

UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

INFLUENCIA DE RECURSOS Y REGULADORES EN LA ABUNDANCIA DE DINOFLAGELADOS BENTÓNICOS DEL CARIBE

EDGAR ARTEAGA SOGAMOSO

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

2023

INFLUENCIA DE RECURSOS Y REGULADORES EN LA ABUNDANCIA DE DINOFLAGELADOS BENTÓNICOS DEL CARIBE

EDGAR ARTEAGA SOGAMOSO

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:
Doctor en Ciencias – Biología

Director:

Ph.D. JOSÉ ERNESTO MANCERA PINEDA

Codirector:

Ph.D. SVEN ELOY ZEA SJOBERG

Línea de Investigación:

Biología Marina

Universidad Nacional de Colombia

Instituto de Estudios en Ciencias del Mar - CECIMAR

Convenio Universidad Nacional de Colombia - INVEMAR

Santa Marta, D.T.C.H., Colombia

2023

“No se puede pasar un solo día sin tener un impacto en el mundo que nos rodea. Lo que hacemos marca la diferencia, y tenemos que decidir qué tipo de diferencia queremos hacer”

Jane Goodall

Agradecimientos

A mi mamá, Miryam, a mi papá (Salomón, a quien extraño mucho) a mi hermana Liliana, y en especial a mi esposa María Victoria y a mi hijo Edgar Andrés por su constante paciencia, apoyo y ánimo brindado durante la realización de este trabajo.

A mi Director y Codirector Ernesto Mancera y Sven Zea por su permanente disponibilidad, paciencia, orientación y oportunas sugerencias.

A mis compañeros de trabajo y estudio: en especial a la Doctora Luisa Espinosa, así como a Carlos Daza, Janet Vivas, Laura Perdomo, Natalia Arbeláez y a Julián Franco.

Al Doctor Francisco Rodríguez por compartir sus conocimientos durante mi pasantía en España.

A Ana Milena Cárdenas por su amistad y constante apoyo en los procesos administrativos (UNAL).

Finalmente, a todas las personas que de una otra manera, contribuyeron de alguna manera en este trabajo como: Santiago Fraga, Pilar Riobó, Begoña Ben Gigirey, Alberto Amato, Tomohiro Nishimura, Nicolas Chomérat, Masao Adachi, Luciano Felicio Fernandes, Carlos Eduardo J. de Azevedo Tibiriçá, Chiho Homma, Luis Mafra, entre otros que aportaron su granito de arena.

Este trabajo de tesis fue posible gracias al Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación de Colombia -MINCIENCIAS (COLCIENCIAS, Convocatoria 272 de 2015) y la Universidad Nacional (cod. HERMES: 40410) que financiaron el proyecto de investigación "Influencia de recursos y reguladores en la abundancia de dinoflagelados bentónicos del Caribe". Igualmente, reitero a COLCIENCIAS por su apoyo para mi sostenimiento y matrícula durante el periodo de estudio (Convocatoria 272 de 2015) y así también por su apoyo junto con la Universidad Nacional en mi pasantía de investigación en el Instituto Español de Oceanografía (IEO). También agradezco el valioso apoyo del Instituto de Investigaciones

Marinas y Costeras (INVEMAR, Aporte número: 1340) junto con el Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible (MINAMBIENTE) a través de Proyecto BPIN y el Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA) a través del Contrato de Investigación RC#18827 ("Proyecto Bentox") y los proyectos de Cooperación Técnica RLA/7/014 y RLA/7/020.

Resumen

Durante el año 2018, en condición predominante El Niño/La Niña neutral, se realizaron tres muestreos en el Caribe continental colombiano en las épocas seca-marzo, lluviosa menor-transición-junio y lluviosa-octubre, en dos sitios con entornos particulares (Bahía Chengue y Bonito Gordo; Parque Nacional Natural Tayrona, Departamento del Magdalena), llevados a cabo para: 1) Describir y evaluar la variación de la abundancia espacial y temporal de dinoflagelados bentónicos más representativos en relación con factores ambientales (recursos: nutrientes e intensidad lumínica y reguladores: profundidad, temperatura, salinidad, transparencia, sólidos suspendidos totales-SST, precipitación y flujo de agua), mediante observaciones diarias consecutivas de seis días a lo largo de cada época climática (Capítulo 1); 2) Determinar la dinámica del proceso de adherencia de los dinoflagelados bentónicos, comparando la abundancia entre sustrato artificial (mallas en fibra de vidrio) y natural (*Thalassia testudinum*), la variabilidad diaria de la abundancia durante seis días consecutivos, así como a lo largo de diferentes periodos de exposición (24, 72 y 144 h) en sustratos artificiales (Capítulo 2) y 3) Actualizar sobre la presencia de especies de dinoflagelados bentónicos potencialmente toxigénicos en el Caribe colombiano (Capítulo 3). Las mayores abundancias y ocurrencias de *Gambierdiscus* spp, se presentaron en las épocas de transición y lluviosa asociadas con mayor temperatura, menor movimiento de agua y nivel de iluminación; en *Ostreopsis* cf. *ovata*, las mayores abundancias se presentaron en la época de transición, con menores registros y ausencias en la época lluviosa mayor, tendiendo a ser favorecidos por condiciones de menor precipitación, transparencia, de nitrógeno inorgánico biodisponible y profundidad; para *Ostreopsis* spp. y *Prorocentrum* cf. *lima*, no se observaron asociaciones claras, presentándose las mayores abundancias en épocas con condiciones contrastantes (seca y lluviosa), indicado la posible coexistencia de diferentes especies con requerimientos diferentes para el primero y un carácter generalista en el segundo, respectivamente. Respecto a la adherencia sobre sustratos, las similitudes en los comportamientos entre sustratos naturales y artificiales, así como las correlaciones altas,

positivas y significativas halladas, hace factible el uso de los sustratos artificiales como sustituto de los naturales para los morfotipos seleccionados. En cuanto a los diferentes tiempos de exposición de los sustratos, en *Gambierdiscus* spp., *Ostreopsis* spp. y *Ostreopsis* cf. *ovata* (en B. Gordo), no se observó incrementos en las abundancias, sugiriendo una alta dinámica, transitoriedad y aparente baja asociación hacia los sustratos, por lo que no habrían grandes diferencias si los sustratos son expuestos por 24, 72 o 144 h; mientras que *Prorocentrum* cf. *lima* y *Ostreopsis* cf. *ovata* (en B. Chengue) al mostrar incrementos a través del tiempo, indicaría una mayor asociación hacia los sustratos al permanecer más tiempo adheridos sobre éstos, considerándose el tiempo de exposición hasta de 24 h o menos como el más adecuado para evitar la acumulación de estos organismos. Respecto al comportamiento diario consecutivo, generalmente no se apreciaron tendencias de aumento o disminuciones o diferencias entre las abundancias. Finalmente, se confirmó la presencia de *Gambierdiscus caribaeus*; así como el primer reporte de *Prorocentrum borbonicum*, detectándosele 42-hidroxi-palitoxina (primera vez registrada en dinoflagelados); y el hallazgo de una nueva especie toxigénica, *Prorocentrum porosum* sp. nov (Dinophyceae), productor de ácido okadaiko.

Palabras clave: Dinoflagelados bentónicos, Caribe colombiano, HABs, Floraciones algales nocivas, *Gambierdiscus*, *Prorocentrum*, *Ostreopsis*, sustratos naturales y artificiales.

Abstract

Influence of resources and regulators on the abundance of benthic dinoflagellates of the Caribbean

During the year 2018, in a predominantly neutral El Niño/La Niña condition, three samplings were carried out in the Colombian continental Caribbean in the dry seasons greater-March, rainy lesser-transition-June and humid greater-October, in two sites with particular environments (Bahía Chengue and Bonito Gordo; Tayrona National Natural Park, Department of Magdalena), carried out to: 1) Describe and evaluate the variation in the spatial and temporal abundance of the most representative benthic dinoflagellates in relation to environmental factors (resources: nutrients and light intensity, and regulators: depth, temperature, salinity, transparency, total suspended solids-TSS, precipitation and water flow), through consecutive daily observations of six days throughout each climatic season (Chapter 1); 2) Determine the dynamics of the fixation process of benthic dinoflagellates, comparing their abundance between artificial (fiberglass mesh) and natural (*Thalassia testudinum*) substrate, their daily variability for six consecutive days and throughout different exposure periods (24, 72 and 144 h) on artificial substrates (Chapter 2) and 3) Report the presence and toxigenicity of some species in the Colombian Caribbean (Chapter 3). A positive correlation was observed between the abundances of *Gambierdiscus* spp. mainly with temperature, being higher in the less rainy and greater rainy seasons and with less movement of water and level of lighting; in *Ostreopsis* cf. *ovata*, the highest abundances occurred in the lesser rainy season, mainly in B. chengue, with fewer records and absences in the greater rainy season, tending to be favored by conditions of less precipitation, transparency, bioavailable inorganic nitrogen, and depth; for *Ostreopsis* spp. and *Prorocentrum* cf. *lima*, no clear associations were observed, presenting the highest abundances in seasons with contrasting conditions (higher dry and higher rainy), indicating the possible coexistence of different species with different requirements and a generalist behavior in the first and second morphotypes, respectively. In the fixation tests on substrates, the high, positive and significant correlations, together

with the concordances found in the behavior of abundances between the natural and artificial substrates according to seasons and sites, would make it feasible to use artificial substrates as a substitute for the natural ones for the selected morphotypes. Regarding the exposure times of the substrates, in *Gambierdiscus* spp., *Ostreopsis* spp. and *Ostreopsis* cf. *ovata* (in B. Gordo), a high dynamic, transience and apparent low selectivity towards the substrates was observed, suggesting no differences if they are exposed for 24, 72 and 144 h; while *Prorocentrum* cf. *lima* and *Ostreopsis* cf. *ovata* (in B. Chengue) when showing sustained increases in abundance, indicated tendencies to remain attached to them for longer, determining the exposure time up to 24 h as the most appropriate. Regarding the daily behavior, only increasing or decreasing trends or differences between the abundances of *Ostreopsis* spp. Finally, the presence of *Gambierdiscus caribaeus* was confirmed molecularly; as well as the first report of *Prorocentrum borbonicum*, detecting 42-hydroxy-palytoxin (first time recorded in *Prorocentrum*); and the discovery of a new toxigenic species, *Prorocentrum porosum* sp. nov (Dinophyceae), producer of okadaiko acid.

Keywords: Benthic dinoflagellates, Colombian Caribbean, HABs, Harmful algal blooms, *Gambierdiscus*, *Prorocentrum*, *Ostreopsis*, natural and artificial substrates.

Contenido

	Pág.
Resumen	XI
Introducción	1
1. Capítulo 1.....	5
1.1 Introducción.....	5
1.2 Materiales y métodos	9
1.2.1 Área de estudio.....	9
1.2.2 Fase de Campo	11
1.2.3 Fase de laboratorio.....	12
1.2.4 Análisis de la información	13
1.3 Resultados	14
1.3.1 Comportamiento de las variables ambientales.....	14
1.3.2 Comportamiento general de las variables biológicas	20
▪ Gambierdiscus spp.	20
▪ Prorocentrum cf. lima	21
▪ Ostreopsis cf. ovata	21
▪ Ostreopsis spp.	22
1.3.3 Descripción conjunta de las condiciones abióticas (recursos y reguladores) y bióticas (abundancias de dinoflagelados bentónicos en sustratos artificiales)	24
1.3.4 Asociación entre variables biológicas y ambientales (recursos y reguladores).....	26
1.4 Discusión	28
1.5 Conclusiones y recomendaciones	35
2. Capítulo 2.....	37
2.1 Introducción.....	37
2.2 Materiales y métodos	42
2.2.1 Área de estudio.....	42
2.2.2 Fase de campo.....	44
2.2.3 Fase de laboratorio.....	46
2.2.4 Análisis de la información	48
2.3 Resultados	49
2.3.1 Análisis de correlación entre área y peso foliar en <i>Thalassia testudinum</i>	49
2.3.2 Análisis comparativo del comportamiento y correlación de la abundancia de dinoflagelados bentónicos entre sustratos naturales (macrófita: <i>Thalassia testudinum</i>) y artificiales (colectores de mallas de fibra de vidrio)	50
2.3.3 Análisis de la variación de los promedios de abundancia diaria (24 h) a lo largo de seis días consecutivos en sustratos artificiales (mallas de fibra de vidrio) ..	57

2.3.4	Comportamiento de los promedios de abundancia respecto a diferentes periodos de exposición del sustrato (24, 72 y 144 h) en sustratos artificiales (mallas de fibra de vidrio).....	63
2.4	Discusión de resultados	70
2.4.1	Análisis de correlación y comparación del comportamiento de la abundancia de dinoflagelados bentónicos entre sustratos naturales y artificiales (macrófita: <i>Thalassia testudinum</i> vs colectores: mallas de fibra de vidrio).....	70
2.4.2	Comportamiento de los promedios de abundancia a nivel diario (24 horas de exposición, en mallas de fibra de vidrio como sustrato).....	72
2.4.3	Comportamiento de la abundancia respecto a diferentes periodos de exposición (24, 72 y 144 h), en mallas de fibra de vidrio como sustrato	74
2.5	Conclusiones y recomendaciones	79
3.	Capítulo 3.....	81
3.1	Introducción.....	81
3.2	Materiales y métodos	82
3.2.1	Origen de los especímenes y condiciones de cultivo	82
3.2.2	Análisis Morfológico	84
	▪ Observaciones al microscopio de luz y microscopía electrónica de barrido (MEB)	84
3.2.3	Análisis molecular.....	86
	▪ Extracción de ADN, ampliación en PCR y secuenciación de ADN	86
	▪ Análisis filogenético	88
3.2.4	Perfil toxicológico.....	91
	▪ Procesamiento de muestras y extracción de toxinas	91
	▪ Análisis toxicológicos	93
3.3	Resultados	96
3.3.1	Morfología.....	96
3.3.2	Análisis filogenético	108
3.3.3	Análisis toxigénico	114
3.4	Discusión	121
3.4.1	Morfología.....	121
3.4.2	Distribución geográfica	128
3.4.3	Ecología y comportamiento.....	129
3.4.4	Relaciones Filogenéticas	132
3.4.5	Toxigenidad.....	134
3.5	Conclusiones y recomendaciones	138
	Bibliografía	139

Introducción

Los dinoflagelados bentónicos, mucho menos estudiados y conocidos que los planctónicos, se les puede encontrar en la columna de agua como asociados gran variedad de sustratos que abarcan desde vivos (macroalgas, fanerógamas marinas, céspedes e inclusive briozoos) a inertes (coral muerto, rocas, arena, desechos de origen antrópico), fijos o en movimiento (macroalgas flotantes o basura marina flotante, conchas o caparazones de organismos vivos).

Últimamente las investigaciones sobre este grupo de organismos han despertado gran interés debido no solo por su papel como productores primarios dentro de la red trófica, como captadores y fijadores de CO₂, sino porque una gran parte de las especies que lo conforman son conocidos productores de diversos tipos toxinas (Nakajima *et al.*, 1981; Anderson y Lobel, 1987; Yasumoto *et al.*, 1987), que generalmente se transfieren a través de la red trófica, aunque también por contacto directo con el agua que contiene las toxinas. Siendo implicados en la mortandad de diversos organismos marinos (Granéli *et al.*, 2002; Ferreira, 2006) llegando también a afectar la salud humana, comprometiendo la seguridad alimentaria y generando problemas a nivel social, ambiental y económico (Lawrence *et al.*, 2000; Gallitelli *et al.*, 2005; Tester *et al.*, 2010; Tichadou *et al.*, 2010; Parsons *et al.*, 2012; Del Favero *et al.*, 2012; Sahraoui *et al.*, 2013; Carella *et al.*, 2015). Esta problemática parece haberse incrementado (Hallegraeff *et al.*, 2004) y exacerbado por el calentamiento global, la degradación de los ecosistemas marinos, la eutrofización de aguas costeras y la sobrepesca (Tester *et al.*, 2010; Accoroni y Totti, 2016; Tester *et al.*, 2020). Para el Caribe colombiano se ha confirmado la presencia de estos organismos, destacándose por sus antecedentes nocivos, abundancia y permanencia casi permanente los géneros *Gambierdiscus*, *Prorocentrum* y *Ostreopsis* (Rodríguez *et al.*, 2010; Malagón y Perdomo, 2011; INVEMAR, 2013; Mancera-Pineda *et al.*, 2014; Ruíz, 2016; Arbeláez, 2017). El primero, *Gambierdiscus*, se vincula a la producción de ciguatoxinas y maitotoxinas, causantes del envenenamiento ciguatérico por consumo peces o ciguatera y del que se tiene registros de casos sospechosos en Colombia (Martínez, 1977; Álvarez, 1997; Gaitán,

2007; Álvarez, 1999; Carreño y Mera, 2008; Borbón, 2015; Celis y Mancera-Pineda, 2015); el segundo por especies productoras de ácido okadaico, procontrolidos y dinofisistoxinas, asociadas a intoxicaciones diarreicas por consumo de mariscos (Torigoe *et al.*, 1988; Faust *et al.*, 1999; Amar *et al.*, 2018); y el tercero, *Ostreopsis*, con especies productoras de palitoxinas, ovatoxinas, mascarenotoxinas, ostreocinas y otras toxinas que contaminan mariscos y peces (Ciminiello *et al.*, 2008a; Ciminiello *et al.*, 2008b; Ciminiello *et al.*, 2011; García-Altare *et al.*, 2015), además al agua, haciendo que el espray marino se torne tóxico causando irritaciones epidérmicas y en las vías respiratorias de los bañistas pescadores y otras personas expuestas por vivir cerca a las playas afectadas (Gallitelli *et al.*, 2005, Tichadou *et al.*, 2010; Ciminiello *et al.*, 2014), así como causar mortandades a otros organismos marinos (Granéli *et al.*, 2002; Ferreira, 2006; Carella *et al.*, 2015).

No obstante, estas problemáticas, gran parte de los rasgos biológicos y ecológicos de estos organismos permanecen aún desconocidos y los estudios realizados muchas veces revelan resultados contradictorios, lo que se debería en parte al complejo modo de vida tanto planctónico como bentónico que los caracterizan, lo que ha resultado en el uso de diferentes metodologías de estudio muchas veces no comparables entre sí; tales como el estudio en diferentes tipos de sustratos naturales (habitualmente en macrofitas) o artificiales. Siendo también importante establecer la resolución temporal (generalmente efectuada mensual o quincenalmente) de los muestreos (Bagnis *et al.*, 1981; Accoroni *et al.*, 2012b; Sahraoui *et al.*, 2013; Okolodkov *et al.*, 2014; Arbeláez, 2017), requiriéndose posiblemente de observaciones a escalas más apropiadas, más cortas, dado sus complejos y cortos ciclos de vida (Jackson *et al.*, 1993; Marasigan *et al.*, 2001; Kibler *et al.*, 2012; Okolodkov *et al.*, 2014). En la medida en que se tenga un mayor conocimiento de estos organismos se mejoraría el diseño e implementación de los planes de gestión del riesgo, para prevenir o mitigar los efectos de estos eventos.

El presente estudio se realizó durante el año 2018, en el Parque Nacional Natural Tayrona (PNNT), ubicado aproximadamente a 14 Km al nororiente de la ciudad de Santa Marta, Departamento del Magdalena, norte de Colombia, sobre la costa centro-sur del mar Caribe, en dos sitios con entornos particulares (Bahía Chengue y Bonito Gordo, éstos separados por aproximadamente 5 Km), considerándose tres épocas climáticas características de la zona: seca (marzo); lluviosa menor-transición (junio) y lluviosa (octubre), en condición ENOS (El Niño Oscilación Sur) con tendencia neutral, con mediciones diarias durante seis días consecutivos.

Los objetivos del presente trabajo fueron: 1) Describir y evaluar la variación de la abundancia espacial y temporal de dinoflagelados bentónicos en relación con los factores ambientales (desglosados como recursos: nutrientes e intensidad lumínica y reguladores: profundidad, temperatura, salinidad, transparencia, sólidos suspendidos totales- SST, precipitación y movimiento de agua), mediante observaciones sistemáticas de alta resolución temporal (diarias a lo largo de épocas climáticas características) (Capítulo 1); 2) Conocer dinámica del proceso de la fijación de dinoflagelados bentónicos potencialmente nocivos a través de su abundancia, comparando y evaluando entre sustrato artificial y natural, su variabilidad diaria consecutiva y a lo largo de diferentes periodos de exposición de sustratos (Capítulo 2) y 3) Actualizar la presencia y toxigenidad de algunas especies presentes en el Caribe colombiano (Capítulo 3).

1. Capítulo 1

Variación espacio temporal de la abundancia de dinoflagelados bentónicos del Caribe continental colombiano y su asociación con variables ambientales (recursos y reguladores)

1.1 Introducción

Las Floraciones Algales Nocivas, FANs, son eventos naturales caracterizados por el crecimiento de ciertas microalgas que generan diversos tipos de impactos percibidos como perjudiciales, que van desde alteraciones del medio ambiente al producir agotamiento de oxígeno, la producción de mucílagos y otros compuestos, la competencia por recursos, los daños físicos causados por estructuras morfológicas (espinas) provocando lesiones en las branquias de peces u otros organismos (Hallegraeff *et al.*, 2004), así como la producción de potentes toxinas que pueden ser letales para la biota marina y para el hombre (Sar *et al.*, 2002; Hallegraeff *et al.*, 2004; Mancera-Pineda *et al.*, 2009; Gómez *et al.*, 2011), llegando a ocasionar importantes pérdidas económicas en países costeros que soportan su economía en los servicios ecosistémicos proporcionados por el mar (Delgado, 2005). Por lo anterior, las FANs están adquiriendo mayor interés a nivel mundial, especialmente las que generan toxinas, ante su aparente expansión espacial e incremento en frecuencia y severidad en los últimos años, pudiendo ser favorecidas por el cambio climático, la

degradación de los ecosistemas marinos, la eutrofización de aguas costeras, la sobrepesca, entre otros.

Aunque varios grupos de microalgas son capaces de generar estos eventos, en el medio marino se destacan los dinoflagelados al contener gran cantidad de especies productoras de toxinas (Gómez *et al.*, 2011); sobresaliendo entre los de vida planctónica como *Alexandrium*, *Gymnodinium*, *Pyrodinium* causantes de la intoxicación paralizante por ingesta de mariscos (PSP-Paralytic Shellfish Poisoning), *Karenia* por intoxicación neurotóxica por consumo de mariscos (NSP-Neurotoxin Shellfish Poisoning), *Dinophysis*, por intoxicaciones diarreicas (DSP-Diarrhetic Shellfish Poisoning), asociada a varias tipos de toxinas (Hallegraef *et al.*, 2004), y para los de vida bentónica, mucho menos conocidos, como *Gambierdiscus*, *Fukuyoa*, *Prorocentrum*, *Ostreopsis* y *Coolia*, siendo el primero y segundo de estos géneros asociados con la producción de ciguatoxinas y maitotoxinas, causantes del envenenamiento ciguatérico por ingesta de peces o ciguatera (Litaker *et al.*, 2010; Parsons *et al.*, 2010; Parsons *et al.*, 2012); el tercero con las de especies productoras de ácido okadaico, prorocontrolidos y dinofisistoxinas, ocasionando generalmente intoxicaciones diarreicas por consumo de mariscos (Murakami *et al.*, 1982; Marr *et al.*, 1992; Lawrence *et al.*, 2000; Hoppenrath *et al.*, 2013), el cuarto género, *Ostreopsis*, con especies productoras de análogos de la palitoxina, ovatoxinas, mascarenotoxinas, ostreocinas y otras toxinas que no solo contaminan bivalvos, peces y otros organismo de consumo humano, sino también al agua, causando por contacto directo irritaciones de la piel, los ojos y las vías respiratorias a través del espray marino que se torna tóxico (Gallitelli *et al.*, 2005; Tichadou *et al.*, 2010), afectando a bañistas, pescadores y demás personas expuestas a estas floraciones (Aligizaki y Nikolaidis, 2006; Ciniello *et al.*, 2008; Mangialajo *et al.*, 2008; Accoroni y Totti, 2016) así como causar mortandades a otros organismos marinos (Granéli *et al.*, 2002; Ferreira, 2006; Carella *et al.*, 2015); mientras que el quinto género, *Coolia*, es productora de cooliatoxinas (Momigliano *et al.*, 2013).

Como todos los organismos, la dinámica de los dinoflagelados bentónicos ésta enmarcada dentro de una serie de interacciones entre las variables ambientales (factores extrínsecos: clasificados como recursos y reguladores) y las características fisiológicas de los individuos (factores intrínsecos) regulados por su estructura genética (Wetzel, 1981; Álvarez, 1981). Estos factores en conjunto determinan el desarrollo de sus poblaciones, su membresía en las comunidades y su papel en los ecosistemas. Los recursos son consumidos directamente por los organismos, presentándose a veces relaciones de competencia entre

especies, mientras que los reguladores inciden directamente en la naturaleza y abundancia de los recursos y en la velocidad de utilización; lo anterior asociado al concepto de nicho ecológico que es inherente a cada especie. Los trabajos en que se relacionan la abundancia de los dinoflagelados bentónicos con los factores ambientales, son importantes no solo para un mayor conocimiento de estas especies, pero también por que permitirían dar pautas de manejo para la prevención y mitigación de sus impactos.

Por su localización geográfica y características ambientales, las costas continental e insular del Caribe colombiano poseen condiciones propicias para el desarrollo y la presencia de dinoflagelados bentónicos, constatándose por la presencia casi permanente de los cinco géneros anteriormente mencionados (Rodríguez *et al.*, 2010; Malagón y Perdomo, 2011; INVEMAR, 2013; Mancera-Pineda *et al.*, 2014; Ruíz, 2016; Arbeláez, 2017), así como el registro de casos sospechosos de ciguatera (Martínez, 1977, Álvarez, 1997; Gaitán, 2007; Carreño y Mera, 2008; Borbón, 2015). Lo anterior pone en evidencia el riesgo potencial que representan estos organismos en el área de estudio y la necesidad de estudiarlos.

Sin embargo, a diferencia de los planctónicos que permanecen siempre en la columna de agua, los dinoflagelados bentónicos se encuentran en la columna de aguas poco profundas como también asociados a diferentes sustratos, como macroalgas, pastos marinos, restos de coral, rocas, sedimentos y otros (Aligizaki *et al.*, 2009; Cohu *et al.*, 2011; Accoroni, 2012). Este complejo modo de vida, en el que se comparten hábitos planctónicos como bentónicos ha dificultado estudiarlos, por lo que muchos estudios, incluidos los analizan las relaciones entre la abundancia de estos organismos con las variables ambientales muestran aún resultados contradictorios.

En los dinoflagelados bentónicos los estudios se realizan usualmente en sustratos naturales (principalmente macrófitas: macroalgas y fanerógamas marinas), sin embargo, no son comparables cuando se realizan entre diferentes tipos de macrófitas y la abundancia se expresa en número de dinoflagelados/peso de macrófita, esto debido a la variabilidad y complejidad morfológica de éstas y aunque podrían compararse si se expresaran en número de dinoflagelados/área superficial de macrófita, de nuevo la misma complejidad morfológica hace impráctico la determinación de dicha área.

Teniendo en cuenta que los dinoflagelados bentónicos son capaces de colonizar nuevos sustratos los que después de un período de tiempo alcanzan una proporción similar a la abundancia de su entorno (Nakahara et al., 1996; Tester et al., 2014), como una alternativa a los sustratos naturales se ha sugerido el uso de sustratos artificiales que permitan de manera más exacta la estimación de su superficie, los que se emplearán y evaluarán en el presente trabajo, aportando también al conocimiento en cuanto al comportamiento del asentamiento de estos organismos.

Otro punto a tener en cuenta es la baja resolución temporal (generalmente de periodicidad mensual o quincenal) los muestreos (Bagnis et al, 1981; Accoroni et al., 2012a; Sahraoui et al., 2013; Okolodkov et al., 2014; Arbeláez, 2017), la cual podría no ajustarse al corto ciclo de vida y a las tasas de crecimiento (entre 0,1 y 0,5 divisiones por día) que generalmente presentan (Jackson et al., 1993; Marasigan et al., 2001; Kibler et al., 2012; Okolodkov et al., 2014), por lo que se realizarán observaciones sistemáticas de alta resolución temporal (diarias a lo largo de épocas climáticas características).

En el presente trabajo, se describirá y evaluará variación de la abundancia espacial y temporal de dinoflagelados bentónicos en relación con los factores ambientales (recursos: concentración de nutrientes e intensidad lumínica y reguladores: profundidad, temperatura, salinidad, transparencia, sólidos suspendidos totales - SST, precipitación y flujo de agua), mediante observaciones sistemáticas de alta resolución temporal (diarias), considerando las distintas épocas climáticas (seca, lluviosa y transición) en el área de Santa Marta en el Caribe colombiano, caracterizadas oceanográficamente por alternancia de pulsos estacionales de afloramiento costero (en la época seca) y de descargas continentales (época húmeda), y en sitios con diferente grado de intervención antrópico (reflejado en la distancia respecto sitios con asentamientos humanos e interevención por actividades turísticas y pesqueras), así como diferencias en cuanto a profundidad y flujo o movimiento de agua. Buscando patrones y mecanismos sobre su funcionamiento que aporten a la predicción de las proliferaciones de estos organismos, contribuyendo a prevenir o mitigar sus negativos impactos y al conocimiento de su nicho ecológico.

1.2 Materiales y métodos

1.2.1 Área de estudio

El presente trabajo se desarrolló en la bahía de Chengue (11°19'16,4 N; 74°07'36,5 O) y Bahía Concha (en el sector Bonito Gordo, 11°17'55,8 N; 74°10'8,2 O), ubicadas aproximadamente a 14 Km al nororiente de la ciudad de Santa Marta, Departamento del Magdalena, norte de Colombia, obre la costa centro-sur del mar Caribe (Figura 1-1). El sistema climático de esta zona se considera dependiente de las oscilaciones de la Zona de Convergencia Intertropical (ZCIT) cuya manifestación se caracteriza por la presencia permanente de nubes y abundantes precipitaciones (IDEAM-UPME, 2006), disminución de los vientos Alisios (del sureste o noreste que convergen en dicha zona) y una inversión de la corriente superficial marina en sentido oeste-este (Donoso, 1990; Andrade, 1993). Para esta zona se consideran cuatro épocas climáticas: la época seca mayor (diciembre-abril), con fuerte predominio de los vientos Alisios del noreste (Márquez-Calle, 1982; Bula-Meyer, 1990) y favorecimiento de afloramientos costeros de tipo mesotrófico (Franco-Herrera 2005); las épocas lluviosa menor (mayo-junio) y seca menor (Julio-Agosto), ambas consideradas de transición, con debilitamiento de los vientos Alisios, de las lluvias y del afloramiento; y la época lluviosa mayor (septiembre-noviembre) donde ocurre la mayor proporción anual de lluvias por la presencia de la ZCIT y un mayor aporte de los ríos y de la escorrentía (García-Hoyos *et al*, 2010) y con un mayor debilitamiento de los vientos Alisios. La temperatura superficial del mar suele oscilar entre los 26,8 y 30,7 °C (en las épocas seca mayor y lluviosa mayor, respectivamente) y la salinidad entre los 26,9 (lluviosa mayor) y 37,0 (seca mayor) (Ricaurte-Villota y Bastidas, 2017). Sin embargo, estos patrones y valores pueden verse alterados también por eventos climáticos de gran escala como El Niño y La Niña, destacándose durante el desarrollo del presente trabajo la tendencia hacia condiciones neutrales (IDEAM, 2018a; IDEAM, 2018b; IDEAM, 2018c; IDEAM, 2019).

Bahía Chengue y Bonito Gordo (este último en Bahía Concha y más cercano a Santa Marta) (Figura 1-1), forman parte del Parque Nacional Natural Tayrona (PNNT), siendo una de las áreas núcleo de la Reserva de la Biosfera Sierra Nevada de Santa Marta. Por estar estas formaciones relacionadas con la entrada del mar en las estribaciones de la Sierra Nevada de Santa Marta (SNSM), presentan frecuentemente fondos pocos profundos rocosos y con parches de formaciones arrecifales (Bartels, 1970), así como también fondos

arenosos cubiertos por praderas de fanerógamas marinas compuestas principalmente por *Thalassia testudinum* (Ardila *et al.*, 1997). Al ser una zona recreacional exterior (Unidad Administrativa especial sistema de parques Nacionales: UAESPNN, 2002), existe cierta presión por parte de actividades turísticas, pesqueras y de algunos residentes (Rueda-Solano y Castellanos-Barliza, 2010), principalmente en Bahía Concha por su más fácil acceso. Bonito Gordo se diferencia de B. Chengue por presentar una mayor profundidad (2,5 m frente a los 1,5 m de B. Chengue), menor flujo de agua y una menor distancia hacia sitios con asentamientos humanos (Taganga y Santa Marta), siendo mas intervenida por actividades turísticas y pesqueras que B. Chengue.

