



Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.

Programa de Estudios de Posgrado

**CICLO DE VIDA, CRECIMIENTO Y TOXICIDAD
DE LOS DINOFLAGELADOS SUBTROPICALES:**

Alexandrium affine y Gymnodinium catenatum

TESIS

que para obtener el grado de
Doctor en Ciencias
En el Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales
(Orientación en Biología Marina)

PRESENTA

CHRISTINE JOHANNA BAND SCHMIDT

La Paz, B.C.S. Julio del 2003.

RESUMEN

Para comprender los florecimientos algales debemos conocer las adaptaciones específicas de cada especie a su ambiente. Poco se conoce sobre la fisiología y crecimiento de especies de zonas subtropicales. El propósito de este estudio ha sido profundizar en el conocimiento de dinoflagelados subtropicales potencialmente productores de toxinas parálíticas en Bahía Concepción, B.C.S. México. Para ello, se profundizó en la respuesta de diferentes estadios del ciclo de vida a factores ambientales en dos especies de ambientes subtropicales: *Alexandrium affine* y *Gymnodinium catenatum*. Se determinó la presencia de toxinas parálíticas y se utilizaron herramientas moleculares para confirmar su identificación de dos especies del género *Alexandrium*: *A. affine* y *A. margalefii*, mediante enzimas de restricción y secuenciación de ADN. La amplificación del fragmento D1–D2 de la subunidad larga del gen del DNA ribosomal (LSU rDNA) resultó en un producto de 720 bp para ambas especies. Los patrones de restricción de *A. affine* y *A. margalefii* digeridas con las enzimas *NspI*, *MseI* y *ApaLI* fueron idénticos a lo reportado anteriormente. Sólo hubo una variación en *A. affine* con la enzima *NspI*, que se debió a la diferencia de un nucleótido en el sitio 582. Las secuencias obtenidas de la región D1-D2 del LSU rADN se compararon con 18 cepas de *Alexandrium* de diferentes regiones geográficas confirmando la identificación de *A. affine* y *A. margalefii*. Ambas especies son un primer registro para las costas mexicanas. *Alexandrium affine* forma quistes bajo condiciones deficientes de nutrientes. El periodo de maduración está influenciado por la temperatura de almacenamiento, durando entre 2 semanas y 3 meses. La tasa de germinación incrementa con la temperatura, y puede ocurrir entre 5° y 25°C. La tasa óptima de crecimiento vegetativo es de 0.25-0.34 día⁻¹ entre 20° y 30°C. El análisis de toxinas por cromatografía líquida de alta resolución confirmó que esta especie no produce saxitoxinas. *Gymnodinium catenatum* se ha reportado en varias localidades del Pacífico mexicano, relacionándose con toxinas parálíticas en moluscos y con la intoxicación de humanos. Se determinó el efecto de la temperatura, la salinidad, fuente de agua de mar y medios de cultivo con diferentes concentraciones de selenio y extracto de suelo, en el crecimiento vegetativo de cultivos clonales de *G. catenatum*. Las tasas de crecimiento de *G. catenatum* en medio f/2 con diferentes concentraciones de selenio, extracto de suelo y medio GSe fueron moderadas (0.15-0.19 día⁻¹). Las biomásas máximas se obtuvieron en medio GSe, f/2 con concentraciones de selenio entre 10⁻⁷ y 10⁻⁸M. Está cepa puede crecer entre 11.5° y 30°C. El intervalo de salinidad tolerado por *G. catenatum* varió con la fuente de agua de mar utilizada. En agua de mar de Vineyard Sound (Massachusetts, EUA), crece a salinidades entre 15 y 36, con agua de mar de Bahía Concepción tolera salinidades entre 25 y 40. Las diferencias en las tasas de crecimiento obtenidas con las diferentes fuentes de agua de mar, sugieren que la cepa de Bahía Concepción tolera un amplio intervalo de salinidad, y que el crecimiento está regulado principalmente por cambios en la composición de nutrientes del agua de mar. La toxicidad promedio de *G. catenatum* es de 26.0 ± 6.0 pg STX eq/cel. Se detectaron 10 toxinas por cromatografía líquida de alta resolución, pero sólo la decarbamoyl saxitoxina, decarbamoyl goniautoxina 2 y 3, y las toxinas C1-2 se encontraron presentes en todas las cepas en diferentes fases del cultivo. El perfil de toxinas se puede utilizar como un biomarcador para esta población. Las condiciones ambientales en Bahía Concepción permiten que la germinación y el crecimiento vegetativo de *A. affine* pueda ocurrir a lo largo del año. El intervalo de temperatura para el crecimiento vegetativo de *G. catenatum* también permiten su presencia en Bahía Concepción a lo largo del año, además tolera un intervalo de salinidad más amplio que la encontrada en la bahía. *Gymnodinium catenatum* contribuye a la presencia de toxinas parálíticas en moluscos de ésta bahía. La presencia estacional de los florecimientos de éstas especies probablemente esté regulada por la anoxia en el fondo de la columna de agua, las condiciones hidrográficas y cambios en la composición de nutrientes.

ABSTRACT

In order to understand algal blooms, we must know the specific adaptations of the species and their interactions with the environment. Little is known about the physiology and growth of species of subtropical environments. The goal of this study has been to get a better understanding of subtropical dinoflagellates that are potential producers of paralytic shellfish poisons in Bahía Concepción, B.C.S. Mexico, defining the effect of environmental factors on their life cycle, determining the presence of paralytic toxins and confirming the identification with the use of molecular tools. Two species of the genera *Alexandrium* were identified: *A. affine* and *A. margalefii*, by the use of restriction enzymes and DNA sequencing. The amplification of the D1-D2 region of the large subunit ribosomal DNA gene resulted in a product of 720 bp for both species. The restriction fragments of *A. affine* and *A. margalefii* digested with the enzymes *NspI*, *MseI* and *ApaI* were identical to those reported previously. There was a single difference with the enzyme *NspI* in *A. affine* that was due to a difference in one nucleotide at site 582. The sequences obtained of the region D1-D2 of the LSU rADN of *A. affine* and *A. margalefii* was compared with 18 strains of *Alexandrium* from different geographic regions, confirming the identification of both species that had not been reported previously in Mexican coasts. *Alexandrium affine* forms cysts in nutrient-deficient medium. The maturation period varied between two weeks and three months, depending on the storage temperature, with colder temperatures prolonging the process. The rate of germination increased with increasing temperature, and was not significantly influenced by light. Germination experiments suggest a broad temperature window for *A. affine* cysts, ranging from 5 to 25°C. The optimal vegetative growth rates were 0.25 to 0.34 day⁻¹ at 20-30°C. With HPLC toxin analyses, we confirm that this species does not produce saxitoxins. *Gymnodinium catenatum* is a chain forming dinoflagellate that produces paralytic toxins, it has been reported in several localities along the Mexican Pacific coast. In some cases it has caused paralytic shellfish poisoning and intoxications in humans. Laboratory studies were performed to determine the effect of temperature, salinity, seawater sources and media with different selenium concentrations and soil extract, on the vegetative growth of *G. catenatum*. Growth rates of *G. catenatum* in f/2 with different selenium concentrations, soil extract and GSe media was moderate (0.15-0.19 day⁻¹). Maximum cell yields were obtained in GSe, f/2 media supplied with selenium (10⁻⁸ M and 10⁻⁷ M). The optimal temperature range for growth in f/2 medium was 11.5°-30°C. The range of salinity tolerated by *G. catenatum* changed with seawater source. With seawater from Vineyard Sound (Massachusetts, USA), it grows at a salinity from 15-36, with seawater from Bahía Concepción, this species can tolerate salinities from 25 to 40. The differences in growth rates observed with different seawater source, suggest that strains from Bahía Concepción, can tolerate a wide range of salinity and temperature, and that the growth rate is mainly regulated by the seawater nutrient composition, which could modify the metabolism of the cells. The average toxicity of *G. catenatum* was 26.0 ± 6.0 pg STX eq/cell. Ten toxins were recorded by HPLC, but only dcSTX, dcGTX2, dcGTX3, C1, and C2 were always present in all the strains. This unique toxin profile can be used as a biomarker for this population. The environmental conditions in Bahía Concepción allow the germination and vegetative growth of *A. affine* to occur along the year. The temperature range for the vegetative growth of *G. catenatum* also allows the presence of this species year-round in this bay, it does not require the presence of soil extract for its growth and tolerates a wider salinity range than the one found in Bahía Concepción. The seasonal presence of the blooms probably is regulated by the anoxia in the bottom of the water column, the hydrographic conditions and changes in the nutrient composition.

A mi familia,

Papa, por ser tan especial.

Mutty, por todo el cariño que me has dado.

Jean, a pesar de la distancia eres muy cercano.

Linda, por esa compañía tan añorada.

William, por tantas aventuras compartidas.

Emiliano, por tener tanto en común.

Adrián, por ser parte de la familia.

Liz, Christopher y Sophie, por el deseo de compartir más momentos con ustedes.

Gerardo, por la suerte de haberte conocido y el gusto de vivir cada momento contigo.

A Andrea y a Elisa, por haber venido a este mundo e iniciar Una Familia Feliz, las adoro.

**Cada uno de ustedes tiene un lugar muy importante en mi corazón
y siempre me han dado el ánimo de realizar este y varios proyectos más.**

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se realizó con el financiamiento de varios proyectos insitucionales del CIBNOR (GEA-8, GEA-11, AYCG-8, AYCG-11, PC3.1, PC3.3). Con proyectos apoyados por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología: R33598-B, 33684-V, 37560-V, y el programa CONACYT-DAAD. Este trabajo también fue apoyado por la NOAA (grant No. NA96OP0099) y NSF (grant No. OCE-9808173) otorgado a Donald Anderson bajo el programa U.S. ECOHAB financiado por la NOAA, EPA, NSF, NASA y ONR.

Además se agradece al CONACyT por el apoyo recibido a través de la beca 144382 durante la realización de mis estudios de doctorado.

Desde tiempo atrás deseaba realizar este proyecto, por diferentes razones y circunstancias no lo pude hacer. Por ello agradezco a mi director de tesis Carlos Lechuga-Devéze que confió en mi, me dio la oportunidad y me brindó las facilidades a su alcance para llevar a cabo este trabajo. Muchas gracias Carlos.

Estoy particularmente agradecida con el Dr. Don Anderson por aceptar ser parte de mi Comité de tesis, he invitarme a realizar una estancia en su laboratorio donde aprendí varias técnicas y obtuve gran parte de los resultados presentados. En todo momento mostró interés en el desarrollo del trabajo y su colaboración en la preparación de los artículos fue muy enriquecedora. Además involucró a varios integrantes de su laboratorio, por lo que obtuve muchas enseñanzas durante mi estancia. Uno de ellos fue Dave Kulis, que además de brindarme su amistad, siempre tuvo la paciencia y la buena disposición de ayudarme. Emily Lilly, que me introdujo a la biología molecular y me ayudó a entender este mundo totalmente nuevo para mí. Bruce Keafer, por escuchar mis dudas y ayudarme a planear los experimentos de germinación. Judy Kleindinst, una persona maravillosa que en todo momento brindó una mano amiga. Tania Orlova una gran amiga, nunca olvidaré el entusiasmo y la disposición que tuvo para ayudarme a identificar las cepas de *Alexandrium*. A Carolina Luxoro, Karen Rengefors, Maggie, Ami, Mario y Sonia compañeros y amigos que hicieron mi estancia en Woods Hole muy placentera, mil gracias a cada uno de ustedes.

A Lourdes Morquecho por facilitarme la cepa de *A. margalefii*, por estar siempre al pendiente del funcionamiento del laboratorio, por facilitarme el equipo del laboratorio, por los comentarios y sugerencias en las colaboraciones que hemos realizado.

Le agradezco a José Bustillos por ayudarme a determinar el perfil de toxinas de *G. catenatum* y por su actitud crítica durante la elaboración del manuscrito y la tesis.

A los miembros de mi Comité de tesis: Dr. Carlos Lechuga-Devéze, Dr. Donald Anderson, Dr. José Bustillos, Dra. Bertha O. Arredondo-Vega y Dra. Patricia Hernández, por sus comentarios y sugerencias durante el transcurso del trabajo.

Durante el desarrollo del trabajo se remodelaron varios laboratorios del CIBNOR, gracias a Minerva Cerro siempre tuve donde trabajar y pude mantener mis cepas sin ningún contratiempo. Gracias por

tu constante esfuerzo.

A Ismael Gárate por su amistad y disposición a colaborar en todo momento, por aportar datos de toxicidad en moluscos en la publicación de toxinas paralíticas de *G. catenatum*, por sus comentarios y sugerencias en el manuscrito.

A Bernhard Luckas, Katrin Rehinard y Elke Jaime por su ayuda en el análisis de las muestras de toxinas.

Agradezco a Diana Góngora, Felipe Zapata-Vázquez, Francisco Hernández-Sandoval e Ibán Murillo-Murillo, por su valiosa ayuda en el trabajo de campo.

Al Dr. Sergio Hernández Vázquez y la Dra. Thelma Castellanos ambos Jefes del Programa de Posgrado del CIBNOR durante mi estancia, que siempre me brindaron el apoyo solicitado. También agradezco a Osvelia, Lety y Bety que siempre tuvieron la disposición de escucharme y orientarme. A Ira Fogel por su ayuda en la edición del idioma inglés de los manuscritos.

A los que me iniciaron en el cultivo de microalgas: Rafael Vázquez-Duhalt y Bertha O. Arredondo-Vega.

También quiero agradecer a mis amigos que hacen el camino más ameno. A Juan, Silvia, Mariana, Nadia y Betsy que siempre nos han estado dando ánimos en las buenas y en las malas. Esos desayunos domingueros, cafecitos, aventones, serán inolvidables. A Adriana, Ricardo y Enrique por aquellas noches en que cambiamos al mundo. A Norma, Arturo y Kitty que siempre están dispuestos a escucharme y a orientarme.

Este trabajo no se hubiera logrado sin el apoyo incondicional que siempre me ha brindado Gerardo, una vez más, gracias por estar a mi lado. A Andrea y a Elisa que pacientemente han esperado que llegue este final, les aseguro que su espera será recompensada con creces.

A mis papás y hermanos que me dan la fortaleza de seguir adelante, gracias.

CONTENIDO

Introducción.	1
Floraciones algales nocivas en México.	2
Ciclo de vida de dinoflagelados.	4
Factores que regulan la germinación de quistes.	6
Identificación de especies del género <i>Alexandrium</i> .	9
Hipótesis.	11
Metodología y resultados.	11
Discusión.	12
Hipótesis 1. Afinidad genética.	12
Hipótesis 2. Ciclo de vida y factores ambientales.	16
Hipótesis 3. Toxicidad.	32
Conclusión.	36
Literatura citada.	40
Publicaciones anexadas.	

Publicación I. Band-Schmidt, C. J., Lilly, E. L. y Anderson, D. M. 2003. Identification of *Alexandrium affine* (Inoue and Fukuyo) and *Alexandrium margalefii* Balech, using DNA sequencing and LSU rDNA-Based RFLP-PCR assays. *Phycologia*: 42(3): 00-00.

Publicación II. Band-Schmidt, C. J., Lechuga-Devéze, C.H., Kulis, D. M. y Anderson, D. M. 2003. Culture studies of *Alexandrium affine* (Dinophyceae), a non-toxic cyst forming dinoflagellate from Bahía Concepción, Gulf of California. *Botanica Marina*, 46: 44-54.

Publicación III. Band-Schmidt, C. J., Morquecho, L., Lechuga-Devéze, C.H. y Anderson, D. M. Effects of growth medium, temperature, salinity and seawater source on the growth of the toxic dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* (Dinophyceae) from Bahía Concepcion, Gulf of California, Mexico. Manuscrito en preparación.

Publicación IV. Band-Schmidt, C. J., Bustillos-Guzmán, J., Gárate-Lizárraga, I., Lechuga-Devéze, C. H., Reinhardt, K. y Luckas, B. Profiles of paralytic shellfish toxin in strains of the dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* (Graham) and scallops (*Argopecten ventricosus*) from Bahía Concepción, Gulf of California, Mexico. Harmful Algae, aceptado con modificaciones.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Registros de <i>G. catenatum</i> en el Pacífico mexicano.	19
Tabla 2: Intervalo de temperatura para el crecimiento de algunas especies de <i>Alexandrium</i> en condiciones de laboratorio.	24
Tabla 3: Intervalo de temperatura y temperatura óptima para el crecimiento de cepas de <i>G. catenatum</i> en el ambiente y en condiciones de laboratorio	26

GLOSARIO

C1, 2: toxinas tipo N-sulfocarbamoyl.

dcSTX: decarbamoyl saxitoxina.

dcGTX: decarbamoyl gonyautoxina.

doSTX: deoxidecarbamoyl saxitoxina.

