,19$ \\ $Nitritos $& $-2,60$ & NA $& $0,09$ & $4,06$ & $0,001$ \\ \hline $Precipitación $& $0,35$ & NA $& $0,09$ & $4,06$ & $0,001$ \\ \hline $Precipitación $& $-3,09$ & NA $& $0,77$ & $-4,04$ & $0,001$ \\ \hline $Prorocentrum$ $hathymum$ & $Intercepto $& $-95,86$ & $2,33 \times 10^{-24}$ & $48,29$ & $-1,99$ & $0,05$ \\ \hline NA & NA & $0,86$ & $2,01$ & $0,04$ \\ \hline NA & NA & NA & $0,86$ & $2,01$ & $0,04$ \\ \hline NA & $$ | | | Días de lluvia | 182,51 | NA | 65.83 | 2,77 | 0.01 | | | |
| $\begin{tabular}{ c c c c c c c } I | | | Intercepto | 43,57 | NA | 12,98 | 3.36 | 0,003 | | | |
| Laguna sp1 Nitritos -2,60 NA 1,93 -1,35 0,19 Precipitación 0,35 NA 0,09 4,06 0,001 Días de lluvia -3,09 NA 0,77 -4,04 0,001 Prorocentrum rhathymum Intercepto -95,86 2,33 x 10 ⁻²⁴ 48,29 -1,99 0,05 | Laguna | Prorocentrum | Oxígeno disuelto | -4,84 | NA | 2,11 | -2,29 | 0,03 | 187,22 | | |
| Precipitación 0,35 NA 0,09 4,06 0,001 Días de lluvia -3,09 NA 0,77 -4,04 0,001 Prorocentrum rhathymum Intercepto -95,86 2,33 x 10 ⁻²⁴ 48,29 -1,99 0,05 NA 1,73 5,63 0,86 2,01 0,04 | | sp1 | Nitritos | -2,60 | NA | 1,93 | -1,35 | 0,19 | | | |
| Días de lluvia -3,09 NA 0,77 -4,04 0,001 Prorocentrum rhathymum Intercepto -95,86 2,33 x 10 ⁻²⁴ 48,29 -1,99 0,05 Salinidad 1,73 5,63 0,86 2,01 0,04 | | | Precipitación | 0,35 | NA | 0,09 | 4,06 | 0,001 | | | |
| Prorocentrum rhathymum Intercepto -95,86 2,33 x 10 ⁻²⁴ 48,29 -1,99 0,05 NA | | | Días de lluvia | -3,09 | NA | 0,77 | -4,04 | 0,001 | | | |
| <i>rhathymum</i> Salinidad 1,73 5,63 0,86 2,01 0,04 | | Prorocentrum | Intercepto | -95,86 | 2,33 x 10 ⁻²⁴ | 48,29 | -1,99 | 0,05 | NIA | | |
| | | rhathymum | Salinidad | 1,73 | 5,63 | 0,86 | 2,01 | 0,04 | NA | | |

| Lugar | Especie | Variable | Coeficiente estimado | Exp. del coeficiente | Error estándar | t | р | AIC final |
|-------|---------|-------------|-------------------------|----------------------|-------------------|-------|------|-----------|
| | | Temperatura | 1,35 | 3,84 | 0,66 | 2,03 | 0,04 | |
| | | рН | -0,75 | 0,47 | 5,36 | -0,14 | 0,89 | |
| | | Nitratos | 0,21 | 1,23 | 0,13 | 1,67 | 0,09 | |

Anexo E: Gráficas del análisis de residuales para verificar la bondad de ajuste de los modelos estimados para Prorocentrum lima, P. hoffmanianum y Ostreopsis cf. ovata en la Bahía, y para Prorocentrum sp1 y P. rhathymum en la Laguna de Chengue PNNT.



Anexo E: (Continuación)



Anexo E: (Continuación)



Anexo F: Información de dinoflagelados epifitos potencialmente tóxicos registrados en algunos países del Caribe, comparable con la información registrada en el presente estudio, principalmente con la Bahía de Chengue. P.H: Peso húmedo.