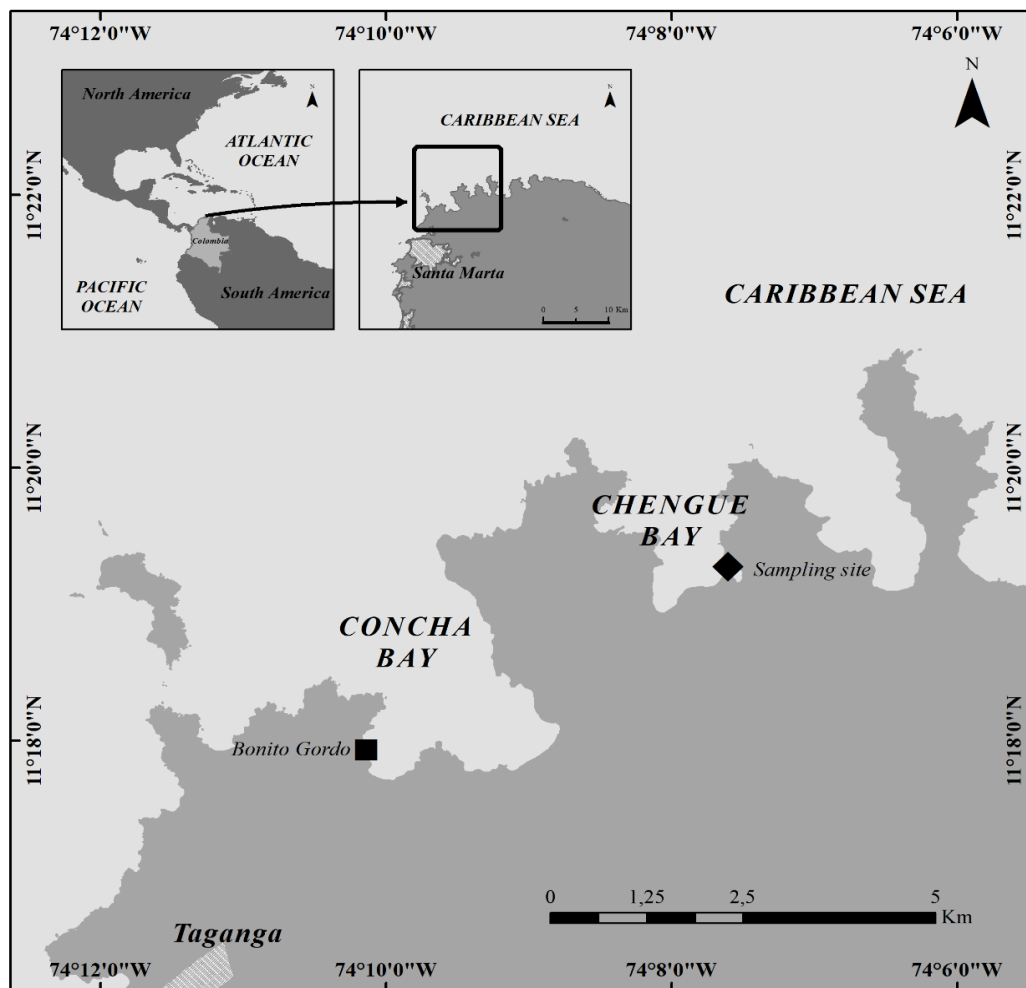


Figura 1-1: Área de estudio y ubicación de las estaciones de muestreo. Cortesía Labsis (INVEMAR).

1.2.2 Fase de Campo

En B. Chengue como en B. Gordo se realizaron tres campañas de muestreo en 2018, una en la época climática seca (entre el 7 y 14 de marzo), otra en la lluviosa mayor (17 y 24 de octubre) y otra entre las de transición (lluviosa menor, entre el 18 y 25 de junio). En cada una de estas campañas, para ver el comportamiento de la abundancia se colocaron por un periodo de 24 horas de exposición siete colectores (lapso de tiempo y número de colectores sugerido por Tester *et al.* (2014)), consistentes en mallas rectangulares de fibra de vidrio negro de 12,2 cm de ancho y 15,2 cm de largo y tamaño de poro de aproximado de 1 mm, con un área estimada de 162,4 cm² de acuerdo con Tester *et al.* (2014), estas mallas se suspendieron aproximadamente a 20 centímetros del fondo entre un flotador y un peso, unidos a través de líneas de nylon mediante giradores triples y distanciados 1,5 m uno del otro (Figura 1-2).

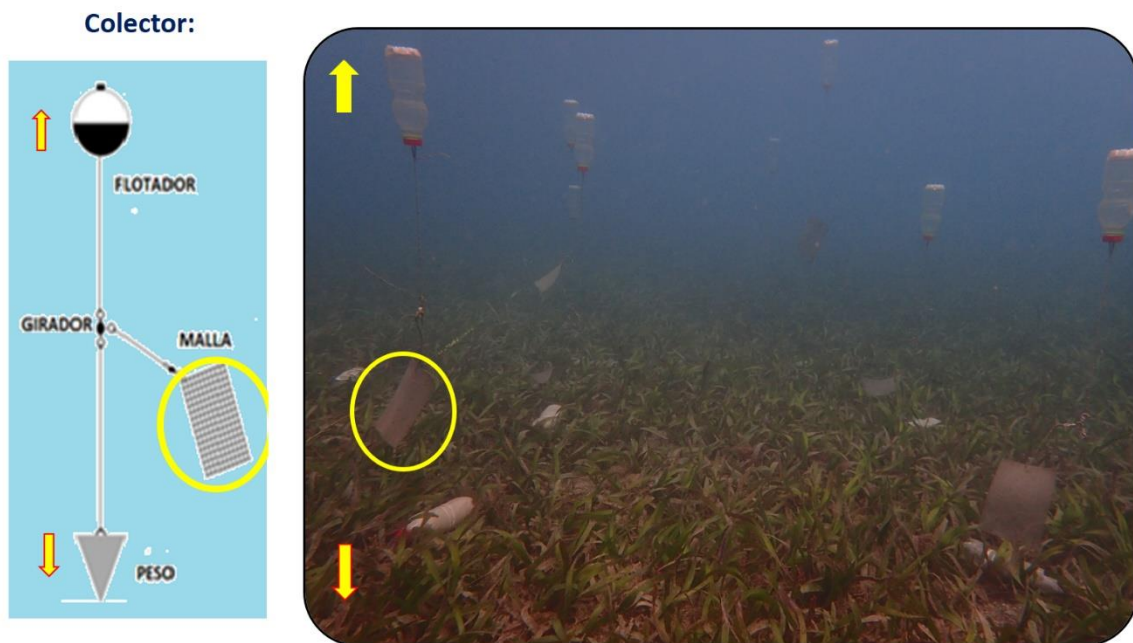


Figura 1-2:. Estructura general de los recolectores a empleados durante los muestreos, modificado de Tester *et al.* (2014).

Esta actividad se realizó durante seis días consecutivos, obteniéndose 42 muestras por campaña y 126 muestras totales. Al finalizar el tiempo de exposición, cada malla se retiró cuidadosamente y se introdujo individualmente en un recipiente plástico de boca ancha de 1,5 L que se cerraron y sellaron herméticamente bajo la superficie del agua, para evitar pérdidas por desprendimiento o evasión de los organismos de interés. Todas las muestras

se obtuvieron en las horas de la mañana (entre 8:00 y 10:00 para B. Chengue y entre 10:00 y 11:00 para B. Gordo). Estos recipientes se almacenaron en cavas plásticas en un lugar fresco para su transporte y posterior procesamiento ese mismo día en el laboratorio.

Diariamente, previo a la instalación y recolección de los colectores se midió en la columna de agua cercano al fondo y al sitio de los colectores la salinidad (mediante método electrométrico SM 2510-B, con un conductímetro digital portátil WTW 3210) y se obtuvieron muestras de agua de 1 L para determinar sólidos suspendidos totales (mediante filtración por membrana fibra de vidrio Whatman GF/C de 1,2 μm de poro y cuantificación gravimétrica, SM 2540 D) y nutrientes (nitritos + nitratos: por reducción con cadmio y método colorimétrico de la sulfanilamida, Strikland y Parsons (1972); amonio: método colorimétrico de azul de indofenol, SM 4500-NH₃ y fósforo: método colorimétrico del ácido ascórbico, Strikland y Parsons (1972)), determinados en el laboratorio de calidad ambiental marina, LABCAM, del INVEMAR. Desde el primer día y entre los colectores se colocó en cada sitio por un periodo de seis días, un registrador electrónico continuo de temperatura y nivel de luminosidad (datalogger HOBO UA-002-08 Temperatura/Luz ONSET). Para estimar el flujo de agua relativo entre los dos sitios de muestreo, se colocaron y recuperaron cada dos días cinco bloques de yeso (del tamaño de hielos de cubeta, previamente pesados y calibrados) pegados a soportes plásticos, su disolución permitió establecer diferencias en el movimiento del agua entre épocas y entre sitios (Doty, 1971). También se realizaron mediciones de transparencia (la cual se midió horizontalmente mediante disco Secchi). La variable precipitación se obtuvo de la estación meteorológica más cercanas a los sitios de estudio, de acuerdo con reportes de la página del IDEAM. Los resultados de las variables anteriormente descritas y sus resúmenes estadísticos aparecen en los Anexo A, B y C.

1.2.3 Fase de laboratorio

Para cada uno de los recipientes plásticos que contenían cada una de las mallas, cerca de la mitad del agua marina con que venían fue vertida en una probeta de 2 L. Luego el recipiente se cerró herméticamente con el resto de agua y la malla y se sacudió suavemente por dos minutos para desprender los organismos de la malla, luego esta agua también se depositó en la misma probeta de 2 L. Finalizada esta etapa se registró el volumen total de agua obtenido. Para obtener los dinoflagelados que pudieron quedar aún remanentes en las mallas, estas fueron lavadas dos veces más mediante agitación, esta

vez con 100 ml de agua de mar filtrada y añadida también el a la misma probeta de 2 L. Posteriormente, con el fin de concentrar los organismos de interés, el agua de la probeta fue pasada por un tamiz de 20 μm y lo quedó en este último fue depositado en frascos de 70 ml, fijándolos con 1 ml formalina al 37% y completando a volumen con agua de mar filtrada, para su almacenamiento en un lugar fresco y oscuro y posterior identificación y conteo de los organismos.

La estimación de la densidad celular (en número de células mL^{-1}) y la identificación de los organismos se realizó mediante cámara de conteo Sedgewick-Rafter empleando un microscopio de luz Primo Star Zeiss, siguiendo las metodologías descritas por Edler y Elbrächter (2010) y Villafañe y Reid (1995), considerándose para ello el volumen total registrado de cada muestra, el número de submuestras analizadas, el área observada relacionada con el número de cuadros vistos de la cámara Sedgewick-Rafter, el volumen total observado (cuya capacidad de la cámara Sedgewick-Rafter es 1mL) y el número de organismos contabilizados a nivel de morfotipo. Las densidades así obtenidas fueron divididas por el área estimada de estas mallas (Tester, 2014) y multiplicando por 100, expresando los resultados de las abundancias en número de células 100 cm^{-2} de malla, para hacerlos comparativos con los reportados por otros estudios. Los valores de abundancia de los morfotipos seleccionados son expuestos en los Anexo D, E, F y G.

1.2.4 Análisis de la información

Los datos evaluados consistieron básicamente en registros de promedios diarios de abundancia de los siete colectores expuestos por 24 h, considerando cuatro morfotipos taxonómicos: *Gambierdiscus* spp.; *Prorocentrum* cf. *lima*; *Ostreopsis* cf. *ovata* y *Ostreopsis* spp. que fueron seleccionados por su potencial toxigénico y su relativa alta frecuencia y abundancia en el área, descritos previamente por Arbeláez *et al.* (2017) (Anexo Q), así como dos sitios (B. Chengue y B. Gordo), tres épocas (Seca, Transición y Lluviosa) y fechas de muestreo (Anexo D, E, F y G), junto con los registros diarios de las variables ambientales (recursos y reguladores) mencionadas anteriormente (Anexo A, B y C).

De manera preliminar se realizó un análisis exploratorio general de estos datos, para verificar su normalidad y homogeneidad de varianzas mediante las pruebas de Shapiro-Wilk ($p > 0,05$) y Levene ($p > 0,05$), respectivamente. Cuando no se cumplieron alguna de estas premisas, estos datos se transformaron mediante la función Log (x+1), sirviendo

también para estabilizar la variación dentro de grupos ante la gran amplitud en magnitud encontrada en algunos de los datos, sometiéndolos nuevamente a las pruebas de Shapiro-Wilk ($p > 0,05$) y Levene ($p > 0,05$). Si después de esto cumplían con éstas premisas se usaban pruebas paramétricas y en caso contrario las no paramétricas. Para el procesamiento de estos datos se usaron los programas R versión 4.2.2 (2022-10-31 ucrt), STATISTICA versión 12.0 y Excel 2016.

Con el fin de determinar la asociación de las variables ambientales (recursos y reguladores) con las abundancias de los dinoflagelados seleccionados, se efectuó un análisis de correspondencia canónica (ACC), utilizando el programa R versión 4.2.2 (2022-10-31 ucrt). Para lo cual, previamente las variables ambientales se sometieron a análisis de correlación entre sí, descartando algunas de ellas cuando se obtenían valores de correlación iguales o mayores de 0,7 (R, versión 4.2.2), escogiendo entre ellas las más representativas en cuanto a su significancia ecológica y biológica. En este caso, de tres variables altamente correlacionadas, se suprimieron las variables concentración de nitrato+nitrito y la relación nitrógeno/fósforo y se escogió la variable fracción de nitrógeno inorgánico biodisponible (o aproximación al nitrógeno: consistente en la suma de las formas nitrógeno nitrato+nitrito más amonio). Posteriormente, estos datos junto con los biológicos, fueron transformados mediante $\log_{10}(x + 1)$, para pasar las escalas de algunas de las variables de una multiplicativa a una aditiva con lo que se elimina el efecto de las diferentes escalas de medida, además de reducir la influencia de los valores grandes.

1.3 Resultados

1.3.1 Comportamiento de las variables ambientales

Para el año 2018, durante los meses de muestreo se presentaron los siguientes escenarios a escala interanual y mundial: efectos de una fase final de una Niña débil con tendencia hacia una paulatina condición neutral en marzo (IDEAM, 2018a); condiciones que se encontraron dentro de los umbrales de neutralidad en junio (IDEAM, 2018b) y condiciones de un Niño débil que se iniciaba en octubre (IDEAM, 2018c) y que se concretó a mediados de febrero de 2019 (IDEAM, 2019). De acuerdo con lo anterior, el año 2018 se caracterizó por condiciones predominantes hacia la neutralidad, iniciándose en la fase final de una Niña débil y culminando en la fase inicial de una condición El Niño débil (Figura 1-3).

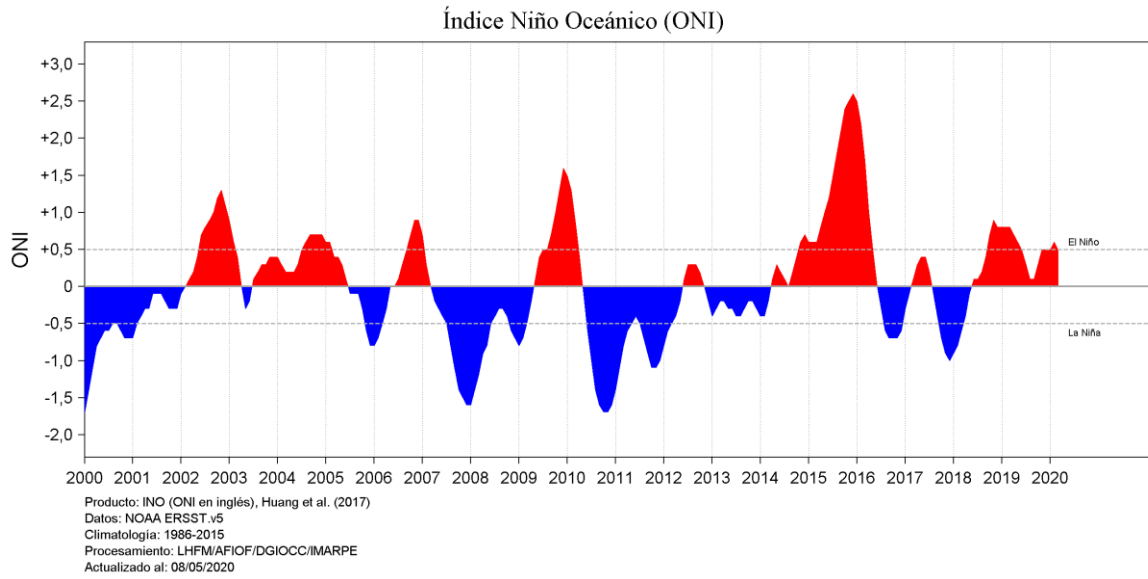


Figura 1-3: Comportamiento del índice Niño Oceánico (ONI), entre 2000 y 2020. Tomado de Huang et al. (2017).

En B. Chengue como en B. Gordo el comportamiento temporal de las variables temperatura, salinidad, sólidos suspendidos totales (SST) y precipitación en general se ajustaron a lo temporalmente esperado (marzo: época seca, junio: época de transición y octubre: época lluviosa): con menores valores de temperatura en la época seca que se incrementaron hasta la lluviosa (Figura 1-4 A; Tabla 1.1; Anexo A); mayores valores de salinidad en la época seca, respecto a las épocas de transición y lluviosa (Figura 1-4 B; Tabla 1.1; Anexo A); incremento del número de días con precipitación desde la época seca a la época lluviosa (Figura 1-5 A; Anexo A) y un mayor valor de los sólidos suspendidos totales en octubre (Figura 1-5 B; Tabla 1.1; Anexo A) atribuible a mayores aportes de aguas de escorrentía, producto de mayores precipitaciones en ese mes. Entre B. Chengue y B. Gordo se encontraron diferencias espaciales, tales como: mayores valores de temperatura en B. Chengue respecto a Bonito Gordo en las épocas seca y de transición (Figura 1-4 A; Anexo A; Anexo H); un mayor movimiento de agua en B. Chengue respecto a B. Gordo, aunque conservándose los mismos patrones estacionales en ambos sitios, en que la época de transición se destacó por presentar los menores valores (Figura 1-6 B; Anexo A; Anexo H); mayores valores de transparencia del agua en Bonito Gordo (Figura 1-6 A; Tabla 1.1) y mayores niveles de iluminación del agua de B. Chengue respecto a B. Gordo en la época lluviosa (Figura 1-7 A; Tabla 1.1), algunas de estas diferencias atribuibles a las diferencias de profundidad entre estos sitios (1,5 en B. Chengue y 2,5 m en B. Gordo) en la que la

menor profundidad de B. Chengue hace del fondo más expuesto a los efectos de la irradiación y al roce de los vientos en la superficie del agua, incrementándose el nivel de iluminación, la temperatura y un mayor movimiento de agua (Tabla 1.3).

En cuanto a variables tipo recurso como la concentración de nitritos + nitratos (Figura 1-7 B), de amonio (Figura 1-8 A), la fracción de nitrógeno biodisponible (aproximación al nitrógeno) (Figura 1-8 B), la concentración de fosfato (Figura 1-9 A), así como la relación N/P (que en general tuvo valores entre 15 y 25, indicando condiciones de no restricción de nutrientes con posibles tendencias restrictivas hacia el fósforo) (Figura 1-9 B), no mostraron diferencias significativas entre épocas ni entre los sitios evaluados (Tabla 1.1; Anexo H), presentándose frecuentemente para estas variables valores cercanos al valor del límite inferior de cuantificación del método, LCM (Anexo A).

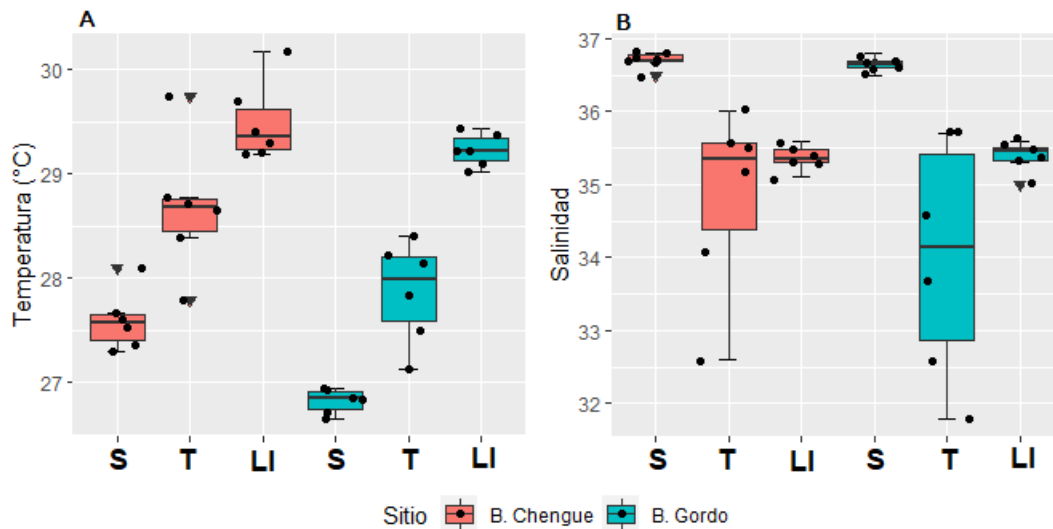


Figura 1-4: A) Diagramas de caja estacional de la temperatura (°C) en B. Chengue y B. Gordo durante los meses de muestreo, año 2018. B) Diagrama de cajas estacional de la salinidad en B. Chengue y B. Gordo durante los meses de muestreo, año 2018. S= Seca; T= transición; LI= Lluviosa.

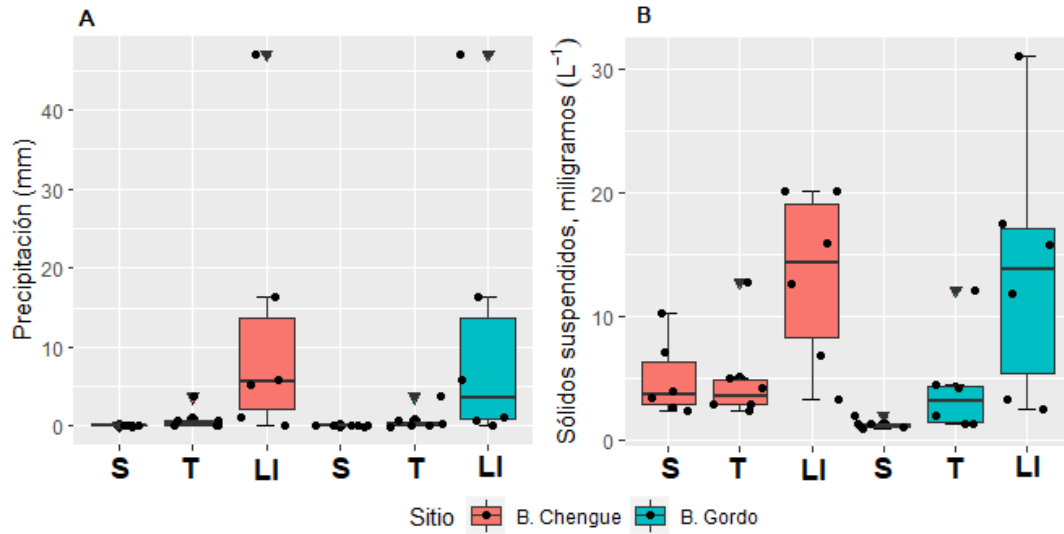


Figura 1-5: A) Diagrama de cajas estacional de la Precipitación (mm) en B. Chengue y B. Gordo durante los meses de muestreo, año 2018. B) Diagrama de cajas estacional de los sólidos suspendidos totales (SST en mg L⁻¹) en B. Chengue y B. Gordo durante los meses de muestreo, año 2018. S= Seca; T= transición; LI= Lluviosa.

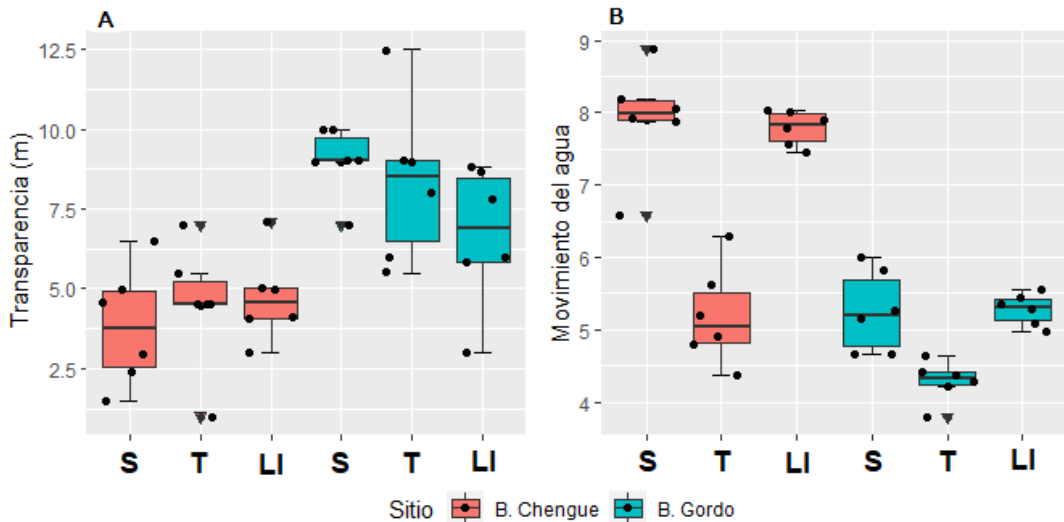


Figura 1-6: A) Diagrama de cajas estacional de la transparencia (m) en B. Chengue y B. Gordo durante los meses de muestreo, año 2018. B) Diagrama de cajas estacional del movimiento del agua en B. Chengue y B. Gordo durante los meses de muestreo, año 2018. S= Seca; T= transición; LI= Lluviosa.

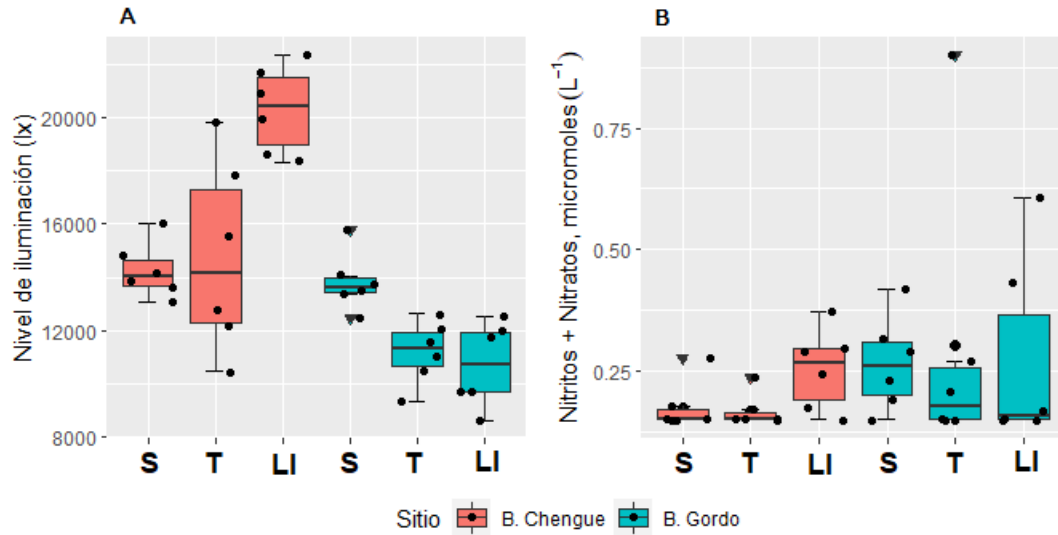


Figura 1-7: A) Diagrama de cajas estacional del nivel de iluminación (lx) en B. Chengue y B. Gordo durante los meses de muestreo, año 2018. B) Diagrama de cajas estacional de la concentración de nitritos+nitratos ($\mu\text{mol L}^{-1}$), año 2018. S= Seca; T= transición; LI= Lluviosa.

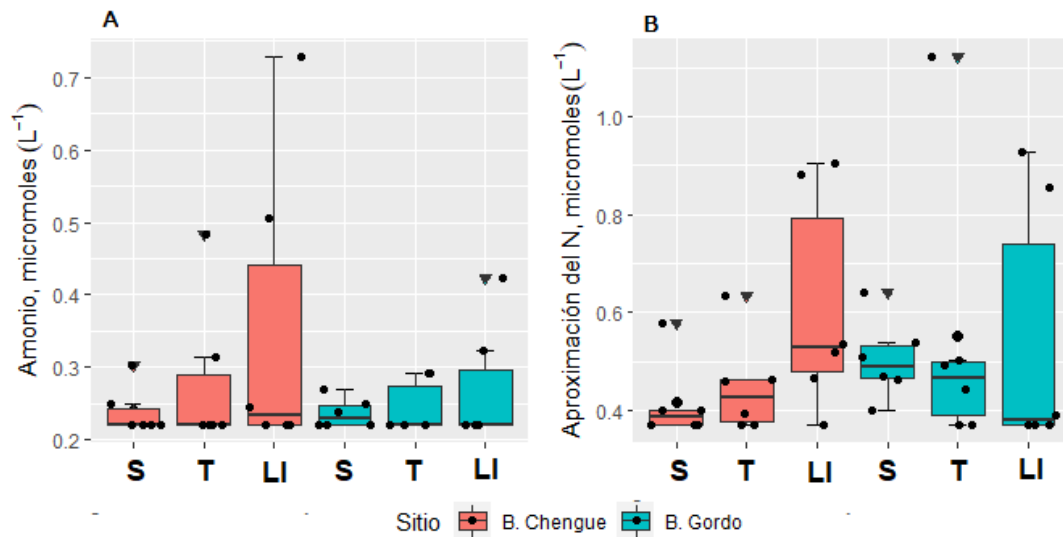


Figura 1-8: A) Diagrama de cajas estacional de la concentración ($\mu\text{mol L}^{-1}$) de Amonio en B. Chengue y B. Gordo durante los meses de muestreo, año 2018. B) Diagrama de cajas estacional de la fracción de nitrógeno inorgánico biodisponible (representado como aproximación del nitrógeno, en $\mu\text{mol L}^{-1}$) en B. Chengue y B. Gordo durante los meses de muestreo, año 2018. S= Seca; T= transición; LI= Lluviosa.

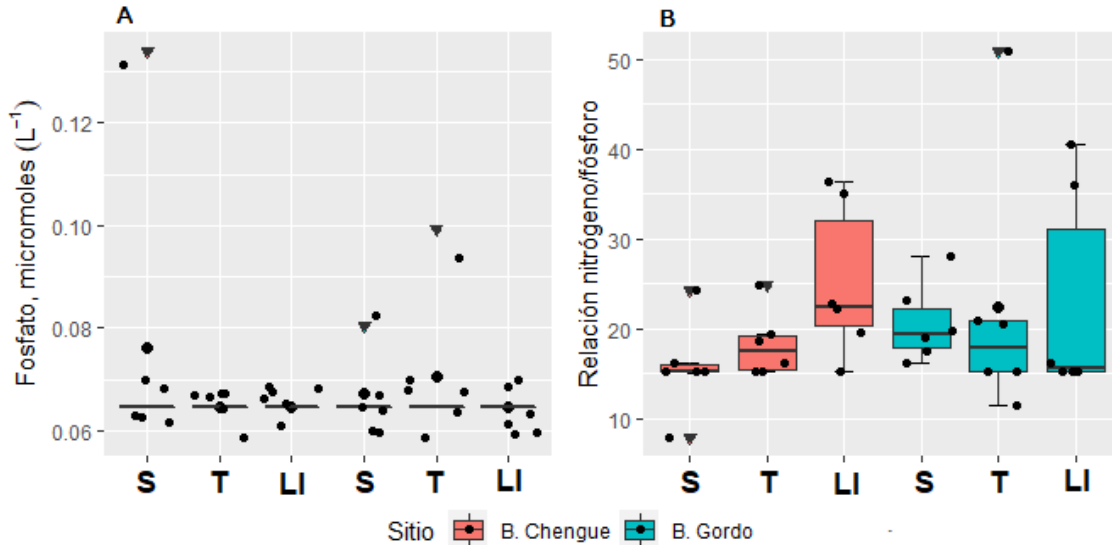


Figura 1-9: A) Diagrama de cajas estacional de la concentración de fósforo ($\mu\text{mol L}^{-1}$) en B. Chengue y B. Gordo durante los meses de muestreo, año 2018. B) Diagrama de cajas estacional de la relación N/P en B. Chengue y B. Gordo durante los meses de muestreo, año 2018. S= Seca; T= transición; LI= Lluviosa.