GTX: goniautoxina.

NeoSTX: neosaxitoxina.

pb: pares de bases de nucléotidos.

PSP: envenenamiento paralítico de moluscos.

rDNA-LSU: subunidad larga del gene del ADN ribosomal.

rDNA-SSU: subunidad corta del gene del ADN ribosomal

RFLP: patrones de enzimas de restricción.

STX: saxitoxina.

µg eq. STX: microgramos equivalentes de saxitoxina.

INTRODUCCION

La dinámica de los florecimientos algales nocivos (FAN's) presenta una gran heterogeneidad entre los factores que la controlan. Existe una fuerte interacción entre los ciclos de vida de las especies involucradas, con el ambiente físico, químico y biológico, los cuales tienen efectos determinantes en la duración y recurrencia de los florecimientos (Garcés *et al.* 2001). Aunado a esto, varias especies formadoras de florecimientos presentan ciclos de vida complejos con reconocibles diferencias morfológicas y fisiológicas (ej. *Pfiesteria piscicida*, *Phaeocystis* spp). Además, se ha reconocido que diferentes estadios del ciclo de vida de dinoflagelados juegan un papel importante en el inicio, duración y término de las floraciones algales (Montresor 2001).

Los cultivos de dinoflagelados han permitido obtener un mayor conocimiento sobre la complejidad de los ciclos de vida de diversas especies, generándose información sobre los diferentes estadios, toxicidad, requerimientos nutricionales, fisiología, información genética, etc. Sin embargo, estudios detallados sobre el ciclo de vida se han realizado en relativamente pocas especies de dinoflagelados, alrededor de 15, la mayoría de ellas provenientes de zonas templadas (Lewis y Olli 2001) existiendo muy poca información sobre especies de zonas tropicales y subtropicales. El determinar como interactúan diferentes estadios del ciclo de vida con variables ambientales y biológicas permitirá entender mejor el papel ecológico que juegan las especies productoras de florecimientos de estas zonas geográficas. Para ello, es importante determinar las condiciones ambientales que favorecen o inhiben la presencia de especies en diferentes regiones, las adaptaciones específicas que presentan poblaciones de una misma especie a ambientes particulares, la distribución geográfica de diversas especies y la determinación de su relación genética con poblaciones de otras zonas del mundo.

Este trabajo contribuye al conocimiento de la distribución de *Alexandrium affine* y *A. margalefi*, especies que no habían sido reportadas en costas mexicanas y su relación genética con cepas del mismo género de otras regiones geográficas. Se profundizó en la respuesta de diferentes estadios del ciclo de vida a factores ambientales en dos especies de ambientes subtropicales: *A. affine* y *Gymnodinium catenatum*, y se determinó el perfil de toxinas paralíticas de *G. catenatum* de Bahía Concepción.

Floraciones algales nocivas en México. Durante la segunda mitad de la década de los noventa, los registros de florecimientos algales en México se han incrementado notablemente, especies tóxicas como *Pyrodinium bahamense* var. *compressum*, *G. catenatum* y *Karenia brevis* han ocasionado problemas de salud pública, económicos y de impacto ambiental en estados como Guerrero, Oaxaca, Sinaloa y Veracruz (Mee *et al.* 1986, Cortés-Altamirano *et al.* 1993, Sotomayor-Navarro 1994, Ochoa *et al.* 1997, Tester *et al.* 2002). En el litoral del Golfo de California, la mayoría de estos eventos han tenido características inocuas (Morquecho-Escamilla *et al.* 1999), sin embargo, se ha registrado la presencia de varios dinoflagelados con potencial tóxico como: *G. catenatum*, *Alexandrium catenella*, *A. tamiyavanichi*, *Ceratium dens*, *Dinophysis acuminata*, *Prorocentrum mexicanum*, *P. lima*, *Cochlodinium* spp. y diatomeas del género *Pseudonitzschia* spp. (Licea-Durán *et al.* 1995, Ochoa *et al.* 1997, 1998, Cortés-Altamirano y Alonso-Rodríguez 1997, Gárate-Lizárraga y Martínez-López 1997, Morquecho-Escamilla *et al.* 1999, Cortés-Altamirano y Nuñez-Pasten 2000, Cortés-Altamirano y Sierra-Beltrán 2001, Cortés-Altamirano *et al.* 1995, Sierra-Beltrán *et al.* 1998, Gárate-Lizárraga *et al.* 2001b, 2002b, Heredia-Tapia *et al.* 2002), identificándose la presencia de toxinas paralíticas y diarreicas en moluscos bivalvos (Sierra-Beltrán *et al.* 1996, Gárate-Lizárraga *et*

al. 2002b, Heredia-Tapia *et al.* 2002) y toxinas amnésicas en aves y mamíferos marinos (Ochoa *et al.* 1997).

Una de las zonas más estudiadas desde el punto de vista ecológico de los procesos que conducen a las floraciones algales nocivas dentro del Golfo de California, es Bahía Concepción (Gárate-Lizárraga 1991, Martínez-López y Gárate-Lizárraga 1994, Verdugo-Díaz 1997, Lechuga-Devéze y Morquecho-Escamilla 1998, Bustillos-Guzmán *et al.* 2000, Lechuga-Devéze *et al.*, 2000, 2001, Góngora-González 2001, López-Cortés *et al.* 2003). Los estudios se han enfocado a aspectos toxicológicos, y a definir las condiciones hidrológicas y biológicas que prevalecen durante los periodos de ocurrencia de las floraciones algales nocivas. El primer registro de toxinas paralíticas en moluscos en esta bahía se realizó en 1992; las concentraciones fueron superiores al límite máximo permisible para el consumo humano (80 μg eq. SXT/100 g de molusco) en los moluscos *Argopecten circularis* y *Pinna rugosa* (Sierra-Beltrán *et al.* 1996, Lechuga-Devéze y Morquecho-Escamilla 1998, Lechuga-Devéze *et al.* 2000). La presencia de estas toxinas paralíticas en moluscos se ha atribuido a dinoflagelados de los géneros *Alexandrium* y *Gymnodinium* (Sierra-Beltrán *et al.* 1996, Gárate-Lizárraga *et al.* 2002b). Estos dinoflagelados son más abundantes al inicio de la primavera (Lechuga-Devéze y Morquecho-Escamilla 1998, Lechuga-Devéze *et al.* 2000), un periodo de transición entre una columna de agua mezclada a una columna de agua estratificada (Lechuga-Devéze y Morquecho-Escamilla 1998, Lechuga-Devéze *et al.* 2001, Palomares-García *et al.* 2002, López-Cortés *et al.* 2003). Las condiciones hidrográficas se caracterizan por un aumento de la temperatura del agua, en la concentración de nutrientes (nitratos, nitritos, fosfatos y silicatos) por abajo de los 20m y la disminución del oxígeno disuelto por abajo de los 15m de profundidad

(Lechuga-Devéze y Morquecho-Escamilla 1998, Góngora-González 2001, Lechuga-Devéze *et al.* 2000, López-Cortés *et al.* 2003b). Al iniciar el periodo de estratificación la abundancia de dinoflagelados tóxicos disminuye, esto se ha relacionado principalmente con el aumento en la temperatura, la anoxia y la presencia de sulfuros en el fondo (Lechuga Devéze y Morquecho-Escamilla 1998, Lechuga-Devéze *et al.* 2000).

Ciclo de vida de dinoflagelados. El ciclo de vida de los dinoflagelados y el efecto de factores ambientales sobre los diferentes estadios, puede explicar su presencia estacional en la columna de agua. La mayoría de los estudios del ciclo de vida se han realizado en especies de zonas templadas y poco se conoce sobre los factores que intervienen en el ciclo de vida de especies de zonas tropicales o subtropicales.

El ciclo de vida de los dinoflagelados generalmente involucra una alternancia entre la reproducción asexual y sexual (Blackburn *et al.* 1989, Wyatt y Jenkinson 1997, Anderson 1998, Bolch *et al.* 2001, Rengefors 2001). Divisiones repetidas dan lugar a una proliferación de células vegetativas móviles. Este proceso asexual termina cuando se induce la reproducción sexual. La sexualidad inicia una vez que se forman los gametos y se fusionan dando lugar a cigotos móviles (planocigotos) que pasan a un estado de reposo denominado quistes o hipnocigotos (Anderson 1998, Bolch *et al.* 2001). Existen varios cambios morfológicos, fisiológicos y bioquímicos asociados con el inicio de la reproducción sexual. Este proceso involucra la expresión de ciertos genes, cambios en la membrana y la excreción de compuestos solubles que facilitan el reconocimiento de los gametos (Bolch *et al.* 2001). Existe poca información sobre los cambios bioquímicos que ocurren durante la formación de los quistes (Bolch *et al.* 2001). Los quistes de reposo o hipnocigotos generalmente presentan un período de

maduración donde las actividades fisiológicas y bioquímicas se reducen (Head 1996, Lirdwitayaprasit *et al.* 1990). Durante este periodo los quistes pueden continuar asimilando y utilizando nutrientes (Rengefors *et al.* 1996). Algunas especies presentan sustancias de reserva (Dale 1983) y este estadio se caracteriza por presentar una pared celular gruesa y resistente (Head 1996). Los quistes representan un estado de reposo o dormancia durante el ciclo de vida, y se cree que su formación es un mecanismo de protección a condiciones desfavorables del medio, tales como disminución de nutrientes, turbulencia, cambios en la temperatura y salinidad, tasas de depredación, presencia de bacterias y competencia (Prakash 1967, Wall *et al.* 1970, Steidinger 1975, Anderson y Wall 1978, Dale 1983, Anderson 1998, Adachi *et al.* 1999). De acuerdo con Steidinger (1975), los quistes actúan como la reserva de células que iniciarán florecimientos una vez que existan las condiciones adecuadas.

Algunas especies presentan quistes temporales que se forman cuando las células vegetativas son expuestas a condiciones no favorables, tales como un cambio repentino de temperatura, salinidad, limitación de nutrientes, envejecimiento de cultivos, migración vertical (Doucette *et al.* 1989, Ostergaard y Moestrup 1997, Anderson 1998, Garcés *et al.* 1998, Garcés 2001). Estos quistes temporales a diferencia de los hipnocigotos presentan una pared celular delgada y carecen de un período de maduración (Head 1996). Es probable que los quistes temporales permitan sobrellevar perturbaciones cortas o de pequeña magnitud como algunas tormentas (Garcés 2001). Cuando las condiciones favorables se restablecen, los quistes temporales rápidamente reinician la fase vegetativa recuperándose la densidad poblacional después de algunos días, durante el inicio y mantenimiento de un florecimiento (Anderson 1998, Garcés 2001). Para que un quiste o hipnocigoto pueda germinar es

necesario que existan cambios metabólicos internos que determinan el tiempo de maduración de una especie aunado a condiciones externas favorables (Prakash 1967, Steidinger 1975, Anderson y Wall 1978, Anderson 1980, 1998, Steidinger y Haddad 1981, Castell-Pérez *et al.* 1998).

Factores que regulan la germinación de quistes. Los quistes de reposo de dinoflagelados no pueden germinar si no han completado su período de maduración (Anderson 1980, Montresor y Marino 1996). La duración del período de germinación es variable, desde 12h hasta varios meses, y está controlado fisiológicamente (Anderson y Keafer 1987, Anderson *et al.* 1987). Factores ambientales tales como la temperatura, luz, condiciones de oxígeno, nutrientes, turbulencia y salinidad están involucrados en la germinación (Anderson *et al.* 1987, Castell-Pérez *et al.* 1998, Ellegard *et al.* 1998). La variabilidad de estos factores entre regiones o entre sedimentos puede influenciar la germinación de una población, y a largo plazo, determinar la conveniencia de un cuerpo de agua en particular para una especie dada (Anderson *et al.* 1987). Una vez terminado el periodo de maduración, los quistes entran a un estado de latencia en el cual podrán ser inducidos a la germinación si las condiciones externas son favorables.

Durante la germinación se ha observado que ocurren en los quistes: cambios en la concentración y perfil de toxinas (Cembella *et al.* 1990, Oshima *et al.* 1993, Bravo *et al.* 1998) así como en la fluorescencia (Anderson y Keafer 1987, Blanco 1990). Adicionalmente, es posible que ocurran cambios en la actividad enzimática y en la permeabilidad de la membrana, pero se conoce muy poco sobre ello. Diversos estudios se han enfocado al efecto de la temperatura, salinidad, luz, anoxia y medios de cultivo sobre la germinación de los quistes (Anderson *et al.* 1987, Binder y Anderson 1987, Blanco 1990, Rengefors y Anderson 1998, Nuzzo y Montresor 1999), sin embargo poca

atención se le ha dado a comprender el mecanismo fisiológico intermedio entre la concentración de nutrientes en el medio y la inducción a la germinación. Se ha sugerido que la relación molar intracelular de glutamina:glutamato, puede ser indicadora del estado nutricional inmediato de las células (Probert *et al.* 1998). Esta relación intracelular de glutamina:glutamato está regulada principalmente por la glutamina y la glutamato sintetasa que incorporan el amonio a la célula hacia la síntesis de aminoácidos, purinas, pirimidinas, etc. (Tyler 1978). Ambas enzimas se localizan dentro de los cloroplastos, el glutamato producido es exportado hacia el citosol donde ocurren reacciones de transaminación que facilitan la síntesis de otros aminoácidos. El efecto de la limitación de nitrógeno en la célula se ve reflejado en el proceso de la fotosíntesis (Falkowski y Raven 1997). Probablemente la activación de estas enzimas esté relacionada con la activación del metabolismo de germinación de los quistes al finalizar el estado de reposo.

Las modificaciones en el contenido y perfil de pigmentos causan modificaciones en la fluorescencia de los quistes. Las características fluorescentes de algunos quistes están relacionadas con productos de almacenamiento, capacidad de germinación y capacidad fotosintética. Quistes recién formados presentan fluorescencia roja, pero no tienen capacidad de germinación. Estos quistes pierden su fluorescencia, después de un periodo de maduración exhiben fluorescencia verde y poco antes de germinar presentan fluorescencia roja (Blanco 1990).

Dentro de los factores externos la temperatura es una variable que participa en la dinámica de la maduración, latencia y germinación de los quistes de varias especies de dinoflagelados, al menos para las especies de zonas templadas que han sido las estudiadas en este aspecto (Blanco 1995, Anderson 1998). Por ejemplo, el proceso de enquistamiento de *A. tamarense* es más sensible a la

temperatura que el crecimiento durante la fase vegetativa; la producción óptima de quistes ocurre en un intervalo de temperatura estrecho (19-22°C) y poca o nula formación de quistes ocurre a temperaturas que permiten el crecimiento vegetativo (7-15°C) (Anderson 1980, Anderson *et al.* 1984). Para varias especies la duración del periodo de maduración varía con las condiciones de almacenamiento: en *Peridinium* sp. y *A. tamarense*, las bajas temperaturas prolongan el periodo de maduración (Binder y Anderson 1987). Para *A. tamarense* de St. Lawrence Estuary, la germinación de quistes no es afectada significativamente por la temperatura de incubación en un intervalo de 1°-16°C (Castell-Pérez *et al.* 1998).

Un estímulo para la germinación de *A. tamarense* de Cape Cod (Anderson y Morel 1979) y *A. minutum* de Australia (Bolch *et al.* 1991) es un cambio de temperatura a niveles favorables. Los hipnocigotos de *A. taylori* pueden germinar en un período más corto (15 días), este período corto y la falta de cambios ambientales dramáticos puede implicar el potencial de los hipnocigotos para cambiar a una fase móvil repetidamente a lo largo del año (Giacobbe y Yang 1999).

La temperatura también influye en la regulación de los diferentes estadios de *G. catenatum*. En *G. catenatum* de España hay un alto porcentaje de exquistamiento entre 22°-28°C, y poca o nula germinación por abajo de los 11°C. La temperatura óptima de crecimiento para las células también se encuentra entre 22°-28°C, con una máxima tasa de crecimiento (0.53 div/día) a 24°C; por abajo de los 11°C o arriba de 30°C no hay crecimiento (Bravo y Anderson 1994). Para *G. catenatum* de Tasmania el intervalo de temperatura óptima para el crecimiento vegetativo es más estrecho, siendo de 14.5° a 20°C con salinidades entre 23-34 (Blackburn *et al.* 1989).