| Período de muestreo | Lugar | Fuente | Géneros | Sustrato | Resultados | Condiciones de mayores densidades | Efectos negativos |
|--------------------------------|--|---------------------------------------|---|---|--|---|---|
| Mayo a diciembre de 2005 | Golfo de México (Veracruz) | Okolodkov <i>et al.,</i> (2007) | -Amphidinium, -Prorocentrum -Colia -Ostreopsis (P. lima más abundante) | Thalassia testudinum | Total 0 - 31467 cél. g ⁻¹ P.H. <i>-P. lima</i> : max. 29756 cél. g ⁻ ¹ P.H (mayo) Temporalidad- picos de may.–jun. y disminución de ago. a dic. | Época seca T°: ~24 y >33°C Salinidad: >28 y <32 pH: ~7.7 – 8.8 Nitrógeno total: 1 y <0.5 mg/L Fosfatos: ~0.4 a <2.3 μg/L | Riesgo de brotes de ciguatera |
| Mayo de 2012 mayo de 2013 | Golfo de México (Yucatán) | Martínez- Cruz et al., 2015 | -Amphidinium, -Prorocentrum -Colia (<i>P. lima</i> más abundante) | T. testudinum | Mayores densidades Ago 2012 (~2000 cél. g ⁻¹ P.H.) Abr 2013 (~1380 cél. g ⁻¹ P.H.) Incremento de <i>P. lima</i> en jun 2012 y ago 2013 | Altas temperaturas y concentraciones de nutrientes. | Riesgo de brotes de ciguatera |
| 2008 - 2009 | México (Península de Yucatán) | Okolodkov <i>et al.,</i> (2014) | 20 taxa -Amphidinium, -Prorocentrum (representativas) -Gambierdiscus | <i>T. testudinum</i> y otras macrofitas | Variaciones promedio de abundancias en cada sitio: ~100 a más de 25000 cél. g ⁻¹ P.H. - <i>P. rhathymum:</i> max. 24100 cel/g s.h. - <i>A</i> . cf. <i>carterae:</i> 3690 cél. g ⁻¹ P.H | Gambierdiscus spp: alta concentración de nutrientes, alta turbidez y salinidad en aguas someras. <i>P. rhathymum:</i> pocos nutrientes | Riesgo atribuido a la ciguatera por la presencia de <i>Gambierdiscus</i> spp. |

| Período de muestreo | Lugar | Fuente | Géneros | Sustrato | Resultados | Condiciones de mayores densidades | Efectos negativos |
|--|--------------------------|---------------------------|--|--|---|--|-------------------------------------|
| | | | | | - <i>G. spp:</i> 9900 cél. g ⁻¹ P.H. (mayo y noviembre) | baja temperatura y turbidez y aguas someras <i>P. lima</i> : alto amonio temperatura intermedia, baja turbidez, aguas menos someras | Laguna más susceptible. |
| De marzo a marzo de 1999-2000 y 2001- 2002 | Cuba (Jaimanita s) | Delgado et al., 2006 a | -Prorocentrum -Colia -Ostreopsis -Gambierdiscus | Macroalgas (Phaeophyta, Chlorophyta, y Rhodophyta), | Mayores densidades en verano lluvioso Incrementos de may a oct, con un máximo en jun de 1999 (~1000 - cél. g ⁻¹ P.H.) y de 2001 (~1100 cél. g ⁻¹ P.H.) <i>P. lima</i> : mayor abundancia relativa Bajas densidades en la estación influenciada por el río. | Alta temperatura (<30°C) Alta salinidad (<31.70) Vientos débiles y bajas concentraciones de nutrientes. <i>Gambierdiscus</i> : abundante en ausencia de lluvias, viento débil y aguas transparentes. | Riesgo de brotes de ciguatera |

Productos de la tesis

1. Nota publicada en el boletín Harmful Algae News An IOC Newsletter on Toxic Algae and Algal Blooms No. 54 - August 2016 www.ioc-unesco.org/hab.

Annual variability of Prorocentrum lima and abiotic factors in Chengue Bay, Tayrona National Park, Colombian Caribbean



Fig. 1. Study area where samples of Thalassia testudinum were collected. Chengue Bay (black star), Tayrona National Park, Colombian Caribbean

Prorocentrum lima is a cosmopolitan species distributed in tropical and as a toxin producer (okadaic acid and its analogs) and agent of diarrheic shellfish poisoning [1]. P. lima is one of the most abundant and frequent component of

the epiphytic dinoflagellate community on the Turtle Grass (Thalassia testutemperate seas. This dinoflagellate has dinium) in the Caribbean. The objective been characterized in different regions of this study was to describe the annual variability in population abundance of P. lima in Tayrona National Park, Colombian Caribbean, to understand possible patterns related with climate.

Sampling was conducted in Chengue Bay. This bay, part of the Tayrona National Park (Fig. 1), is about 14 km east of the tourist city of Santa Marta (11 ° 18' - 11 ° 20' N and 74 ° 09' - 74 ° 07'W). Chengue Bay occupies an area of approximately 2.5 km² with a climate influenced by the two annual seasons: dry from December to April and rainy from May to November, although variations have been reported in recent years. The bay harbors a variety of tropical ecosystems such as mangroves, seagrass beds, coral reefs, soft bottoms and rocky shores [2].