Tabla 1.1: Análisis de varianza de los abióticos entre sitios (B. Chengue y B. Gordo) y meses

Variables	Comparaciones	Promedios/Medias	Pruebas	Valor	G. L	n	p	Descripción de diferencias
Temperatura (°C)	Sitios: B. Chengue - B. Gordo	B. Chengue (28,3); B. Gordo (28,0)	Prueba t	1,9	1	36	0,070	
Salinidad	Sitios: B. Chengue -B. Gordo	B. Chengue (35,6); B. Gordo (35,6)	Mann-Whitney-U	149,5	1	36	0,704	
Nitrit+Nitrat ($\mu\text{mol/L}$)	Sitios: B. Chengue -B. Gordo	B. Chengue (0,16); B. Gordo (0,19)	Mann-Whitney-U	129,5	1	36	0,311	
Amonio ($\mu\text{mol N/L}$)	Sitios: B. Chengue -B. Gordo	B. Chengue (0,17); B. Gordo (0,17)	Mann-Whitney-U	153	1	36	0,760	
Amon+Nitri+Nitrat ($\mu\text{mol N/L}$)	Sitios: B. Chengue -B. Gordo	B. Chengue (0,37); B. Gordo (0,41)	Mann-Whitney-U	145,5	1	36	0,613	
Fósforo ($\mu\text{mol P/L}$)	Sitios: B. Chengue -B. Gordo	B. Chengue (0,02); B. Gordo (0,02)	Mann-Whitney-U	154	1	36	0,812	
N/P	Sitios: B. Chengue -B. Gordo	B. Chengue (17,45); B. Gordo (18,30)	Mann-Whitney-U	149,5	1	36	0,704	
SST (mg/L)	Sitios: B. Chengue -B. Gordo	B. Chengue (4,65); B. Gordo (2,32)	Mann-Whitney-U	101	1	36	0,056	
Transparencia (m)	Sitios: B. Chengue -B. Gordo	B. Chengue (4,3); B. Gordo (8,0)	Prueba t	-5,7	1	36	0,000	B. Gordo> B. Chengue
Nivel iluminación (Lux)	Sitios: B. Chengue -B. Gordo	B. Chengue (16446); B. Gordo (12796)	Prueba t	4,8	1	36	0,000	B. Chengue>B. Gordo
Movimiento Agua	Sitios: B. Chengue -B. Gordo	B. Chengue (7,0); B. Gordo (4,9)	Prueba t	5,6	1	36	0,000	B. Chengue> B. Gordo
Temperatura (°C)	Épocas (B. Chengue): Seca-Transición-Lluviosa	Seca (27,57); Transición (28,68); Lluviosa (29,35)	ANOVA/ Tukey HSD	20,6	2	18	0,000	S<T<LI
Salinidad	Épocas (B. Chengue): Seca-Transición-Lluviosa	Seca (36,70); Transición (35,35); Lluviosa (35,35)	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	11,5	2	18	0,003	S>T=LI
Nitrit+Nitrat ($\mu\text{mol/L}$)	Épocas (B. Chengue): Seca-Transición-Lluviosa	Seca (0,15); Transición (0,15); Lluviosa (0,27)	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	5,8	2	18	0,055	
Amonio ($\mu\text{mol N/L}$)	Épocas (B. Chengue): Seca-Transición-Lluviosa	Seca (0,17); Transición (0,17); Lluviosa (0,18)	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	0,8	2	18	0,675	
ANID ($\mu\text{mol N/L}$)	Épocas (B. Chengue): Seca-Transición-Lluviosa	Seca (0,33); Transición (0,37); Lluviosa (0,47)	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	4	2	18	0,132	
Fósforo ($\mu\text{mol P/L}$)	Épocas (B. Chengue): Seca-Transición-Lluviosa	Seca (0,02); Transición (0,02); Lluviosa (0,02)	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	2	2	18	0,368	
N/P	Épocas (B. Chengue): Seca-Transición-Lluviosa	Seca (15,25); Transición (17,45); Lluviosa (22,53)	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	4,5	2	18	0,108	
SST (mg/L)	Épocas (B. Chengue): Seca-Transición-Lluviosa	Seca (4,99); Transición (5,06); Lluviosa (13,17)	ANOVA/ Tukey HSD	5,4	2	18	0,017	LI>S=T
Transparencia (m)	Épocas (B. Chengue): Seca-Transición-Lluviosa	Seca (3,8); Transición (4,5); Lluviosa (4,7)	ANOVA/ Tukey HSD	0,4	2	18	0,670	
Nivel iluminación (Lux)	Épocas (B. Chengue): Seca-Transición-Lluviosa	Seca (14016); Transición (14163); Lluviosa (20423)	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	10,1	2	18	0,006	LI>S=T
Movimiento Agua	Épocas (B. Chengue): Seca-Transición-Lluviosa	Seca (7,9); Transición (5,2); Lluviosa (7,8)	ANOVA/ Tukey HSD	39,2	1	18	0,000	T<S=LI
Temperatura (°C)	Épocas (B. Gordo): Seca-Transición-Lluviosa	Seca (26,84); Transición (27,29); Lluviosa (29,22)	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	15,2	1	18	0,001	S<LI
Salinidad	Épocas (B. Gordo): Seca-Transición-Lluviosa	Seca (36,65); Transición (34,15); Lluviosa (35,45)	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	11,8	1	18	0,003	S>T=LI
Nitrit+Nitrat ($\mu\text{mol N/L}$)	Épocas (B. Gordo): Seca-Transición-Lluviosa	Seca (0,23); Transición (0,18); Lluviosa (0,16)	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	0,8	1	18	0,685	
Amonio ($\mu\text{mol N/L}$)	Épocas (B. Gordo): Seca-Transición-Lluviosa	Seca (0,18); Transición (0,17); Lluviosa (0,17)	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	0,0	1	18	0,970	
Amon+Nitri+Nitrat ($\mu\text{mol N/L}$)	Épocas (B. Gordo): Seca-Transición-Lluviosa	Seca (0,44); Transición (0,41); Lluviosa (0,33)	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	1,2	1	18	0,541	
Fósforo ($\mu\text{mol P/L}$)	Épocas (B. Gordo): Seca-Transición-Lluviosa	Seca (0,02); Transición (0,02); Lluviosa (0,02)	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	1,1	1	18	0,586	

Variables	Comparaciones	Promedios/Medias	Pruebas	Valor	G. L	n	p	Descripción de diferencias
N/P	Épocas (B. Gordo): Seca-Transición-Lluviosa	Seca (19,40); Transición (17,94); Lluviosa (15,71)	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	0,9	1	18	0,639	
SST (mg/L)	Épocas (B. Gordo): Seca-Transición-Lluviosa	Seca (1,22); Transición (3,16); Lluviosa (13,9)	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	10,6	1	18	0,005	LI>S
Transparencia (m)	Épocas (B. Gordo): Seca-Transición-Lluviosa	Seca (9,0); Transición (8,3); Lluviosa (6,7)	ANOVA/ Tukey HSD	2,1	1	18	0,160	
Nivel iluminación (Lux)	Épocas (B. Gordo): Seca-Transición-Lluviosa	Seca (13626); Transición (11305); Lluviosa (10745)	ANOVA/ Tukey HSD	9,9	1	18	0,002	S>T=LI
Movimiento Agua	Épocas (B. Gordo): Seca-Transición-Lluviosa	Seca (5,3); Transición (4,3); Lluviosa (5,3)	ANOVA/ Tukey HSD	13	1	18	0,001	T<S=LI

(Marzo: seca mayor; Junio: lluviosa menor y Octubre: lluviosa mayor).

1.3.2 Comportamiento general de las variables biológicas

▪ *Gambierdiscus* spp.

En B. Gordo los mayores promedios de densidad se observaron en la época de transición, seguido por la época lluviosa, siendo inferiores en la época seca (Figura 1-10 A y B; Tabla 1.2). En B. Chengue las densidades fueron mucho menores a las de B. Gordo, sin detectarse diferencias estadísticas significativas entre épocas o meses (Figura 1-10 A y B; Tabla 1.2; Anexo D).

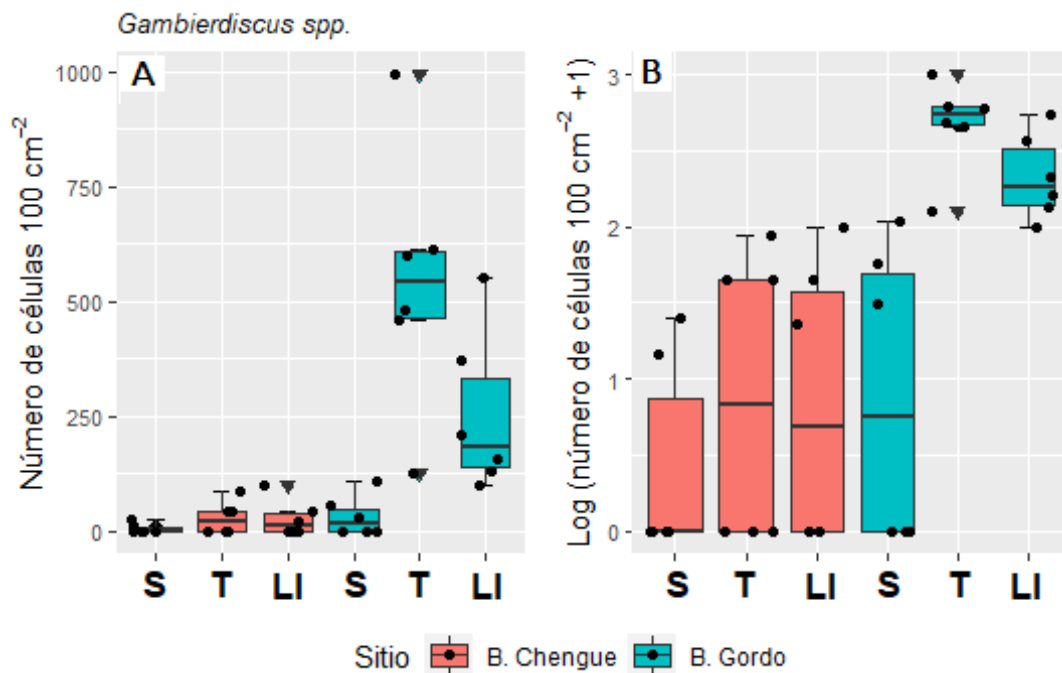


Figura 1-10: A) Comparación de la abundancia de *Gambierdiscus* spp. (en número de células.100 cm⁻²) entre épocas y sitios. B) misma información visualizada con el logaritmo de la abundancia (+ 1) que permite un mayor detalle del comportamiento de los valores más bajos de abundancia. S= Seca; T= Transición; LI= Lluviosa.

▪ *Prorocentrum cf. lima*

Respecto a *Prorocentrum cf. lima*, las mayores abundancias se presentaron en la época seca en B. Gordo muy por encima del resto de las observaciones, mientras que no se apreciaron diferencias entre las épocas de transición y lluviosa para este sitio (Figura 1-11 A y B; Tabla 1.2). En B. Chengue la época de transición se diferenció de la época seca y la época lluviosa por sus menores abundancias (Figura 1-11 A y B; Tabla 1.2; Anexo E).

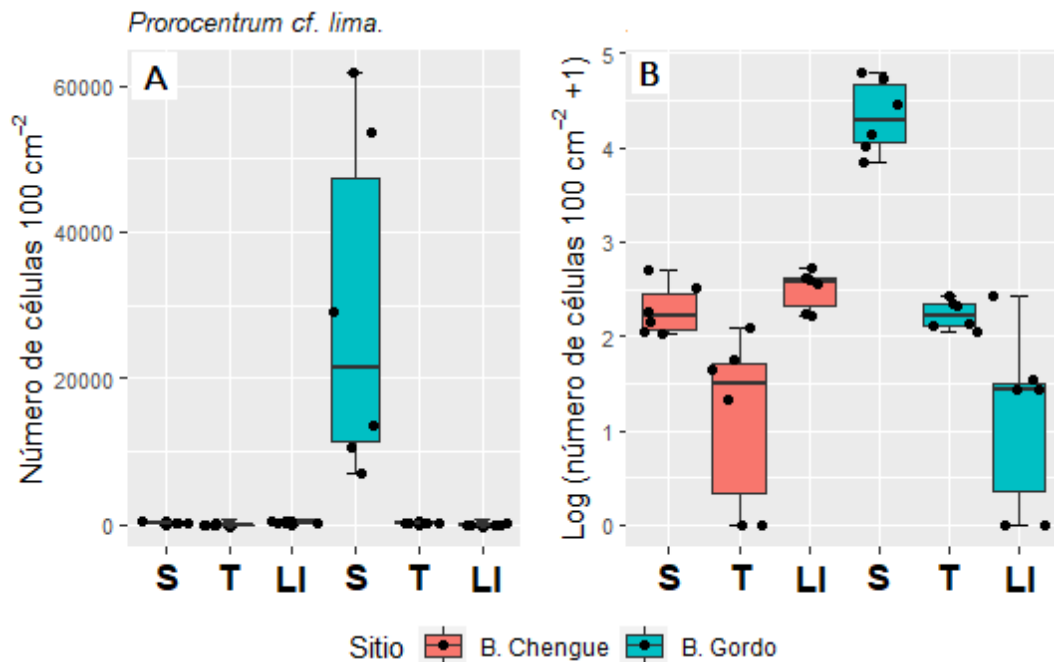


Figura 1-11: A) Comparación de la abundancia de *Prorocentrum cf. lima*. (en número de células.100 cm⁻²) entre épocas y sitios. B) misma información visualizada con el logaritmo de la abundancia (+ 1) que permite un mayor detalle del comportamiento de los valores más bajos de abundancia. S= Seca; T= Transición; LI= Lluviosa.

▪ *Ostreopsis cf. ovata*

La mayor abundancia de este organismo se registró en B. Chengue en la época de transición, seguida por la época seca y la época lluviosa con el menor valor para este sitio (Figura 1-12 A y B; Tabla 1.2). Un comportamiento similar al de B. Chengue, aunque con valores de abundancia menores se observó en B. Gordo, al observarse las mayores abundancias también en transición, sin embargo, este morfotipo no se detectó en la época lluviosa. (Figura 1-12 A y B; Tabla 1.2; Anexo F).

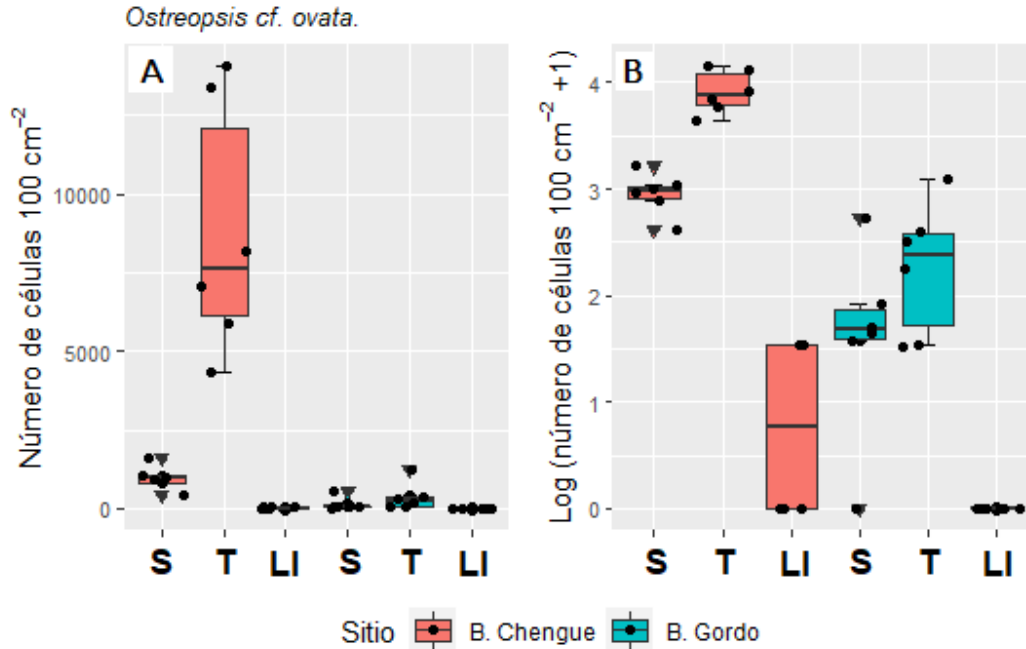


Figura 1-12: A) Comparación de la abundancia de *Ostreopsis cf. ovata*. (en número de células.100 cm⁻²) entre épocas y sitios. B) misma información visualizada con el logaritmo de la abundancia (+ 1) que permite un mayor detalle del comportamiento de los valores más bajos de abundancia. S= Seca; T= Transición; LI= Lluviosa.

▪ *Ostreopsis* spp.

En B. Chengue, al presentar la época lluviosa las mayores abundancias, se diferenció de la época seca) y de transición (Figura 1-13 A y B; Tabla 1.2). En B. Gordo, la época seca presentó los mayores valores, seguido de la época de transición, con las menores densidades observadas en la época lluviosa (Figura 1-13 A y B; Tabla 1.2; Anexo G). Mientras que en la época lluviosa *Ostreopsis* spp. se destacó por registrar las mayores abundancias en B. Chengue, en esta misma época se registraron las menores abundancias en B. Gordo (Figura 1-13 A y B).

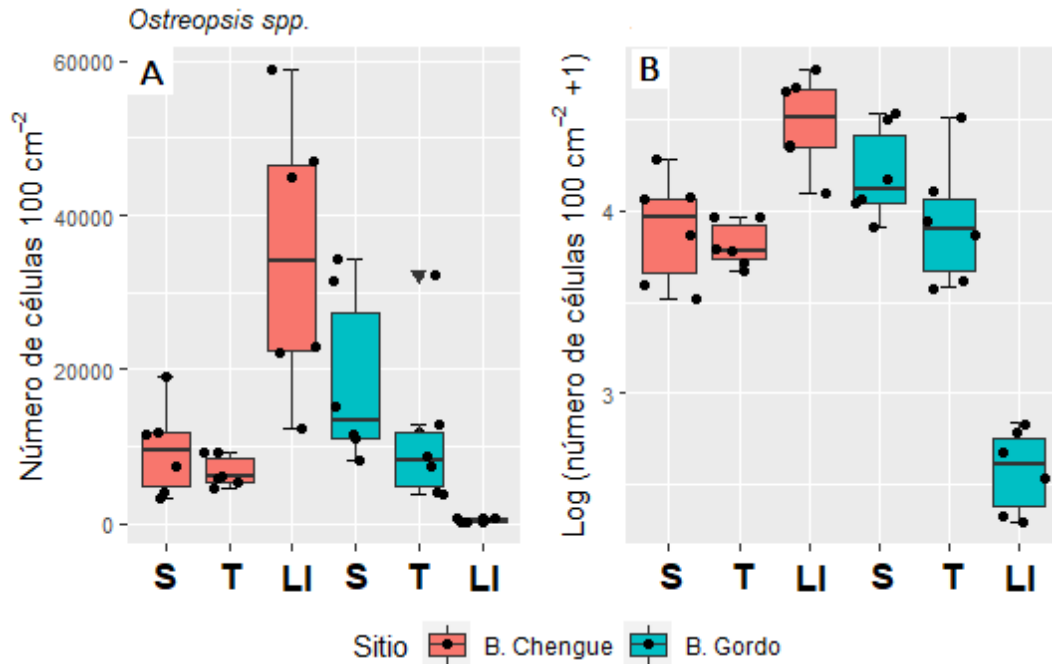


Figura 1-13: A) Comparación de la abundancia de *Ostreopsis* spp. (en número de células.100 cm⁻²) entre épocas y sitios. B) misma información visualizada con el logaritmo de la abundancia (+ 1) que permite un mejor detalle del comportamiento de los valores más bajos de abundancia. S= Seca; T= Transición; LI= Lluviosa.

Tabla 1.2: Análisis de varianza de los promedios de abundancia de los morfotipos evaluados entre sitios (B. Chengue y B. Gordo) y meses (Marzo: seca mayor; Junio: lluviosa menor y Octubre: lluviosa mayor).

Morfotipo	Comparaciones	Promedios/Medias	Pruebas	Valor	G. L	n	p	Descripción de diferencias
<i>Gambierdiscus</i> spp.	Sitios: B. Chengue - B. Gordo	B. Chengue (0); B. Gordo (104)	Mann-Whitney -U	4229	1	126	0,000	B. Gordo>B. Chengue
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	Sitios: B. Chengue - B. Gordo	B. Chengue (109); B. Gordo (229)	Mann-Whitney -U	6178	1	126	0,002	B. Gordo>B. Chengue
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	Sitios: B. Chengue -B. Gordo	B. Chengue (635); B. Gordo (0)	Mann-Whitney -U	3710,5	1	126	0,000	B. Gordo<B. Chengue
<i>Ostreopsis</i> spp.	Sitios: B. Chengue - B. Gordo	B. Chengue (9765); B. Gordo (4226)	Mann-Whitney -U	5200	1	126	0,000	B. Gordo<B. Chengue
<i>Gambierdiscus</i> spp.	Épocas (B. Chengue): Seca-Transición- Lluviosa	Seca(0); Transición(0); Lluviosa (0)	Kruskal Wallis – H; Comparaciones múltiples	2,7	2	126	0,260	No diferencias
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	Épocas (B. Chengue): Seca-Transición- Lluviosa	Seca(157); Transición(0); Lluviosa (231)	Kruskal Wallis – H; Comparaciones múltiples	35,7	2	126	0,000	Transición<Seca=Lluviosa
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	Épocas (B. Chengue): Seca-Transición- Lluviosa	Seca(635); Transición(5404); Lluviosa (0)	Kruskal Wallis – H; Comparaciones múltiples	107,8	2	126	0,000	Transición>Seca=Lluviosa
<i>Ostreopsis</i> spp.	Épocas (B. Chengue): Seca-Transición- Lluviosa	Seca (8319); Transición (6605); Lluviosa (29572)	Kruskal Wallis – H; Comparaciones múltiples	23	2	126	0,000	Lluviosa>Seca=Transición
<i>Gambierdiscus</i> spp.	Épocas (B. Gordo): Seca-Transición- Lluviosa	Seca(0); Transición(461); Lluviosa (185)	Kruskal Wallis – H; Comparaciones múltiples	42,9	2	126	0,000	Transición>Lluviosa>Seca
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	Épocas (B. Gordo): Seca-Transición- Lluviosa	Seca(17994); Transición(221); Lluviosa (0)	Kruskal Wallis – H; Comparaciones múltiples	94,5	2	126	0,000	Seca>Transición=Lluviosa
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	Épocas (B. Gordo): Seca-Transición- Lluviosa	Seca(0); Transición(77); Lluviosa (0)	Kruskal Wallis – H; Comparaciones múltiples	29,2	2	126	0,000	Transición>Lluviosa
<i>Ostreopsis</i> spp.	Épocas (B. Gordo):	Seca (14686); Transición (4574); Lluviosa (299)	Kruskal Wallis – H; Comparaciones múltiples	90,9	2	126	0,000	Seca>Transición>Lluviosa

Morfotipo	Comparaciones	Promedios/Medias	Pruebas	Valor	G. L	n	p	Descripción de diferencias
	Seca-Transición-Lluviosa							

1.3.3 Descripción conjunta de las condiciones abióticas (recursos y reguladores) y bióticas (abundancias de dinoflagelados bentónicos en sustratos artificiales)

Los comportamientos temporales (época-mes) y espaciales (sitios) de las variables abióticas (recursos y reguladores), permitieron la caracterización de seis condiciones ambientales entre los que se desempeñaron los dinoflagelados bentónicos seleccionados:

1. **B. Chengue, marzo-época seca, profundidad de 1,5 m:** caracterizado principalmente por la presencia de aguas con las menores temperaturas y con la mayor salinidad registrada, así como con los mayores flujos de agua registrados, menor transparencia, niveles de iluminación de los más altos y SST moderados (Tabla 1.3, Anexo, Anexo B).

En este escenario se registraron todos los morfotipos seleccionados, caracterizándose por baja presencia y densidades de *Gambierdiscus* spp. y moderadas densidades de *P. cf. lima*, *O. cf. ovata* y *Ostreopsis* spp. (Tabla 1.3; Anexos D, E, F y G).

2. **B. Chengue, junio-lluviosa menor o de transición, profundidad de 1,5 m:** diferenciado por la presencia de aguas con temperaturas moderadas y de las más bajas salinidades, con bajos flujos o movimiento de agua, nivel de iluminación moderados, menores transparencias (comparando entre sitios) y concentraciones de SST moderados (Tabla 1.3; Anexo B).

Estuvieron presentes los cuatro morfotipos seleccionados, caracterizándose por registrar la mayor densidad de *O. cf. ovata*; mientras que para *Gambierdiscus* spp. y *P. cf. lima* fueron bajas y para *Ostreopsis* spp. moderadas (Tabla 1.3; Anexos D, E, F y G).

3. **B. Chengue, octubre-época lluviosa, profundidad de 1,5 m:** definido por la presencia de aguas con las mayores temperaturas registradas, bajas salinidades, de los mayores movimientos de agua y nivel de iluminación registrados, menores transparencias (comparando entre sitios) y con la mayor concentración de sólidos suspendidos totales registrados (Tabla 1.1, Anexo B).

Se registraron todos los morfotipos seleccionados, destacándose la mayor concentración registrada de *Ostreopsis* spp; mientras que las densidades fueron bajas para

Gambierdiscus spp. y *O. cf. ovata* y moderadas para *P. cf. Lima* (Tabla 1.3; Anexos D, E, F y G).

4. **B. Gordo, marzo-época seca, profundidad de 2,5 m:** caracterizado por la presencia de aguas con la menor temperatura registrada y las mayores salinidades observadas, movimiento de agua y nivel de iluminación moderados, mayor transparencia registrada y menor concentración de sólidos suspendidos totales registrados (Tabla 1.3, Anexo C).

Todos los morfotipos seleccionados estuvieron presentes, destacándose por las mayores concentraciones de *P. cf. lima* registradas y una de las mayores concentraciones de *Ostreopsis* spp.; mientras que las densidades de *Gambierdiscus* spp. y *O. cf. ovata* tendieron ser bajas (Tabla 1.1; Anexos D, E, F y G).

5. **B. Gordo, junio-transición, profundidad de 2,5 m:** caracterizado por la presencia de aguas con temperatura moderada y menor salinidad registrada, menor movimiento de agua registrado y de los menores niveles de iluminación, de las mayores transparencias registradas y de las menores concentraciones de sólidos suspendidos totales (Tabla 1.1, Anexo C).

Con presencia de todos los morfotipos, destacándose por la mayor concentración detectada de *Gambierdiscus* spp. y concentraciones moderadas de *O. cf. Ovata* (siendo la mayor abundancia de este morfotipo para B. Gordo) y *Ostreopsis* spp., mientras que las concentraciones de *P. cf. lima* estuvieron entre bajas a moderadas (Tabla 1.1; Anexos D, E, F y G).

6. **B. Gordo, octubre-época lluviosa, profundidad de 2,5 m:** caracterizado por la presencia de agua con las mayores temperaturas, salinidad y movimiento de agua moderado y el menor nivel de iluminación registrado, mayores transparencias (comparando entre sitios) y con una de las mayores concentraciones de sólidos suspendidos totales (Tabla 1.3, Anexo C).

No se detectaron células de *O.cf. ovata*. Las densidades de *Gambierdiscus* spp. fueron las segundas más altas registradas, mientras que las concentraciones de *Ostreopsis* spp. y *P. cf. lima* fueron las más bajas y bajas-moderadas, respectivamente (Tabla 1.3; Anexos D, E, F y G).

Tabla 1.3: Resumen del comportamiento temporal y espacial relativo a los rangos y medianas (en paréntesis) de las variables abióticas (recursos y reguladores) y abundancia de los dinoflagelados bentónicos seleccionados, provenientes de sustratos artificiales. Época seca (marzo/2018); época lluviosa menor o de transición (junio/2018) y época lluviosa (octubre/2018), desglosado por sitios (B. chengue y B. Gordo). Intensidad de los colores en proporción a los mayores valores promedios para las variables abióticas y bióticas, asociados con las diferencias estadística entre épocas para cada sitio.

Variable/sito (época)	Chengue (época seca)	Chengue (transición)	Chengue (época lluviosa)	B. Gordo (época Seca)	B. Gordo (transición)	B. Gordo (época Lluviosa)	Diferencia entre sitios
Salinidad	36,50-36,80 (36,70)	32,60-36,00 (35,35)	35,10-35,60 (35,35)	36,50-36,80 (36,65)	31,80-35,70 (34,15)	35,00-35,60 (35,45)	No
Temperatura (°C)	27,30-28,09 (27,57)	27,78-29,74 (28,68)	29,19-30,17 (29,30)	26,66-26,94 (26,84)	27,12-28,41 (27,99)	29,02-29,44 (29,22)	No
Transparencia (m)	1,50-6,50 (3,78)	1,00-7,00 (4,50)	3,00-7,10 (4,71)	7,00-10,00 (9,00)	5,50-12,50 (8,50)	3,00-8,80 (6,90)	* B. G > B. C
Iluminación (lx)	13055,83-16015,05 (14016,40)	10450,60-19-814,45 (14163,39)	18345,91-22351,59 (20423,04)	12460,37-15799,77 (13625,88)	9324,38-12633,70 (11305,15)	8628,43-12540,91 (10744,74)	*B. C > B. G
Movimiento Agua	6,59-8,88 (7,99)	4,36-6,30 (5,05)	7,45-8,03 (7,84)	4,65-5,99 (5,20)	3,80-4,64 (4,32)	4,98-5,56 (5,32)	*B. C > B. G
Sólidos suspendidos totales (mg L ⁻¹)	2,37-10,30 (3,71)	2,47-12,80 (3,57)	3,26-20,10 (14,40)	1,03-2,05 (1,22)	1,38-12,10 (3,16)	2,58-31,00 (13,90)	No
Precipitación (mm)	0,00-0,10 (0,00)	0,00-3,70 (0,30)	0,00-47,00 (5,55)	0,00-0,00 (0,00)	0,00-3,70 (0,20)	0,00-47,00 (3,50)	No
Fósforo (µm L ⁻¹)	0,02-0,04 (0,02)	0,02-0,02 (0,02)	0,02-0,02 (0,02)	0,02-0,02 (0,02)	0,02-0,03 (0,02)	0,02-0,02 (0,02)	No
Nitritos+Nitratos (µm L ⁻¹)	0,15-0,28 (0,15)	0,15-0,24 (0,15)	0,15-0,37 (0,27)	0,15-0,42 (0,26)	0,15-0,90 (0,18)	0,15-0,61 (0,16)	No
Amonio (µm L ⁻¹)	0,17-0,23 (0,17)	0,17-0,37 (0,17)	0,17-0,56 (0,18)	0,17-0,21 (0,18)	0,17-0,23 (0,17)	0,17-0,33 (0,17)	No
Nitritos+Nitratos+Amonio (µm L ⁻¹)	0,32-0,51 (0,33)	0,32-0,52 (0,37)	0,32-0,77 (0,47)	0,34-0,59 (0,44)	0,32-1,07 (0,41)	0,32-0,86 (0,33)	No
N/P	8,00-24,24 (15,25)	15,25-24,88 (17,45)	11,25-36,34 (22,53)	16,27-28,07 (19,40)	11,59-50,85 (17,94)	15,25-40,61 (15,71)	No
<i>Gambierdiscus</i> spp. (células 100 cm ²)	0-170 (0)	0-308 (0)	0-231 (0)	0-459 (0)	0-2601 (461)	0-1663 (185)	B. G > B.C
<i>Prorocentrum</i> cf. <i>Lima</i> (células 100 cm ²)	0-773 (157)	0-415 (0)	0-1845 (231)	2905-118931 (17994)	0-612 (221)	0-739 (0)	B. G > B.C
<i>Ostreopsis</i> cf. <i>ovata</i> (células 100 cm ²)	48-4216 (635)	1110-57999 (5404)	0-231 (0)	0-3076 (0)	0-3180 (77)	0 (0)	B. G < B.C
<i>Ostreopsis</i> spp. (células 100 cm ²)	392-28705 (8319)	1384-13853 (6605)	1494-92555 (29572)	2563-72281 (14686)	1615-68833 (4574)	0-1478 (299)	B. G < B.C

1.3.4 Asociación entre variables biológicas y ambientales (recursos y reguladores)

Los ejes 1 y 2 del Análisis de Correspondencias Canónicas (ACC) explicaron el 42,34% y el 20,63% de la varianza de los datos, respectivamente. Se encontró que la profundidad y la precipitación presentaron los valores más altos de correlación con el eje 1 de 0,685 y 0,462 respectivamente, mientras que la salinidad lo fue en el eje 2 con una correlación de -0,575 (Figura 1-14).