Otro factor que parece estar involucrado en la germinación es la luz. La respuesta a la luz de los quistes de dinoflagelados varía con la especie y la población, *Scripssiella trochoidea* (Binder y Anderson 1987), *S. trochoidea* var. *aciculifera*, *S. rotunda* (Nuzzo y Montessor 1999) y *Lyngulodinium polyedra* (Anderson *et al.* 1987) han demostrado depender estrictamente de la presencia de luz para poder germinar, sin embargo *G. catenatum* (Bravo y Anderson 1994) y *A. tamarense* (Anderson *et al.* 1987) pueden germinar en la oscuridad pero con una baja tasa de germinación. No se observan diferencias en el porcentaje de germinación en condiciones de luz y oscuridad para *Gonyaulax verior* (Anderson *et al.* 1987) ni para *A. tamarense* de St. Lawrence Estuary (Castell-Pérez *et al.* 1998). Pocos quistes de *A. minutum* pueden germinar en oscuridad, pero altas tasas de germinación ocurren a niveles de luz de $20 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Cannon 1993).

Identificación de especies del género *Alexandrium*. La identificación de dinoflagelados tóxicos no es una tarea fácil, especialmente en especies del género *Alexandrium*, donde se encuentra el mayor número de especies productoras de toxinas parálíticas (Anderson 1988). Es necesario observar detalles tales como el arreglo de placas, presencia/ausencia de poros y flagelos, entre otros. Una alternativa para la identificación de estas especies es la utilización de herramientas moleculares que determinan con gran precisión la identidad de la especie, y que adicionalmente pueden ser utilizados para analizar las relaciones genéticas entre diferentes especies que ayuda a explicar la biogeografía de este grupo.

Trabajos anteriores han demostrado que el análisis del ADN ribosomal de la subunidad larga (rDNA-LSU) es una herramienta útil para obtener información sobre la diversidad genética y relaciones filogenéticas en *Alexandrium* que no son evidentes desde la morfología (Scholin *et al.* 1995,

LeinonenDuFresne *et al.* 2000). Scholin y Anderson (1994) encontraron que había diferencias claras en los genes rDNA-LSU para poder distinguir entre poblaciones o especies de *Alexandrium* aparentemente cercanos como resultado de los estudios de secuenciación y análisis de enzimas de restricción (RFLP). Estos resultados permitieron la división del complejo *A. tamarense/A. catenella/A. fundyense* en agrupamientos de especies definidos por origen geográfico y no por designaciones de morfotipo. Así mismo revelaron la presencia de un pseudogene en los cultivos de Norte América que fue útil para seguir la dispersión de poblaciones a nivel global y regional.

En síntesis, el propósito de este estudio ha sido profundizar en el conocimiento de los dinoflagelados subtropicales potencialmente productores de toxinas paralíticas, que se han detectado en Bahía Concepción. Se determinó el efecto de las condiciones ambientales sobre su ciclo de vida, confirmando su toxicidad y su identificación con la ayuda de herramientas moleculares. Para ello, se desarrollaron los siguientes objetivos:

- 1) Identificar mediante técnicas moleculares a especies del género *Alexandrium* determinando su afinidad genética con otras cepas del mismo género.
- 2) Determinar el efecto de factores ambientales sobre el ciclo de vida de *Alexandrium affine* y *Gymnodinium catenatum*.
- 3) Confirmar la toxicidad de *G. catenatum* y determinar la variabilidad en el perfil de toxinas a nivel poblacional.

HIPÓTESIS.

La primera hipótesis está relacionada con la afinidad genética de cepas de *Alexandrium* de Bahía Concepción con otros ribotipos de este género, con el propósito de entender la distribución geográfica de especies de *Alexandrium* en escalas regionales y globales. De acuerdo a la distribución geográfica de especies de *Alexandrium*, la afinidad genética de las cepas provenientes de Bahía Concepción deberá estar más relacionadas con el ribotipo del Oeste de Norteamérica (Publicación I).

La segunda hipótesis aborda el efecto de los factores ambientales en la regulación del ciclo de vida de dinoflagelados: El tiempo de maduración de quistes en Bahía Concepción es de varios meses y su germinación se ve favorecida una vez al año, en primavera, cuando existe una ventana térmica comprendida entre 20° y 23°C (Publicaciones II y III).

Tercera hipótesis, el primera descripción de *G. catenatum* fué en el Golfo de California reportándose posteriormente a otras zonas geográficas: si *G. catenatum* de Bahía Concepción presenta un perfil de toxinas similar a las reportadas para otras regiones geográficas pudiera ser un indicativo de que esta cepa ha sido transportada hacia otras regiones (Publicación IV).

METODOLOGÍA Y RESULTADOS

La presentación detallada de los métodos empleados y los resultados se encuentran en las publicaciones anexadas.

DISCUSIÓN

Dada la importancia ecológica y económica de los dinoflagelados, los cultivos son esenciales para poder estudiarlos desde diferentes aspectos. El aislamiento de cepas regionales nos ha permitido ampliar nuestro conocimiento sobre las especies presentes en nuestras costas. Se ha facilitado el trabajo de identificación, contribuyendo al registro de nuevas especies que se presentan en abundancias bajas en el medio (publicación I, II) o que son susceptibles a los métodos de fijación tradicionales empleados en la colecta de fitoplancton (Band-Schmidt *et al.* sometida). Se ha podido determinar la toxicidad y el perfil de toxinas de las especies (publicación IV), e incluso realizar bioensayos para determinar el efecto de las toxinas en consumidores (Palomares com. pers.). Los cultivos también han permitido conocer en mayor detalle el ciclo de vida de algunas especies (publicación II), los factores que inducen al enquistamiento o a la germinación, el efecto de variables ambientales sobre el crecimiento de la cepa (publicación II, III), así como aspectos fisiológicos de las especies.

Hipótesis 1: Afinidad genética.

El aislamiento de cepas de Bahía Concepción, ha permitido la identificación de cepas mediante técnicas microscópicas tradicionales (publicación II, Morquecho y Lechuga-Devéze 2003) y herramientas moleculares (publicación I). Se identificaron especies de *Alexandrium* mediante RFLP de la región D1-D2 de la LSU rDNA y la secuenciación de nucleótidos, determinando su relación genética con cepas de otras regiones geográficas. *Alexandrium affine* se reportó recientemente en

Bahía Concepción (Gárate-Lizárraga *et al.* 2001a) y no existían registros para *A. margalefii* en México o el continente Americano. Es probable que estas especies existieran previamente en Bahía Concepción pero debido a las técnicas de identificación empleadas, no hayan sido registradas. Sin embargo, no se puede descartar totalmente una introducción reciente.

Alexandrium affine fue descrita por primera vez en Japón (Fukuyo *et al.* 1985) donde produce florecimientos con cadenas de hasta 16 células. Posteriormente se ha registrado para Corea (Kim *et al.* 1990, Lee 1990), Tailandia (Balech 1995), Filipinas (Balech 1995), España (Bravo 1986, Fraga *et al.* 1989), Portugal (Balech 1995), Brasil (Balech 1995), Tasmania (Hallegraeff *et al.* 1991), Perú (Vera *et al.* 1999), Indonesia (Sidabutar *et al.* 2000), Vietnam (Yoshida *et al.* 2000) y recientemente en Malasia (Usup *et al.* 2002).

Por el contrario existe poca información sobre *A. margalefii*. Se ha registrado para España (Balech 1995); células vegetativas y quistes se han encontrado en bajas abundancias en Tasmania (Hallegraeff *et al.* 1991) y recientemente se ha registrado en Francia (Guillou *et al.* en prensa) y Nueva Zelanda (Lilly *et al.* 2002b).

La identificación de especies de *Alexandrium* se ha basado principalmente en observaciones en el microscopio óptico y microscopio electrónico. Sin embargo, el tamaño y la forma de las cepas de *Alexandrium* puede variar considerablemente entre diferentes poblaciones (Hallegraeff *et al.* 1991), dificultando la identificación al nivel específico. La determinación de la secuencia de nucleótidos del rDNA (DNA ribosomal) es importante para reconstruir la evolución y dispersión geográfica de estos organismos (Scholin *et al.* 1995).

Las regiones D1 y D2 de la LSU son una de las regiones de los genes eucarióticos del rRNA que más rápidamente han evolucionado (Michot *et al.* 1984, Michot y Bachellerie 1987, Leaners *et al.* 1989, 1991). Las tasas de sustitución aceleradas de nucleótidos en estos dominios han permitido que se puedan realizar identificaciones a nivel específico, y en algunos casos, se ha podido diferenciar a nivel de cepa a organismos del género *Alexandrium* (Scholin *et al.* 1994, Medlin *et al.* 1998).

Los análisis de RFLP y secuenciación de DNA de nuestras cepas corresponden con los LSU rDNA ribotipos de *A. margalefii* y *A. affine* registrados previamente (Scholin *et al.* 1995, Scholin y Anderson 1996, LeinonenDuFresne *et al.* 2000). Los patrones de restricción de las enzimas *Apa*LI y *Mse*I fueron idénticos a los registrados anteriormente. El patrón de la enzima *Nsp*I varió ligeramente con el segundo fragmento más cercano a los 125 pb (pares de bases) que a los 160 pb. Los análisis de secuencia mostraron que el tamaño más pequeño de la segunda banda en la cepa de *A. affine* con la digestión de *Nsp*I se debió a la diferencia de un nucleótido (una adenina en vez de timina) en el sitio 582. Esto ocasionó que el fragmento de 160 pb equivalente al obtenido en la cepa CU-1 de *A. affine* se dividiera en dos fragmentos, de aproximadamente 125 y 30 pb. Ambos ribotipos están claramente diferenciados de los ribotipos de *A. andersonii*, *A. cohorticula*, *A. excavatum*, *A. ostenfeldi* y especies del complejo *A. tamarensis/catenella/fundyense* y *A. lusitanicum/minutum*. El grupo de *A. affine* está más relacionado con los ribotipos *A. cohorticula*, *A. excavatum* y *A. tamarensis/catenella/fundyense* y el grupo de *A. margalefii* tiene menores distancias con *A. andersonii*, *A. lusitanicum/minutum* y *A. ostenfeldi*. Estas agrupaciones son consistentes con los resultados obtenidos en cepas de *Alexandrium* de varias regiones geográficas (Scholin *et al.* 1994, Medlin *et al.* 1998, de Salas *et al.* 2001). Trabajos previos con cepas de *Alexandrium* de Nueva

Zelanda (Spalter *et al.* 1997, Walsh *et al.* 1998), utilizando LSU, SSU y secuencias de rRNA intergénico, encontraron agrupaciones similares para *A. affine* y *A. margalefii*.

Debido a que *A. margalefii* no había sido registrado anteriormente en aguas mexicanas y que *A. affine* fue recientemente registrado, existe una posibilidad de que estos organismos hayan sido introducidos. Desafortunadamente el registro histórico del fitoplancton en esta bahía es limitado (desde 1992) (Lechuga-Devéze y Morquecho-Escamilla 1998, Sierra-Beltrán *et al.* 1996). Aunado a ello, quistes de *Alexandrium* carecen de paredes resistentes que permitan que se fosilicen (Hallegraeff *et al.* 1997). Por ello, no es posible determinar un registro histórico sobre la presencia de estas especies en la bahía.

Por otro lado, la información genética para ambas especies también es muy escasa a nivel global, dificultando la posibilidad de establecer si estas cepas son una población regional o han sido introducciones recientes de otra localidad. La secuencia de nucleótidos para *A. affine* y *A. margalefii* resultaron ser únicas, aunque las diferencias a nivel de pares de bases son pocas comparadas con las secuencias de otras cepas de estas especies (publicación I). Especialmente para el caso de *A. affine*, donde las secuencias de cepas de España, Francia, Tailandia y México muestran poca variación. Es posible que la distribución actual de estas especies sea muy reciente, y por lo tanto aún son muy similares entre sí, por lo que aún no es posible asociarla al ribotipo del oeste de Norteamérica como se planteaba en la hipótesis. Otra alternativa es que la región D1-D2 del LSU rDNA no sea tan variable para *A. affine* y *A. margalefii* como lo es para miembros del grupo *A. tamarense/catenella/fundyense*.

Se requiere hacer un análisis más detallado sobre las especies de *Alexandrium* presentes en las costas mexicanas. Las técnicas moleculares junto con los análisis taxonómicos tradicionales nos pueden dar información más completa para la correcta identificación de especies de *Alexandrium* presentes en el área y para determinar sus afinidades biogeográficas.

Hipótesis 2. Ciclo de vida y factores ambientales.

Bahía Concepción es una laguna costera con características hidrográficas particulares y poca influencia antropogénica (Lechuga-Devéze *et al.* 2001, López-Cortés *et al.* 2003). Presenta un período de mezcla (octubre-abril), dos de transición (abril-mayo, septiembre-octubre) y uno estratificado (junio-septiembre), cuando se desarrolla una zona de hipoxia por abajo de los 20m (Lechuga-Devéze y Morquecho-Escamilla 1998, Lechuga-Devéze *et al.* 2000, 2001, López-Cortés *et al.* 2003). Durante los períodos de transición se ha observado un aumento en clorofila *a*, sin embargo las mayores biomásas de fitoplancton se presentaron durante el período de estratificación por debajo de los 15m (López-Cortés *et al.* 2003). Estos aumentos se han atribuido a la presencia de cianobacterias, diatomeas, dinoflagelados y bacterias fototróficas anoxigénicas (Bustillos-Guzmán *et al.* 2000). Los dinoflagelados en Bahía Concepción se presentan en mayor abundancia durante el inicio de la estratificación (Lechuga-Devéze *et al.* 2000, Góngora-González 2001), coincidiendo con altas concentraciones de toxinas parálíticas en moluscos (Sierra-Beltrán *et al.* 1996, Lechuga-Devéze *et al.* 2000). Algunas especies tóxicas se han registrado en esta bahía: *A. catenella*, *D. caudata*, *G. catenatum* y *P. mexicanum* (Gárate-Lizárraga 1995, Lechuga-Devéze y Morquecho-Escamilla 1998,

Lechuga-Devéze *et al.* 2000, 2001 Góngora-González 2001, Palomares-García *et al.* 2002). La presencia de toxinas paralíticas se ha atribuido a *A. catenella* (Lechuga-Devéze y Morquecho-Escamilla 1998) y recientemente a *G. catenatum* (Gárate-Lizárraga *et al.* 2001, publicación IV).

En Bahía Concepción *A. affine* y *G. catenatum* florecen al inicio de la estratificación (Góngora-González 2001, López-Cortés *et al.* 2003), con máximas abundancias por debajo de la termoclina (López-Cortés *et al.* 2003). En este período las condiciones hidrográficas se caracterizan por un aumento de la temperatura del agua, en la concentración de nutrientes (nitratos, nitritos, fosfatos y silicatos) por abajo de los 20m y la disminución del oxígeno disuelto por abajo de los 15m de profundidad (Lechuga-Devéze y Morquecho-Escamilla 1998, Góngora-González 2001, Lechuga-Devéze *et al.* 2000, 2001, López-Cortés *et al.* 2003).

Para comprender el efecto de factores ambientales sobre el ciclo de vida de *A. affine* y *G. catenatum*, determinamos el tiempo de maduración de los quistes; la temperatura óptima de germinación en condiciones de luz-oscuridad; el efecto de las condiciones de almacenamiento sobre la germinación de los quistes; el efecto de la temperatura, salinidad, fuentes de agua de mar y medios de cultivo sobre el crecimiento, y el perfil de toxinas de *G. catenatum*. La cantidad de quistes obtenidos en el laboratorio sólo nos permitió determinar el efecto de factores ambientales sobre quistes de *A. affine*. La información generada sobre la maduración, germinación y características de crecimiento de estas cepas, nos permiten sugerir su patrón estacional en el contexto de la hidrografía local de ésta bahía subtropical.

Alexandrium affine es un dinoflagelado costero no tóxico (publicación II) formador de florecimientos algales (Hallegraeff *et al.* 1991). Poco se conoce sobre las características fisiológicas y la dinámica

poblacional del ciclo de vida de *A. affine*, especie que generalmente florece con otros dinoflagelados tales como *G. catenatum* (Bravo 1986, Fraga y Bakun 1993), *Cochlodinium* sp. y *Pheopolykrikos hartmanii* (Kim *et al.* 1990). Puede formar florecimientos en zonas de hundimiento (Fraga y Bakun 1993) y su presencia se ha relacionado con un aumento en la temperatura superficial, aportes de ríos y precipitación (Wagey *et al.* 2000).