Between January and December 2014, samples of T. testudinium were collected every month to analyze dinoflagellates present in the epiphytic community. In the laboratory, microalgae were detached and preserved in formalin. P. lima was identified in SEM micrographs. Cell counts were carried out with Sedgewick-Rafter chambers under a Zeiss Primo Star optical microscope. P. lima (Fig. 2) was the most frequent and abundant species of the 14 taxa observed. Cell densities ranged from 232 to 15,867 cells g⁻¹ ww (wet weight) of T. testudinum (Fig. 3), with an average of 3,081 cells g⁻¹ ww and maximum values in August and September. These values were lower than the maximal densities recorded by other authors during May 2005 (29,756 cells g⁻¹ ww) in a semi-protected reef area of Veracruz, Gulf of Mexico [3], but higher than those observed in the coastal area of the Yucatán Peninsula (max. of approximately 1,100 cells g⁻¹ ww of T. testudinum) in April 2013 [4].



Fig. 2. SEM images of Prorocentrum lima. A. Ventral view, with pore pattern and B. Periflagellar area with intercalary band and suture view HARMFUL ALGAE NEWS NO. 54 / 2016







Fig. 4. Time series of rainfall (monthly average and standard deviation) from 1980 to 2014 (bars), and total monthly rainfall during 2014 (black line), in the Magdalena region (airport station-IDEAM)

Maximal cell density of P. lima was found at salinities near 35, temperature above 29 °C, high N:P ratio (>16), nitrite 2.4 µg L^{·1}, nitrate, ammonia and phosphate concentrations below 2.7 µg L-1, and high concentrations of total suspended solids. These environmental features are common when rainfall is low (70-110 mm monthly rainfall).

Rainfall did not follow the usual pattern during 2014 with values well This study was part of a technical cobelow the historic mean (Fig. 4). These results suggest that *P. lima* population is likely to benefit during periods of low rain, small decline in salinity, high water temperature and lower inorganic nutrients in the environment.

For future risk management plans it will be important to consider toxin

RARMFUL ALGAE NEWS NO. 54 / 2016

analyses to establish the risk involved with the presence of this species in the Colombian Caribbean. These results will help involve the public health sector, improve the diagnostic tools and reduce negative consequences of potentially toxic dinoflagellates in an important natural and tourist area.

Acknowledgements

operation project (RLA7/020) between the Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras "Jose Benito Vives de Andreis" - INVEMAR in Colombia (CRTB-1153) and the International Atomic Energy Agency (IAEA). We are grateful to the Universidad Nacional de Colombia. Instituto de Estudios de Ciencias

del Mar -CECIMAR (sede Caribe) y Programa de Postgrados en Biología - Línea Biología Marina (contribution 430). Thanks also to the Banco Español de Algas de Gran Canaria, in particular to Mr. E. Soler Onis, and to the Jardin Botánico Canario "Viera y Clavijo" for support with the SEM, and to the Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales de Colombia -IDEM for providing rainfall data.

References

- Hallegraeff GM et al 2004. Manual on 1. harmful marine microalgae. UNESCO, Paris, 793 pp
- Rodríguez-Ramírez A et al 2004. Bol Invest Mar Cost 33: 223-244
- 3. Okolodkov YB et al 2007. Aquat Microb Ecol 47: 223-237
- 4 Martínez-Cruz ME Et al 2015. Cymbella 3, 9 00

Authors

Natalia Arbelaez-Merizalde, Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras - INVE-MAR, Santa Marta, Colombia & Instituto de Estudios de Ciencias del Mar -CECIMAR, Universidad Nacional de Colombia, Sede Caribe, Santa Marta, Colombia

Jose Ernesto Mancera-Pineda, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, Bogotá D.C., Colombia

Email: natalia.arbelaez@invemar.ora.co

2. Carta de sometimiento del artículo "Dinoflagelados epifitos potencialmente tóxicos asociados a Thalassia testudinum en dos sistemas costeros del Caribe colombiano" al Boletín de Investigaciónes Marinas y Costeras.



2034 SCI-CEI-

Santa Marta, 21 de noviembre de 2016

Señora NATALIA ARBELAEZ Autores del manuscrito REF. 781

ASUNTO: Acuso de recibo ARTÍCULO REF. 781 "DINOFLAGELADOS EPIFITOS POTENCIALMENTE TÓXICOS ASOCIADOS A THALASSIA TESTUDINUM EN DOS SISTEMAS COSTEROS DEL CARIBE COLOMBIANO"

Cordial saludo,

Sec. Sec. Sec. Sec.

Anos

el SINA

Acuso recibo de una copia electrónica del manuscrito de la referencia, el cual será enviado a evaluación por parte del Comité Editorial del Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras.

Agradeciendo su interés por contribuir a nuestra revista, le saluda atentamente,

www.invemar.org.co 🖬 Invemar 🖬 @invemarcolombia

NOCO

JESUS ANTONIO GARAY Director de la Revista