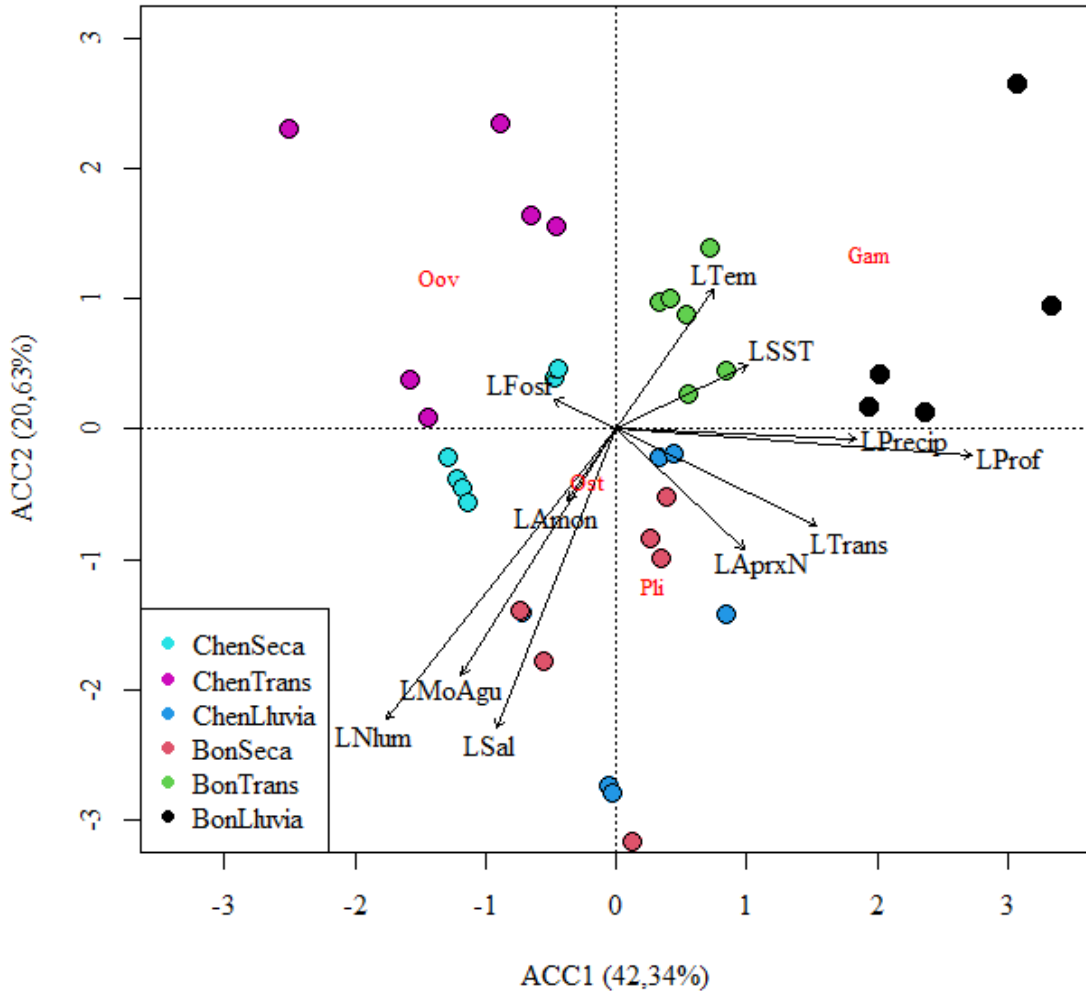


Figura 1-14: Diagrama de ordenación ACC, mostrando la relación entre los morfotipos y las variables ambientales consideradas (vectores). LTem= logaritmo de la temperatura; LSST= Log. de sólidos disueltos totales; LPrecip= log. de la precipitación; LProf= log. de la profundidad; LTrans = log de la transparencia; LAproxN= log de la fracción de nitrógeno inorgánico biodisponible; LSal= log de la salinidad; LMoAgu= log del movimiento de agua; LNlum= log. del nivel de luminosidad; LAmón= Log de la concentración de amonio; LFost= log. de la concentración de fósforo. Gam= *Gambierdiscus* spp.; Pli= *P. lima*; Oov= *O. ovata*; Ost= *Ostreopsis* spp.; Chen= B. Chengue; Bon= B. Gordo; Trans= época de transición.

Se encontró una asociación de *Gambierdiscus* spp. hacia mayores valores de temperatura, sólidos suspendidos totales (SST), precipitación y profundidad, y hacia menores de salinidad, nivel de iluminación y movimiento de agua. Para *Ostreopsis* cf. *ovata* se observó una asociación hacia menores valores de transparencia, fracción de nitrógeno inorgánico biodisponible, precipitación y profundidad. En *Ostreopsis* spp. hacia mayores valores de salinidad, nivel de iluminación y movimiento de agua y hacia menores de temperatura y SST; y para *Prorocentrum* cf. *lima* se observó una asociación directa con la fracción del

nitrógeno biodisponible y transparencia. Las variables amonio y fósforo tuvieron baja representación y tendrían poca asociación en los organismos evaluados.

1.4 Discusión

▪ *Gambierdiscus* spp.

Las tendencias observadas en el ACC de las mayores abundancias de *Gambierdiscus* spp. hacia aguas con mayor temperatura, SST y precipitación y hacia menores valores de salinidad (Figura 1-14), se ajusta a las condiciones ambientales típicas de las épocas en que se detectaron las mayores abundancias de este organismo: lluviosa menor (transición) y lluviosa (Tabla 1.3); en cuanto a su asociación respecto a menores niveles de iluminación, movimiento de agua y hacia mayores profundidades (Figura 1-14), se ajustaría hacia las condiciones que caracterizaron a B. Gordo, donde la persistencia y abundancia de este morfotipo fueron también mayores (Figura 1-10 A y B; Tabla 1.3); se destacó la poca participación tuvieron recursos como los nutrientes (nitrógeno y fósforo) en este morfotipo, quizás, a las bajas concentraciones que presentaron.

Considerando el estudio de Kibler *et al.* (2012), quienes evaluaron en condición de laboratorio los efectos de la temperatura y salinidad sobre el crecimiento en ocho especies de *Gambierdiscus* (*G. australes*, *G. belizeanus*, *G. caribaeus*, *G. carolinianus*, *G. carpenteri*, *G. pacificus*, *G. ruetzleri* y un ribotipo #2), determinaron para estas especies en conjunto límites de crecimiento entre los 15 y 33,6 °C para la temperatura y entre 24,7 y 41 para la salinidad. Estos rangos, al contener todos los rangos de temperatura y salinidad que se registraron durante el presente estudio (entre 26,66 – 30,17 °C para la temperatura y entre 31,80 – 36,80 para la salinidad), indicaría que el área de estudio presentaría condiciones favorables para el establecimiento de estos organismos, con respecto a estas variables. Entre los organismos analizados por Kibler *et al.* (2012), *G. caribaeus* ha sido hasta la fecha el único reportado y confirmado para el área de estudio (Arbeláez *et al.* 2017 y Arteaga-Sogamoso *et al.* 2021), de acuerdo con Kibler *et al.* (2012) este organismo, aislado en Belice, presentó temperaturas límites de crecimiento entre 16,8 y 33,6°C, con rangos de crecimiento óptimo entre 29,2 y 32,2 °C y con máxima temperatura de crecimiento hacia los 31,1 °C; en cuanto a la salinidad, los rangos límites estuvieron entre 14,5 y 41, los óptimos entre los 20,9 y 39,4, con una salinidad máxima de crecimiento de 35,0. Al cotejar los rangos temperatura con los del presente estudio, se encontró que en marzo (época seca) se dieron los valores más bajos de temperatura (entre 27,3 y 26,7 °C,

en B. Chengue y B. Gordo, respectivamente) no contenidos dentro del rango de crecimiento óptimo de Kibler *et al.* (2012) para *G. caribaeus*, concordando que en marzo *Gambierdiscus* spp. no fue persistente ni fue abundante en ambos sitios (Figura 1-10 A y B; Anexo D), ajustándose también a las tendencias mostradas por ACC (Figura 1-14) al mostrar las mayores abundancias de *Gambierdiscus* spp. hacia aguas más cálidas y estar distanciado de las estaciones correspondientes a la época seca y estar más cercanas hacia las estaciones de transición y lluvia en B. Gordo. En cuanto a la salinidad, el rango se encontró dentro del crecimiento óptimo de esta especie según de Kibler *et al.* (2012), sin embargo, el ACC indicaría para este estudio una tendencia del morfotipo hacia épocas con aguas de menor salinidad también observado en las épocas lluviosa menor (junio) y lluviosa mayor (octubre) (Figura 1-14 y Figura 1-4 B) especialmente en B. Gordo; sin embargo, las mayores abundancias estarían más asociadas a la temperatura que a la salinidad, considerando que las mayores temperaturas para el área coinciden con la presencia de las épocas lluviosa mayor y de lluviosa menor, y si se tiene en cuenta además que el rango de salinidad determinado en el presente estudio se encuentra dentro del amplio rango óptimo de salinidad obtenido por Kibler *et al.* (2012) para el crecimiento este organismo.

Por otro lado, como lo sugieren las tendencias observadas en el ACC, generalmente *Gambierdiscus* spp. es considerado un organismo que prefiere aguas tranquilas (Carlson y Tindall, 1985; Gillespie *et al.*, 1985; Taylor, 1985; Grzebyk *et al.*, 1994; Richlen y Lobel, 2011), aunque en algunos trabajos también lo reportan en aguas agitadas (Yasumoto *et al.*, 1979; Yasumoto *et al.*, 1980; Parson y Preskitt, 2007; Parson *et al.*, 2010), lo que posiblemente se debería a la adaptación de algunas especies de este género hacia estas condiciones, como se observó en *Gambierdiscus excentricus* hallado en playas expuestas de Tenerife, en las islas Canarias (Fraga *et al.*, 2011) y en laboratorio (Mustapa *et al.*, 2019). También es de general consenso que *Gambierdiscus* spp. prefiera sitios con menor nivel de iluminación, comportamiento observado tanto en campo como en laboratorio (Morton *et al.*, 1992; Parson *et al.*, 2010; Kibler *et al.*, 2012), lo cual parece observarse también en el presente estudio.

De acuerdo a los resultados obtenidos, para el área de estudio, es posible que *Gambierdiscus* spp. sea favorecido y aumente su densidad en las épocas en que registran incrementos de temperatura generalmente asociadas con presencia de precipitación (épocas lluviosa mayor y menor) y menor salinidad y en sitios con poco movimiento de

agua y menor iluminación. No obstante, estos comportamientos podrían considerarse a nivel local, pues al compararlos con los resultados de Delgado *et al.* (2006), en Cuba, encontraron las mayores abundancias de *Gambierdiscus* en aguas con alta temperatura, alta transparencia y salinidad debido a la ausencia de lluvias y con los de Okolodkov *et al.* (2014), en la península de Yucatán (México), donde las mayores abundancias se presentaron en condiciones de altas salinidad.

▪ *Ostreopsis cf. ovata*

En cuanto a *Ostreopsis cf. ovata*, su mayor asociación hacia aguas con menores valores de transparencia (Figura 1-14), estaría acorde con las condiciones que se podrían dar en B. Chengue (donde predominó) y durante la época de transición (en este caso la época de transición, en junio, donde fue más abundante en ambos sitios) (Tabla 1.3); mientras que su asociación hacia menores profundidades, coincide también con su mayor abundancia en B. Chengue donde es menor respecto a B. Gordo (Figura 1-6 A); en cuanto a la relación negativa con la precipitación coincide en que las menores abundancias, e inclusive su ausencia se presentaron en la época lluviosa (octubre) para ambos sitios, respectivamente (Figura 1-12; Tabla 1.3). Mientras que para los nutrientes nitrógeno y fósforo no se observaron comportamientos claros. Es de destacar en este morfotipo el similar comportamiento de los valores de abundancia respecto a las épocas climáticas en los dos sitios, siendo mayores en junio (transición), seguidos por los de marzo (seca mayor) y los menores o ausentes en octubre (lluviosa mayor), presentando Chengue siempre las mayores abundancias respecto a B. Gordo (Figura 1-12; Tabla 1.3).

Como se observó en el presente estudio, generalmente se ha encontrado que *Ostreopsis cf. ovata* tiende a preferir sitios con baja profundidad (Totti *et al.*, 2010; Richlen y Lobel., 2011; Cohu y Lemée., 2012; Accoroni y Totti. 2016), sugiriéndose que así tendrían mayor disponibilidad de luz (Accoroni y Totti, 2016), sin embargo, esta consideración contradice lo observado en ensayos de laboratorio, donde estos organismos crecen mejor a intensidades lumínicas bajas (Morton *et al.*, 1992; Scalco *et al.*, 2012) y son afectados de manera negativa en intensidades lumínicas mayores a $263 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (Yamaguchi *et al.*, 2014); por lo que para poder permanecer en sitios con alta intensidad lumínica, se cree que estos organismos recurrirían a la búsqueda de áreas sombreadas disponibles entre los sustratos junto con aumentos en la producción de mucus (Accoroni *et al.* 2012b), usándolo posiblemente a manera de escudo ante las fuertes radiaciones lumínicas.

▪ *Ostreopsis* spp.

De acuerdo al ACC, *Ostreopsis* spp. parecería favorecerse en principio hacia entornos típicos de la época seca donde se dan condiciones de menor temperatura y mayor salinidad y que pueden asociarse con mayores valores de movimiento de agua (favorecido por el predominio de los vientos alisios) e iluminación (cielos despejados), así como con menor concentración de SST (Figura 1-14), sin embargo, estas condiciones se ajustaron a las del segundo pico de abundancia detectado en este morfotipo en B. Gordo, y no para el pico de mayor abundancia que se detectó en la época lluviosa (octubre) en Chengue (Figura 1-13 A y B), caracterizándose ambas épocas por presentar condiciones fuertemente contrastantes; lo que podría deberse a la presencia dentro de este morfotipo de diferentes especies con requerimientos ambientales diferentes (algunos ya identificados molecularmente como *O. lenticularis* y *O. siamensis*, resultados aún no publicados, y de posiblemente otras especies más). La preferencia de organismos del género *Ostreopsis* por aguas con baja temperatura es expuesta en varios estudios realizados en Florida y el Caribe (Bomber, 1985; Carlson y Tindall, 1985; Morton *et al.*, 1992) y en otras partes del mundo (Rhodes *et al.*, 2000; Pearce *et al.*, 2001; Totti *et al.*, 2010; Selina y Orlova, 2010), sin embargo, también existen trabajos que la señalan tendencias opuestas (Parson and Preskitt, 2007; Mangialajo *et al.*, 2008; Graneli *et al.*, 2011, Tawong *et al.* 2015) o en los que no se observa alguna relación con la temperatura (Monti *et al.*, 2007). La tendencia encontrada en *Ostreopsis* spp. hacia aguas con movimiento se ajustaría a los trabajos de Vila *et al.* (2001) y Richlen y Lobel (2011), sin embargo, otros trabajos también señalan la preferencia de estos organismos por agua protegidas (Parson and Preskitt, 2007; Shears and Ross, 2009; Totti *et al.*, 2010; Mabrouk *et al.*, 2011; Accoroni *et al.*, 2012b). Sobre la salinidad, también se han obtenido resultados contrastantes, con preferencia hacia altas, como se encontró en el presente estudio (Vila *et al.* 2001; Delgado *et al.*, 2006; Monti *et al.*, 2007; Mangialajo *et al.*, 2008; Carnicer *et al.*, 2015) o hacia bajas salinidades (Carlson y Tindall, 1985; Parson and Preskitt, 2007).

▪ *Prorocentrum* cf. *lima*

En el ACC, las relaciones de *Prorocentrum* cf. *lima* con las variables abióticas fueron las menos claras, al asociarse en el ACC, con áreas de épocas altamente contrastantes, como la seca mayor (B. Gordo) y la lluviosa mayor (Chengue) (Figura 1-14), y que también se apreció en el comportamiento de las abundancias (Figura 1-11: A; Tabla 1.3); lo que indicaría que *Prorocentrum* cf. *lima* es una especie generalista, de amplio nicho, adaptada

a vivir en ambientes con condiciones diferentes, como lo sugiere su amplia distribución mundial en aguas tropicales como templadas (Nagahama *et al.*, 2011; Hoppenrath *et al.*, 2013). Adicionalmente, en el ACC *Prorocentrum cf. lima* tuvo una asociación positiva con la transparencia y con la profundidad, condiciones que se dieron en B. Gordo y en donde se dieron las mayores densidades. Por otro lado, Richlen y Lobel (2011), encontraron las mayores abundancias de dinoflagelados del género *Prorocentrum* hacia aguas calmadas, condición que predominó también en B. Gordo respecto a B. Chengue. Entre los morfotipos evaluados, *Prorocentrum cf. lima* y *Ostreopsis spp.*, fueron los que mostraron un comportamiento más afín, al ser los que mejor se correlacionaron entre sí ($r= 0,45$ y $0,64$; $p<0,05$; en B. Chengue y B. Gordo, respectivamente)

▪Comparación con otros trabajos realizados en el área de estudio

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos por Arbeláez (2017), basado en un monitoreo mensual de dinoflagelados bentónicos epífitos sobre *Thalassia testudinum*, realizados también en B. Chengue en dos sitios (en la bahía propiamente dicha y en una laguna somera aledaña a ésta con profundidad aproximada de 30 cm), entre enero de 2014 y diciembre de 2015 y en condición predominante de El Niño fuerte. Encuentra para *Gambierdiscus*, dos morfotipos, el primero (sugerido como *Gambierdiscus cf. Caribaeus* o Sp1) detectado en la bahía en agosto de 2015 (época seca menor-transición) en condiciones relativas de moderada temperatura ($28,5^{\circ}\text{C}$), alta salinidad (36,7), poca precipitación y con alta concentración de SST (57 mg L^{-1}), siendo esta última variable con valores mucho mayores a las detectadas en el presente estudio (Anexo A; Tabla 1.3); mientras que en laguna lo observó en julio de 2014 (seca menor-transición), en abril de 2015 (seca) y agosto de 2015 (seca menor-transición), con las mayores densidades en abril, en el que se reportaron valores altos de temperatura ($28,9^{\circ}\text{C}$), de salinidad (38,8) y SST de (24 mg L^{-1}) y en el que no se registró precipitaciones; siendo la salinidad mayor a las del presente estudio. El segundo morfotipo, *Gambierdiscus sp2*, lo detectó en la laguna en julio de 2014 (seca menor-transición), con registros moderados de temperatura de $27,5^{\circ}\text{C}$, uno de los registros más altos de salinidad (39,40) y elevada concentración de SST ($111,30 \text{ mg L}^{-1}$) y con bajas precipitaciones; siendo la salinidad y los SST mayores a los del presente estudio. Estos resultados coinciden con los del presente estudio en cuanto a las tendencias de este género por temperaturas moderadas y altas, pero no para la salinidad, ya que como se expuso en el presente estudio la tendencia fue hacia menores valores de salinidad.

Respecto a *Ostreopsis cf. ovata*, Arbeláez (2017) la encuentra de manera permanente en la bahía y esporádica en la laguna; en la bahía detecta los dos mayores picos de abundancia en abril de 2014 (época seca, con la mayor densidad) y en mayo de 2015 (lluviosa menor-transición), en abril las temperaturas fueron cercanas a los 28,0°C, salinidades altas superiores a 36,0 y SST moderadamente altos (66,0 mg L⁻¹, superando a los del presente estudio), con escasas precipitaciones (Tabla 1.3) y coincidiendo con el presente estudio en que uno de los picos de abundancia se presentó también en la época lluviosa menor-Transición. En la laguna, Arbeláez (2017), detectó las mayores abundancias en noviembre de 2014 (época lluviosa), en diciembre de 2014 (seca) y enero de 2015 (seca, donde se detectó la mayor abundancia) aunque en densidades mucho menores a las de B. Chengue, con elevadas salinidades (37,0) y la mínima temperatura registrada (25,40°C); para Arbeláez (2017) las mayores abundancias se dieron en condiciones contrastantes, mientras que para el presente estudio que se presentaron hacia la época lluviosa menor (transición).

Para *Prorocentrum cf. lima*, Arbeláez (2017) la encontró más abundante y persistente en bahía Chengue en septiembre de 2014 (época lluviosa), con condiciones ambientales influenciadas por precipitaciones, con descensos relativos de la salinidad (35,50) y temperaturas altas (29,60 °C); mientras que en la laguna la mayor densidad la asoció con condiciones de sequía en marzo de 2005 (seca), con altos valores de salinidad (39,50) y disminución de la temperatura. La ocurrencia de los mayores valores de abundancia en épocas con condiciones contrastantes expuestas por Arbeláez (2017) también fueron observadas y expuestas en el presente estudio.

Respecto a *Ostreopsis spp*, Arbeláez (2017) detectó la mayor densidad en septiembre de 2014 (época lluviosa) en B. Chengue, concurrente con altas temperaturas (29,60 °C), altas concentraciones de SST y baja salinidad (35,50) atribuida a precipitaciones, comportamientos coincidentes con las del presente estudio también en B. Chengue, donde también las mayores densidades se presentaron en la época lluviosa (octubre/2018). En la laguna, Arbeláez (2017) encontró frecuencias y densidades muy por debajo a las de Chengue ocurriendo el mayor valor en enero de 2014 (seca), caracterizada por altos valores de salinidad, bajas temperaturas (24,80°C) y SST de 35 mg L⁻¹, siendo características ambientales coincidentes con el segundo pico de abundancia de este morfotipo ocurrido en el presente estudio, también en marzo/2018, pero en B. Gordo. Mostrando ambos estudios que la ocurrencia de las mayores abundancias para este

morfotipo puede presentarse en épocas con condiciones fuertemente contrastantes (seca y lluviosa). Por otro lado, algunas de las diferencias en los resultados encontrados entre los de Arbeláez (2017) y el presente trabajo, pueden deberse en parte a las diferentes intensidades y comportamientos de las condiciones ENOS en que se realizaron los dos trabajos (durante El Niño moderado y muy intenso en el de Arbeláez y condiciones generalmente neutrales en este trabajo). Según Arbeláez (2017), las condiciones que se presentaron en 2014 y 2015 fueron anómalas no solo por ser de los más secos respecto a la media histórica, sino también porque algunos de los meses más lluviosos excedieron los promedios registrados en los últimos 35 años.

Como se puede apreciar, existen muchos estudios con resultados contrastantes en cuanto a las características ambientales y los requerimientos para el desarrollo de estos organismos. Lo que podría atribuirse a razones como : las diferencias metodológicas entre los estudios cotejados, como por ejemplo la elección de diferentes tipos de sustratos o mezclas las de los mismos (varias especies de macroalgas o macrófitas) o el empleo de sustratos artificiales; asimismo las diferencias en cuanto a requerimientos entre las diferentes cepas de una misma especie, lo que les ha permitido con el tiempo adaptarse a las particulares condiciones donde habitan; la dificultad en la identificación ya sea por su plasticidad o gran parecido morfológico de estos organismos durante los conteos, hace que generalmente se trabaje en muchos de estos organismos nivel de género, que pueden contener diferentes especies y cepas con requerimientos diferentes; la característica cosmopolita de algunas especies, que podrían tener amplios rangos de tolerancia y requerimientos dificultando su tipificación; la influencia que pueden tener de manera independiente y/o conjunta las diferentes variables (conocidas o desconocidas) en el comportamiento de estos organismos y las condiciones ambientales y climáticas propias de cada sitio.

En cuanto a los recursos y reguladores en el comportamiento de la abundancia de los dinoflagelados bentónicos seleccionados, se encontró que los recursos, en este caso representado por los nutrientes, no tuvieron un papel tan marcado como la que se observó con los reguladores.

1.5 Conclusiones y recomendaciones

Las mayores abundancias de *Gambierdiscus* spp. se asociaron hacia mayores valores de temperatura, sólidos suspendidos totales (SST), precipitación y profundidad, y hacia menores valores de salinidad, nivel de iluminación y movimiento de agua. Condiciones que se presentaron en las épocas de transición y lluviosa, donde fueron más abundantes, y que podría estar regidos principalmente por incrementos de temperatura, que tienden a presentarse en las épocas de transición y lluviosa para el área, así como por condiciones de menor movimiento de agua y nivel de iluminación (observado en B. Gordo).

No se observó influencia de los recursos, en lo que respecta nutrientes, para *Gambierdiscus* spp.

Para *Ostreopsis* cf. *ovata* las mayores abundancias se asociaron hacia menores valores de los reguladores transparencia, precipitación y profundidad y del recurso fracción de nitrógeno inorgánico biodisponible, condiciones que se manifestaron por las mayores abundancias en la época de transición en general y en B. Chengue (en cuanto a su menor profundidad), así como por valores bajos de abundancia y ausencias en la época lluviosa.

Para *Ostreopsis* spp. y *Prorocentrum* cf. *lima* las mayores abundancias se dieron en condiciones fuertemente contrastantes (seca y lluviosa), comportamiento atribuido a la presencia de diferentes especies con requerimientos ambientales diferentes para el primer morfotipo y al carácter generalista del segundo.

Se observó una mayor influencia de los reguladores respecto a los recursos. Influyendo entre los recursos el nivel de iluminación (en *Gambierdiscus* spp y *Ostreopsis* spp) y el nitrógeno inorgánico disponible (en *Ostreopsis* cf. *ovata* y *Prorocentrum* cf. *lima*).

Aunque se presentaron ciertas condiciones ambientales que parecen favorecer a ciertos morfotipos, es bueno señalar que ésto no siempre va a ser así, ya que estos comportamientos pudieron estar obedeciendo también a la interacción entre estas variables o a la participación de otras no contempladas en el presente estudio, siendo en consecuencia este estudio un aporte de los muchos necesarios para confirmar y afinar estas posibles asociaciones, de modo que alcancen una capacidad mas predictiva.

Se encontraron diferencias en el comportamiento de cada morfotipo a nivel temporal (épocas climáticas) como espacial (sitios), siendo un mecanismo que permitiría a cada uno aprovechar mejor los diferentes escenarios que se presentan en el área estudiada.

La presencia casi permanente de la mayoría de estos morfotipos hace de esta área susceptible a diversos y potenciales eventos de floraciones algales nocivas e intoxicaciones que podrían afectar a otros organismos o al hombre, por lo que se recomienda estudiarlos de manera más dirigida, sistemática ojalá a través de monitoreos buscando prevenir o mitigar sus impactos.

Para el área de estudio se encontraron condiciones ambientales que favorecerían la presencia de *Gambierdiscus spp.* causantes de una de las formas más corrientes de intoxicación por consumo de peces en el Caribe conocida como ciguatera, entre las que se destacaría el incremento de temperatura.

2. Capítulo 2

Dinámica de la fijación de dinoflagelados bentónicos: evaluación de la abundancia en sustratos artificiales y naturales, su variación diaria y comportamiento respecto a diferentes periodos de exposición en sustratos artificiales

2.1 Introducción

Entre los dinoflagelados, los de hábitos bentónicos son un grupo particular de organismos, que además de hallárseles en la columna de agua también se asocian a gran variedad de sustratos que abarcan desde vivos (macroalgas, fanerógamas marinas, céspedes) a inertes (coral muerto, rocas, arena, desechos de origen antrópico), fijos o en movimiento (macroalgas o basura marina flotante, conchas o caparazones de organismos vivos). Mundialmente este grupo ha adquirido gran interés por la capacidad de muchas de sus especies de producir una amplia gama de productos metabólicos que por su toxicidad han ocasionado mortandad de diversos organismos marinos, afectando además la salud humana, comprometiéndose la seguridad alimentaria, generando graves problemas a nivel ambiental, social y económico, siendo una situación que eventualmente podría agravarse frente al cambio climático, la degradación de los ecosistemas marinos, la sobrepesca, entre otros, ya que podrían favorecerse muchas de estas especies; sin embargo, a pesar del interés que han generado, aún existen muchos vacíos sobre el conocimiento de gran parte

de su biología y ecología, comparada con la de sus contrapartes estrictamente planctónicas.

En el Caribe colombiano se ha confirmado, la presencia de varios géneros de dinoflagelados bentónicos con especies potencialmente toxigénicas, destacándose por su frecuencia, abundancia y antecedentes nocivos los géneros *Gambierdiscus*, *Prorocentrum*, *Ostreopsis* y *Coolia* (Rodríguez *et al.*, 2010; Malagón y Perdomo, 2011; INVEMAR, 2013; Mancera-Pineda *et al.*, 2014; Ruíz, 2016; Arbeláez, 2017; Arbeláez *et al.*, 2017; Arteaga-Sogamoso *et al.*, 2021). El primero de estos géneros está asociado con la producción de ciguatoxinas, maitotoxinas, gambierol, gambieróxidos y gambierone, causantes del envenenamiento ciguaterico por ingesta de peces o ciguatera (Satake *et al.*, 1993; Litaker *et al.*, 2010; Parsons *et al.*, 2011; Parsons *et al.*, 2012; Watanabe *et al.*, 2013; Rodríguez *et al.*, 2015); el segundo con la de especies productoras de ácido okadaico, principalmente, así como de prorocontrolidos y dinofisistoxinas, ocasionando generalmente intoxicaciones diarreicas por consumo de mariscos (Murakami *et al.*, 1982; Marr *et al.*, 1992; Lawrence *et al.*, 2000; Hoppenrath *et al.*, 2013), el tercer género, *Ostreopsis*, con especies productoras de análogos de la palitoxina, ovatoxinas, mascarenotoxinas, ostreocinas y otras toxinas que no solo contaminan bivalvos y peces de consumo humano, sino también al agua, causando por contacto directo, irritaciones de la piel, los ojos y las vías respiratorias a través del espray marino que se torna tóxico, este fenómeno ha afectado a bañistas, pescadores y demás personas expuestas a estas floraciones (Aligizaki y Nikolaidis, 2006; Ciminiello *et al.*, 2008a; Mangialajo *et al.*, 2008; Accoroni y Totti, 2016) así como a otros organismos marinos (Granéli *et al.*, 2002; Ferreira, 2006; Carella *et al.*, 2015). Mientras que *Coolia*, es productora de cooliatoxinas (Momigliano *et al.*, 2013).