Gymnodinium catenatum es un dinoflagelado tóxico formador de cadenas que se registró por primera vez en el Golfo de California (Graham 1943). Ha sido responsable de episodios tóxicos de PSP en España (Estrada *et al.* 1984), México (Mee *et al.* 1986), Portugal (Franca y Almeida 1989), Tasmania (Hallegraeff y Sumer 1986), Japón (Ikeda *et al.* 1989) y Brasil (Oliveira-Proenza *et al.* 2001).

La concentración total de PSP en moluscos ha rebasado el nivel máximo para el consumo de moluscos, 80 µg eq. SXT/100 g (Sierra-Beltrán *et al.* 1996, Lechuga-Devéze y Morquecho-Escamilla 1998), sugiriendo que la cepa de *G. catenatum* de esta Bahía presenta una toxicidad alta o que los moluscos acumulan eficientemente o transforman las toxinas parálíticas.

En el Pacífico Mexicano la distribución de *G. catenatum* ha incrementado durante los últimos años (Tabla 1), los florecimientos de esta especie se presentan generalmente en la primavera, pero algunos han ocurrido en el otoño-invierno (Ramírez-Camarena *et al.* 1999, Figueroa-Torres y Zepeda-Esquivel 2001, Herrera-Galindo 2002). En pocos eventos se confirmó la presencia de toxinas en moluscos y las concentraciones rebasaron el nivel máximo permitido de saxitoxina para el consumo de moluscos en las bahías de Mazatlán (Mee *et al.* 1986) y Acapulco (Mancilla-Cabrera *et al.* 2000). Las densidades máximas encontradas de *G. catenatum* variaron de 78 a 6600 cel/ml.

Tabla 1. Registros de *G. catenatum* en el Pacífico mexicano.

Localidad	Año	Abundancia máxima (cels/ml)	Toxinas ($\mu\text{g eqSXT}/100\text{ g}$)*	Referencia
Golfo de California	1943			Graham 1943
Bahía Kino, Son.	1943			Osorio-Tafall 1943
Bahía de Mazatlán, Sin.	1979	6600	<20-7640	Mee <i>et al.</i> 1986
	1980-81	110		Cortés-Altamirano <i>et al.</i> 1999
	1997	5000	<35	Ramírez-Camarena <i>et al.</i> 1999
Bahía Libertad, Son.	1981	196		Cortés-Altamirano <i>et al.</i> 1999
Bahía Bacoichampo, Son.	1970-94			Manrique y Molina 1997
Costa Oeste de B.C.	1996			Gárate-Lizárraga y Siqueiros-Beltrones 2003
Bahía Concepción, B.C.S.	1997			Góngora-González 2001
Huatulco, Oax.	1998	4000		Herrera-Galindo 2002
Bahías de Manzanillo, Col.	1999	3500		Morales-Blake <i>et al.</i> 2000
	1999	3800		Figuroa-Torres y Zepeda-Esquivel 2001
Bahía de Acapulco, Gro.	1999	78		Licea-Durán <i>et al.</i> 1999
	1999	37.6	128-156	Cabrera-Mancilla <i>et al.</i> 2000

Límite máximo permisible 80 $\mu\text{g eqSXT}/100\text{ g}$

Este aumento en los registros puede ser el resultado de un mayor número de investigadores relacionados con el estudio de los florecimientos algales nocivos, más que una dispersión reciente de esta especie a nuevas zonas.

En el Golfo de California, particularmente Bahía Concepción, se han registrado bajas abundancias de células vegetativas de *G. catenatum* (1800-3000 cel/l) (Gárate-Lizárraga *et al.* 2001d), y bajas abundancias de quistes en el sedimento (1-4% de la abundancia total de quistes) (Morquecho y Lechuga-Devéze 2003). Las toxinas neosaxitoxina (neoSTX), decarbamoyl saxitoxina (dcSTX), decarbamoyl gonyautoxina 2 (dcGTX 2), B1-2 y C1-C3 se han encontrado en muestras de fitoplancton y almejas (Gárate-Lizárraga *et al.* 2001c, publicación IV).

A pesar de que esta especie es responsable de la presencia de toxinas paralíticas a lo largo de la costa del Pacífico mexicano, hasta el momento no se han realizado estudios sobre el crecimiento y tolerancias ambientales de las cepas mexicanas de *G. catenatum*.

Por otro lado, la influencia de factores ambientales en la fisiología y procesos del ciclo de vida se han realizado en pocas cepas de *G. catenatum*. La mayoría de los estudios se han realizado en cepas provenientes de Tasmania y España (e.g. Oshima *et al.* 1987, 1993, Blackburn *et al.* 1989, Hallegraeff *et al.* 1991, Bravo y Anderson 1994, Flynn *et al.* 1996, Bravo *et al.* 1998, Doblin *et al.* 1999a, b). Se han identificado respuestas particulares (tasa de crecimiento, biomásas) de cada cepa que pudieran explicar en parte los patrones de florecimientos de la misma especie en diferentes regiones geográficas.

Germinación de quistes de Alexandrium affine. *Alexandrium affine* es una especie homotálica que forma quistes en condiciones limitantes de nitrógeno y fósforo en el laboratorio (publicación II). Los quistes son esféricos, sin ornamentaciones y presentan una cubierta mucilaginosa (Fukuyo *et al.* 1985).

La obtención de quistes en el laboratorio permitió determinar por primera vez el tiempo de maduración de los quistes de *A. affine* (publicación II). El tiempo de maduración es de 2 semanas a 3 meses, dependiendo de la temperatura de almacenamiento. A mayores temperaturas la tasa de germinación es mayor. Se observó una dependencia similar a la temperatura para *A. tamarense* que presentó un tiempo de maduración de 1-6 meses, con el tiempo de maduración más largo asociado a las menores temperaturas (Anderson 1980). *Alexandrium tamarense* de St. Lawrence Estuary tuvo un período de maduración de 12-14 meses a bajas temperaturas (Castell-Pérez *et al.* 1998).

En Bahía Concepción la producción de quistes de *A. affine* se incrementa durante la presencia de la estratificación térmica (Morquecho com. pers.). Durante la estratificación térmica la capa superficial (0-10m) presenta bajas concentraciones de nutrientes, mientras que por debajo de la termoclina (por abajo de los 20m), la concentración de nitratos, nitritos, fosfatos y silicatos van en aumento, y los niveles de oxígeno disuelto van en descenso (Bustillos-Guzmán *et al.* 2000, Góngora-González 2001, López-Cortés *et al.* 2003). En el estrato superficial, células de *A. affine* se ven expuestas a bajos niveles de nutrientes y a un aumento constante de la temperatura del agua, que podrían permitir una mayor tasa de crecimiento y una mayor demanda de nutrientes como es el caso de *A. tamarensis* (Anderson *et al.* 1983). Al no ser satisfecha la demanda de nutrientes *A. affine* es inducida a formar quistes, que sedimentan a capas más ricas en nutrientes pero con bajo contenido de oxígeno disuelto,

por lo que permanecen en el fondo hasta que las condiciones sean adecuadas para la germinación. Sin información sobre la migración vertical, requerimientos nutricionales especie-específicos este aspecto de la dinámica poblacional de *A. affine* queda sin resolver.

Los quistes de *A. affine* no requieren ser sometidos a un cambio de temperatura para germinar. Quistes incubados a la misma temperatura de almacenamiento pudieron germinar en presencia de oxígeno bajo condiciones de luz y oscuridad. La mayoría de los estudios de germinación realizados con dinoflagelados marinos de zonas templadas han demostrado que el exquistamiento ocurre en intervalo de temperatura específica o después de un cambio en la temperatura (Dale 1983, Pfiester y Anderson 1987). Otros argumentan que la germinación puede ocurrir dentro de un intervalo de temperatura favorable una vez que ha ocurrido el tiempo de maduración sin la necesidad de un cambio de temperatura (Dale 1983, Anderson 1998). Con los resultados que obtuvimos en los experimentos de germinación se sugiere que el intervalo de temperatura de germinación para *A. affine* es amplio, germinando de 5 a 25°C. Es posible que esto permita la germinación durante todo el año en la bahía, debido a que la temperatura más baja en el fondo es de 16°C en invierno y la mayor durante el verano es de 28°C (López-Cortés *et al.* 2003). Nuestros resultados sugieren que *A. affine* estaría presente durante todo el año en la columna de agua si los únicos factores de regulación en la germinación fueran el tiempo de maduración y la temperatura. Es evidente que otros factores como la falta de oxígeno y la presencia de sulfuros están impidiendo la germinación de los quistes durante los meses de verano e invierno.

Aunque existe una diferencia significativa ($p > 0.05$) en la tasa de germinación a 10°, 15°, 20° y 25°C entre condiciones de luz y oscuridad, las diferencias no son grandes y siempre hubo

germinación en condiciones de oscuridad. Por ello concluimos que la presencia de luz (o su ausencia) no es un factor determinante en la dinámica de germinación de *A. affine*. De manera similar, la luz no fue un factor determinante para la germinación de quistes de *A. tamarense* de St. Lawrence Estuary (Castell-Pérez *et al.* 1998). Anderson *et al.* (1987) demostraron que la presencia de luz afecta la tasa de germinación y el número de quistes germinados en cinco especies de dinoflagelados, incluyendo a *A. tamarense* de Cape Cod, sin embargo la luz nuevamente no era indispensable para la germinación.

Crecimiento vegetativo. La tasa de crecimiento varió significativamente con la temperatura. *Alexandrium affine* puede mantener un crecimiento vegetativo entre 15° y 34°C, con un crecimiento óptimo entre 27.5° y 29°C. No se observó crecimiento por abajo de los 13°C o por arriba de los 35°C. Las tasas de crecimiento más elevadas (0.25 - 0.34 día⁻¹) se obtuvieron entre los 20° y 30°C. El intervalo de crecimiento para la cepa de *A. affine* de Bahía Concepción es mayor que lo observado para otras especies de *Alexandrium* de aguas templadas, como era de esperarse por ser una cepa de ambientes subtropicales (Tabla 2). Las tasas de crecimiento máximas en cultivo para especies de *Alexandrium* son entre 0.3 y 0.7 día⁻¹ (Anderson 1998). En este contexto la tasa de crecimiento máximo que observamos de *A. affine* de 0.34 día⁻¹ se encuentra dentro del extremo inferior del intervalo para otras cepas de *Alexandrium*.

Tabla 2: Intervalo de temperatura para el crecimiento de algunas especies de *Alexandrium* en condiciones de laboratorio.

Especie	Origen	Intervalo	Óptimo	Referencia
<i>A. affine</i>	Bahía Concepción, México	15° - 34°C	27.5° - 29°C	Publicación II
<i>A. minutum</i>	Australia	12° - 25°C	20°C	Cannon 1993
<i>A. ostenfeldii</i>	Dinamarca	11.3° - 23.7°C		Jensen y Moestrup 1997
<i>A. tamarense</i>	Cape Cod, Africa	7° - 26°C	11° - 22°C	Anderson <i>et al.</i> 1984

Gymnodinium catenatum de Bahía Concepción puede crecer en un intervalo más estrecho de temperatura que *A. affine*, con un crecimiento óptimo entre 11.5° y 30°C. La tasa más alta de crecimiento (0.18-0.21 día⁻¹) se obtuvo entre 21° y 29°C. Esto concuerda con el intervalo de temperatura a la que se encuentra esta especie en Bahía Concepción (18° a 29°C) con densidades más altas entre 22° y 24°C (Gárate-Lizárraga *et al.* 2001d, López-Cortés *et al.* 2003). En Mazatlán *G. catenatum* forma florecimientos entre los 16°-24°C, con mayores densidades a temperaturas menores entre 17.5°-20°C (Cortés-Altamirano *et al.* 1999). Graham (1943) reportó la presencia de *G. catenatum* a una temperatura superficial de 14°-17°C con una salinidad de 35.1-35.5 a los 29°N del Golfo de California. En la costa occidental de Baja California cerca de Ensenada, *G. catenatum* también se ha encontrado a temperaturas superficiales bajas (entre 13°-17°C) con una salinidad entre 33.2-33.8 (Gárate-Lizárraga y Siqueiros-Beltrones 2003). Encontrándose en el extremo inferior del

intervalo de temperatura que tolera esta especie. En las costas de Colima, *G. catenatum* se ha encontrado entre 23° y 25°C (Morales-Blake *et al.* 2000).

El intervalo de temperatura a la cual crece una especie en condiciones de cultivo puede reflejar su origen geográfico (Tablas 2-3). Claramente, existen variedades de *G. catenatum* en las costas mexicanas, cada una adaptada a su región particular. Las cepas mexicanas de *A. affine* y *G. catenatum* de Bahía Concepción se encuentran dentro del intervalo de tolerancia para cepas subtropicales. Las temperaturas óptimas en cultivo no siempre coinciden con las temperaturas a la que se encuentran las máximas abundancias en el medio natural, ya que las tasas máximas de crecimiento no son un prerequisite para el éxito de una población si otros factores (e.g. pastoreo, competencia) son favorables. El intervalo de tolerancia a la temperatura en condiciones de cultivo para el crecimiento de *G. catenatum* de Bahía Concepción es similar al intervalo de temperatura para la cepa de España, que puede crecer de 14°C a 29°C con una tasa máxima de crecimiento entre los 22°C y 28°C (Bravo y Anderson 1994). Sin embargo, en el medio natural esta cepa de *G. catenatum* se presenta en las costas españolas a temperaturas subóptimas (12°-18°C) para su crecimiento (Bravo y Anderson 1994).

Tabla 3: Intervalo de temperatura y temperatura óptima para el crecimiento de cepas de *G. catenatum* en el ambiente y en condiciones de laboratorio.

Lugar	Intervalo	Óptimo	Referencia
México (Bahía Concepción)	18°-29°C (A) 11.5°-29°C (L)	20°-29 °C (A) 15°-29°C (L)	Gárate-Lizárraga <i>et al.</i> 2001 Publicación III
México (Costa Oeste de B.C.)	13°-17°C (A)		Gárate-Lizárraga y Siqueiros-Beltrones 2003
México (Bahía de Manzanillo)	+ 23°C (A)	25°C (A)	Morales-Blake <i>et al.</i> 2000
México (Mazatlán)	16°-24°C (A)	17.5°-20°C (A)	Cortés-Altamirano <i>et al.</i> 1999
México (Norte del Golfo de California)	14°-17°C (A)		Graham 1943
México (Pto. Libertad, Sonora)		16°-17°C (A)	Cortés-Altamirano <i>et al.</i> 1999
Japón (Bahía de Sensaki)	6°-27°C (A) 15°-25°C (L)		Kotnai <i>et al.</i> 2000 Ogata <i>et al.</i> 1989
Japón (Bahía de Hiroshima)	20°-30°C (L)	25°-30°C (L)	Yamamoto <i>et al.</i> 2002
España	12°-18°C (A) 14°-29°C (L)	22°-28°C (L)	Bravo y Anderson 1994
Tasmania	12°-18°C (A) 14.5°-20°C (L)		Hallegraeff <i>et al.</i> 1995 Blackburn <i>et al.</i> 1989
Venezuela	22°-28°C (A)	25°-28°C (A)	La Barbera-Sánchez y Gamboa-Maruez 2001
Palau, Filipinas, Tailandia	25°-30°C (A)		Hallegraeff y Fraga 1998

A= ambiente; L= laboratorio

También existen diferencias en la tasa máxima de crecimiento obtenido *in vitro* entre la cepa española de *G. catenatum* (0.5 día^{-1}) y la cepa mexicana ($0.24\text{-}0.30 \text{ día}^{-1}$). Esta diferencia pudiera deberse al agua de mar utilizada, como se demuestra en el experimento de salinidad (ver más adelante). Sin embargo, la cepa japonesa de la bahía de Hiroshima también presenta una tasa de crecimiento máximo de 0.31 día^{-1} a 25°C y 30 de salinidad (Yamamoto *et al.* 2002). Es necesario realizar más experimentos en cepas de *G. catenatum* para determinar si las bajas tasas de crecimiento son un factor intrínseco o simplemente reflejan un medio de cultivo adecuado, pero no óptimo.