El complejo modo de vida que presentan estos dinoflagelados, en el que se comparten hábitos planctónicos como bentónicos, ha dificultado en parte su estudio; por lo que en algunas investigaciones y monitoreos se han enfocado en el comportamiento de la abundancia espacial y temporal de éstos organismos presentes en la columna de agua (Giussani *et al.* 2017), sin embargo, al ser considerados habitualmente como bentónicos, la mayoría han seguido la metodología de Yasumoto *et al.* (1977, 1979) usada inicialmente para *Gambierdiscus*, consistente básicamente en obtener los organismos adheridos de sustratos naturales (generalmente macrófitas como macroalgas o pastos marinos), seccionando cuidadosamente partes de éstas e introduciéndolas en recipientes o bolsas plásticas y sellándolos herméticamente bajo la superficie del agua, buscado de evitar el

desprendimiento y pérdida de las células. En el laboratorio, los organismos se desprenden del sustrato mediante agitación y se pasan por una serie de tamices para finalmente concentrarlos y retenerlos en un tamiz de 20 μm , almacenándolos posteriormente en un volumen conocido de agua marina, fijados generalmente con formalina. Mientras que a los sustratos de donde se obtuvieron se les determina el peso húmedo o seco. Luego, bajo microscopio, identifican y contabilizan usando cámaras de sedimentación Utermöhl o Sedgewick-Rafter. Expresando las densidades en número de células por gramo de peso húmedo de la macrófita (cél g^{-1} P. H.), resultante de dividir la densidad de los organismos por el peso de la macrófita en que fueron encontrados.

Sin embargo, en el uso de esta metodología se han presentado diversos inconvenientes, destacándose entre éstos como el presentarse resultados contradictorios cuando se comparan estudios en que han trabajado con diferentes tipos de macrófitas (Lobel *et al.*, 1988; Richlen & Lobel, 2011; Parsons *et al.*, 2012) debido a la gran variedad y complejidad morfológica de las macrófitas en que se han encontrado estos organismos, optándose en algunos trabajos en no especificar la especie-sustrato seleccionada o se realiza mezclas entre éstas (Lobel *et al.*, 1988). Por lo anterior, se ha sugerido que dadas las diferencias morfológicas entre las distintas especies de macrófitas, solo pueden ser comparables muestras en las que se usen la misma especie hospedera, introduciéndose grandes fuentes de error cuando éstas son diferentes (Lobel *et al.*, 1988). Aunque se han realizado diversos intentos para poder comparar las densidades entre las diferentes especies de macrófitas, tales como estandarizar los resultados en número de organismos presentes por unidad de área macrófita, esto también ha resultado ser una labor muy ardua y poca práctica debido también a la misma complejidad morfológica (Bomber *et al.*, 1989). Respecto a otros inconvenientes encontrados al trabajar con macrófitas se mencionan: la producción y exudación de diversas sustancias producidas por las macrófitas, o por los diferentes tipos de microorganismos epífitos que habitan sobre ellas, que pueden inducir o disuadir el asentamiento de los dinoflagelados de interés (Nakahara *et al.*, 1996); las preferencias particulares que pueda tener cada especie de dinoflagelado bentónico hacia un determinado tipo de macrófita; la posibilidad de que tales macrófitas sean consumidas selectiva y activamente por herbívoros; la dependencia de la disponibilidad espacial y temporal de macrófitas y la necesidad de extraer organismos objeto y no objeto de estudio. En general, una muestra natural contiene aquello que se ha logrado establecer, resultado de procesos de ganancia, como reproducción, inmigración considerando su aceptación

hacia el sustrato y pérdidas como mortalidad natural, competencia, depredación y emigración (Jauzein *et al.*, 2018), las cuales han sucedido sobre dicho sustrato a través de un lapso desconocido de tiempo, para el caso de los sustratos naturales.

Debido a los inconvenientes expuestos con los sustratos naturales, algunos investigadores han implementado y propuesto el uso alternativo de recolectores artificiales con el fin de estandarizar metodologías y hacer más comparables los resultados (Caire *et al.*, 1985; Tan *et al.*, 2013; Tester *et al.*, 2014; Jauzein *et al.*, 2018), asumiéndose que los dinoflagelados bentónicos son capaces de colonizar nuevos sustratos los que después de un período de tiempo alcanzan una proporción similar a la abundancia de su entorno (Nakahara *et al.*, 1996; Tester *et al.*, 2014). Según Tester *et al.* (2014), las ventajas del uso de sustratos artificiales frente al método natural tradicional serían: la posibilidad de estandarizar los resultados en una unidad más práctica y real (en número de células por área, en vez de peso de sustrato), lo que permite la comparación entre diferentes estudios; prescindir la dependencia de la disponibilidad temporal y espacial de las macrófitas del área; tener la posibilidad de disponer de los recolectores en múltiples arreglos tanto en el tiempo como en el espacio facilitando la manipulación experimental; descartar las atracciones o repulsiones que podrían tener ciertos dinoflagelados bentónicos hacia algunas macrófitas al considerarse dichos recolectores como relativamente inertes al no exudar sustancias atrayentes o repelentes; disminuir el riesgo de los efectos por pastoreo ocasionado por peces u otros animales debido a su no palatabilidad; dado al corto tiempo de exposición utilizado (generalmente 24 h), se disminuiría la influencia de otros posibles procesos, como competencia, predación, etc. (Tester *et al.*, 2014; Jauzein *et al.*, 2018); poder obtener muestras relativamente más limpias de más fácil procesamiento y observación y conteo de los organismos; y, al conocerse el tiempo de exposición de los recolectores, se tendría un valor más real de la abundancia y disponibilidad de los dinoflagelados de interés en un periodo dado. No obstante, esta metodología tampoco está exenta de inconvenientes, como son: la necesidad de realizar mínimo dos visitas al sitio de muestreo (cuando se colocan y cuando se recogen los recolectores); riesgo de pérdida de éstos por vandalismo o robo; las perturbaciones por animales o personas; la posible disuasión algunos dinoflagelados a fijarse por la naturaleza misma de estos recolectores (Tester *et al.* 2014).

En cuanto a la periodicidad de los muestreos, en la mayoría de estudios realizados con estos organismos ha sido y en general mensual (Malagón y Perdomo, 2011; Parsons *et al.*, 2017; Arbeláez, 2017), y en contadas ocasiones semanal (Ballantine *et al.*, 1985) y

trimestral (Okolodkov *et al.*, 2014). Estos Intervalos de tiempo que pueden considerarse como amplios teniendo en cuenta el corto ciclo de vida y de generación de estos organismos y dentro de los que también entrarían a participar otras variables tanto abióticas como bióticas que influirían también sobre la abundancia de estos organismos. En el presente trabajo, se realiza un análisis del comportamiento de los promedios de abundancia considerando épocas climáticas, pero mirando dentro de éstas también los comportamientos que ocurrieron a escala diaria, en dos sitios con presencia de estos organismos. Con base en lo anterior, se determinan y comparan los comportamientos en cuanto a fijación entre sustratos naturales (macrófita: *T. testudinum*) y artificiales (mallas en fibra de vidrio) de especies y/o morfotipos más representativos de los tres géneros de interés (*Gambierdiscus*, *Prorocentrum* y *Ostreopsis*); la variación consecutiva diaria en sustratos artificiales de la abundancia a lo largo de un periodo de seis días para cada una de las épocas climática analizadas y sitios; y el comportamiento de su abundancia, también en sustratos artificiales, a lo largo de diferentes periodos de exposición de los sustratos (24, 72 y 144 h, correspondientes a 1d, 3d y 6días, respectivamente), contribuyendo de esta manera al conocimiento respecto al asentamiento de estos organismos hacia los sustratos.

Es pertinente mencionar respecto al tiempo de exposición de los colectores, la sugerencia de Tester *et al.* (2014) de exponerlos por 24 h, tiempo a partir del cual encontraron que las abundancias de las células de *Gambierdiscus*, *Prorocentrum* y *Ostreopsis* era máxima y se mantuvo estable, sin incrementos o disminuciones posteriores apreciables hasta las 48 h de observación, en experimentos llevados a cabo en Belice. Estas observaciones fueron apoyadas posteriormente por Jauzein *et al.* (2018), quienes registraron las mayores abundancias de células de *Ostreopsis* también hacia las 24 horas, usando los mismos tipos de colectores empleados por Tester *et al.* (2014), en ensayos realizados en Francia (Mar Mediterráneo). Con base en estas observaciones en el presente estudio se busca examinar si tal comportamiento se mantiene aún por periodos más largos de tiempo (72 y 144 h). La información generada contribuirá a un mayor conocimiento sobre el comportamiento referente a la fijación de estos organismos hacia los sustratos, aportando también al diseño de monitoreos más efectivos y eficientes para estos organismos mediante este tipo de colectores.

Con el desarrollo del presente estudio se pretende:

- Cuantificar y comparar el comportamiento de las abundancias entre sustratos naturales (*T. testudinium*) y artificiales (mallas en fibra de vidrio) en diferentes morfotipos de dinoflagelados bentónicos del Caribe continental colombiano, a través de diferentes épocas climáticas y sitios.
- Determinar y caracterizar la variación consecutiva diaria de la abundancia en sustratos artificiales en diferentes morfotipos de dinoflagelados bentónicos del Caribe continental colombiano, considerando para ello diferentes épocas climáticas y sitios.
- Caracterizar y comparar el comportamiento de la abundancia en sustratos artificiales expuestos en diferentes periodos tiempo (24, 72 y 144 h) en diferentes morfotipos de dinoflagelados bentónicos del Caribe continental colombiano, a través de diferentes épocas climáticas y sitios.

2.2 Materiales y métodos

2.2.1 Área de estudio

Este trabajo se desarrolló en la bahía de Chengue (11°19'16,4 N; 74°07'36,5 O) y en el sector de Bonito Gordo (en bahía Concha, 11°17'55,8 N; 74°10'8,2 O), ubicadas aproximadamente a 14 Km al nororiente de la ciudad de Santa Marta, Departamento del Magdalena, norte de Colombia, sobre la costa centro-sur del mar Caribe (Figura 2-1). La variabilidad climática de esta zona obedece desplazamiento de la Zona de Convergencia Intertropical (ZCIT) cuya manifestación se caracteriza por la presencia permanente de nubes y abundantes precipitaciones (IDEAM-UPME, 2006), disminución de los vientos Alisios (del sureste o noreste que convergen en dicha zona) y una inversión de la corriente superficial marina en sentido oeste-este (Donoso, 1990; Andrade, 1993). Para esta zona se consideran generalmente cuatro épocas climáticas: la época seca mayor (diciembre-abril), con fuerte predominio de los vientos Alisios del noreste (Márquez-Calle, 1982; Bula-Meyer, 1990) y favorecimiento de afloramientos costeros de tipo mesotrófico (Franco-Herrera, 2005); las épocas lluviosa menor (mayo-junio) y seca menor (Julio-Agosto), consideradas de transición, con debilitamiento de los vientos Alisios de las lluvias y del afloramiento; y la época lluviosa mayor (septiembre-noviembre) donde ocurre la mayor proporción anual de lluvias por la presencia de la ZCIT y mayor aporte de los ríos y de la escorrentía (García-Hoyos *et al*, 2010) y con un mayor debilitamiento de los vientos Alisios.

La temperatura superficial del mar suele oscilar entre los 24,0 y 30,2 °C (en las épocas seca mayor y lluviosa mayor, respectivamente) y la salinidad entre los 26,9 (lluviosa mayor) y 37,0 (seca mayor) (Ricaurte-Villota y Bastidas, 2017). Sin embargo, estos patrones y valores se ven alterados por eventos climáticos de gran escala como El Niño y La Niña, destacándose durante el desarrollo del presente trabajo la tendencia hacia condiciones neutrales (IDEAM, 2018a; IDEAM, 2018b, IDEAM, 2018c, IDEAM, 2019).

La bahía de Chengue (B. Chengue) y Bonito Gordo (B. Gordo), este último ubicado en Bahía Concha y más cercano a ciudad de Santa Marta (Figura 2-1), hacen parte del Parque Nacional Natural Tayrona (PNNT), siendo una de las áreas núcleo de la Reserva de la Biosfera Sierra Nevada de Santa Marta, por estar estas formaciones relacionadas con la entrada al mar de las estribaciones de la Sierra Nevada de Santa Marta (SNSM), que presentan frecuentemente fondos rocosos y parches de formaciones arrecifales (Bartels, 1970). En su fondo marino poco profundo se pueden observar también fondos arenosos cubiertos por praderas de fanerógamas marinas, compuestas principalmente por *Thalassia testudinum* (Ardila *et al.*, 1997; Díaz *et al.*, 2003). Al ser una zona recreacional exterior (Unidad Administrativa especial sistema de parques Nacionales: UAESPNN, 2002), existe cierta presión por parte de actividades turísticas y algunos lugareños (Rueda-Solano y Castellanos-Barliza, 2010), principalmente en Bahía Concha por su más fácil acceso. B. Gordo se caracteriza por presentar una mayor profundidad (2,5 m frente a los 1,5 m de B. Chengue), una menor circulación de agua y una menor distancia respecto a sitios con asentamientos humanos (Taganga y Santa Marta), y por su más fácil acceso más intervenida por actividades turísticas que B. Chengue.

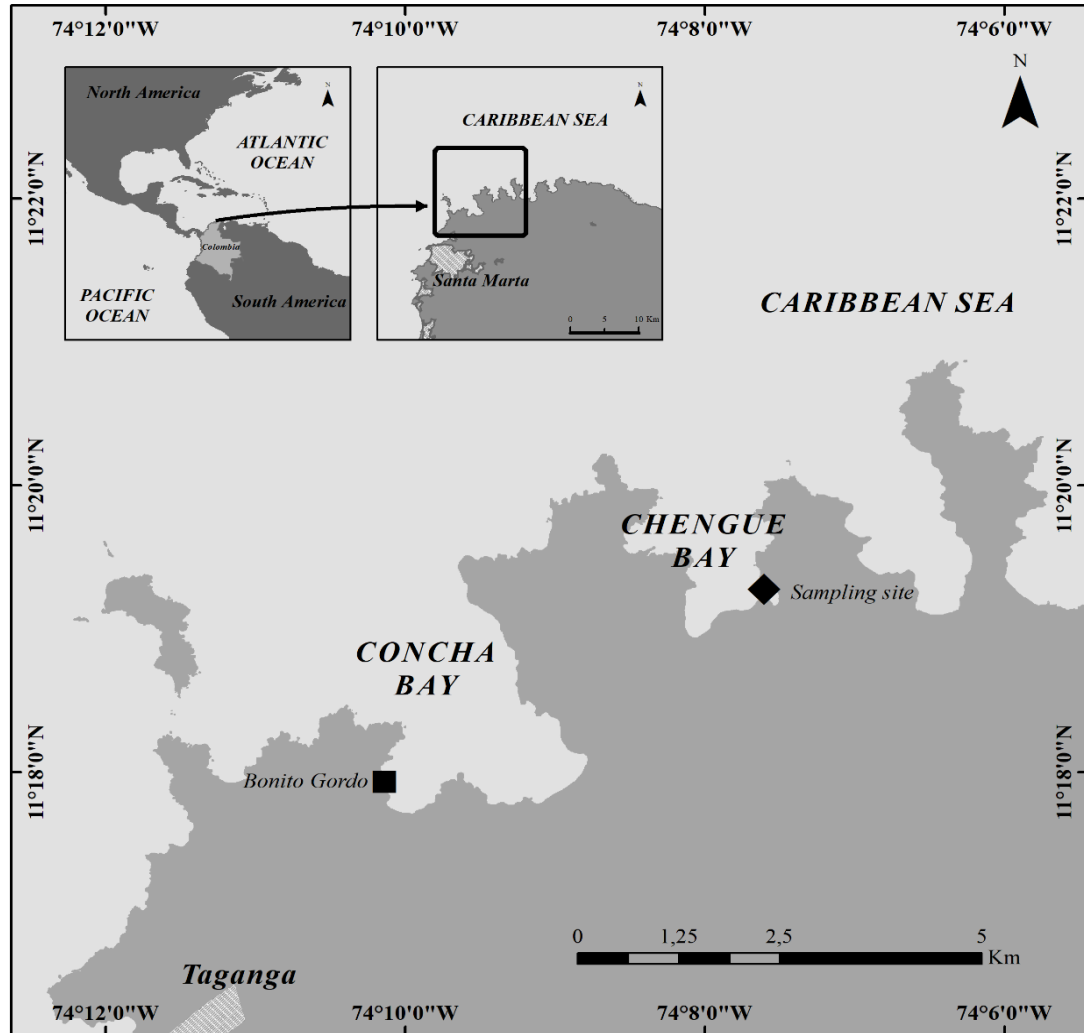


Figura 2-1: Área de estudio

2.2.2 Fase de campo

En B. Chengue como en B. Gordo se realizaron tres campañas de muestreo en 2018, una en la época climática seca (entre el 7 y 14 de marzo), otra en la época lluviosa (17 y 24 de octubre) y en transición (lluviosa menor, entre el 18 y 25 de junio), en las que se llevaron a cabo ensayos de fijación y abundancia de dinoflagelados bentónicos en colectores (sustratos) artificiales expuestos sobre las praderas de pasto marino *Thalassia testudinum* (Bank ex Koning, 1805), a profundidades de 1,5 m (B. Chengue) y 2,5 m (B. Gordo). Estos colectores consistieron en mallas rectangulares de fibra de vidrio negro de 12,2 cm de ancho y 15,2 cm de largo y tamaño de poro de aproximadamente 1 mm, con un área estimada de 162,4 cm², de acuerdo con Tester *et al.* (2014). Estas mallas

suspendieron aproximadamente a 20 cm del fondo entre un flotador y un peso, unidos a través de líneas de nylon mediante giradores triples (Figura 2-2).

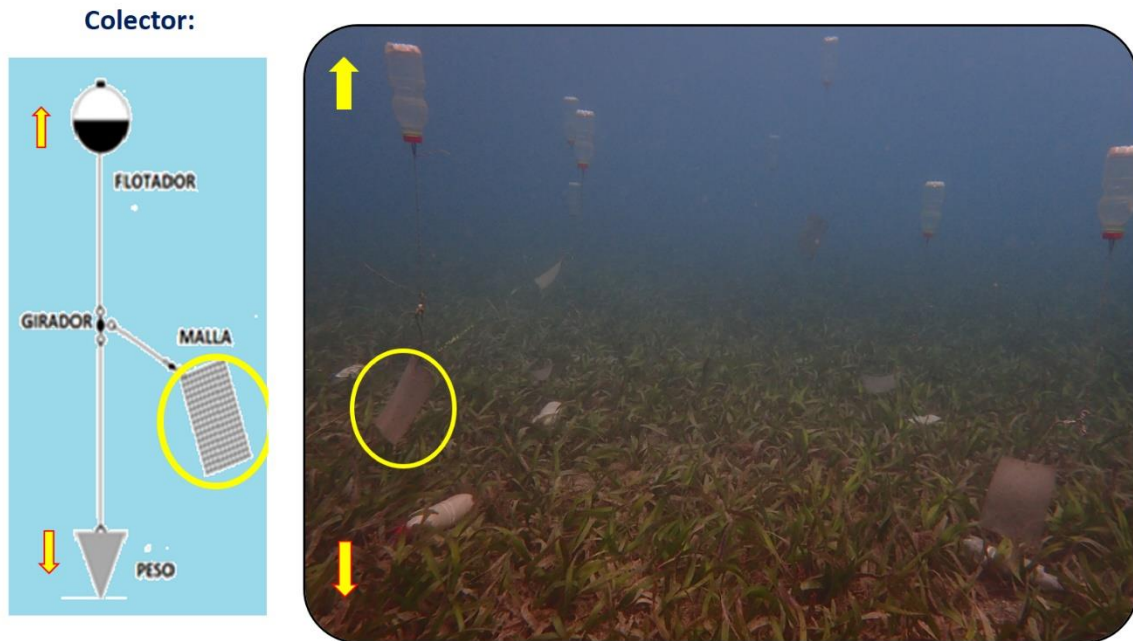


Figura 2-2: Estructura general de los recolectores a empleados durante los muestreos, modificado de Tester *et al.* (2014).

Según los diferentes ensayos, estos colectores se dispusieron de la siguiente manera: en la evaluación de la variación de los promedios de abundancia diaria consecutiva, para cada sitio y época climática se instalaron y recogieron diariamente (24 h de exposición) durante seis días consecutivos, siete réplicas de colectores nuevos (sin reusar), instalándolos a una distancia aproximada de 1,5 m uno del otro (Figura 2-3); para determinar la variación de los promedios de abundancia respecto a los diferentes periodos de exposición de los colectores (24, 72 y 144 h de exposición), se instalaron adicionalmente desde el primer día para cada sitio y época climática, dos juegos de colectores, compuestos también por siete réplicas cada uno, de los cuales uno se recolectó al tercer y el otro al sexto día (registrándose periodos de exposición de 72 y 144 h, respectivamente) (Figura 2-3).



Figura 2-3: Disposición de los colectores artificiales para los diferentes análisis.

Para evaluar comparativamente los promedios de abundancia entre los sustratos artificiales (correspondientes a las mallas de fibra de vidrio) y los sustratos naturales (macrófita: correspondiente a hojas de *Thalassia testudinum*), se recolectaron de manera simultánea diaria con los sustratos artificiales muestras de hojas de *T. testudinum* que fueron almacenadas en bolsas plásticas de cierre hermético (Ziploc®) en sitios aledaños donde se instalaron los sustratos artificiales, siendo posteriormente transportadas en las mismas condiciones que las mallas.

Finalizados los respectivos tiempos de exposición de las mallas, cada una se retiró y fue cuidadosamente introducida en recipientes plásticos individuales de boca ancha de 1,5 L que se cerraron y sellaron herméticamente bajo la superficie del agua, tratando de evitar al máximo pérdidas por desprendimiento o evasión de los organismos de interés. Estos recipientes al igual que las bolsas que contenían las hojas de *T. testudinum* luego se almacenaron en cavas plásticas en un lugar fresco para su transporte y posterior procesamiento ese mismo día en el laboratorio.

2.2.3 Fase de laboratorio

Para cada uno de los recipientes plásticos que contenían las mallas, aproximadamente la mitad del agua marina con que venían fue vertida en una probeta de 2 L cerrando de nuevo el recipiente con el resto de agua y la malla que quedaba y se sacudió suavemente por dos minutos para desprender los organismos, enseguida esta agua también se depositó en la misma probeta de 2 L. registrándose luego el volumen total de agua obtenido. Para obtener también los dinoflagelados que pudieron quedar aún remanentes en las mallas, estas fueron lavadas dos veces más mediante agitación, con aproximadamente 100 ml de

agua de mar filtrada y añadida también a la misma probeta de 2 L. Luego, con el fin de separar y concentrar los organismos de interés, el agua de la probeta fue pasada por un tamiz de 20 μm y lo quedó en este último depositado en frascos de 70 ml, ajustando el volumen con agua marina filtrada y fijándolos con 1 ml formalina al 37 %, para su almacenamiento y posterior identificación y conteo de los organismos. Similar tratamiento recibió las muestras con hojas de *T. testudinum*, sólo que la agitación se realizó en las bolsas en que venían.

La identificación preliminar de los organismos y la estimación de la densidad celular (en número de células ml^{-1}) y se realizó mediante cámaras de conteo Sedgewick-Rafter empleando un microscopio de luz Primo Star Zeiss, siguiendo las metodologías descritas por Edler y Elbrächter (2010) y Villafañe y Reid (1995), considerándose para ello el volumen total registrado de cada muestra, los volúmenes de las submuestras analizadas en las cámaras Sedgewick-Rafter, las áreas o número de campos analizados en las cámaras y el número de organismos contabilizados a nivel de morfotipo. Para las mallas, las densidades así obtenidas fueron divididas por el área estimada de estas mallas y multiplicando por 100, expresando los resultados de las abundancias en número de células 100 cm^{-2} de malla. Para el caso de las hojas de *T. testudinum*, estas fueron previamente secadas con papel secante y luego pesadas en fresco y además también fueron medidas para determinar su área foliar que consistió en la suma de todas las áreas de las hojas presentes en la muestra (determinada mediante la multiplicación del largo por el ancho de la hoja, multiplicado por dos para considerar sus dos caras); al dividir los resultados de densidad obtenidos con las cámaras de conteo Sedgewick-Rafter por el peso foliar las densidades se expresaron en número de células por gramo de peso húmedo de la macrófita (cél g^{-1} P. H.); de manera similar, al dividir los resultados de densidad obtenidos con las cámaras de conteo Sedgewick-Rafter por el área foliar y multiplicando por 100, se estableció para las macrófitas la abundancia en número de células 100 cm^{-2} de área foliar de macrófita y que presenta las mismas unidades que la estimada en las mallas. Para ver la viabilidad de remplazar el peso foliar por el área foliar, que resulta más comparable con las unidades en que se expresan las mallas, se realizó previamente un análisis de correlación de Pearson entre estas dos variables, teniendo en cuenta el valor de r y su significancia estadística ($p < 0,05$).

La observación, medición y registro fotográfico de los organismos de interés se llevó también a cabo en un microscopio óptico Leica DMLA con contraste de fase y

epifluorescencia (Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Germany), dotado con lámpara UV, cámara fotográfica AxioCam HR3 y con procesador de imágenes ZEN 2 lite. Las imágenes con epifluorescencia se obtuvieron aplicando una gota de calcoflúor sobre los organismos para la tinción de sus placas, antes de cubrirlos con el cubreobjetos (Fritz y Trimer, 1985), observándolos posteriormente bajo un filtro de luz UV (Reguera *et al.*, 2011).

La identificación de los organismos se efectuó mediante consulta a expertos, artículos especializados y guías especializadas como las de Taylor (1987), Steindinger and Tangen (1997), Litaker *et al.* (2009), Hoppenrath *et al.* (2013), Hoppenrath *et al.* (2014), Almazán-Becerril *et al.* (2015). Para el presente trabajo se consideraron los morfotipos *Gambierdiscus* spp, *Prorocentrum cf. lima*, *Ostreopsis cf. ovata* y *Ostreopsis* spp. debido a antecedentes como responsables de intoxicaciones en humanos y otros organismos marinos, así como por su mayor frecuencia y abundancia observada en el área de estudio.

2.2.4 Análisis de la información

Los datos evaluados consistieron básicamente en los promedios de abundancia diarios estimados a partir de siete réplicas (colectores), así como del promedio diario de las muestras de hojas de *T. testudinum*, desglosados por morfotipo taxonómico, sitio, época (mes) y fecha de colecta (Anexos I y L). Inicialmente se realizó un análisis preliminar exploratorio general de los datos, para verificar su normalidad y la homogeneidad de varianzas mediante las pruebas de Shapiro-Wilk ($p > 0,05$) y Levene ($p > 0,05$), respectivamente. Cuando no se cumplió alguna de estas premisas, estos datos se transformaron mediante la función $\text{Log}(x+1)$, lo cual también permitió estabilizar la variación dentro de grupos ante la gran amplitud en magnitud encontrada entre algunos de los datos, sometiéndolos nuevamente a las pruebas de normalidad y la homogeneidad de varianzas, si ya cumplían con estas premisas se usaban pruebas paramétricas y en caso contrario las no paramétricas.

Se empleó el índice de correlación de Pearson para determinar de qué manera se asocian el área y el peso foliar (para determinar la viabilidad de reemplazar el peso por el área foliar durante los análisis); así como para establecer la intensidad de la asociación entre las abundancias, transformadas previamente en $\text{Log}(x+1)$, entre las mallas y las macrófitas.

Con el propósito de determinar diferencias de los promedios de abundancia, entre el comportamiento diario (24 h) durante seis días consecutivos, como entre los diferentes

periodos de exposición (24, 72 y 144 h) y entre sustratos naturales y artificiales se aplicaron diversas pruebas de comparación (prueba t o prueba U de Mann-Whitney; ANOVA o Kruskal-Wallis y sus respectivas post hoc de comparaciones múltiples) dependiendo de las características de los datos. Para visualizar las variaciones de los promedios de abundancia se realizaron gráficos de líneas con barras de error (mostrando la desviación estándar, D.S.), así como gráficos de barras con barras de error y gráficos de correlación para ver la asociación entre los sustratos artificiales y naturales. Para el procesamiento de estos datos se usaron los programas R versión 4.2.2 (2022-10-31 ucrt), STATISTICA versión 12.0 y Excel 2016.

2.3 Resultados

2.3.1 Análisis de correlación entre área y peso foliar en *Thalassia testudinum*

En los dos sitios y meses: épocas observadas (marzo: época seca; junio: época de transición y octubre: época lluviosa), se presentaron valores de correlación altos ($r > 0.8$), positivos y significativos ($p < 0,05$) entre el peso foliar y el área foliar en *Thalassia testudinum* (Figura 2-4). Estos resultados muestran la viabilidad de reemplazar el peso foliar por el área foliar de *Thalassia testudinum*, facilitando los análisis al presentarse en las mismas unidades (número de células 100 cm² de superficie de sustrato) en las que se determinaron las abundancias para los colectores (sustratos) artificiales.

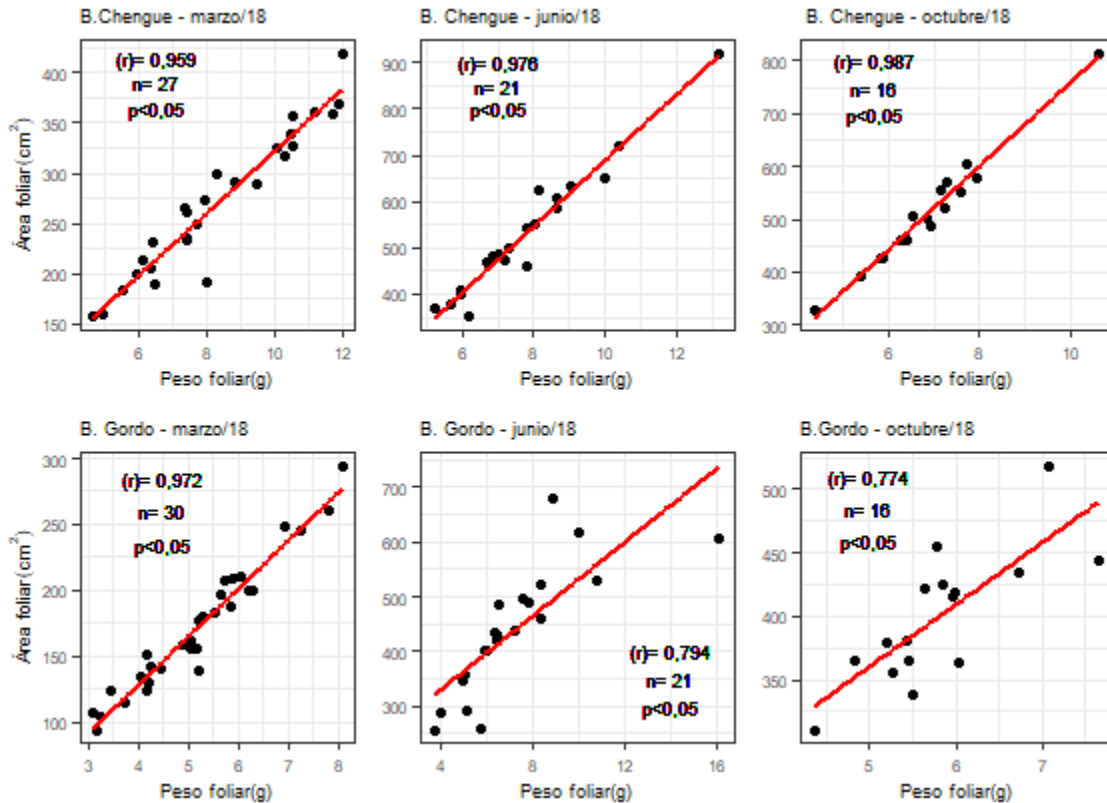


Figura 2-4: Gráficos de dispersión mostrando la correlación entre el peso y el área foliar de *Thalassia testudinum* en B. Chengue y B. Gordo en los meses-épocas de marzo-seca, junio-transición y octubre-lluviosa de 2018.

2.3.2 Análisis comparativo del comportamiento y correlación de la abundancia de dinoflagelados bentónicos entre sustratos naturales (macrófita: *Thalassia testudinum*) y artificiales (colectores de mallas de fibra de vidrio)

En los anexos I, J, K y L se muestran los resultados de la densidad promedio diaria (No. Células 100 cm²) y estadísticos descriptivos observados en los sustratos artificiales y naturales para cada uno de los morfotipos seleccionados considerando sitio, mes-día-época de muestreo.