La cepa japonesa de *G. catenatum* de la Bahía de Sensaki tiene un intervalo de temperatura para su crecimiento más estrecho, crece de 15° a 25°C (Ogata *et al.* 1989). La cepa de la bahía de Hiroshima tiene una tolerancia más amplia a la temperatura ($20^{\circ}\text{-}30^{\circ}\text{C}$) con una tasa moderada de crecimiento ligeramente mayores a 0.2 día^{-1} (Yamamoto *et al.* 2002). Sin embargo, a lo largo de la costa japonesa florecimientos de *G. catenatum* se han observado en un intervalo mayor de temperatura ($6^{\circ}\text{-}27^{\circ}\text{C}$) (Kotnai *et al.* 2000). La cepa de Tasmania tolera temperaturas más frías en cultivo, de 14.5° a 20°C (Blackburn *et al.* 1989). En la naturaleza presenta el mismo intervalo de tolerancia que la cepa española (de 12° a 18°C) (Hallegraeff *et al.* 1995). En las costas Venezolanas los florecimientos de *G. catenatum* ocurren durante los meses cálidos de verano-otoño cuando las temperaturas se encuentran entre $22^{\circ}\text{-}28^{\circ}\text{C}$, formando florecimientos a temperaturas mayores de 25°C (La Barbera-Sánchez y Gamboa-Maruez 2001). Poblaciones tropicales de Palau, Filipinas y Tailandia se presentan en la naturaleza a temperaturas entre 25° y 30°C (Hallegraeff y Fraga 1998). Claramente existen distintas variedades de estas especies, cada una adaptada a una región en particular. La cepa mexicana cae dentro del extremo del intervalo de tolerancia de las cepas tropicales.

En Bahía Concepción células vegetativas de *A. affine* y *G. catenatum* se presentan durante la primavera e inicios de verano, estando ausente durante el otoño e invierno (Gárate-Lizárraga com. pers., Morquecho com. pers.). Durante este período, las temperaturas del agua varían de 18°-28°C (Gárate-Lizárraga *et al.* 2001a) y las salinidades se encuentra cerca de 35 (Félix-Pico y Sánchez 1976). La densidad de los quistes de *A. affine* en el sedimento son más altas de mayo a julio, coincidiendo con las mayores densidades de células vegetativas en la columna de agua (Morquecho com. pers.). Con un tiempo de maduración corto a las temperaturas presentes durante la primavera (18°-25°C), un intervalo amplio de temperatura para la germinación y considerando que la luz no es indispensable para germinar, la germinación de *A. affine* podría ocurrir durante todo el año. Los resultados del trabajo de laboratorio, muestran que la temperatura óptima para el crecimiento de *A. affine* se encuentra entre los 21°-29°C, coincidiendo con lo encontrado en el medio natural. *Gymnodinium catenatum* tiene un intervalo de temperatura óptima para el crecimiento más amplio que *A. affine* en condiciones de laboratorio (15°-29°C). En verano cuando la temperatura superficial del agua se encuentra por arriba de los 30°C, *A. affine* y *G. catenatum* desaparecen de la columna de agua (Góngora-González 2001, Morquecho com. pers.).

La tolerancia a la salinidad de la cepa mexicana de *G. catenatum* es más amplia (25 - 40) que la salinidad presente en la bahía (34 - 37) (Félix-Pico y Sánchez 1976). Basados en las tolerancias de temperatura y salinidad, podríamos esperar que los florecimientos de *G. catenatum* en Bahía Concepción sean estacionales, desapareciendo cuando la temperatura del agua se acerca a los 30°C o es más salina. También es de esperarse que otros factores ambientales, como la composición de macronutrientes y micronutrientes (e.g. selenio), la anoxia en el fondo de la bahía, presencia de

sulfuros, así como factores biológicos (competencia, pastoreo) pueden estar regulando la dinámica poblacional.

La razón de la presencia estacional de *A. affine* y *G. catenatum* en Bahía Concepción pudiera ser la anoxia estacional que se presenta en la bahía durante el verano-otoño (Lechuga-Devéze *et al.* 2001). Anderson *et al.* (1987) demostraron que los quistes de dinoflagelados requieren de oxígeno para poder germinar; bajo condiciones anóxicas los quistes permanecen en estado de latencia hasta que las condiciones sean favorables. En Bahía Concepción, la materia orgánica particulada producida durante el invierno y la primavera se acumula en el sedimento, y debido al aislamiento del estrato profundo por una fuerte termoclina, se desarrollan condiciones de anoxia e hipoxia en el fondo de la bahía (Lechuga-Devéze *et al.* 2001, López-Cortés *et al.* 2003). Esto pudiera inhibir la germinación hasta que se rompa la termoclina e incremente la concentración de oxígeno en la columna de agua. En este momento la germinación pudiera ocurrir, pero el desarrollo de los florecimientos puede estar limitado por la inestabilidad de la columna de agua. Estas restricciones ambientales pueden desaparecer durante la primavera que es cuando se observan cadenas de *A. affine* y *G. catenatum* en la columna de agua (Gárate-Lizárraga *et al.* 2002c).

Al cultivar a *G. catenatum* en medio f/2 con diferentes concentraciones de selenio, extracto de suelo y medio GSe, se observó una diferencia significativa en la biomasa obtenida y en la longitud de las cadenas. No hubo diferencia significativa entre las tasas de crecimiento en los diferentes medios. Las densidades más altas se encontraron en medio f/2 con concentraciones de selenio de 10^{-7} y 10^{-8} M y, medio GSe que contiene selenio y extracto de suelo. En medio f/2 con extracto de suelo la densidad celular fué muy baja (menos de 500 cels/ml). El porcentaje de células que formaron cadenas fue más

alto en medio f/2 con una concentración de selenio de 10^{-8} M, con un porcentaje máximo de 20%. Sugiriendo que las células se encuentran en un mejor estado fisiológico. Se ha registrado que el medio GSe promueve un mejor crecimiento que el medio f/2 en otras cepas de *G. catenatum* (Bravo 1986, Blackburn *et al.* 1989). En otras áreas donde *G. catenatum* produce florecimientos, estos eventos se han relacionado con precipitaciones o desembocaduras de ríos que contribuyen con nutrientes terrígenos (Hallegraeff *et al.* 1995). Sin embargo en Bahía Concepción, la precipitación es escasa (112-155 mm/año) por lo que el aporte terrígeno es bajo (García 1988). Esta cepa pudiera requerir mayor tiempo para iniciar el crecimiento al cultivarse en presencia de extracto de suelo. Estos resultados concuerdan con lo registrado por Doblin *et al.* (2000) quienes describen requerimientos variables de micronutrientes para diferentes poblaciones de *G. catenatum*.

Se compararon dos fuentes de agua de mar (Bahía Concepción y Vineyard Sound) a diferentes salinidades para determinar si afectarían el crecimiento de *G. catenatum*. Con ambos tipos de agua de mar, *G. catenatum* puede crecer en un amplio intervalo de salinidad. Con agua de mar de Vineyard Sound enriquecida con f/2, la mayor tasa de crecimiento (0.24 día^{-1}) se obtuvo a una salinidad de 26 a 30, mientras con agua de mar de Bahía Concepción la máxima tasa de crecimiento (0.30 día^{-1}) se presentó a salinidades entre 28 y 38 utilizando el mismo medio de cultivo. Se esperaba que existiera una alta tolerancia a la salinidad de la cepa mexicana de *G. catenatum*, debido a que en Bahía Concepción la salinidad oscila entre 34.6 y 37 (Félix-Pico y Sánchez 1976).

Pocos estudios se han realizado para determinar el efecto de la salinidad sobre cepas de *G. catenatum*. La cepa de la bahía de Hiroshima en condiciones de cultivo también crece en un intervalo amplio de salinidad (20-32), con un crecimiento óptimo a 30 (Yamamoto *et al.* 2002). La cepa de

Tasmania en condiciones de cultivo tolera un intervalo de salinidad más corto, 23-34 (Blackburn *et al.* 1989). La cepa de Venezuela crece a salinidades de 33 a 39 en el medio natural, y florece entre 37-38 (La Barbera-Sánchez y Gamboa-Maruez 2001). Los florecimientos de *G. catenatum* en España se han observado a salinidades de 35.3 (Fraga *et al.* 1993)

Doblin *et al.* (2000) han observado diferencias en el crecimiento de una misma cepa de *G. catenatum* con diferentes lotes de agua de mar, ellos lo han asociado con las variaciones en el contenido de selenio. En Bahía Concepción las concentraciones superficiales de sedimentos en la parte sur de la bahía son principalmente biogénicos con altas concentraciones de Ca, Sr, Cr, La, Ce y Th, con una concentración promedio de 4.6 ppm Se en el sedimento (Shumilin *et al.* 1996). Investigaciones recientes han encontrado presencia de emanación hidrotermal en la bahía (Greene y Forrest 2002), estas fosas pudieran contribuir a una composición de micronutrientes particular en el agua de mar de esta bahía que pudiera ser favorable al crecimiento de *G. catenatum* y otras especies de dinoflagelados.

Las bajas tasas de crecimiento que encontramos para *G. catenatum* pudieran explicar parcialmente porque no se han observado florecimientos masivos en Bahía Concepción, pero no podemos descartar que el medio de cultivo empleado no sea el idóneo para esta especie. Resalta el hecho también de que las mayores tasas de crecimiento se obtuvieron a salinidades por abajo de las encontradas en Bahía Concepción (34 - 35), esto pudiera indicar que las condiciones en la Bahía no sean las óptimas para el crecimiento masivo de esta especie. Sin embargo aún con la poca abundancia de células vegetativas, existen altas concentraciones de PSP en moluscos de esta región (Sierra-Beltrán *et al.* 1996, Lechuga-Devéze y Morquecho-Escamilla 1998).

Bajo este contexto, la cepa mexicana resulta ser interesante, debido a su adaptación a altas salinidades, bajo aporte terrígeno, en contraste con los sistemas de salinidad moderada y alto aporte terrígeno como el estuario Huon en Tasmania (Blackburn *et al.* 1989).

Hipotesis 3. Toxicidad.

Los resultados obtenidos muestran que *G. catenatum* de Bahía Concepción produce toxinas paralíticas con un perfil toxicológico similar al que se presentan en moluscos, sugiriendo que esta especie es responsable de la presencia de PSP en moluscos de Bahía Concepción. Rutas de bioconversión para acumular las toxinas algales en los moluscos pueden estar implicadas en las diferencias observadas. Adicionalmente, nuestros datos muestran que el perfil de toxinas de *G. catenatum* de Bahía Concepción es único al compararla con cepas de otras regiones geográficas.

La toxicidad promedio de las cepas de *G. catenatum* de Bahía Concepción es de 26.7 pg STX eq/cel en cultivo, ligeramente mayor a la toxicidad reportada para la cepa de Signapur (22.3 - 24.2 pg STX eq/cel) (Holmes *et al.* 2002). A pesar de la alta concentración de toxinas en peso (0.40 - 0.50 pmol PSP/cel), esta relativa baja toxicidad comparada con las cepas españolas y de Tasmania puede explicarse por la baja proporción de las toxinas potentes neoSTX, GTX1 y GTX4, y la ausencia de SXT.

Se encontraron diferencias en el perfil de toxinas entre las cepas de *G. catenatum* de Bahía Concepción, pero las toxinas principales (dcSTX, dcGTX2-3, C1-C2) siempre se presentaron en

todas las cepas. Se han asociado diferencias en el perfil de toxinas entre cepas de *G. catenatum* con la etapa del ciclo de vida (Bravo *et al.* 1998), y entre cepas aisladas de la misma área (Donker *et al.* 1997). Las diferencias en los estadios del ciclo de vida pudieran ser un resultado de la expresión de enzimas involucradas en la biosíntesis de toxinas (Oshima *et al.* 1993). Diferencias en el perfil de toxinas entre cepas de *G. catenatum* en diferentes florecimientos en la Ría de Vigo se han observado anteriormente (Bravo *et al.* 1998). Contradictoriamente la mayoría de las cepas de Tasmania de *G. catenatum* de diferentes florecimientos muestran un perfil toxicológico similar, sólo algunas pocas cepas mostraron mayores proporciones de C3 y C4, y se han registrado cepas no tóxicas (Oshima *et al.* 1993). Las diferencias en el perfil de toxinas entre cepas de *G. catenatum* de Bahía Concepción pudieran indicar variabilidad genética dentro de la población, o ligeras diferencias fisiológicas entre la etapa de crecimiento al momento de la cosecha. Oshima *et al.* (1993) no encontró diferencias significativas en el perfil toxicológico de cepas de *G. catenatum* de Australia, Japón y España al cultivarlas a diferentes temperaturas, salinidades y concentración de nutrientes. Estas diferencias resaltan la importancia de probar varias cepas para estudios ecofisiológicos.

Las cepas caracterizadas de *G. catenatum* de Australia, Japón, Portugal, España, Uruguay, Japón, Hong Kong y Singapur presentaron dcGTX2-3 en diferentes proporciones (Negri *et al.* 2000). Las formas B1-2, C1-2, C3-4, C5-6, GTX2-3, dcSTX, dcGTX2 se presentan en la mayoría de las cepas, y STX, GTX4 y neoSXT sólo se presentan en algunas de ellas (Oshima *et al.* 1993, Holmes *et al.* 2002). Una toxina nueva, doSTX, sólo se ha registrado para una cepa australiana (Negri *et al.* 2000).

El perfil toxicológico de cepas de Singapur está dominado por toxinas carbamatadas (GTX1 y GTX4), con cantidades menores de GTX2, GTX3, neoSTX y STX (Holmes *et al.* 2002) siendo la

única cepa que no ha presentado dcGTX2-dcGTX3. Las cepas australianas están dominadas por las C-toxinas (C1-C4) y presentan menores proporciones de B1-2, GTX2, 3, dcGTX2,3, dcSTX, STX y doSTX (Negri *et al.* 2000). Las cepas españolas y portuguesas presentan C5-6 con mayores proporciones de B1 y B2. Las cepas de Uruguay y Hong Kong presentan C1-6, dcGTX2-3 y bajas proporciones de GTX2,3 y B1-2 (Negri *et al.* 2000). Las cepas de *G. catenatum* de Bahía Concepción presentan dcSTX, dcGTX2, dcGTX3, C1 y C2 que se pueden utilizar como biomarcadores para esta población y bajas proporciones de neoSTX, GTX2, GTX3 y B2. La alta proporción relativa de C1-2 y dcGTX2-dcGTX3 es característico de *G. catenatum* de Bahía Concepción.

Al comparar el perfil de toxinas de nuestras cepas con las cepas de otras regiones (Negri *et al.* 2000, Holmes *et al.* 2002), *G. catenatum* de Bahía Concepción presenta mayor similitud con las cepas japonesas y una cepa australiana de Long Bay (LB49). Estas cepas presentan C1-2, GTX2-3, dcGTX2-3 y dcSTX. Las cepas japonesa y australiana difieren de la cepa de Bahía Concepción por la presencia de B1, mayor abundancia relativa de C1 y C2 y menor abundancia relativa de dcSTX (Negri *et al.* 2000). Además nuestra cepa presentó neoSTX toxina que no se encuentra en las cepas japonesa y australiana.

Es necesario determinar el perfil de toxinas de otras poblaciones de *G. catenatum* de las costas mexicanas, esto ayudaría a explicar si estas poblaciones recientemente reportadas son una introducción reciente, o no se había detectado anteriormente. Los análisis de toxinas de muestras de fitoplancton de la Bahía de Mazatlán sólo presentan dcGTX2-3 y C2 sugiriendo que pudieran existir

diferencias en el perfil toxicológico de ambas poblaciones (Gárate-Lizárraga *et al.* 2002b). Será necesario confirmar esto una vez que se obtengan cultivos de esta bahía.

Se ha propuesto que poblaciones de *G. catenatum* de localidades separadas han adquirido mecanismos fisiológicos particulares como resultado de una selección natural bajo diferentes condiciones nutricionales (Doblin *et al.* 2000). Esto podría explicar en parte la diferencia en el perfil de toxinas de *G. catenatum* de Bahía Concepción y Bahía de Mazatlán. En la Bahía de Mazatlán los florecimientos de *G. catenatum* están relacionados con presencia de surgencias (Cortés-Altamirano *et al.* 1995). En contraste, los florecimientos de Bahía Concepción de esta especie están relacionados con condiciones hidrográficas transitorias entre el periodo estratificado y el periodo de mezcla en la columna de agua (Góngora-González 2001, Morquecho-Escamilla y Lechuga-Devéze 2002, López-Cortés *et al.* 2003). El único florecimiento observado en esta área se reportó en mayo de 1999 durante un período de transición hidrográfica (López-Cortés *et al.* 2003).

Variaciones en la composición de toxinas también han sido observadas en varias cepas y especies del género *Alexandrium*. Esta variabilidad se ha atribuido a la composición de nutrientes del medio de cultivo, fase de crecimiento, ciclo de vida, temperatura, luz, salinidad, pH (e.g. Boyer *et al.* 1987, Anderson *et al.* 1990, Taroncher-Oldenburg *et al.* 1997, Fwu-Hwang y Hui-Lu 2000). Es necesario realizar más estudios en varias cepas de *G. catenatum* para determinar los efectos de factores ambientales en la composición de toxinas, y entender las complejas vías de síntesis que ocurren dentro de la célula, así como las condiciones para determinar la variabilidad de toxinas en cada cepa.

Este trabajo ha demostrado que *G. catenatum* de Bahía Concepción es tóxica y que se presentan variaciones dentro del perfil de toxinas dentro de la misma población, sin embargo las principales

toxinas (dcSTX, dcGTX2-3, C1 y C2) se encuentran en todas las cepas, y pueden ser utilizadas como marcadores bioquímicos. El perfil de toxinas de las cepas de *G. catenatum* de Bahía Concepción son similares a las cepas Japonesas y a la cepa de Long Bay, Australia (Negri *et al.* 2001).

CONCLUSION

Esta tesis ha aportado dos nuevos registros de especies de *Alexandrium* en Bahía Concepción: *A. affine* y *A. margalefii*. *Alexandrium affine* se ha registrado en varias regiones (Fukuyo *et al.* 1985, Fraga *et al.* 1989, Kim *et al.* 1990, Lee 1990, Hallegraeff *et al.* 1991, Balech 1995, Sidabutar *et al.* 2000, Yoshida *et al.* 2000), pero en el continente Americano sólo se había registrado en Perú (Vera *et al.* 1999). *Alexandrium margalefii* tiene una distribución limitada: España (Balech 1995), Nueva Zelanda (Lilly com. pers.) y Tailandia (Hallegraeff *et al.* 1991). La secuencia de nucleótidos de la región D1-D2 para ambas especies es única. Comparando la secuencia de nucleótidos de la región D1-D2 de ambas cepas con otras cepas de *Alexandrium*, se determinó que *A. affine* tiene una alta afinidad con cepas provenientes de España, Francia y Tailandia, y que *A. margalefii*, presenta mayor afinidad con una cepa francesa. Ninguna de las dos cepas mostró afinidad con el ribotipo del oeste de Norteamérica, esto se puede explicar porque estas especies no se han registrado en esta zona y las cepas de *A. margalefii* y *A. affine* no parecen tener una agrupación por afinidades geográficas como es el caso del ribotipo *A. tamarense/A. fundyense/A. catenella* y *A. lusitanicum/A. minutum*. Será necesario continuar con el trabajo de secuenciación de cepas de *Alexandrium* de las costas mexicanas para poder determinar las relaciones genéticas que existen entre cepas de diversas regiones, así como

determinar si existen especies reportadas para la costa oeste de Norteamérica en aguas mexicanas que se agrupan dentro del mismo ribotipo.

Los trabajos sobre el cultivo *A. affine* determinaron aspectos importantes sobre el ciclo de vida de esta cepa subtropical y explican en parte la dinámica poblacional de la especie en Bahía Concepción. Se determinó que *A. affine* es una especie homotálica que produce quistes en condiciones limitantes de nutrientes. Se determinó por primera vez el tiempo de maduración de los quistes de esta especie, que es más corto que lo registrado para otras especies de *Alexandrium* de latitudes templadas. El tiempo de maduración varió con la temperatura durando entre 2 semanas y 3 meses. La luz no fue un factor determinante para la germinación de los quistes, pero sí aceleró el proceso de maduración. *Alexandrium affine* puede crecer en un amplio intervalo de temperatura (15° - 34°C), presentando una temperatura óptima elevada (27.5° - 29°C) reflejando su origen subtropical. Cambios físicos severos en el ambiente parecen estar regulando la germinación de los quistes y la presencia de células vegetativas en la columna de agua. La presencia estacional de células vegetativas en la bahía es un reflejo del tiempo de maduración de los quistes que en parte puede estar regulada por la anoxia en aguas del fondo de la bahía. Si no existieran condiciones anóxicas en el fondo de la bahía, esta especie podría presentarse periódicamente en la columna de agua con intervalos cortos de permanencia en el sedimento. Creemos que los factores que inducen al enquistamiento están relacionados con bajas concentraciones de nutrientes y elevadas temperaturas en la superficie. Sin embargo, es posible que otros factores estén regulando la formación de quistes.

En condiciones de laboratorio *G. catenatum* presenta cadenas más largas en presencia de extracto de suelo, sin embargo a diferencia de cepas de la misma especie provenientes de otras regiones, el

extracto de suelo no es indispensable para su crecimiento. La presencia de cadenas más largas pudiera ser indicativo de un mejor estado fisiológico de las células. Las tasas de crecimiento y densidades máximas obtenidas en el cultivo no mostraron diferencias significativas entre el medio f/2 y el medio GSe. Esta cepa tolera un amplio intervalo de temperatura (11.5° - 29°C), con un crecimiento óptimo entre 15° y 29°C, coincidiendo con la temperatura a la cual se presenta en Bahía Concepción. Se observaron diferencias en el crecimiento al utilizar diferentes fuentes de agua de mar, esta variación pudiera estar dada por la composición de micronutrientes presentes en el agua más que la salinidad. El intervalo de salinidad a la que puede crecer la cepa varía con la fuente de agua de mar utilizada. La germinación de los quistes es más compleja de lo que planteamos inicialmente en la hipótesis, el tiempo de maduración varía con la temperatura de almacenamiento y en menor grado con la presencia de luz. El intervalo de temperatura para el crecimiento vegetativo para *A. affine* y *G. catenatum* permitiría que ambas cepas se presentaran durante todo el año si sólo dependieran de este factor. Es necesario continuar con los estudios en el campo y en el laboratorio para determinar que otras variables (depredación, competencia, concentración de macro y micronutrientes) están regulando la presencia/ausencia de estas especies en la bahía.

Alexandrium affine y *A. margalefii* no presentan toxinas parálíticas. La presencia de toxinas parálíticas en moluscos de la bahía, está dada por *G. catenatum*. La toxicidad de esta especie es moderada (26-28 pg STXeq/célula) comparada con otras cepas de la misma especie. Se determinaron diez tipos de toxinas parálíticas, la presencia/ausencia varía entre las cepas y la fase de cultivo, pero dcSTX, dcGTX2, dcGTX3, C1 y C2 siempre se presentaron en las 16 cepas analizadas. Este perfil de toxinas no se ha registrado para otras cepas de *G. catenatum* y se puede utilizar como un

biomarcador para esta población. Basándose en el perfil de toxinas esta cepa de *G. catenatum* presenta mayor afinidad con la cepa japonesa y una cepa australiana.

LITERATURA CITADA

- Adachi, M., Kanno, T., Mastubara, T., Nishijima, T., Itakura, S. y Yamaguchi, M. 1999. Promotion of cyst formation in the toxic dinoflagellate *Alexandrium* (Dinophyceae) by natural bacterial assemblages from Hiroshima Bay, Japan. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 191: 175-185.
- Anderson, D.M. 1980. Effects of temperature conditioning on development and germination of *Gonyaulax tamarensis* (Dinophyceae) hypozygotes. *J. Phycol.* 16: 166-172.
- Anderson, D.M. 1990. Dynamics and physiology of saxitoxin production by the dinoflagellates *Alexandrium* spp. *Mar. Biol.* 104: 511-524..
- Anderson, D. M. 1998. Physiology and bloom dynamics of toxic *Alexandrium* species, with emphasis on life cycle transitions, pp. 29-48. En: *Physiological Ecology of Harmful Algal Blooms*. Anderson, D. M., Cembella, A. D. y Hallegraeff, G. M. (Eds.). NATO ASI Series. Vol. G41. Springer-Verlag.
- Anderson, D. M. y Wall, D. 1978. Potential importance of the benthic cysts of *Gonyaulax tamarensis* and *G. excavata* in initiating toxic dinoflagellate blooms. *J. Phycol.* 14: 224-234.
- Anderson, D. M. y Morel, F. M. M. 1979. The seeding of two red tides blooms by the germination of benthic *Gonyaulax tamarensis* hypnocysts. *Est. Coast. Mar. Sci.* 8: 279-293.
- Anderson, D. M. y Keafer, B. A. 1987. An endogenous annual clock in the toxic marine dinoflagellate *Gonyaulax tamarensis*. *Nature* 325: 616-617.
- Anderson, D. M., Chisolm, S. W. y Watras, C. J. 1983. Importance of life cycle events in the population dynamics of *Gonyaulax tamarensis*. *Mar. Biol.* 76: 179-189.
- Anderson, D. M., Kulis, D. M. y Binder, B. J. 1984. Sexuality and cyst formation in the dinoflagellate *Gonyaulax tamarensis*: cyst yield in batch cultures. *J. Phycol.* 20: 418-425.
- Anderson, D. M., Taylor, C. D. y Armbrust, E. V. 1987. The effects of darkness and anareobiosis on dinoflagellate cyst germination. *Limnol. Oceanogr.* 32(2): 340-351.
- Balech, E. 1995. The genus *Alexandrium* Halim. Sherkin Island Marine Station. Irlanda.
- Band-Schmidt, C. J., Morquecho, L., Hernández-Becerril, D. U., Bravo-Sierra, E. y Reyes-Salinas, A. Raphidophyceans in Mexican coasts. Sometido.
- Binder, B. J. y Anderson, D. M. 1987. Physiological and environmental control of germination in *Scropsiella trochoidea* (Dinophyceae) resting cysts. *J. Phycol.* 23: 99-107.
- Blackburn, S. I., Hallegraeff, G. M. y Bolch, C. J. 1989. Vegetative reproduction and sexual life cycle of the toxic dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* from Tasmania, Australia. *J. Phycol.* 25: 577-590.
- Blanco, J. 1990. Cyst germination of two dinoflagellate species from Galicia (NW Spain). *Sci. Mar.* 54 (3): 287-291.
- Blanco, J. 1995. Cyst production in four species of neritic dinoflagellates. *J. Plank. Res.* 17 (1): 165-182.
- Bolch, C. J., Blackburn, S. I., Cannon, J. A. y Hallegraeff, G. M. 1991. The resting cyst of the red tide dinoflagellate *Alexandrium minutum* (Dinophyceae). *Phycol.* 30: 215-219.

- Bolch, C. J., Negri, A. P., Blackburn, S. I. y Green, D. H. 2001. Life cycle variation in PST content and cell toxicity in PST-producing dinoflagellates, pp. 37-42. En: LIFEHAB: Life history of microalgal species causing harmful blooms. Garcés, E., Zingone, A., Montresor, M., Reguera, B. y Dale, B. (Eds). Report of European Workshop. 208 pp.
- Boyer, G.L., Sullivan, J.J., Andersen, R.J., Harrison, P.J. y Taylor F.J.R. 1987. Effects of nutrient limitation on toxin production and composition in the marine dinoflagellate *Protogonyaulax tamarensis*. *Mar. Biol.* 96: 123-128.
- Bravo, I. 1986. Cyst germination, cultivation and encystment of *Gymnodinium catenatum* Graham. *Invest. Pesq.* 50: 313-321.
- Bravo, I. y Anderson, D. M. 1994. The effects of temperature, growth medium and darkness on excystment and growth of the toxic dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* from northwestern Spain. *J. Plank. Res.* 16(5): 513-525.
- Bravo, I., Franco, J. M. y Reyero, I. M. 1998. PSP toxin composition of three life cycle stages of *Gymnodinium catenatum*, pp. 356-358. En: *Harmful Algae*, Reguera, B., Blanco, J., Fernández, M. L., y Wyatt, T. (Eds.). Xunta de Galicia and Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO. Santiago de Compostela, España.
- Bustillos-Guzmán, J., López-Cortés, D., Hernández, F. y Murillo, I. 2000. Pigment signatures associated with an anoxic coastal zone: Bahía Concepción, Gulf of California. *J. Exp. Mar. Biol.* 249: 77-88.
- Cabrera-Mancilla, E., Ramírez-Camarena, C., Muñoz-Cabrera, L y Monreal-Prado, A. 2000. Primer registro de *Gymnodinium catenatum* Graham (Gymnodiniaceae) como causante de marea roja en la bahía de Acapulco, Gro. México. p. 85-86. En: Estudios sobre plancton en México y el Caribe. Ríos-Jara, E., Juárez-Carrillo, E., Pérez-Peña, M., López-Uriarte, E., Robles-Jarero, E. G., Hernández-Becerril, D. U. y Silva-Briano, M. (Eds.). Sociedad Mexicana de Planctología y Universidad de Guadalajara. 147 pp.
- Cannon, J. 1993. Germination of the toxic dinoflagellate *Alexandrium minutum*, from sediments in the Port River, South Australia, pp. 103 - 107. En: *Toxic Phytoplankton Blooms in the Sea*. Smayda, T. y Shimizu, Y. (Eds.). Elsevier.
- Castell-Pérez, C., Roy, S., Levasseur, M. y Anderson, D. M. 1998. Control of germination of *Alexandrium tamarense* (Dinophyceae) cysts from the lower St. Lawrence estuary (Canada). *J. Phycol.* 34: 242-249.
- Cembella, A. D., Destombe, C. y Turgeon, J. 1990. Toxin composition of alternative life history stages of *Alexandrium*, as determined by high-performance liquid chromatography, pp. 333-228. En: *Toxic Marine Phytoplankton*. Graneli, E. Sundstrom, B., Edler, L y Anderson, D. M. (Eds.) Elsevier, New York.
- Cortés-Altamirano, R. y Alonso-Rodríguez, R. 1997. Mareas rojas durante 1997 en la bahía de Mazatlán, Sinaloa, México. *Ciencias del Mar, UAS.* 15: 31-37.
- Cortés-Altamirano, R. y Nuñez-Pasten, A. 2000. *Prorocentrum mexicanum* Tafall 1942 o *sp. nov.*? p. 89-90. En: *Estudios sobre el plancton en México y el Caribe*. Ríos-Jara, E., Juárez-Carrillo, M., Pérez-Peña, M., López-Uriarte, E., Robles-Jarero, E. G., Hernández-Becerril, D. U. y Silva-Briano, M. (Eds.). Sociedad Mexicana de Planctología y Universidad de Guadalajara. 147 pp.
- Cortés-Altamirano, R. y Sierra-Beltrán, A. 2001. Mitigación de microalgas nocivas: su impacto negativo en las pesquerías, acuicultura y salud pública. Primer Foro Estatal de Ciencia y Tecnología. Soluciones para el desarrollo. Noviembre 2001. Culiacán, Sinaloa. pp. 1-21.