Respecto a las comparaciones de los comportamientos promedios de abundancia entre sustratos para cada morfotipo, considerando sitio y mes-época de muestreo, se observó para *Gambierdiscus* spp. que ambos sustratos, en B. Gordo, coincidieron en una mayor presencia y abundancia en la época de transición (junio) y en la época lluviosa (octubre),

respecto a la época seca (marzo) (Figura 2-5) (; Anexo I). Ambos sustratos también revelaron que *Gambierdiscus* spp. fue mucho menos frecuente y abundante en B. Chengue que en B. Gordo (Anexo I); con mayor detección para Chengue en la época de transición y en la época lluviosa observado principalmente en las mallas, estando casi ausente en la época seca (Figura 2-5 A y B) (Anexo I). En B. Gordo tendió a ser más frecuente en la macrófita la época seca, mientras que en B. Chengue fue más frecuente en las mallas (Figura 2-5) (Anexo I), sin encontrarse diferencias significativas en los promedios de abundancia entre estos sustratos para ambos sitios (Tabla 2.2). También se observó la tendencia de que cuanto mayor es la abundancia de *Gambierdiscus* spp, menos diferencia se apreciaba entre los sustratos (Figura 2-5).

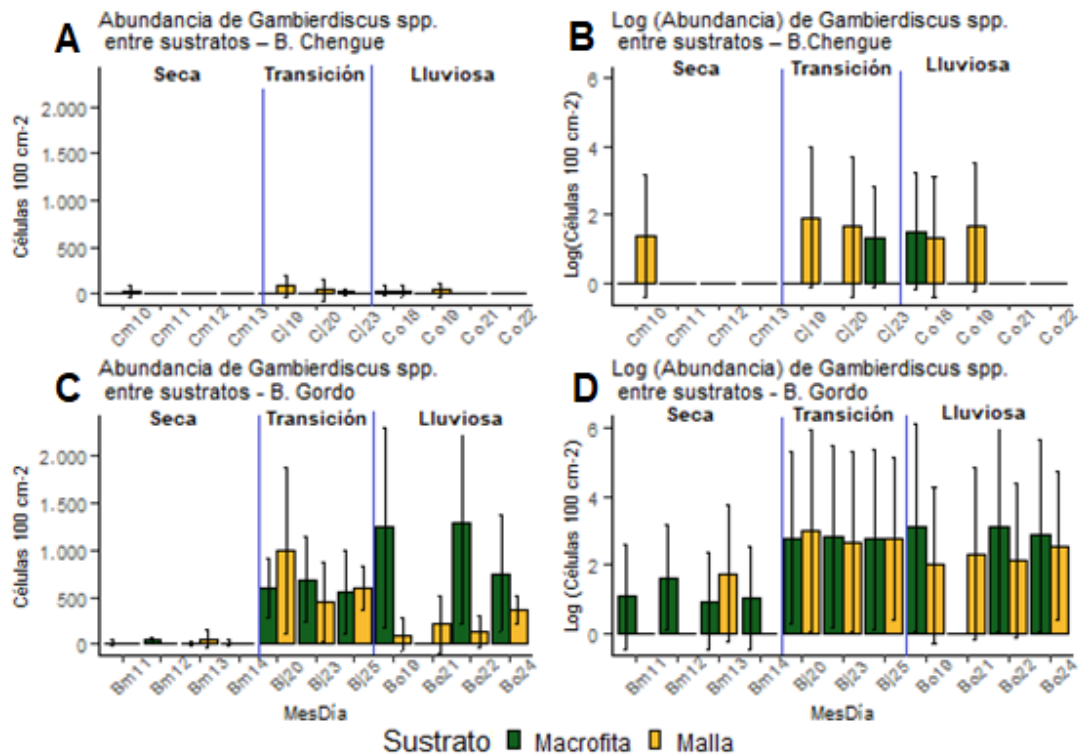


Figura 2-5: A - D) Comparación de la abundancia de *Gambierdiscus* spp. (en número de células 100 cm⁻² de sustrato) entre los sustratos macrófita (*T. testudinum*) y malla recolectados en B. Chengue y B. Gordo, en los meses de marzo, junio y octubre de 2018. C= Bahía Chengue; B= Bonito Gordo; m= marzo; j= junio; o= octubre; los números al final corresponden al día del mes en que se tomaron las muestras. Las abundancias son dadas en promedio y desviación estándar del promedio (barras de error). B y D) Mismas figuras (A C, respectivamente), visualizadas con el logaritmo de la abundancia (+ 1) que permite un mejor detalle del comportamiento de los valores más bajos de abundancia.

Respecto a *Prorocentrum* cf. *lima*, ambos sustratos revelaron su mayor abundancia en B. Gordo que en B. Chengue, como también el mayor pico de abundancia para este morfotipo

en B. Gordo ocurrida en la época seca, con densidades que alcanzaron las 96946 y las 61667 células 100 cm^{-2} para las macrófitas y las mallas, respectivamente (Figura 2-6 C y D; anexo J), siendo valores muy superiores a los registrados en las épocas de transición y lluviosa, los cuales no se diferenciaron entre sí (Tabla 2.1; Anexo J). Para B. Chengue, mientras las mallas detectaron una menor densidad de estos organismos en la época de transición respecto a la seca y la lluviosa y sin detectarse diferencias entre estas últimas (Figura 2-6 A y B) (Tabla 2.1), las macrófitas en cambio presentaron las mayores densidades en la época lluviosa respecto a la seca y a la de transición (Figura 2-6 A y B) (Tabla 2.1). Se destaca también el registro de las mayores densidades de *P. cf. lima* en las macrófitas frente a las mallas, en B. Gordo (Figura 2-6 C y D) (Tabla 2.2).

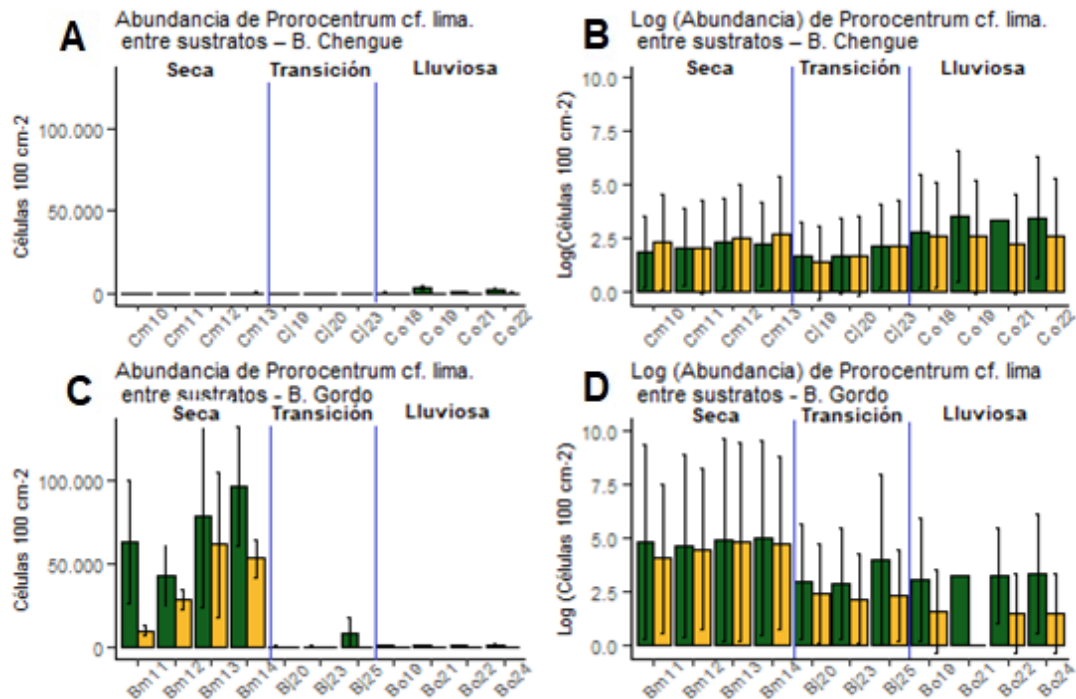


Figura 2-6: A y D) Comparación de la abundancia de *Proocentrum cf. lima* (en número de células 100 cm^{-2}) entre los sustratos macrófita (*T. testudinum*) y malla recolectados en B. Chengue y B. Gordo, en los meses de marzo, junio y octubre de 2018. C=Bahía Chengue; B=Bonito Gordo; m= marzo; j= junio; o= octubre; los números al final corresponden al día en que se tomaron las muestras. Abundancias son dadas en promedio y desviación estándar del promedio (barras de error). B y D) Mismas figuras (A C, respectivamente), visualizadas con el logaritmo de la abundancia (+ 1) para el mejor detalle del comportamiento de los valores más bajos de abundancia.

Para *Ostreopsis cf. ovata*, ambos sustratos mostraron su mayor abundancia en B. Chengue respecto a B. Gordo, como también el mayor pico de abundancia para este morfotipo en B. Chengue en la época de transición, con densidades que alcanzaron las 8858 y las 14051 células 100 cm^{-2} para las macrófitas y las mallas, respectivamente (Figura

2-7 A y B; Anexo K), así como también las permanentes y mayores abundancias detectadas en la época seca frente a las intermitentes y mucho más bajas abundancias observadas en la época lluviosa (Figura 2-7 A y B) (Tabla 2.1). Para B. Gordo, ambos sustratos mostraron un comportamiento similar al de B. Chengue, aunque con valores de abundancia mucho menores, al mostrar las mayores abundancias también en la época de transición (Figura 2-7 C y D; Tabla 2.1; Anexo K), mostrando así mismo ambos sustratos la intermitente presencia y bajas densidades en la época seca, y la no detección de estos organismos en la época lluviosa (Figura 2-7 C y D). No se observó en *O. cf. ovata*, tendencia clara a predominar en abundancia hacia alguno de los sustratos (Figura 2-7) (Tabla 2.2).

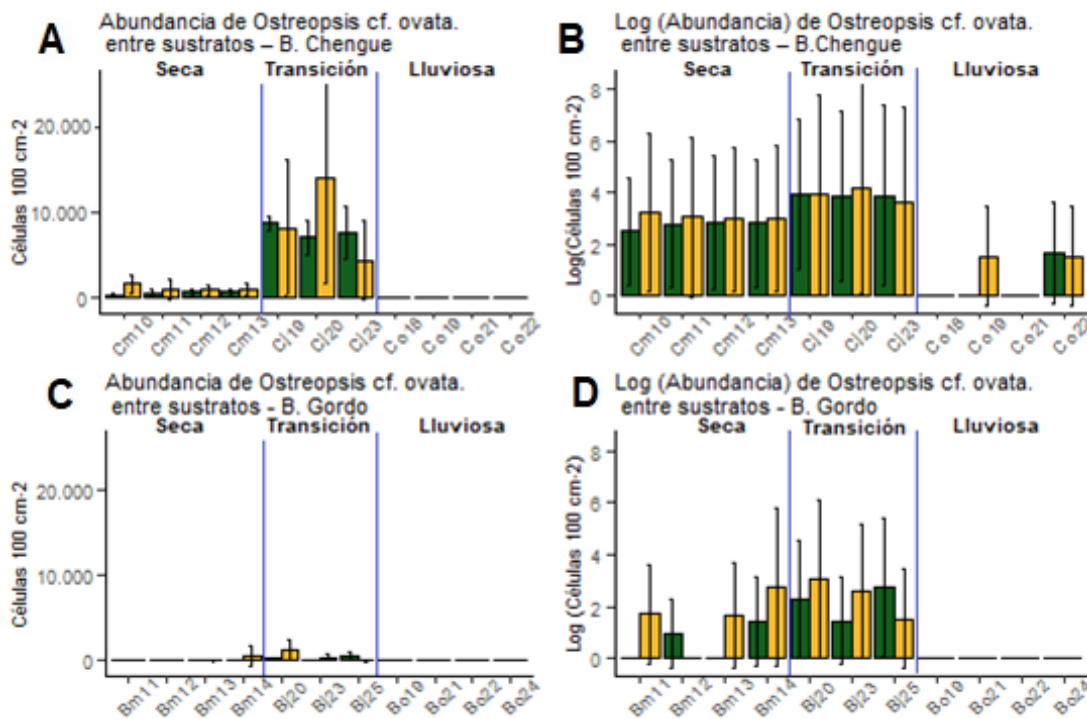


Figura 2-7: A y D) Comparación de la abundancia de *Ostreopsis cf. ovata* (en número de células 100 cm^{-2}) entre los sustratos macrófita (*T. testudinum*) y malla recolectados en B. Chengue y B. Gordo, en los meses de marzo, junio y octubre de 2018. C= Bahía Chengue; B=Bonito Gordo; m= marzo; j= junio; o= octubre; los números al final corresponden al día en que se tomaron las muestras. Abundancias dadas en promedio y desviación estándar del promedio (barras de error). B y D) Mismas figuras (A C, respectivamente), visualizadas con el logaritmo de la abundancia (+ 1) para mejor detalle del comportamiento de los valores más bajos de abundancia.

En cuanto a *Ostreopsis* spp. ambos sustratos coincidieron respecto a las mayores abundancias en B. Chengue para la época lluviosa, con densidades máximas alcanzadas de 14633 y las 58794 células 100 cm^{-2} para las macrófitas y para las mallas, respectivamente, frente a época seca y de transición (Figura 2-8 A y B; Tabla 2.1; Anexo

L), presentándose además en las macrófitas diferencias en cuanto a las mayores densidades en la época de transición respecto a la seca, diferencia que no se detectó en las mallas (Figura 2-8 A y B) (Tabla 2.1). En B. Gordo ambos sustratos revelaron las menores abundancias en la época lluviosa, sin embargo, mientras que para las mallas las mayores abundancias se detectaron en la época seca, para las macrófitas lo fueron en transición (Figura 2-8 C y D) (Tabla 2.1; Anexo L). Se observó un comportamiento generalizado de una mayor densidad de estos organismos hacia las mallas, respecto a las macrófitas, especialmente en B. Chengue (Figura 2-8) (Tabla 2.2).

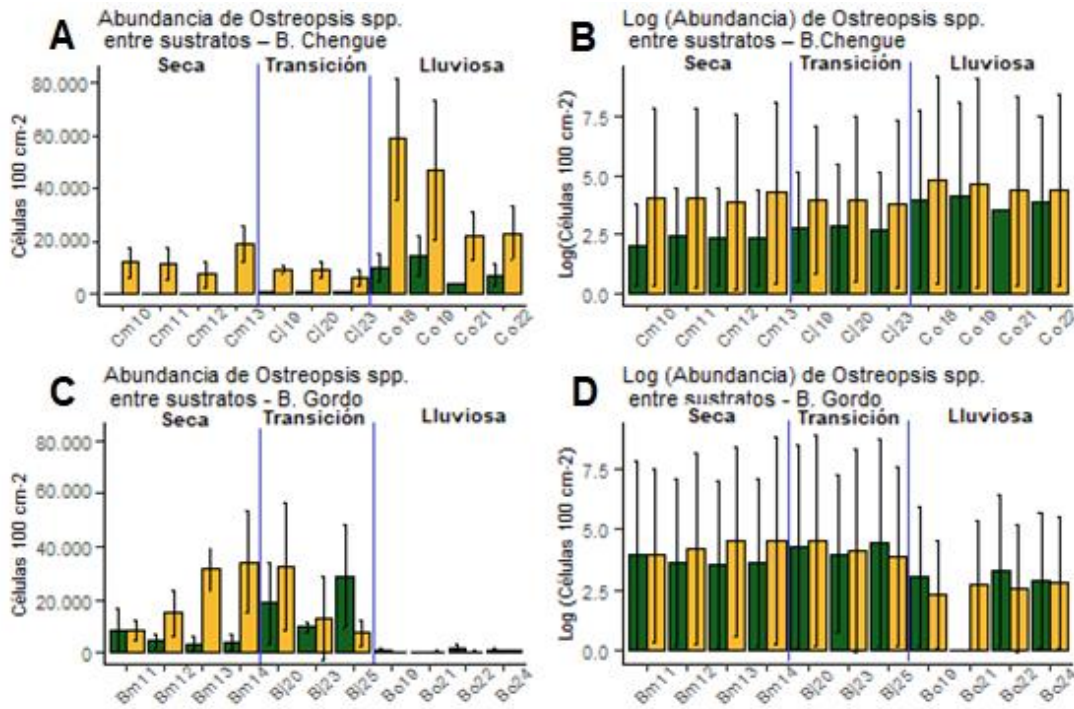


Figura 2-8: A y D) Comparación de la abundancia de *Ostreopsis* spp. (en número de células 100 cm⁻²) entre los sustratos macrófita (*T. testudinum*) y malla recolectados en B. Chengue y Bonito Gordo, en los meses de marzo, junio y octubre de 2018. C=Bahía Chengue; B=Bonito Gordo; m= marzo; j= junio; o= octubre; los números al final corresponden al día en que se tomaron las muestras. Las abundancias son dadas en promedio y desviación estándar del promedio (barras de error), para ver la variabilidad entre las réplicas y la asociación de los datos de los sustratos. B y D) Mismas figuras (A C, respectivamente), visualizadas con el logaritmo de la abundancia (+ 1) que permite un mejor detalle del comportamiento de los valores más bajos de abundancia.

Tabla 2.1: Comparaciones mediante la prueba Kruskal-Wallis (H) y de comparaciones múltiples de los promedios de abundancia (en número de células 100 cm⁻²) de *Gambierdiscus* spp (*Gam*), *Prorocentrum* cf. *Lima* (*Pli*), *Ostreopsis* cf. *ovata* (*Oov*) y *Ostreopsis* spp (*Ost*) entre épocas: seca (S); transición (T) y lluviosa (L), discriminados por sitio: B. Chegue (Ch) y B. Gordo (Bo) y por sustrato: artificial (mallas) y natural (macrófitas).

MorfotipoSitio-Sustrato	Pruebas	Valor	G. L	n	p	Descripción de diferencias
GamCh-Malla	*H-Comparaciones múltiples	2,7	2	126	0,26	

MorfotipoSitio-Sustrato	Pruebas	Valor	G. L	n	p	Descripción de diferencias
GamCh-Macrófitas	*H-Comparaciones múltiples	3,7	2	65	0,15	
GamBo-Malla	*H-Comparaciones múltiples	42,9	2	126	0,00*	T>L>S
GamBo-Macrófitas	*H-Comparaciones múltiples	37,5	2	68	0,00*	(T=L)>S
PliCh-Malla	*H-Comparaciones múltiples	35,7	2	126	0,00*	(S=L)>T
PliCh-Macrófitas	*H-Comparaciones múltiples	39,6	2	65	0,00*	L>(S=T)
PliBo-Malla	*H-Comparaciones múltiples	95	2	126	0,00*	S>(T=L)
PliBo-Macrófitas	*H-Comparaciones múltiples	49,8	2	68	0,00*	S>(T=L)
OovCh-Malla	*H-Comparaciones múltiples	107,8	2	126	0,00*	T>S>L
OovCh-Macrófitas	*H-Comparaciones múltiples	56,7	2	65	0,00*	T>S>L
OovBo-Malla	*H-Comparaciones múltiples	29,2	2	126	0,00*	T>L, S=0
OovBo-Macrófitas	*H-Comparaciones múltiples	29,5	2	68	0,00*	T>L, S=0
OstCh-Malla	*H-Comparaciones múltiples	56,7	2	126	0,00*	L>(T=S)
OstCh-Macrófitas	*H-Comparaciones múltiples	49,8	2	65	0,00*	L>T>S
OstBo-Malla	*H-Comparaciones múltiples	90.1	2	126	0,00*	S>T>L
OstBo-Macrófitas	*H-Comparaciones múltiples	45	2	68	0,00*	T>S>L

Tabla 2.2: Comparaciones mediante la prueba U de Mann-Whitney de los promedios de abundancia (en número de células 100 cm⁻²) de *Gambierdiscus* spp., *Prorocentrum* cf. *lima*, *Ostreopsis* cf. *ovata* y *Ostreopsis* spp. entre sustrato artificial (mallas) y natural (macrófitas: *Thalassia testudinum*).

Morfotipo	Sitio	Media	Media	Valor U	n	p
		Abundancia Malla (cél. 100 cm ²)	Abundancia Macrófitas (cél. 100 cm ²)			
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue + B. Gordo	0	0	10821	22	0,31
	B. Chengue	0	0	2415	11	0,48
	B. Gordo	0	82	3001	11	0,11
<i>Prorocentrum</i> cf. <i>lima</i>	B. Chengue + B. Gordo	171	881	14074	22	0,00*
	B. Chengue	155	132	2763	11	0,28
	B. Gordo	231	4032	3948	11	0,00*
<i>Ostreopsis</i> cf. <i>ovata</i>	B. Chengue + B. Gordo	0	0	10324	22	0,90
	B. Chengue	680	495	2617	11	0,64
	B. Gordo	0	0	2545	11	0,70
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue + B. Gordo	10675	1694	5530	22	0,00*
	B. Chengue	13853	398	450	11	0,00*
	B. Gordo	7050	40	2495	11	0,63

De las doce correlaciones efectuadas entre sustratos naturales y artificiales, considerando morfotipos, sitios y épocas climáticas, nueve fueron positivas y significativas ($p < 0,05$) y con valores de correlación entre moderados ($0,3 < r < 0,5$) y fuertes ($r > 0,6$) (Figura 2-9 y Figura 2-10), correspondiendo a los morfotipos *Prorocentrum* cf. *lima* y *Ostreopsis* cf. *ovata* (en sitios separados como combinados), a *Ostreopsis* spp. en B. Chengue y en los sitios combinados y a *Gambierdiscus* spp. en los sitios combinados (Figura 2-9 y Figura 2-10).

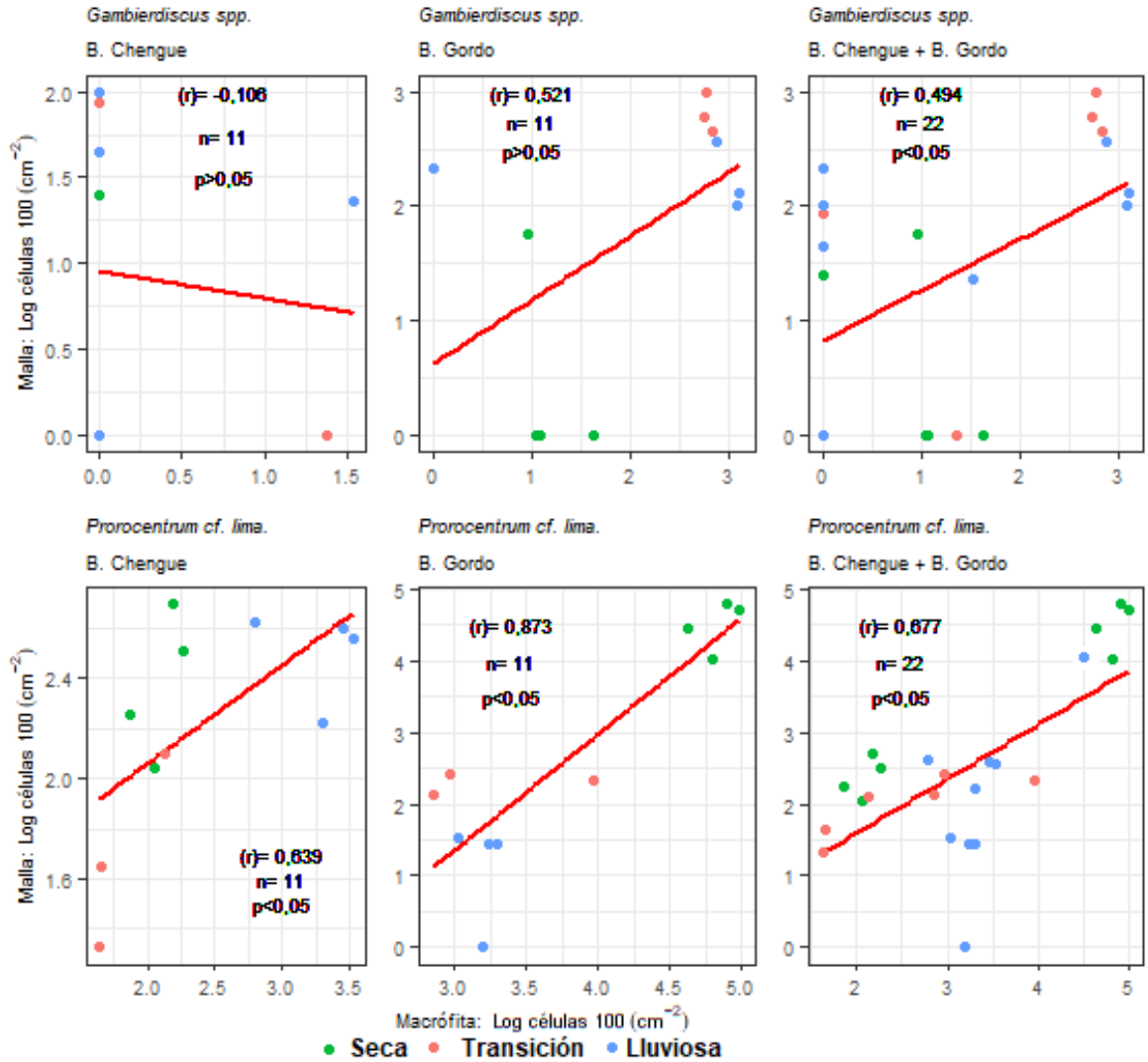


Figura 2-9: Correlaciones entre las abundancias celulares entre el área foliar de *T. testudinum* (Log (número de células 100 cm⁻²+1)) y las obtenidas por los colectores en mallas en fibra de vidrio (Log (número de células 100 cm⁻²+1)) para cada *Gambierdiscus* spp. y *Prorocentrum cf. lima* considerando los sitios (B. Chengue, B. Gordo y B. Chengue + B. Gordo) y épocas (Seca-marzo; Transición-junio; lluviosa-octubre).

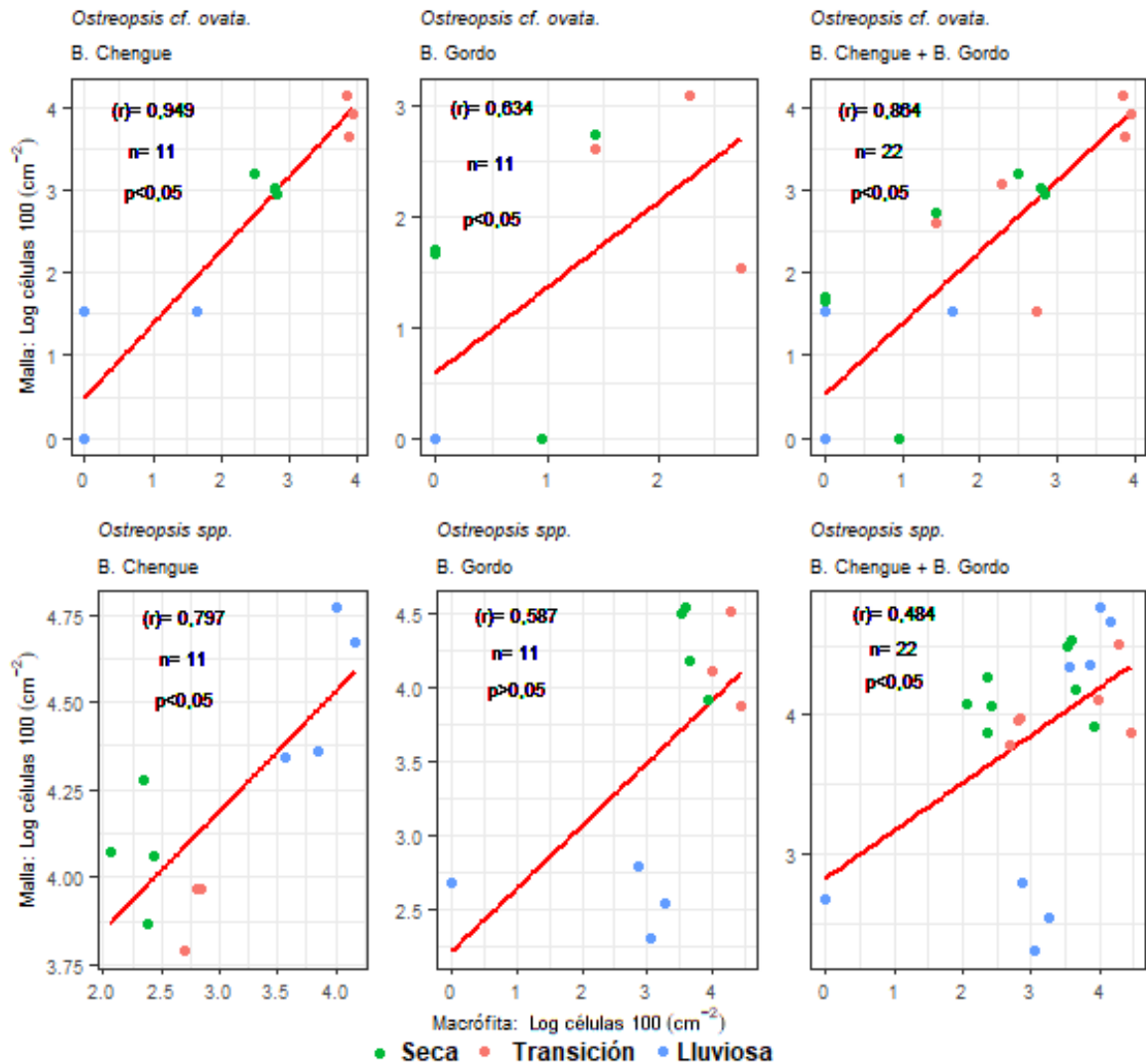


Figura 2-10: Correlaciones entre las abundancias celulares entre el área foliar de *T. testudinum* (Log (número de células 100 cm⁻²+1)) y las obtenidas por los colectores en mallas en fibra de vidrio (Log (número de células 100 cm⁻²+1)) para cada *Ostreopsis cf. ovata* y *Ostreopsis spp.*, considerando los sitios (B. Chengue, B. Gordo y B. Chengue + B. Gordo) y épocas (Seca-marzo; Transición-junio; lluviosa-octubre).

2.3.3 Análisis de la variación de los promedios de abundancia diaria (24 h) a lo largo de seis días consecutivos en sustratos artificiales (mallas de fibra de vidrio)

▪ **Gambierdiscus spp**: en ninguno de los sitios o épocas se observó tendencias respecto a incrementos o disminuciones sostenidos de los promedios de abundancia (Figura 2-11 A-F), ni diferencias estadísticas en las abundancias entre los días consecutivos

comparados (Tabla 2.3). Los valores de abundancia variaron desde ausentes hasta las 2601 células 100 cm^{-2} de sustrato. Los coeficientes de variación (CVs), en porcentaje, fueron altos ($>30\%$) tanto en los agrupados a nivel de sitio-mes (entre 95 y 471%) (Anexo D), como entre los promedios diarios de las siete réplicas (entre el 38 y 265%) (Anexo D).

▪

▪ ***Prorocentrum cf. lima***: en B. Chengue como en B. Gordo, se observaron aparentes incrementos en los promedios de abundancia en los colectores expuestos en la época seca a partir del cuarto y tercer día (11 de marzo), respectivamente (Figura 2-11 G y J), así como diferencias estadísticas ($p < 0,05$) en ambos sitios entre los días comparados, siendo mayores en el sexto día (13 de marzo) respecto al segundo día (9 de marzo) en B. Chengue (Tabla 2.3), mientras que en B. Gordo fueron mayores los días quinto y sexto (13 y 14 de marzo, respectivamente) respecto al primer y segundo día (9 y 10 de marzo, respectivamente) (Tabla 2.3). Aunque en B. Chengue para la época lluviosa se observó una tendencia decreciente en los promedios de abundancia (Figura 2-11 I), no se detectaron diferencias estadísticas ($p > 0,05$) entre los días comparados (Tabla 2.3). No se observó en la época de transición alguna tendencia para los dos sitios (Figura 2-11 H y K), ni en la época lluviosa para B. Gordo (Figura 2-11 L). Los valores de abundancia comprendieron desde ausentes hasta las 118931 células 100 cm^{-2} . Los CVs fueron altos, a nivel sitio-mes (entre 94 y 259%) como a nivel diario (24-265%) (Anexo E).