- Cortés-Altamirano R., Muñoz-Cabrera L. y Sotomayor-Navarro, O. 1993. Envenenamiento paralítico por mariscos (PSP), causado por el dinoflagelado *Pyrodinium bahamense* var. *compressum* en la costa suroeste de México. *An. Inst. Cienc. del Mar y Limnol. UNAM.* 20(1): 43-54.
- Cortés-Altamirano, R., Manrique, F. A. y Luna-Soria, R. 1995. Presencia de mareas rojas en la costa este del Golfo de California. *Rev. Lat.-Amer. Microbiol.* 37: 337-342.
- Cortés-Altamirano, R., Nuñez-Pasten, A. y Pasten-Miranda, N. 1999. Abundancia anual de *Gymnodinium catenatum* Graham dinoflagelado tóxico de la costa Este del Golfo de California. *Ciencia y Mar.* 3:50-56.
- Dale, B. 1983. Dinoflagellate resting cysts: "benthic plankton", pp. 69-136. En: *Survival Strategies of the Algae*. Frixel, G.A. (Ed.). Cambridge University Press. Cambridge.
- De Salas, M. F., van Emmerik, M. J. y Hallegraeff, G. M. 2001. Toxic Australian *Alexandrium* dinoflagellates: introduced or indigenous? En: *Harmful Algal Blooms 2000*. Hallegraeff, G.M., Blackburn, S.I., Bolch, C.J. y Lewis, R.J. (Eds.), pp. 214-217. Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Paris.
- Doblin, M., Blackburn, S. I. y Hallegraeff, G. M. 1999a. Comparative study of selenium requirements of three phytoplankton species: *Gymnodinium catenatum*, *Alexandrium minutum* (Dinophyta) and *Chaetoceros* cf. *tenuissimus* (Bacillariophyta). *J. Plank. Res.* 21(6): 1153-1169.
- Doblin, M., Blackburn, S. I. y Hallegraeff, G. M. 1999b. Growth and biomass stimulation of the toxic dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* (Graham) by dissolved organic substances. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 236: 33-47.
- Doblin, M. A., Blackburn, S. I. y Hallegraeff, G. M. 2000. Intraspecific variation in the selenium requirements of different geographic strains of the toxic dinoflagellate *Gymnodinium catenatum*. *J. Plank. Res.* 22(3): 421-432.
- Donker, S., Reyero, M.I., Reguerea, B. y Franco, J.M. 1997. En: V Reunión Ibérica de Fitoplancton Tóxico y Biotoxinas. Vigo. España.
- Doucette, G.J., Cembella, A.D. y Boyer, G.L. 1989. Cyst formation in the red tide dinoflagellate *Alexandrium tamarense* (Dinophyceae): effects of iron stress. *J. Phycol.* 25(4): 721-731.
- Ellegard, M., Kulis, D. M. y Anderson, D. M. 1998. Cysts of Danish *Gymnodinium nolleri* Ellegard et Moestrup sp. ined. (Dinophyceae): Studies on encystment, excystment and toxicity. *J. Plank. Res.* 20(9): 1743-1755.
- Estrada, M., Sánchez, F. J. y Fraga, S. 1984. *Gymnodinium catenatum* (Graham) en las rias gallegas (NO de España). *Invest. Pesq.* 48: 31-40.
- Falkowski, P. G. y Raven, J. A. 1997. *Aquatic photosynthesis*. Blackwell Science. EUA. 375 pp.
- Félix-Pico, E. F. y Sánchez, R. S. 1976. Tercer informe final del programa de orientación técnica para aprovechamiento de los recursos naturales existentes y practicas de maricultivo en Bahía Concepción y Ensenada de La Paz. *Sec. de Asent. Rec. Hidrául.* pp. 20.
- Figueroa-Torres, M.G. y Zepeda-Esquivel, M.A. 2001. Mareas rojas del puerto interior, Colima, México. *Scientia Naturae. Universidad Autónoma de Aguascalientes.* 3(2): 39-52.
- Fraga, S. y Bakun, A. 1993. Global climate change and harmful algal blooms: the example of *Gymnodinium catenatum* on the Galician Coast, pp. 59-65. En: *Toxic Phytoplankton Blooms in the Sea*. Smayda, T.J. y Shimizu, Y. (Eds.). Elsevier, New York.

- Fraga, S., Gallager, S. M. y Anderson, D. M. 1989. Chain forming dinoflagellates: an adaptation to red tides, pp. 281-284. En: *Red Tides: Biology, Environmental Science, and Toxicology*. Okaichi, T., Anderson, D.M. y Nemoto, T. (Eds.). Elsevier, New York.
- Fraga, S., Bravo, I. y Reguera, B. 1993. Poleward surface current at the shelf break and blooms of *Gymnodinium catenatum* in Ria de Vigo (NW Spain), pp. 245-249. En: Smayda, T.J., Shimizu, Y. (Eds.) *Toxic Phytoplankton Blooms in the Sea*.
- Franca, S. y Almeida, J. F. 1989. Paralytic shellfish poisons in bivalve molluscs on the Portuguese coast caused by a bloom of the dinoflagellate *Gymnodinium catenatum*, pp 93-86. En: *Red Tides: Biology, Environmental Science and Toxicology*. Okaichi, T., Anderson, D. M. y Nemoto, T. (Eds.). Elsevier, New York.
- Fukuyo, Y., Yoshida, K. e Inoue, H. 1985. *Protogonyaulax* in Japanese coastal waters, pp. 27-32. En: *Toxic dinoflagellates*. Anderson, D.M., White, A.W. y Baden, D.G. (Eds.). Elsevier Science Publishing Co., New York.
- Fwu-Hwang, D. y Hui-Lu, Y. 2000. Influence of environmental and nutritional factors on growth, toxicity, and toxin profile of dinoflagellate *Alexandrium minutum*. *Toxicon*: 1491-1503.
- Gárate-Lizárraga, I. 1991. Análisis de una marea roja causada por *Noctiluca scintillians* (MacCartney) Ehr. en Bahía Concepción, B.C.S. en febrero de 1989. *Rev. Inv. Cient.* 2(1): 35-43.
- Gárate-Lizárraga, I. 1995. Mareas rojas en Bahía Concepción, B.C.S. México. CICIMAR-IPN, Boletín 40.
- Gárate-Lizárraga, I. y Martínez-López. A. 1997. Primer registro de una marea roja de *Prorocentrum mexicanum* (Prorocentraceae) en el Golfo de California. *Rev. Biol. Trop.* 45(3): 1263-1271.
- Gárate-Lizárraga, I. y Siqueiros-Beltrones, D. A. 2003. First record of the parasitic dinoflagellate *Amoebophrya ceratii* (Amoebophryidae) in the Mexican Pacific. *Acta Botanica Mexicana*. En prensa.
- Gárate-Lizárraga, I., López-Cortés, D. J., Bustillos-Guzmán, J. J., Hernández-Sandoval, F. E. y Murillo-Murillo, I. 2001a. Physicochemical characteristics and phytoplankton biomass during El Niño 1997-1998 in Bahía Concepción, Gulf of California. Resúmenes de Congreso. American Society of Limnology and Oceanography. Febrero, Albuquerque, New Mexico. 56 p.
- Gárate-Lizárraga, I., López-Cortés, D., Hernández-Sandoval, F. y Bustillos-Guzmán, J. J. 2001b. First outbreak of *Cochlodinium polykrioides* in the Gulf of California. Resúmenes de Congreso. VIII Congreso de la Asociación de Investigadores del Mar de Cortés, A.C. II Simposium Internacional sobre el Mar de Cortés. Ensenada, B.C. p. 107.
- Gárate-Lizárraga, I., Hernández-Orozco, M. L., Band-Schmidt, C. J. y Serrano-Casillas, G. 2001c. Red tides along the coasts of Baja California Sur (1984-2001). *Oceán.* 16(2): 127-134.
- Gárate-Lizárraga, I., Bustillos-Guzmán, J. J. y Alonso-Rodríguez, R. 2001d. Distribution of *Gymnodinium catenatum* (Graham 1943) in coastal waters of México. *Harmful Algal News* 22:7.
- Gárate-Lizárraga, I., Band-Schmidt, C. J., Escobedo-Urías, D. y Cervantes-Duarte, R. 2002a. Mareas rojas de *Mesodinium rubrum* (Lohmann) Hamburger y Budenbrock en el Golfo de California (Invierno de 1998). *Hidrobiológica* 12(1): 15-20.
- Gárate-Lizárraga, I., Bustillos-Guzmán, J. J., Alonso-Rodríguez, R., Hummert, C. y Luckas, B. 2002b. Comparación del perfil de toxinas de *Gymnodinium catenatum* y moluscos bivalvos en dos localidades del Golfo de California. Resúmenes de Congreso. XII Reunión Nacional de la Sociedad Mexicana de Planctología. Mayo, Xalapa, Ver. 95 p.

- Gárate-Lizárraga, I., López-Cortés, D.A., Bustillos-Guzmán, J.J., Hernández-Sandoval, F.E. y Murillo-Murillo, I. 2002c. Physicochemical characteristics and phytoplankton biomass during El Niño 1997-1998 in Bahía Concepción, Gulf of California. International Symposium on North Pacific Transitional Areas. La Paz, México. p. 42.
- García, E., 1988. *Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen*. Larios, México. 220 pp.
- Garcés, E. 2001. Temporary cysts in dinoflagellates, pp. 46-48. En: LIFEHAB: Life history of microalgal species causing harmful blooms. Garcés, E., Zingone, A., Montresor, M., Reguera, B. y Dale, B. (Eds). Report of European Workshop. 208 pp.
- Garcés, E., Delgado, M., Masó, M. y Camp, J. 1998. Life history and *in situ* growth rates of *Alexandrium taylori* (Dinophyceae, Pyrrophyta). *J. Phycol.* 34: 880-887.
- Garcés, E., Zingone, A., Montresor, M., Reguera, B. y Dale, B. 2001. *LIFEHAB Life histories of microalgal species causing harmful blooms*. European Commission. Majorca, Spain. 208 pp.
- Giacobbe, M. G. y Yang, X. 1999. The life history of *Alexandrium taylori* (Dinophyceae). *J. Phycol.* 35: 331-338.
- Góngora-González, D. T. 2001. Estructura microfitoroplanctónica y condiciones hidrológicas relacionadas con la presencia de dinoflagelados tóxicos en Bahía Concepción, B.C.S. México. Tesis de licenciatura. UABCS La Paz, B.C.S. México. 52 pp.
- Graham, H. W. 1943. *Gymnodinium catenatum*, a new dinoflagellate from the Gulf of California. *Trans. Am. Microsc. Soc.* 62: 259-261.
- Greene, H. G. y Forrest, M. J. 2002. Shallow water hydrothermal venting along an onshore-offshore fault, Bahía Concepción, Baja California Sur, México and its influence on seafloor geology and biology. Resúmenes de Congreso. VI Reunión Internacional sobre Geología de la Península de Baja California. Abril, La Paz, B.C.S. México. p. 39.
- Guillou, L., Nezan, E., Cuffe, V., Erard-Le Denn, E., Cambon, M. A., Gentien, P. y Barbier, G. Semi-nested PCR detection of three toxic dinoflagellate genera (*Alexandrium*, *Dinophysis* and *Gymnodinium*) in sea water column and sediment from French coasts. en prensa.
- Hallegraeff, G.M. y Sumner, C. 1986. Toxin plankton blooms affect shellfish farms. *Aust. Fish.* 45: 15-18.
- Hallegraeff, G. M. y Fraga, S. 1998. Bloom dynamics of the toxic dinoflagellate *Gymnodinium catenatum*, with emphasis on Tasmanian and Spanish coastal waters, pp. 59-80. En: *Physiological Ecology of Harmful Algal Blooms*. Anderson, D. M., Cembella, A. D. y Hallegraeff, G. M. (Eds.). NATO ASI Series, Vol. G 41. 662 p.
- Hallegraeff, G. M., Steffensen, D. A. y Wetherbee, R. 1988. Three estuarine Australian dinoflagellates that can produce paralytic shellfish toxins. *J. Plankton Res.* 10: 533-541.
- Hallegraeff, G. M., Bolch, C. J., Blackburn, S. I. y Oshima, Y. 1991. Species of the toxigenic dinoflagellate genus *Alexandrium* in Southeastern Australian waters. *Bot. Mar.* 34: 575-587.
- Hallegraeff, G. M., McCausland, M. A. y Brown, R. K. 1995. Early warning of toxic dinoflagellate blooms of *Gymnodinium catenatum* in southern Tasmanian waters. *J. Plank. Res.* 17(6): 1163-1176.
- Hallegraeff, G. M., Valentine, J. P. Marshall, J. A. y Bolch, C. J. 1997. Temperature tolerances of toxic dinoflagellate cysts: application to the treatment of ship's ballast water. *Aquatic Ecology* 31: 47-52.

- Head, M. J. 1996. Chapter 30. Modern dinoflagellates cysts and their biological affinities. En: *Palinology: principles and applications*. Jansonius, J. y McGregor, D. C. (Eds.). American Association of Stratigraphic Palynologists Foundation. Vol. 3, pp. 1197-1247.
- Heredia-Tapia, A., Arredondo-Vega, B. O., Nuñez-Vázquez, E. J., Yasumoto, T., Yasuda, M. y Ochoa, J. L. 2002. Isolation of *Prorocentrum lima* (Syn. *Exuviaella lima*) and diarrhetic shellfish poisoning (DSP) risk assessment in the Gulf of California, Mexico. *Toxicon* 40: 1121-1127.
- Herrera-Galindo, J. E. 2002. Composición, abundancia y distribución de los dinoflagelados en la zona cercana a la línea de costa y marina adyacente al río Copalita, en Bahías de Huatulco, Oaxaca (Diciembre 1997-Octubre 1998). Tesis de maestría. Universidad del Mar. Puerto Angel, Oaxaca, México, 158 pp.
- Holmes, M. J., Bolch, C. J. S., Green, D. H., Cembella, A. D. y Ming Teo, S. L. 2002. Singapore isolates of the dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* (Dinophyceae) produce a unique profile of paralytic shellfish poisoning toxins. *J. Phycol.* 38: 96-106.
- Ikeda, T., Matsuno, S., Sato, S., Ogata, T., Kodama, M., Fukuyo, Y. y Takayama, H. 1989. First report on paralytic shellfish poisoning caused by *Gymnodinium catenatum* Graham (Dinophyceae) in Japan, pp. 411-414. En: *Red Tides: Biology Environmental Science and Toxicology*. Okaichi, T., Anderson, D. M. y Nemoto, T. (Eds.). Elsevier, New York.
- Jensen, M. O. y Moestrup, Ø. 1997. Autoecology of the toxic dinoflagellate *Alexandrium ostenfeldii*: life history and growth at different temperatures and salinities. *Eur. J. Phycol.* 32: 9-18.
- Kim, H. G., Park, J. S. y Lee, S. G. 1990. Coastal algal blooms caused by the cyst-forming dinoflagellates. *Bull. Korean Fish Soc.* 23: 468-474.
- Kotani, Y., Mastuyama, Y. y Sakamoto, S. 2000. Biological and ecological characteristics of *Gymnodinium catenatum* in Japan. Resúmenes de Congreso. Ninth International Conference on Harmful Algal Blooms, Tasmania, Australia. p.155.
- La Barbera-Sánchez, A. y Gamboa-Maruez, J. 2001. Distribution of *Gymnodinium catenatum* Graham and shellfish toxicity on the coast of Sucre State, Venezuela, from 1989-1998. *J. Shell. Res.* 20: 1257-1261.
- Lenaers, G., Maroteaux, L., Michot, B. y Herzog, M. 1989. Dinoflagellates in evolution. A molecular phylogenetic analysis of large subunit ribosomal RNA. *J. Mol. Evol.* 29: 40-51.
- Leaners, G., Scholin, C., Bhaud, Y., Saint-Hilarie, D. y Herzog, M. 1991. A molecular phylogeny of dinoflagellate protists (Pyrrophyta) inferred from the sequence of 24SrRNA divergent domains D1 and D8. *J. Mol. Evol.* 32: 53-63.
- Lechuga-Devéze, C. H. y Morquecho-Escamilla, M. L. 1998. Early spring potentially harmful phytoplankton in Bahía Concepción, Gulf of California. *Bull. Mar. Sci.* 63(3): 503-512.
- Lechuga-Devezé, C. H., Morquecho-Escamilla, M. L., Reyes-Salinas, A. y Hernández-Alfonso, J. R. 2000b. Environmental natural disturbances at Bahía Concepción, Gulf of California, pp. 245-255. En: *Aquatic ecosystems of Mexico: status and scope*. Munawar, M., Lawrence, S. G., Munawar, I. F. y Malley, D. F. (Eds.) Blakhuys Publishers, Leiden, The Netherlands.
- Lechuga-Devéze, C. H., Reyes-Salinas, A. y Morquecho-Escamilla, M. L. 2001. Anoxia in a coastal bay: case of study of a seasonal event. *Rev. Biol. Trop.*: 49: 525-534.