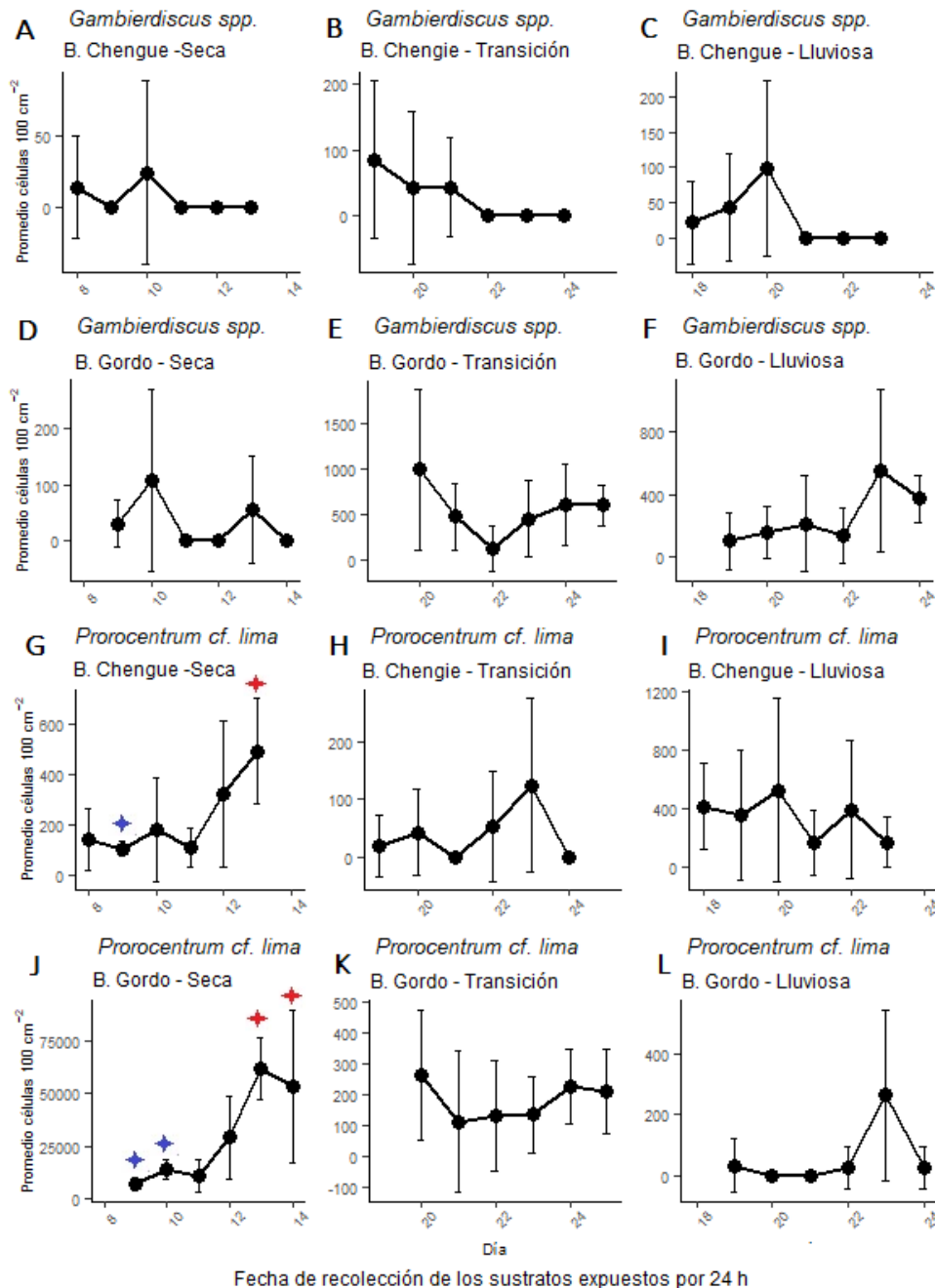


Figura 2-11: Variación diaria de los promedios de abundancia (en número de células 100 cm⁻²) y desviación estándar en mallas de fibra de vidrio a lo largo de seis días consecutivos de *Gambierdiscus* spp. y *Prorocentrum* cf. *lima* considerando sitios y épocas. En el eje de las abscisas muestra las fechas en que fueron obtenidas las muestras (Seca-marzo; Transición-junio; Lluviosa-octubre). Estrellas azules y rojas, fechas en las que se presentaron diferencias estadísticas.

▪ ***Ostreopsis* cf. *ovata*:** no se observaron tendencias respecto a incremento o disminución sostenida en los promedios diarios de abundancia en los sitios o meses

estudiados (Figura 2-12 A-F), aunque se detectaron algunas diferencias estadísticas entre algunos de los días expuestos ($p < 0,05$; Tabla 2.3), como el encontrado en B. Chengue para la época seca entre las abundancias obtenidas el primer día (8 de marzo) que fueron menores respecto al tercer día (10 de marzo); así como en la época de transición para B. Gordo donde el primer día (20 de junio) fue mayor que el tercer día (22 de junio) y sexto día (25 de junio) (Tabla 2.3). Este morfotipo no se detectó en la época lluviosa en B. Gordo (Figura 2-12 F). Los valores de abundancia comprendieron desde ausentes hasta las 57999 células 100 cm^{-2} . Los CVs a nivel de sitio-mes fueron altos (104 - 383%), al igual que los registrados diariamente (67-265%) (Anexo F).

▪ ***Ostreopsis spp***: en B. Chengue como en B. Gordo se observaron en la época seca un incrementos en los promedios de abundancia; para B. Chengue a partir del segundo día (9 de marzo), con diferencias estadísticas por ser mayor sexto día (13 de marzo) respecto a primer y segundo día (8 y 9 de marzo, respectivamente) (Figura 2-12 G) (Tabla 2.3); para B. Gordo a partir del tercer día (11 de marzo) hasta el sexto día, en donde el día quinto (13 de marzo) fue mayor respecto a los días primero, segundo y tercero (9, 10 y 11 de marzo, respectivamente), y el día sexto (14 de marzo) mayor frente a los días primero y tercero (Figura 2-12 J) (Tabla 2.3); aunque también se observó un incremento para B. Gordo en la época lluviosa a partir del segundo día (20 de octubre) (Figura 12 L), no se detectaron diferencias significativas entre los días de la serie (Tabla 2.3). También se apreciaron disminuciones generalizadas en las épocas de transición y lluviosa para B. Chengue (Figura 2-12 H e I), sobresaliendo para la época de transición el primer día (19 de junio) por registrar las mayores abundancias respecto al tercer (21 de junio) y sexto día (24 de junio) (Figura 2-12 H; Anexo G) (Tabla 2.3), y para la época lluviosa por ser el sexto día (23 de octubre) menor respecto a primer, segundo y tercer día (18, 19 y 20 de octubre, respectivamente) (Figura 2-12 I; Anexo G) (Tabla 2.3). No se observó en B. Gordo para la época de transición alguna tendencia (Figura 2-12 K), aunque el primer día (20 de junio) presentó mayor abundancia respecto al segundo (21 de junio) y tercer día (22 de junio) (Figura 2-12 k; Anexo G) (Tabla 2.3Tabla 2.3). Los valores de abundancia variaron desde ausentes hasta las 92555 células 100 cm^{-2} de sustrato. A nivel de sitio-mes los CVs fueron altos (33-133 %), y en general lo fueron para los promedios diarios de abundancia (14-121 %), siendo porcentajes menores a los observados para los otros morfotipos (Anexo G).

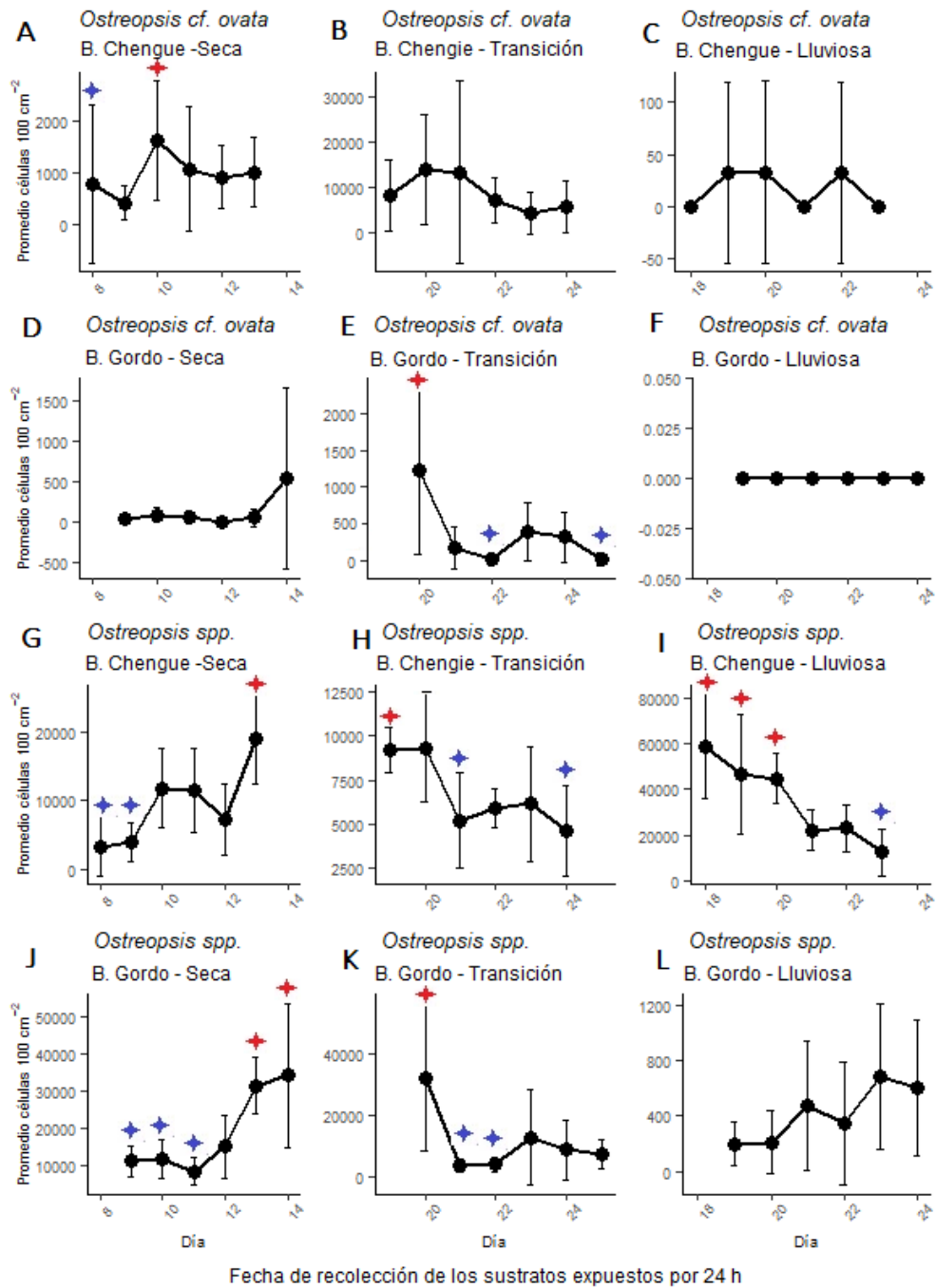


Figura 2-12: Variación diaria de los promedios de abundancia (en número de células 100 cm⁻²) y desviación estándar en mallas de fibra de vidrio a lo largo de seis días consecutivos de *Ostreopsis cf. ovata* y *Ostreopsis* spp. considerando sitios y épocas. En el eje de las abscisas muestra las fechas en que fueron obtenidas las muestras (Seca-marzo; Transición-junio; Lluviosa-octubre). Estrellas azules y rojas, fechas en las que se presentaron diferencias estadísticas.

Tabla 2.3: Comparaciones múltiples entre comportamiento diario (24 h) de los valores promedio de abundancia (en número de células 100 cm⁻²) por 6 días consecutivos, para cada morfotipo, sitio y mes (época); *H= Kruskal-Wallis.

Morfotipo/Sitio	Mes	Pruebas	Valor-H	G. L	n	p	Descripción diferencias
<i>Gambierdiscus</i> spp. B. Chengue	Marzo (Seca)	*H- Comparaciones múltiples	4,1	5	42	0,54	
	Junio (Transición)	*H- Comparaciones múltiples	8,54	5	42	0,13	
	Octubre (Lluviosa)	*H- Comparaciones múltiples	9,67	5	42	0,09	
<i>Gambierdiscus</i> spp. B. Gordo	Marzo (Seca)	*H- Comparaciones múltiples	12,4	5	42	0,03*	Técnica no distingue entre quienes
	Junio (Transición)	*H- Comparaciones múltiples	10,51	5	42	0,06	
	Octubre (Lluviosa)	*H- Comparaciones múltiples	10,9	5	42	0,05	
Prorocentrum cf. lima B. Chengue	Marzo (Seca)	*H- Comparaciones múltiples	13,6	5	42	0,02*	d09<d013
	Junio (Transición)	*H- Comparaciones múltiples	10,6	5	42	0,06	
	Octubre (Lluviosa)	*H- Comparaciones múltiples	4,5	5	42	0,48	
Prorocentrum cf. lima B. Gordo	Marzo (Seca)	*H- Comparaciones múltiples	28,1	5	42	0,00*	(d09, d10)<(d13, d14)
	Junio (Transición)	*H- Comparaciones múltiples	5,2	5	42	0,4	
	Octubre (Lluviosa)	*H- Comparaciones múltiples	16,3	5	42	0,01*	Técnica no distingue entre quienes
<i>Ostreopsis</i> cf. <i>ovata</i> B. Chengue	Marzo (Seca)	*H- Comparaciones múltiples	12,6	5	42	0,03*	d08<d10
	Junio (Transición)	*H- Comparaciones múltiples	7,8	5	42	0,17	
	Octubre (Lluviosa)	*H- Comparaciones múltiples	3,1	5	42	0,68	
<i>Ostreopsis</i> cf. <i>ovata</i> B. Gordo	Marzo (Seca)	*H- Comparaciones múltiples	8,6	5	42	0,13	
	Junio (Transición)	*H- Comparaciones múltiples	17,1	5	42	0,00*	d20>(d22, d25)
	Octubre (Lluviosa)	*H- Comparaciones múltiples	0	5	42	1,00	
<i>Ostreopsis</i> spp. B. Chengue	Marzo (Seca)	*H- Comparaciones múltiples	23,3	5	42	0,00*	d13>(d08, d09)
	Junio (Transición)	*H- Comparaciones múltiples	18,2	5	42	0,00*	d19>(d21, d24)

Morfotipo/Sitio	Mes	Pruebas	Valor-H	G. L	n	p	Descripción diferencias
<i>Ostreopsis</i> spp. B. Gordo	Octubre (Lluviosa)	*H- Comparaciones múltiples	23,7	5	42	0,00*	d23<(d18, d19, d20)
	Marzo (Seca)	*H- Comparaciones múltiples	25,9	5	42	0,00*	d13>(d09, d10, d11); d14>(d09, d11)
	Junio (Transición)	*H- Comparaciones múltiples	13,7	5	42	0,02*	d20>(d21, d22)
	Octubre (Lluviosa)	*H- Comparaciones múltiples	6,6	5	42	0,25	

2.3.4 Comportamiento de los promedios de abundancia respecto a diferentes periodos de exposición del sustrato (24, 72 y 144 h) en sustratos artificiales (mallas de fibra de vidrio).

▪ ***Gambierdiscus* spp:** en B. Chengue, para las tres épocas, sólo se detectaron estos organismos en los colectores expuestos por 24 h (Figura 2-13 A, B y C) (Anexo M). En B. Gordo no se apreciaron grandes incrementos o disminuciones ni diferencias estadísticas ($P > 0,05$) en los promedios de abundancia para las tres épocas entre los periodos de exposición evaluados (Tabla 2.4), (Figura 2-13 D, E, F), (Anexo M). Se observó además en todos los sitios y épocas muestreadas, que los promedios de abundancia de los colectores que se expusieron por 72 y 144 h fueron similares o menores a las densidades de los “colectores que registran el comportamiento de la abundancia diaria”. Estos últimos colectores se caracterizan por que expusieron por 24 de horas y se recogieron el mismo día en que fueron colectados los que fueron expuestos por 72 h (correspondientes al día 10 de marzo, 21 de junio y 20 de octubre) y por 144 h (el 13 de marzo, 24 de junio y el 23 de octubre) para B. Chengue, así como por 72 h (el 11 de marzo, el 22 de junio y el 21 de octubre) y por 144 h (el 14 de marzo, 25 de junio y 24 de octubre) para B. Gordo (Figura 2-11 A – L y Figura 2-12 A - L), indicando que las abundancias en *Gambierdiscus* sp, tendieron a semejarse y obedecer más a los comportamientos que se registraron a nivel diario.

▪ ***Prorocentrum cf. lima:*** para B. Chengue en la época seca se observó un incremento en los promedios de abundancia entre los colectores expuestos por 24 y 72 h, que disminuyó posteriormente hacia los colectores expuestos por 144 h, siendo los expuestos por 24 h estadísticamente menores ($p < 0,05$) a los desplegados por 72 y 144 h (Figura 2-13 G) (Tabla 2.4); además, las densidades de los colectores expuestos por 72 y 144 h también

fueron mayores al de los colectores que registraron el comportamiento de la abundancia diaria, recolectados el 10 (3d) y 13 (6d) de marzo, respectivamente (Figura 2-13 G) (Anexo N); en la época de transición también se registró incrementos en los valores de abundancia, entre los colectores expuestos entre las 72 y 144 h (Figura 2-13 H) (Anexo N), en el que el colector expuesto por 144 h fue mayor ($p < 0,05$) respecto a los expuestos por 24 y 72 h (Tabla 2.4), como también al de los colectores que registran la abundancia diaria recolectados el 24 de junio (6d) (Figura 2-13 H); en la época lluviosa no se apreciaron cambios apreciables entre estos colectores, ni diferencias entre éstos ($p > 0,05$), mostrado además abundancias y comportamientos similares al de los colectores que registran la abundancia diaria recogidos el 20 (3d) y 23 (6d) de octubre, los mismos días de la recolección de los expuestos por 72 y 144 h, respectivamente (Figura 2-13 I), (Tabla 2.4), (Anexo N). Para B. Gordo en la época seca, donde se dieron los mayores registros de estos organismos, se presentó un incremento sostenido en los valores de abundancia entre los colectores expuestos entre las 24 y 144 h, (Figura 2-13 J) (Anexo N), presentándose diferencias por su menor promedio de abundancia ($p < 0,05$) entre el colector expuesto por 24 h respecto a los expuestos por 72 y 144 h (Tabla 2.4), mostrando en este caso el colector expuesto por 144 h densidades mayores al de los colectores que registran la abundancia diaria recolectados el 14 de marzo (6d) (Figura 2-13 J); en transición también se dio un incremento entre los colectores expuestos por 24 y 72 h, con posterior disminución hacia los expuestos por 144 h (Figura 2-13 K) (Anexo N), diferenciándose los colectores expuestos por 72 h por presentar los mayores valores ($p < 0,05$) respecto a los expuestos por 24 y 144 h (Tabla 2.4), así como mayores abundancias respecto al de los colectores que registran la abundancia diaria, recolectados el 22 de junio (3d); en cuanto a la época lluviosa, donde se dieron los menores registros para estos organismos, los colectores expuestos por 24 y 72 h tuvieron abundancias similares, mientras que en los colectores expuestos por 144 h (6d) no se detectaron células de este morfotipo (Figura 2-13 L).

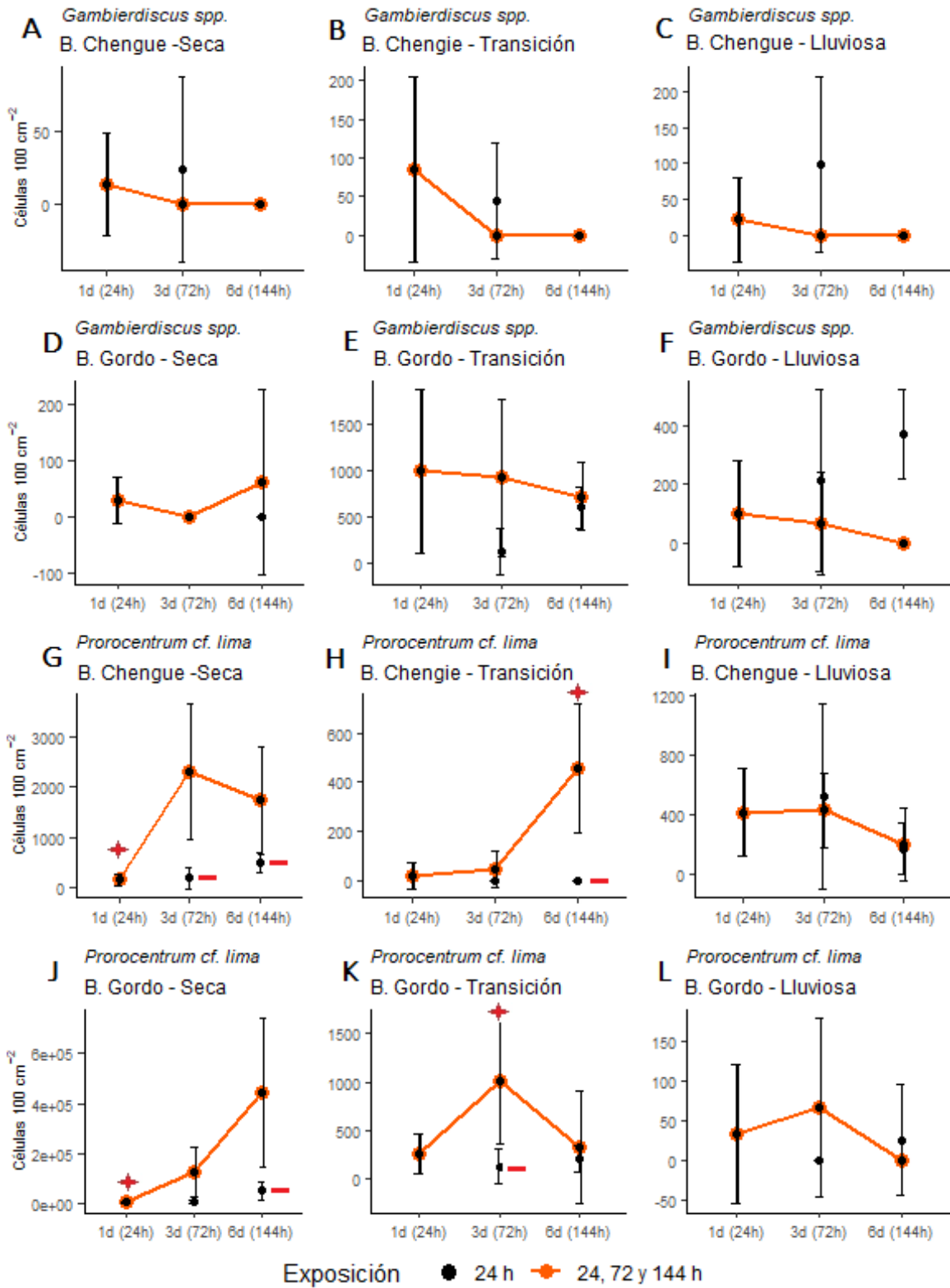


Figura 2-13: Comportamiento de los promedios de abundancia (en número células 100 cm⁻²) y desviaciones estándar de *Gambierdiscus* spp. (A-F) y *Prorocentrum cf. lima* (G-L), a través de mallas de fibra de vidrio expuestas durante 1 día (24 h), 3 días (72 h) y 6 días (144h)

considerando sitios (B. Chengue y B. Gordo) y épocas climáticas (seca, transición y lluviosa). La línea naranja corresponde a lo que se obtuvo para cada uno de los periodos de exposición establecidos y los puntos negros a los promedios de abundancia que se obtuvieron a lo largo de 24 h de exposición y que se recolectaron el mismo día que las mallas expuestas durante los periodos anteriormente mencionados (correspondiente a los colectores que registraron la abundancia diaria). Estrellas azules y rojas, fechas en las que se presentaron diferencias estadísticas.

▪ ***Ostreopsis cf. ovata***: en B. Chengue para las épocas seca y de transición se observó un incremento de los promedios de abundancia entre los colectores expuestos por 24 h hasta los expuestos por 72 h, disminuyendo posteriormente hacia los colectores de 144 h (Figura 2-14 A y B) (Anexo O), encontrándose diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los colectores expuestos por 24 y 72 h para la época seca, y entre el colector expuesto por 72 h con los expuestos por 24 y 144 h para la de transición (Tabla 2.4); en los colectores expuestos por 72 h para las épocas seca y de transición, las abundancias fueron mayores a la de los colectores que registran la abundancia diaria (recolectados el 10 de marzo (3d) y el 21 de junio (3d), respectivamente) (Figura 2-14 A y B); en transición se registraron las mayores abundancias de estos organismos, mientras que en la época lluviosa no se detectaron (Figura 2-14 C) (Anexo O). Para B. Gordo no se apreciaron incrementos o disminuciones, ni tampoco diferencias significativas en los promedios de abundancia entre los diferentes periodos de exposición en las épocas seca y de transición (Tabla 2.4), mostrando también comportamientos similares a la de los colectores que registran la abundancia diaria (Figura 2-14 D y E) (Anexo O), mientras que para la época lluviosa no se detectaron estos organismos (Figura 2-14 F) (Anexo O).

▪ ***Ostreopsis spp***: en B. Chengue para la época seca se observaron incrementos en los promedios de abundancia, entre los colectores expuestos por 24 h hasta los de 72 h con disminución posterior hacia los de 144 h (Figura 2-14 G) (Anexo P), con diferencias estadísticas entre los colectores expuestos por 24 h con los de 72 h (Tabla 2.4), sin embargo las abundancias de los periodos de exposición evaluados fueron similares a la de los colectores que registran la abundancia diaria. En B. Gordo, también en la época seca, se apreció un incremento de los valores de los promedios de abundancia, desde los colectores expuestos por 24 h hasta los de 144 h (Figura 2-14 J) (Anexo P), con diferencias estadísticas por sus menores valores entre los colectores expuestos por 24 h y 72 h con el de 144 h (Tabla 2.4), mientras que las abundancias de los periodos de exposición fueron también similares a la de los colectores que registran la abundancia diaria (Figura 2-14 G y J). Para B. Chengue en la época lluviosa, por el contrario, se observó disminución en los promedios de abundancia desde los colectores expuestos por 24 h hasta los expuestos

por 144 h (Figura 2-14 I) (Anexo P), diferenciándose estadísticamente el colector expuesto por 24 h por su mayor valor promedio de abundancia respecto a los expuestos por 72 y 144 h, siendo no obstante las abundancias de los periodos de exposición evaluados similares a la de los colectores que registran la abundancia diaria (Tabla 2.4). Para transición en B. Chengue, así como en transición y lluviosa para B. Gordo no se apreciaron incrementos o disminuciones apreciables, ni diferencias estadísticas en las abundancias entre los periodos (Tabla 2.4), no obstante, en transición para B. Gordo se apreciaron densidades más altas respecto a los de los colectores que registran la abundancia diaria (Figura 2-14 K), indicando una posible agregación de estos organismos a lo largo del tiempo en este último caso.

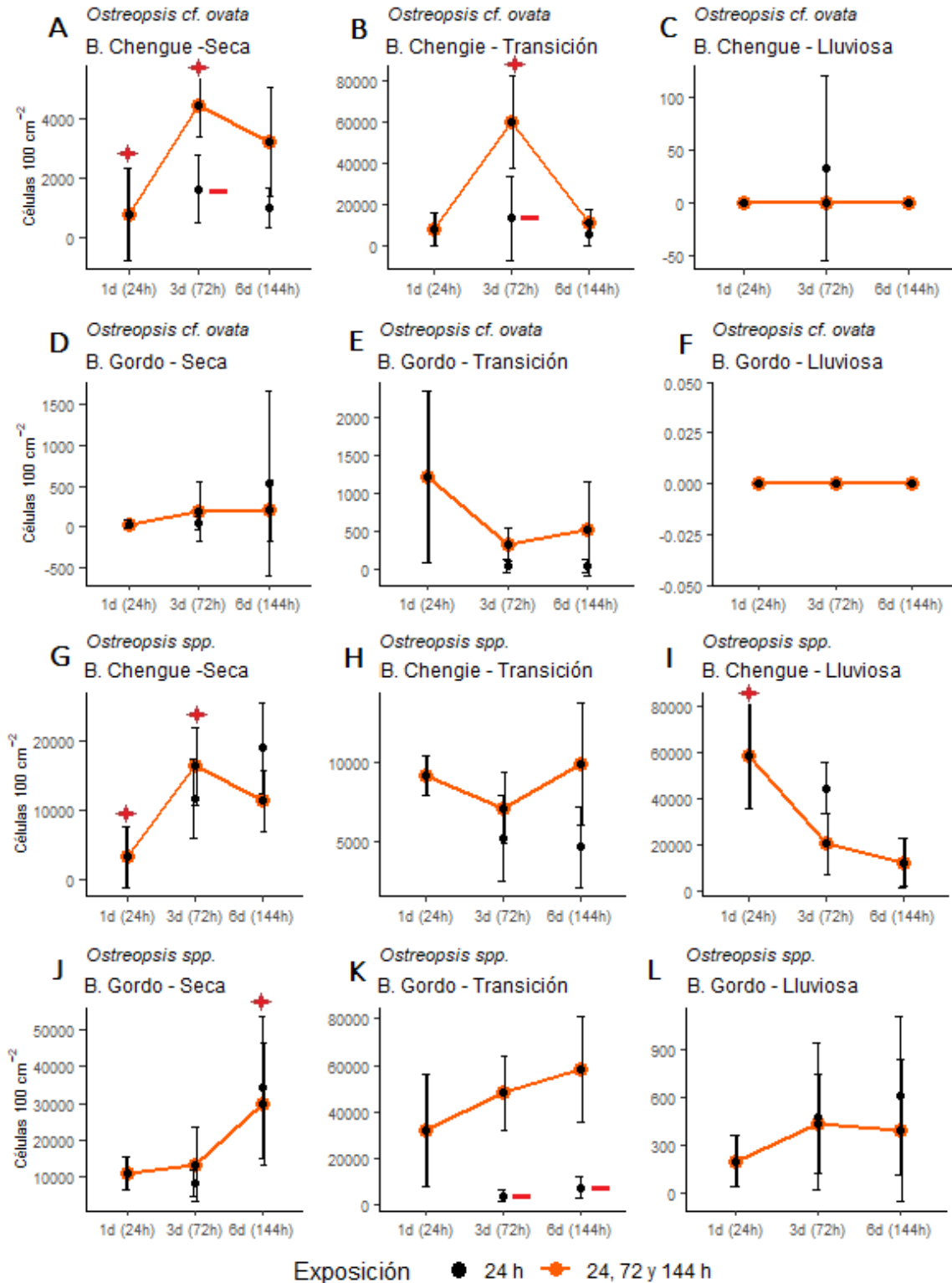


Figura 2-14: Comportamiento de los promedios de abundancia (en número de células 100 cm⁻² de sustrato) y desviaciones estándar de *Ostreopsis cf. ovata*. (A-F) y *Ostreopsis spp.* (G-L), en mallas de fibra de vidrio expuestas durante 1 día (24 h), 3 días (72 h) y 6 días (144 h) considerando sitios (B. Chengue y B. Gordo) y épocas climáticas (seca, transición y lluviosa). La

línea naranja corresponde a lo que se obtuvo para cada uno de los periodos de exposición establecidos y los puntos negros a los promedios de abundancia que se obtuvieron a lo largo de 24 h de exposición y que se recolectaron el mismo día que las mallas expuestas durante los periodos anteriormente mencionados (correspondiente a los colectores que registraron la abundancia diaria). Estrellas azules y rojas, fechas en las que se presentaron diferencias estadísticas.

Tabla 2.4: Comparaciones múltiples de las abundancias (en número de células 100 cm⁻²) de *Gambierdiscus* spp., *Prorocentrum* cf. *lima*, *Ostreopsis* cf. *ovata* y *Ostreopsis* spp., entre los diferentes periodos exposición [24 h (1d), 72 h (3d) y 144 h(6d) desglosado por sitio y por mes (época). *H= Kruskal-Wallis.