- Lee, S. G. 1990. Identification of three dinoflagellate species belonging to the genus *Alexandrium* occurring in Chinhai Bay. *Bull. Nat. Fish. Res. Dev. Agency* 44: 1-8.
- LeinonenDuFresne, E., Taroncher-Oldenburg, G. y Anderson, D. M. 2000. The global biogeography of the genus *Alexandrium*. Resúmenes de Congreso, Ninth International Conference on Harmful Algal Blooms, Tasmania, Australia. 163 p.
- Lewis, J. y Olli, K. 2001. Life cycles in dinoflagellates, pp. 121-123. En: *LIFEHAB Life histories of microalgal species causing harmful blooms*. European workshop. Garcés, E., Zingone, A., Montresor, M., Reguera, B. y Dale, B. (Eds.). Majorca, España. 208 pp.
- Lilly, E. L., Kulis, D. M., Gentien, P. y Anderson, D. M. 2002a. Paralytic shellfish poisoning toxins in France linked to a human-introduced strain of *Alexandrium catenella* from the western Pacific: evidence from DNA and toxin analysis. *J. Plankton Res.* 24: 443-452.
- Lilly, E. L., Taroncher-Oldenburg, G. y Anderson, D. M. 2002b. The global biogeography of the genus *Alexandrium*. Resúmenes de Congreso, Xth International Conference of harmful algae. October 2002. St. Pete Beach Florida, E.U.A. p. 171.
- Licea-Durán, S., Moreno, J. L., Santoyo, H. y Figueroa, G. 1995. Dinoflageladas del Golfo de California. UABCS. SEP-FOMES. La Paz, México. 165 pp.
- Licea-Durán, S., Gómez-Aguirre, S., Cortés-Altamirano, R. y Gómez, S. 1999. Notas sobre algunos florecimientos algales y la presencia de especies tóxicas en cinco localidades del Pacífico Mexicano (1996-1999), pp. 335-337. En: *VIII congreso latinoamericano sobre ciencias del mar, Vol. I*. Tresierra-Aguilar, A. E. y Culquichicón-Malpica, Z. G. (Eds.), Trujillo, Perú.
- Lirdwitayaprasit, T., Okaichi, T., Montani, S., Ochi, T. y Anderson, D. M. 1990. Changes in the cell chemical composition during the life cycle of *Scropsiella trochoidea* (Dinophyceae). *J. Phycol.* 26: 299-306.
- López-Cortés, D. J., Gárate-Lizárraga, I., Bustillos-Guzmán, J. J., Hernández-Sandoval, F. E. y Murillo-Murillo, I. 2003. Variabilidad del estado trófico y la biomasa del fitoplancton de Bahía Concepción, Golfo de California (1997-1999). *Hidrobiologica*, vol. especial, (aceptado)
- Manrique, F. A. y Molina, R. E. 1997. Presencia de mareas rojas en la Bahía de Bacochibampo, Guaymas, Sonora, México. *Hidrobiológica* 7: 81-86.
- Martínez-López, A. y Gárate-Lizárraga, I. 1994. Cantidad y calidad de materia orgánica particulada en Bahía Concepción, en la temporada de reproducción de la almeja catarina *Argopecten circularis* (Sowerby, 1835). *Cienc. Mar.* 20: 301-320.
- Medlin, L. K., Lange, M., Wellbrock, U., Donner, G., Elbrachter, M., Hummert, C. y Luckas, B. 1998. Sequence comparisons link toxic European isolates of *Alexandrium tamarense* from the Orkney Islands to toxic North American stocks. *European Journ. Protistol.* 34: 329-335.
- Mee, L. D., Espinosa, M. y Díaz, G. 1986. Paralytic Shellfish Poisoning with a *Gymnodinium catenatum* red tide on the Pacific coast of Mexico. *Mar. Environ. Res.* 19: 77-92.
- Michot, B. y Bachelierie, J.P. 1987. Comparison of long subunit rRNAs reveal some eukaryote specific elements of secondary structure. *Biochimie* 69: 11-23.

- Michot, B., Hassouna, N. y Bachelierie, J. P. 1984. Secondary structure of mouse 28S rRNA and general model for the folding of the large RNA in eukaryotes. *Nucleic Acids Research* 12: 4259-4279.
- Montresor, M. 2001. To what extent dinoflagellate life histories are important for HAB's?, pp. 18-21. En: *LIFEHAB Life histories of microalgal species causing harmful blooms*. Garcés, E., Zingone, A., Montresor, M., Reguera, B. y Dale, B. (Eds.). European workshop. Majorca, España. 208 pp.
- Montresor, M. y Marino, D. 1996. Modulating effect of cold-dark storage and excystment in *Alexandrium pseudogonyaulax* (Dinophyceae). *Mar. Biol.* 127: 55-60.
- Morales-Blake, A., Hernández-Becerril, D. y Cavazos-Guerra, C. 2000. Registros de mareas rojas en las bahías de Manzanillo, Colima, México, pp. 81-82. En: *Estudios sobre el plancton en México y el Caribe*. Ríos-Jara, E., Juárez-Carillo, E., Pérez-Peña, M., López-Urriarte, E., Robles-Jarero, E. G., Hernández-Becerril, D. U. y Silva-Briano, M. (Eds.). Resúmenes de Congreso, Sociedad Mexicana de Planctología y Universidad de Guadalajara. 147 p.
- Morquecho-Escamilla, M. L. y Lechuga-Devéze, C. H., 2003. Dinoflagellate cysts in recent sediments from Bahía Concepción, Gulf of California. *Bot. Mar.* 46: 132-141.
- Morquecho-Escamilla, M. L., Band-Schmidt, C. J., Lechuga-Devéze, C. H. y Góngora-González, D. T. 1999. Estado actual del estudio de los florecimientos de microalgas marinas en México. Resúmenes de Congreso. 3er Congreso Mexicano de Ficología. Octubre, La Paz, B.C.S. México. 75 pp.
- Negri, A. P., Bolch, C. J. S., Blackburn, S. I., Dickman, M., Llewellyn, L. E. y Méndez, S. 2001. Paralytic shellfish toxins in *Gymnodinium catenatum* strains from six countries, pp. 210-213. En: *Harmful Algal Blooms 2000. Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO*. Hallegraeff, G. M., Blackburn, S. I., Bolch, C. J. y Lewis, R. J. (Eds.), París.
- Nuzzo, L. y Montresor, M. 1999. Different excystment patterns in two calcareous cyst-producing species of the dinoflagellate genus *Scrpsiella*. *J. Plank. Res.* 21 (10): 2009-2018.
- Ochoa, J. L., Sánchez-Paz, A., Cruz-Villacorta, A., Nuñez-Vázquez, E. y Sierra-Beltrán, A. 1997. Toxic events in the northwest Pacific coastline of Mexico during 1992 - 1995: origin and impact. *Hydrobiology* 352: 195-200.
- Ochoa, J. L., Sierra-Beltrán, A., Alonso-Colmenares, G., Barradas-Sánchez, H., Cruz-Villacorta, A., Nuñez-Vázquez, E. y Sánchez-Paz, A. 1998. Biotoxins in the Pacific Coast of Mexico, pp. 441-447. En: *Mycotoxins and Phycotoxins: Developments in Chemistry, Toxicology and Food Safety*. Mirgalia, M., van Egmond, H., Brera, C. y Gilbert, J. (Eds.), E.U.A.
- Ogata, T., Kodama, M. y Ishimaru, 1989. Effect of water temperatures and light intensity on growth rate and toxin production of dinoflagellates, pp. 423-426. En: *Red Tides: Biology, Environmental Science, and Toxicology*. Okaichi, T., Anderson, D. M. y Nemoto, T. (Eds.).
- Olivera-Proenza, L.A., Tamanaha, M.S. y de Souza, N.P. , 2001. The toxic dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* Graham in southern Brazilian waters: occurrence, pigments and toxins. *Revista Atlántica*, Rio grande, 23: 59-65.
- Oshima, Y., Hasegawa, M., Yasumoto, T., Hallegraeff, G. y Blackburn, S. 1987. Dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* as the source of paralytic shellfish toxins in Tasmanian shellfish. *Toxicon*, 25 (10): 1105-1111.
- Oshima, Y., Blackburn, S. I., y Hallegraeff, G. M. 1993. Comparative study on paralytic shellfish toxin profiles of the dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* from three different countries. *Mar. Biol.* 116: 471-476.

- Ostergaard-Jensen, M. y Moestrup, Ø. 1997. Autoecology of the toxic dinoflagellate *Alexandrium ostenfeldii*: life history and growth at different temperatures and salinities. *Eur. J. Phycol.* 32: 9-18.
- Osorio-Tafall, B. F. 1943. El Mar de Cortés y la productividad fitoplanctónica de sus aguas. *Anal. Esc. Nat. Cien. Biol.* 3: 13-118.
- Palomares-García, R., Martínez-López, A. y Gárate-Lizárraga, I. 2002. Plankton community changes in Bahía Concepción, Mexico. *Oceánides*, 17(2): 113-128.
- Pfiester, L. A. y Anderson, D. M. 1987. Dinoflagellate reproduction. En: *The Biology of Dinoflagellates*. Bot. Monogr. Taylor, F.J.R. (Ed.) 21: 611-648.
- Prakash, A. 1967. Growth and toxicity of a marine dinoflagellate *Gonyaulax tamarensis*. *J. Fish. Res. Board Can.* 24: 589-606.
- Probert, I., Lewis, J. y Erard-Le Den, E. 1998. Intracellular nutrient status as a factor in the induction of sexual reproduction in a marine dinoflagellate, pp. 343-344. En: *Harmful Algae*. Reguera, B., Blanco, J., Fernández, M. L. y Wyatt, T (Eds.). Xunta de Galicia and Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Santiago de Compostela. España.
- Ramírez-Camarena, C., Cortés-Altamirano, R. y Muñoz-Cabrera, L. 1999. Mareas rojas provocadas por el dinoflagelado *Gymnodinium catenatum* (Gymnodiniales: Gymnodiniaceae) en la bahía de Mazatlán, Sin., México, en 1997. *Rev. Biol. Trop.* 47 (supl. 1): 77-80.
- Rengefors, K. 2001. Freshwater dinoflagellates: life history and HAB potential. pp. 64-66. En: *LIFEHAB: Life history of microalgal species causing harmful blooms*. Garcés, E., Zingone, A., Montresor, M., Reguera, B. y Dale, B. (Eds.). Report of European Workshop. 208 pp.
- Rengefors, K. y Anderson, D. M. 1998. Environmental and endogenous regulation of cyst germination in two freshwater dinoflagellates. *J. Phycol.* 34: 568-577.
- Rengefors, K., Anderson, D. M. y Pettersson, K. 1996. Phosphorous uptake by resting cysts of the marine dinoflagellate *Scrippsiella trochoidea*. *J. Plank. Res.* 18: 1753-1765.
- Sidabutar, T., Praseno, D. P. y Fukuyo, Y. 2000. Status of harmful algal blooms in Indonesian waters. Resúmenes de Congreso. *International Conference on Harmful Algal Blooms. 9th Conference*. Tasmania, Australia. p. 220.
- Scholin, C. A. y Anderson, D. M. 1994. Identification of group and strain specific genetic markers for globally distributed *Alexandrium* (Dinophyceae). I. RFLP analysis of SSU rRNA genes. *J. Phycol.* 30: 744-754.
- Scholin, C. A. y Anderson, D. M. 1996. LSU rDNA-based RFLP assays for discriminating species and strains of *Alexandrium* (Dinophyceae). *J. Phycol.* 32: 1022-1035.
- Scholin, C. A., Herzog, M., Sogin, M. y Anderson, D. M. 1994. Identification of group and strain specific genetic markers for globally distributed *Alexandrium* (Dinophyceae). II. Sequence analysis of a fragment of the LSU rRNA gen. *J. Phycol.* 30: 999-1011.
- Scholin, C. A., Hallegraeff, G. M. y Anderson, D. M. 1995. Molecular evolution of the *Alexandrium tamarensis* "species complex" (Dinophyceae): dispersal in the North American and West Pacific regions. *Phycologia* 34 (6): 472-485.

- Shumilin, E., Godinez-Orta, L., Cruz-Orozco, R., Sapozhnikov, D., Solis-Nuñez, S. y Sapozhnikov, Y. 1996. Características litológico-geoquímicas de los sedimentos superficiales de Bahía Concepción, B.C.S. *Actas INAGEQ*, 2: 79-84.
- Sierra-Beltrán, A. P., Morquecho-Escamilla, M. L., Lechuga-Devéze, C. H. y Ochoa, J. L. 1996. PSP monitoring program at Baja California Sur, Mexico, p. 105-108. En: *Harmful and toxic algal blooms*. Yasumoto, T. Oshima, Y. y Fukuyo, Y. (Eds.). Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO. 586 pp.
- Sierra-Beltrán, A., Cruz, A., Núñez E., Del Villar, L.M., Cerecero, J. y Ochoa, J.L. 1998. An overview of the marine food poisoning in México. *Toxicon* (36): 1493-1502.
- Sotomayor-Navarro, O. 1994. Desarrollo de la marea roja tóxica producida por *Pyrodinium bahamense* var. *compressum* en el Golfo de Tehuantepec México 1989-1990. *Comp. Oceanog. G. Tehuantepec*, EIO. SC. DGON. SM.: 087-113.
- Spalter, R. A., Walsh, D., Reeves, R. A., Saul, D. J., Gray, R. D., Bergquist, P. L., MacKenzie, L. y Bergquist, P. R. 1997. Sequence heterogeneity of the ribosomal RNA intergenic region for the detection of *Alexandrium* species. *Biochem. Syst. Ecol.* 25: 231-239.
- Steidinger, K. A. 1975. Basic factors influencing red tides, pp. 153 – 162. En: *Proceedings of the First International Conference of Toxic Dinoflagellate Blooms*. LoCicero, V.R., (Ed.), Wakofield, M. A. Massachusetts Science and Technology Foundation.
- Steidinger, K. A. y Haddad, K. 1981. Biologic and hydrographic aspects of red tides. *BioScience* 31: 814-819.
- Taroncher-Oldenburg, G., Kulis, D.M. y Anderson, D.M. 1997. Toxin variability during the life cycle of the dinoflagellate *Alexandrium fundyense*. *Limnol. Oceanogr.* 42(5 part 2): 1178-1188.
- Tester, P. A., Wiles, K., Varnam, S. M. y Arenas-Fuentes, V. 2002. Harmful algal blooms in the Western Gulf of Mexico: *Karenia brevis* is messin' with Texas!. Conference abstracts, Xth International Conference on Harmful Algae. Resúmenes de Congreso. Octubre, St. Pete Beach, Florida, E.U.A. 279 p.
- Tyler, B. 1978. Regulation of the assimilation of nitrogen compounds. *Ann. Rev. Biochem.* 47: 1127-1162.
- Usup, G., Pin, L. C., Teen, L. P. y Ahmad, A. 2002. Occurrence of proven and potentially harmful phytoplankton species in marine waters of Malaysia. Resúmenes de Congreso, Xth International Conference on Harmful Algae. Octubre, St. Pete Beach, Florida, E.U.A. p. 287.
- Vera, G., Fraga, S., Franco, J. M. y Sánchez, G. 1999. Primer registro en el Perú del dinoflagelado *Alexandrium affine* Inoue y Fukuyo. *Informe Progresivo. Instituto del Mar del Perú (IMARPE)*, No. 105. 12 pp.
- Verdugo-Díaz, G. 1997. Cambios estacionales del fitoplancton y de la composición bioquímica del material orgánico particulado en Bahía Concepción, B.C.S. Tesis de maestría. CICIMAR-IPN. 100 pp.
- Wagey, G. A., Wiadnyana, N. N., Harrison, P. J. y Taylor, F. J. R. 2000. *Alexandrium affine* (Inoue and Fukuyo) Balech bloom in Ambon bay, Indonesia. Resúmenes de Congreso. *International Conference on Harmful Algal Blooms. 9th Conference*. Tasmania, Australia. p. 243.
- Wall, D. y Dale, B. 1968. Modern dinoflagellate cysts and evolution of the Peridinales. *Micropaleontology* 14: 265 - 304.

- Wall, D., Guillard, R.R.L., Dale, B., Swift, E. y Watanabe, N. 1970. Clastic resting cysts in *Peridinium trochoideum* (Stein) Lemmerman, an autotrophic marine dinoflagellate. *Phycologia*, 9: 151-156.
- Walsh, D., Reeves, R. A., Saul, D. J., Gray, R. D., MacKenzie, L., Bergquist, P. R. y Bergquist, P. L. 1998. Heterogeneity of SSU and LSU rDNA sequences of *Alexandrium* species. *Biochem. Syst. Ecol.* 26: 495-509.
- Wyatt, T. y Jenkinson, I. R. 1997. Notes on *Alexandrium* population dynamics. *J. Plank. Res.* 19(5): 551-575.
- Yamamoto, T., Oh, S. J. y Kataoka, Y. 2002. Effects of temperature, salinity and irradiance on the growth of the toxic dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* (Dinophyceae) isolated from Hiroshima Bay, Japan. *Fish. Sci.* 68: 356-363.
- Yoshida, M., Van Thuoc, C., Matsuoka, K., Ogata, T., Fukuyo, Y. y Chu, N. 2000. The occurrence of PSP and DSP causative dinoflagellates in northern Vietnamese coastal waters. *International Conference on Harmful Algal Blooms. 9th Conference*. Tasmania, Australia.