Morfotipo/Sitio	Mes	Pruebas	Valor	G. L	n	p	Descripción de las diferencias
<i>Gambierdiscus</i> spp. B. Chengue	Marzo (Seca)	*H-Comparaciones múltiples	2,00	2	21	>0,05	
	Junio (Transición)	*H-Comparaciones múltiples	6,62	2	21	<0,05	1d > (3d = 6d, con valor de 0)
	Octubre (Húmeda)	*H-Comparaciones múltiples	2,00	2	21	>0,05	
<i>Gambierdiscus</i> spp. B. Gordo	Marzo (Seca)	*H-Comparaciones múltiples	3,60	2	21	>0,05	
	Junio (Transición)	*H-Comparaciones múltiples	0,46	2	21	>0,05	
	Octubre (Húmeda)	*H-Comparaciones múltiples	2,02	2	21	>0,05	
<i>Prorocentrum</i> cf. <i>lima</i> B. Chengue	Marzo (Seca)	*H-Comparaciones múltiples	13,68	2	21	<0,05	1d<(3d=6d)
	Junio (Transición)	*H-Comparaciones múltiples	11,44	2	21	<0,05	6d>(1d=3d)
	Octubre (Húmeda)	*H-Comparaciones múltiples	3,55	2	21	>0,05	
<i>Prorocentrum</i> cf. <i>lima</i> B. Gordo	Marzo (Seca)	*H-Comparaciones múltiples	14,35	2	21	<0,05	1d<(3d = 6d)
	Junio (Transición)	*H-Comparaciones múltiples	6,59	2	21	<0,05	3d>(1d = 6d)
	Octubre (Húmeda)	*H-Comparaciones múltiples	2,44	2	21	>0,05	
<i>Ostreopsis</i> cf. <i>ovata</i> B. Chengue	Marzo (Seca)	*H-Comparaciones múltiples	9,97	2	21	<0,05	(1d<3d)=6d
	Junio (Transición)	*H-Comparaciones múltiples	13,57	2	21	<0,05	3d>(1d = 6d)
	Octubre (Húmeda)	*H-Comparaciones múltiples	0,00	2	21	>0,05	
<i>Ostreopsis</i> cf. <i>ovata</i> B. Gordo	Marzo (Seca)	*H-Comparaciones múltiples	0,01	2	21	>0,05	
	Junio (Transición)	*H-Comparaciones múltiples	3,46	2	21	>0,05	
	Octubre (Húmeda)	*H-Comparaciones múltiples	0,00	2	21	>0,05	
<i>Ostreopsis</i> spp. B. Chengue	Marzo (Seca)	*H-Comparaciones múltiples	11,49	2	21	<0,05	(1d<3d)=6d
	Junio (Transición)	*H-Comparaciones múltiples	3,47	2	21	>0,05	
	Octubre (Húmeda)	*H-Comparaciones múltiples	12,25	2	21	<0,05	1d>(3d = 6d)
<i>Ostreopsis</i> spp. B. Gordo	Marzo (Seca)	*H-Comparaciones múltiples	6,46	2	21	<0,05	6d>(1d = 3d)
	Junio (Transición)	*H-Comparaciones múltiples	4,64	2	21	>0.10	

Morfotipo/Sitio	Mes	Pruebas	Valor	G. L	n	p	Descripción de las diferencias
	Octubre (Húmeda)	*H-Comparaciones múltiples	3,58	2	21	>0,05	

2.4 Discusión de resultados

2.4.1 Análisis de correlación y comparación del comportamiento de la abundancia de dinoflagelados bentónicos entre sustratos naturales y artificiales (macrófita: *Thalassia testudinum* vs colectores: mallas de fibra de vidrio)

Ambos sustratos coincidieron en detectar diferentes tipos de comportamientos, como fueron: el predominio de abundancia que tuvieron los morfotipos por uno u otro sitio (de *Gambierdiscus* spp. y *Prorocentrum* cf. *lima* hacia B. Gordo y de *Ostreopsis* cf. *ovata* por B. Chengue); el de los principales picos de abundancia como sucedió para *Prorocentrum* cf. *lima* en B. Gordo en la época seca (marzo) (Figura 2-6 C y D), el de *Ostreopsis* cf. *ovata* en B. Chengue como en B. Gordo en la época de transición (junio) (Figura 2-7 A - D) y el de *Ostreopsis* spp. en B. Chengue para la época lluviosa (octubre) (Figura 2-8 A y B); la posible ausencia de organismos como ocurrió para *Ostreopsis* cf. *ovata* en la época lluviosa (octubre) en Bonito Gordo (Figura 2-7 C y D) o en su esporádica presencia en el mismo mes para B. Chengue (Figura 2-7 A y B).

En *Ostreopsis* cf. *ovata* fue donde hubo mas concordancia entre los dos tipos de sustratos al detectar el mayor pico de abundancia ocurrido en la época de transición en B. Chengue (Figura 2-7 A-B), las mayores abundancias ocurridas para la época de transición en ambos sitios (Figura 2-7 A-D), su no detección en la época lluviosa (octubre) para B. Gordo (Figura 2-7 C y D), su baja pero permanente presencia en la época seca para B. Chengue (Figura 2-7 A y B) y su baja y esporádica presencia en la época lluviosa para B. Chengue (Figura 2-7 A-B) y en la seca para B. Gordo (Figura 2-7 C y D).

Sim embargo, también se encontraron algunas discrepancias entre ambos sustratos, como se observó para *Prorocentrum* cf. *lima* en B. Chengue, donde la mayor abundancia encontrada por la macrófita fue en la época lluviosa, mientras que para las mallas lo fueron también la lluviosa y la seca (sin diferencias entre éstas últimas) (Figura 2-6 A y B; Tabla 2.1) y para *Ostreopsis* spp. en B. Gordo, donde la detección de mayores abundancias fue

en la época seca para las mallas y no en transición como se observó en la macrofitas (Figura 2-8 C y D; Tabla 2.1).

En cuanto los resultados de los análisis de correlación, se destacaron en general los positivos, significativos ($p < 0,05$) y moderados y fuertes valores de correlación ($r > 0,5$) que se obtuvieron para *Prorocentrum cf. lima*, *Ostreopsis cf. ovata* y *Ostreopsis spp.* (Figura 2-9 y Figura 2-10). Aunque también se apreciaron algunas correlaciones bajas o no significativas, como las encontradas para *Ostreopsis spp.*, en B. Gordo (Figura 2-10), que coincidieron con las discrepancias anteriormente descritas en que los mayores promedios de abundancia para las mallas se ubicaron en la época seca (marzo) mientras que para las macrofitas lo fueron en la época de transición (junio), épocas limáticas con condiciones ambientales diferentes (Figura 2-10 C y D; Tabla 2.1). Estas discrepancias podría obedecer a situaciones como: las diferencias locales y temporales en el comportamiento de diversas variables conocidas como desconocidas que podrían influir individualmente o en conjunto en las abundancias de estos organismos, como por ejemplo, el mayor movimiento de agua en la época seca respecto a la de transición que favorecería la mayor probabilidad de contacto y fijación de los organismos hacia los colectores artificiales en la de transición; la posible presencia dentro del morfotipo de diferentes especies coexistiendo con requerimientos ambientales y comportamientos diferentes (digamos, por ejemplo, respecto al tipo de sustrato). En cuanto a *Gambierdiscus spp.*, la baja presencia y abundancia en el área pudo contribuir a que no presentaran valores de correlación altos y significativos cuando se consideraron los sitios por separado, presentándose en cambio correlaciones positivas, significativas ($p \leq 0,05$) y moderadas ($r = 0,5$) cuando se integraron los dos sitios (Figura 2-9).

Los comportamientos de las abundancias anteriormente expuestas, sugiere que las mallas de fibra de vidrio evaluadas serían una alternativa viable en la estimación de las abundancias y su comportamiento respecto a la macrofita *T. testudinum* para *Ostreopsis cf. ovata*, *Prorocentrum cf. lima* y *Ostreopsis spp.* Sin embargo, antes del uso de este sustrato se recomienda realizar comparaciones previas con el sustrato a ser sustituido (ya sea *T. testudinum*, otra macrofita o cualquier otro) y tener en cuenta las condiciones del área a evaluar, como sucedió para *Ostreopsis spp.* donde las mallas fueron más acordes con las densidades presentadas por *T. testudinum* para B. Chengue que para B. Gordo (Tabla 2.1; Figura 2-8 A -D). También queda a consideración de si las mallas serían un

mejor sustrato para *Ostreopsis* spp. que *T. testudinum*, dada la mayor abundancia que en general presentaron respecto a la macrófita, y que quizás mostrarían una mejor realidad de las abundancias y su comportamiento.

Respecto a *Gambierdiscus* spp., a pesar de su baja disponibilidad en el medio, reflejado por las bajas abundancias y el gran número de sustratos con ausencia de estos organismos (Anexos I y M), que no permitió hacer una comparación minuciosa entre los sustratos estudiados, se encontraron tendencias que también favorecería el uso alternativo de las mallas en estos organismos como son: el similar comportamiento de las abundancias entre los dos sustratos observados en B. Gordo, en la que la época de transición y lluviosa registraron los mayores comportamientos respecto a la seca (Tabla 2.1); el mayor número de detecciones en las mallas que en las macrófitas en B. Chengue, donde fue menos frecuente y abundante (Figura 2-5 A y B); la no diferenciación de las densidades entre los sustratos (Tabla 2.2) y la tendencia observada de que cuanto mayor era la abundancia de *Gambierdiscus* spp, menor era la diferencia que se apreciaba entre estos dos sustratos.

También se encontraron tendencias de algunos morfotipos a predominar en abundancia hacia alguno de los sustratos, que podrían indicar posibles preferencias o mayor facilidad de fijación hacia los mismos, como se observó en *Prorocentrum* cf. *lima* hacia las macrófitas (Figura 2-8 C y D; Tabla 2.3), y de *Ostreopsis* spp. hacia las mallas (Figura 2-10 A y B; Tabla 2.3), mientras que para *Gambierdiscus* spp., y *Ostreopsis* cf. *Ovata* no se observaron estas tendencias.

2.4.2 Comportamiento de los promedios de abundancia a nivel diario (24 horas de exposición, en mallas de fibra de vidrio como sustrato)

En general no se apreciaron incrementos o disminuciones constantes, o diferencias entre los promedios de abundancia diarios consecutivos para *Gambierdiscus* spp., *Ostreopsis* cf. *ovata* y *Prorocentrum* cf. *Lima* (en las épocas de transición y lluviosa para ambos sitios). Aunque para *Prorocentrum* cf. *lima* y *Ostreopsis* spp. se observó en la época seca incrementos y diferencias en las abundancias, estos comportamientos se apreciaron simultáneamente en B. Chengue y B. Gordo (Figura 2-11 G y J y Figura 2-12 G y J,

respectivamente), lo que puede atribuirse a eventos que repercutieron al mismo tiempo en estos dos sitios. Sin embargo, para *Ostreopsis* spp. se observó también, aunque de manera no persistente, disminuciones y diferencias estadísticas entre las abundancias, en las épocas de transición y lluviosa de B. Chengue (Figura 2-12 H e I, respectivamente).

Al comparar los máximos valores de abundancia obtenidos por las mallas de fibra de vidrio en el presente estudio para *Prorocentrum* cf. *lima*, *Ostreopsis* cf. *ovata* y *Ostreopsis* spp. (con valores de 118931, 57999 y 92555 células 100 cm⁻² de sustrato, respectivamente; Anexos E, F y G) con los máximos obtenidos por Tester *et al.* (2014), se observó que para *Ostreopsis* cf. *ovata* y *Ostreopsis* spp. (y sin considerar los otros morfotipos del género *Ostreopsis* que estuvieron presentes) superaron a los establecidos por Tester *et al.*, (2014) (que registró 8149 células de *Prorocentrum* 100 cm⁻²), lo mismo sucedió con *Prorocentrum* cf. *lima* (también sin incluir otros morfotipos del género), al registrar Tester *et al.* (2014) densidades máximas de 107067 células por cada 100 cm² de sustrato, lo que hace entrever que el área superficial de las mallas empleadas permitiría un alto reclutamiento de las células. Esta situación no se observó para *Gambierdiscus* spp., con 2601 células 100 cm⁻² registradas en el presente estudio (Anexo D), frente a las 35086 células 100 cm⁻² reportadas por Tester *et al.*, (2014).

En todos los morfotipos se destacaron los altos valores que presentaron coeficientes de variación (CVs) de los promedios de abundancia considerando los sitios y meses evaluados, así como en las variaciones diarias (Anexos I y L), tendiendo a ser mayores en los casos en que las abundancias fueron bajas y con múltiples ausencias en los colectores como se observó en *Gambierdiscus* spp., en *Prorocentrum* cf. *lima* en la época seca para B. Chengue y en la lluviosa para B. Gordo (Anexo E), en *Ostreopsis* cf. *ovata* en la lluviosa para B. Chengue y en B. Gordo (Anexo F); mientras que *Ostreopsis* spp. que se destacó por su alta frecuencia y abundancia, presentó los CVs comparativamente más bajos (Anexo G). Los altos CVs fue una característica también encontrada por Tester *et al.* (2014), en los promedios de abundancia en macrófitas como en sustratos artificiales para *Gambierdiscus*, *Prorocentrum* y *Ostreopsis*, obteniendo valores de CVs entre 6 y 208 %; así como por Parsons *et al.* (2017) para *Gambierdiscus* con valores entre 0 y 173 % y por Ballantine *et al.* (1985) con valores de CVs entre 33 y 112% para *Gambierdiscus* y entre 25 a 65 % para *Ostreopsis* en macrófitas. Esta alta variabilidad se atribuye a la tendencia de estos organismos a distribuirse en microagregaciones o parches (de tipo contagioso), producto de la complejidad y variedad espacio temporal del entorno microbentónico en que

habitan (GEOHAB, 2012), también presente en el ambiente planctónico (Martin, 2003) y que estaría actuando también dentro de los mismos sustratos ensayados (microcorrientes, diferencias en la exposición lumínica, etc).

2.4.3 Comportamiento de la abundancia respecto a diferentes periodos de exposición (24, 72 y 144 h), en mallas de fibra de vidrio como sustrato

Para el presente análisis se tuvo como principal referencia los resultados de las mallas que registraron el comportamiento de la abundancia diaria, compuesta por el promedio de abundancia de los colectores expuestos por 24 h y que se recolectaron simultáneamente con la de las mallas que fueron expuestas por las 72 y las 144 h tanto en B. Chengue como en B. Gordo y en diferentes épocas climáticas, asumiendo que si no hay diferencias entre éstas y las de las mallas expuestas por 72 o 144 h, entonces se estaría reflejando lo que ocurrió en esas 24 h, y no se esperaría incrementos (producto de la adhesión continua de organismos) o disminuciones (producto de desprendimientos) en las abundancias a través de los diferentes periodos de exposición de las mallas; indicando que independientemente del tiempo que duren expuestas estas mallas expuestas (72 o 144 h, en este caso) habitualmente van a mostrar lo que se adhiere en el día, debido a procesos de fijación y desprendimiento activo y continuo de estos organismos que no favorecerían su agregación continua e incremento. También se tuvo en cuenta, aunque con cierta precaución dada las amplias variaciones que presentaron los promedios de abundancia, las tendencias de crecimiento y la existencia de diferencias en los promedios de abundancia entre las mallas expuestas por 24, 72 y 144 h. Con base en lo anterior, para los morfotipos seleccionados se encontraron los siguientes comportamientos:

▪ ***Gambierdiscus spp***: aunque los resultados en principio podrían sugerir poca preferencia de este morfotipo hacia los sustratos artificiales ofrecidos, al no detectárseles en los expuestos por mayor tiempo (72 y 144 h) como se observó en las tres épocas en B. Chengue (Figura 2-13 A, B y C) y en los de 72 h y 144 h para las épocas seca y lluviosa en B. Gordo, respectivamente (Figura 2-13 D y F), se debe considerar que en esas ocasiones los promedios de abundancia para los colectores expuestos por 24 h también fueron bajos y en algunas de las réplicas tampoco se observaron organismos (Anexo M), indicado que tal comportamiento obedeció a una baja disponibilidad en el medio de estos organismos (Anexo M); esto último se corroboraría con los resultados observados

en la época de transición en B. Gordo, que presentó los mayores registros y colectores con presencia permanente de estos organismos, al mostrar las mallas expuestas en los diferentes periodos (24, 72 y 144 h) abundancias similares a las de las mallas que registraron el comportamiento de la abundancia diaria, así como promedios de abundancia sin diferencias estadísticas significativas entre ellas (Figura 2-13 E) (Tabla 2.4), ni tendencias de aumento o disminución a lo largo de los periodos de exposición. Estos resultados indicarían una alta dinámica y transitoriedad de *Gambierdiscus* spp. en cuanto a su fijación y desprendimiento en los sustratos. Estos comportamientos se ajustarían a los descritos por Nakahara *et al.* (1996) en que las células de *Gambierdiscus* no se fijan de manera permanente al sustrato, sino que se desprenden de él ante diferentes perturbaciones (baja turbulencia, presencia de luz), así como por Parsons *et al.* (2011), que observaron tanto fijaciones como desprendimientos de estos organismos a lo largo de un mes, considerándolos como epífitos no obligados, y Bomber *et al.* (1988) que observaron en macroalgas flotantes al mismo tiempo células de *Gambierdiscus* spp. móviles como fijas (embebidas en mucus). Los comportamientos de *Gambierdiscus* spp. aquí observados, permitiría deducir que en general no se esperarían grandes diferencias respecto a los promedios de abundancia si éstos fueran colectados dentro el periodo evaluado (24, 72 o 144 h), sin embargo, es importante mencionar, y válido también para el resto de morfotipos evaluados, que más allá de este periodo podrían entrar a jugar otros factores ambientales como biológicos que con el tiempo pueden alterar las características de estas comunidades, haciéndolas menos representativas de las comunidades que las rodean. Esta situación pudo ocurrir en el estudio desarrollado por Parsons *et al.* (2017), quienes encontraron correlaciones débiles en las abundancias celulares de *Gambierdiscus* entre varias especies de macrófitas y diversos tipos de sustratos artificiales que se expusieron por un mes.

En los cultivos de este organismo, efectuados para análisis moleculares (Capítulo 3), la mayor parte de las células permanecían en el fondo de los recipientes de vidrio, sin embargo, su fijación no era fuerte y se desprendían fácilmente cuando se agitaban.

▪ ***Prorocentrum cf. lima***: los comportamientos observados en B. Chengue y en B. Gordo en las épocas seca y de transición, en los que se apreció en algunas de las mallas expuestas por 72 y 144 h mayores promedios de abundancia respecto a las mallas que registraron el comportamiento de la abundancia diaria, así como incrementos y diferencias estadísticas entre las mallas expuestas por 24, 72 y 144 h (Figura 2-13 G, H, J y K; Anexo

N)(Tabla 2.4), revelaría una estrecha asociación de *Prorocentrum cf. lima* hacia los sustratos en lo que respecta a largos tiempos de adhesión sobre éstos, favoreciéndose su acumulación progresiva e incrementando su abundancia a medida que aumenta el tiempo de exposición de las mallas, empero, no fue un comportamiento reiterativo observado a lo largo de todos los periodos de exposición (Figura 2-13 J). Estos comportamientos sugieren que, hasta 24 horas, sería el tiempo de exposición mas adecuado de los colectores para estos organismos ya que al aumentar el tiempo se estaría obteniendo no solo lo que estuvo en el medio ese día sino también lo que se habría venido acumulado de días anteriores, sobreestimándola. Giussani *et al.* (2017) consideran a *Prorocentrum cf. lima* como un dinoflagelado de hábitos estrictamente más bentónicos comparándolo con *Ostreopsis cf. ovata*. siendo una característica que se estaría manifestando también en el presente estudio, además de detectarse las mayores abundancias en las macrófitas que en las mallas, comportamiento que fue más notorio en Bonito Gordo (Figura 2.8 C y D). En los cultivos de este organismo, las células se caracterizaron por permanecer fuertemente adheridas al fondo a pesar de agitarse los recipientes en que eran contenidas, formando algunas veces aglomeraciones y muy pocas células se apreciaban en la columna de agua. En algunos cultivos se observaron cúmulos redondeados que pueden indicar que las células no se desprenden, sino que se siguen reproduciendo fijas en el sitio formando estos agregados.

▪ ***Ostreopsis cf. ovata***: para B. Chengue en las épocas seca y de transición, los mayores promedios de abundancia en algunas de las mallas expuestas por 72 y 144 h respecto a las mallas que registraron el comportamiento de la abundancia diaria, sí como las tendencias (incrementos) y las diferencias estadísticas entre las mallas expuestas por 24, 72 y 144 h (Figura 2-14 A y B; Anexo O), indican la estrecha asociación que tuvieron estos organismos hacia los sustratos en este sitio, similar a lo ocurrido con *P. cf. lima*, indicando incrementos por agregación de organismos a medida que se incrementa el tiempo de exposición de los colectores, sin embargo, estos incrementos no fueron sostenidos y en ambos meses disminuyeron hacia los colectores expuestos por 144 h (Figura 2-14 A y B). Para B. Gordo, a diferencia de B. Chengue, en marzo y junio las mallas expuestas por 72 y 144 h mostraron abundancias similares a las de las mallas que registraron el comportamiento de la abundancia diaria, sin apreciarse incrementos o disminuciones apreciables sostenidas en los promedios de abundancia entre los periodos de exposición y tampoco presentar diferencias significativas, indicando poca asociación de estos organismos hacia los sustratos en lo que respecta al tiempo de fijación sobre éstos. De

acuerdo a los comportamientos observados para este organismo, para el caso de B. Chengue se recomendaría no exponer los sustratos por mas de 24 h (o quizás menos) para evitar incrementos por agregación de organismos, mientras que para B. Gordo en general no habría grandes diferencias respecto a los promedios de abundancia si éstos fueran colectados dentro el periodo evaluado (24 a 144 h) para este sitio. Las diferencias halladas entre sitios, podrían obedecer al mayor flujo de agua que presenta B. Chengue respecto a B. Gordo, adquiriendo la capacidad los organismos del primer sitio a adherirse de manera más fuerte y por mayor tiempo a los sustratos (mallas) tratando de evitar ser arrastrados.

Respecto a *O. ovata*, Pavaux *et al.* (2021), encontraron variaciones entre las densidades diurnas (con aumento) y nocturnas (con disminución) de estos organismos provenientes de macroalgas en el mar Mediterráneo, lo que indicaría un comportamiento altamente dinámico y transitorio en cuanto a la fijación y desprendimiento de estos organismos respecto al sustrato.

En cultivo, estos organismos se encontraban en el fondo de los recipientes nadando atados al fondo a través de hilos mucosos, sin embargo, algunas veces se encontraban fijos directamente en el fondo con presencia de gran cantidad de mucus. Su desprendimiento de los recipientes era fácil cuando se sostenían a través de los hilos y más dificultoso cuando se fijaban directamente al fondo mediante mucus, siendo más común en cultivos viejos.

▪ ***Ostreopsis spp***: aunque se observaron en B. Chengue y B. Gordo incrementos en los promedios de abundancia en la época seca (Figura 2-14 G y J; Anexo P), así como una disminución en octubre para B. Chengue (Figura 2-14 I) y con diferencias estadísticas entre los periodos de exposición de los sustratos, se encontró que las abundancias fueron similares a las de las mallas que registraron el comportamiento de la abundancia diaria, sugiriendo que tales comportamientos estarían más relacionados con sucesos que se manifestaron a nivel diario (Figura 2-12 G y J y Figura 2-12 I) y no a incrementos causados por agregación continua de organismos; sin embargo, si pudo ocurrir este comportamiento en B. Gordo para la época de transición (Figura 2-14 K), pues aunque el incremento fue suave y no se observaron diferencias entre los periodos de exposición, los valores fueron mucho mayores a las de las mallas que registraron el comportamiento de la abundancia diaria (Figura 2-14 K). Con base en estos resultados, se sugiere que para este morfotipo

en general no habría diferencias respecto a los promedios de abundancia, si éstos fueran colectados dentro el periodo valuado (24 a 144 h).

En cultivo, estos organismos se encontraban en el fondo de los recipientes nadando y atados al fondo a través de largos hilos mucosos. Su desprendimiento de los recipientes era fácil cuando se agitaban.

De acuerdo a lo anteriormente expuesto, se podrían destacar dos comportamientos, el primero observado en *Gambierdiscus* spp., *Ostreopsis* spp., *Ostreopsis* cf. *ovata* (en B. Gordo), que en general mostraron algunas de las siguientes características: presentar las mallas que fueron expuestas por 72 y 144 h promedios de abundancias similares a las de las mallas que registraron el comportamiento de la abundancia diaria, no mostrar patrones reiterativos (como crecimiento o disminuciones de las abundancias), ni diferencias en las abundancias entre los diferentes periodos de exposición y que indicarían para estos organismos la presencia de un alto dinamismo y una alta transitoriedad respecto a su fijación y desprendimiento hacia los sustratos; y el segundo comportamiento, observado en *Prorocentrum* cf. *lima* y *Ostreopsis* cf. *ovata* (en B. Chengue), caracterizados por presentar las mallas que fueron expuestas por 72 y 144 h promedios de abundancias mayores a las de las mallas que registraron el comportamiento de la abundancia diaria, presentar tendencias (como crecimientos o disminuciones de las abundancias a través del tiempo de exposición de los sustratos), y mostrar diferencias en las abundancias entre los diferentes periodos de exposición, apuntando hacia una mayor asociación de estos organismos hacia los sustratos en lo que respecta al tiempo de fijación sobre éstos, con tendencias a incrementar sus abundancias por agregación continua de organismos a medida que se incrementa el tiempo de exposición de los sustratos. Para el caso del primer comportamiento los sustratos podrían permanecer entre las 24 y 144 h sin alteraciones significativas de la abundancia, obedeciendo principalmente a la oferta diaria de organismos disponibles del entorno. Para el segundo caso, por estar más asociados a los sustratos al permanecer mayor tiempo adheridos sobre éstos, lo que sugeriría que el tiempo de exposición de los sustratos no supere las 24 horas (o quizás menos tiempo) buscado evitar sobreestimaciones de la abundancia por agregaciones continuas de estos organismos a través del tiempo.

2.5 Conclusiones y recomendaciones

El buen número de convergencias encontradas en el comportamiento de las abundancias entre los sustratos analizados en los morfotipos seleccionados, así como los altos, positivos y significativos valores de correlación encontrados, favorecería el uso de estos sustratos artificiales, en este caso compuesto por mallas de fibras de vidrio, como sustituto de los naturales, en este caso hojas de *Thalassia testudinum*. Lo anterior, ofrecería la ventaja de permitir estandarizar las estimaciones de la abundancia y hacerlas comparativas con otros estudios y sitios; sin embargo, como se observó en *Ostreopsis* spp., se recomienda hacer evaluaciones previas de los sustratos artificiales a ser sustitutos, comparándolos con los sustratos naturales a ser reemplazados, teniendo en cuenta también las particularidades y condiciones ambientales de los sitios en donde serán usados, así como los requerimientos que se conozcan sobre la especie o morfotipo a evaluar.

En general no se apreciaron tendencias (incrementos, disminuciones) o diferencias entre los promedios de abundancia diarios consecutivos en los morfotipos seleccionados; aunque se observaron algunos incrementos, estos obedecieron a comportamientos generalizados que se detectaron simultáneamente en los sitios trabajados (observado en *Ostreopsis* spp. y en *Prorocentrum* cf. *lima*). Aunque se encontraron algunas diferencias en los promedios de abundancia entre días consecutivos (en *Ostreopsis* cf. *ovata* y *Ostreopsis* spp), estos fueron puntuales y aislados y no a una tendencia general. Finalmente, se destacaron también los altos coeficientes de variación en los promedios diarios de abundancia obtenidos, no obstante, constituye una característica observada también en otros estudios, atribuido a la tendencia de estos organismos a distribuirse en agregaciones o parches (de tipo contagioso) característicos de ambientes bentónicos como planctónicos, dado la complejidad y variedad espacio temporal del entorno microbentónico como en el plantónico en el que habitan.

Las altas densidades exhibidas en algunos de los colectores de fibra de vidrio expuestos diariamente, muestran su capacidad de reclutar un elevado número de estos organismos, lo cual no sería impedimento para llegar más allá de los umbrales que indicarían riesgo de eventos de intoxicación por estos organismos.

Respecto a los tiempos de exposición de los sustratos, se distinguieron dos comportamientos: el primero observado en *Gambierdiscus* spp., *Ostreopsis* spp., y *Ostreopsis* cf. *ovata* (en B. Gordo), caracterizado por que las abundancias de las mallas expuestas en diferentes periodos de tiempo fueron similares a las de las mallas que registraron el comportamiento de la abundancia diaria, indicando un alto dinamismo, alta transitoriedad y aparentemente una baja asociación hacia los sustratos, El segundo, observado en *Prorocentrum* cf. *lima* y *Ostreopsis* cf. *ovata* (en B. Chengue), con abundancias diferentes respecto la de los colectores que registraron la abundancia diaria, mostrando también con incrementos y diferencias entre los periodos de exposición que sugeriría una asociación más estrecha y de mayor tiempo de fijación al sustrato. Para primer caso los sustratos podrían permanecer entre las 24 y 144 h de exposición sin variaciones apreciables en la determinación de la abundancia, mientras que el segundo la tendencia a permanecer mayor tiempo adheridos, no permitiría tiempos de exposición por periodos prolongados de tiempo (sugiriéndose tiempos de exposición de hasta 24 h) ya que con el tiempo estos organismos se acumularían sobrestimándola

3. Capítulo 3

Actualización sobre la presencia de dinoflagelados bentónicos potencialmente toxigénicos en el Caribe colombiano

3.1 Introducción

Los dinoflagelados bentónicos son un grupo de organismos de gran interés, no solo por su importancia ecológica general como productores primarios y de oxígeno, captadores de CO₂, entre otros roles, sino también por la capacidad de muchos de ellos de producir potentes toxinas que han afectado no solo a otros organismos marinos, pero también al hombre, generando consecuencias negativas ambientales, sanitarias, sociales y económicas. Por lo anterior, se han realizado esfuerzos mediante programas de monitoreo con miras a su mayor conocimiento y tratar de prevenir o mitigar sus impactos. Sin embargo, a pesar de lo anterior aún muchos sus aspectos siguen desconocidos. Dado que para cada área geográfica el tipo de impacto y su severidad sería exclusivos y característicos, dependiendo en gran medida de las especies presentes y su grado de toxigenidad, esta información sería especialmente importante para desarrollar una evaluación de riesgos más eficaz para los programas de monitoreos en la zona (Caribe colombiano, principalmente).

El presente capítulo describe de manera concisa los resultados más relevantes de tres trabajos publicados, referente a la confirmación y primer reporte de dos especies para el

Caribe colombiano, así como la descripción de una nueva especie, mediante evaluaciones morfológicas como moleculares, así como de sus características toxigénicas y algunas consideraciones ecológicas, las cuales se enumeran a continuación:

1- Arteaga-Sogamoso, E., F. Rodríguez and J. E. Mancera-Pineda. 2021. Morphological and molecular characterization of *Gambierdiscus caribaeus* (Dinophyceae), with a confirmation of its occurrence in the Colombian Caribbean Tayrona National Natural Park. *Botanica Marina*. 64(2). 11p <https://doi.org/10.1515/bot-2020-0070>

2- Arteaga-Sogamoso E, Riobó P, Rodríguez F, Mancera-Pineda J.E and Franco-Angulo J (2022) First record of the dinoflagellate *Prorocentrum borbonicum* in the continental coast of Colombian Caribbean: A new 42-hydroxi-palytoxin producer. *Front. Mar. Sci.* 9: 973250. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.973250>

3-Arteaga-Sogamoso, E., F. Rodríguez, A. Amato, B. Ben-Gigirey, S. Fraga, L. L. Mafra, L. F. Fernandez, C. E. J. de Azevedo Tibiriçá, N. Chomérat, T. Nishimura, C. Homma, M. Adachi and J. E. Mancera-Pineda. 2023. Morphology and phylogeny of *Prorocentrum porosum* sp. nov. (Dinophyceae): a new benthic toxic dinoflagellate from the Atlantic and Pacific Oceans. *Harmful Algae*, 121-102356. Accessed at <https://doi.org/10.1016/j.hal.2022.102356>

3.2 Materiales y métodos

3.2.1 Origen de los especímenes y condiciones de cultivo

Los tres especímenes analizados, codificados como INV MYZ0001, INV MYZ0002 y INV MYZ0003, fueron obtenidos de hojas de *Thalassia testudinum*, pertenecientes a una pradera de esta fanerógama ubicada en Bonito Gordo (11°17'55,8 N; 74°10'8,2 W), sitio localizado en el costado occidental de Bahía Concha, Parque Nacional Natural Tayrona (PNNT), próximo a la ciudad de Santa Marta (departamento del Magdalena), en el Caribe colombiano (Figura 3-1).

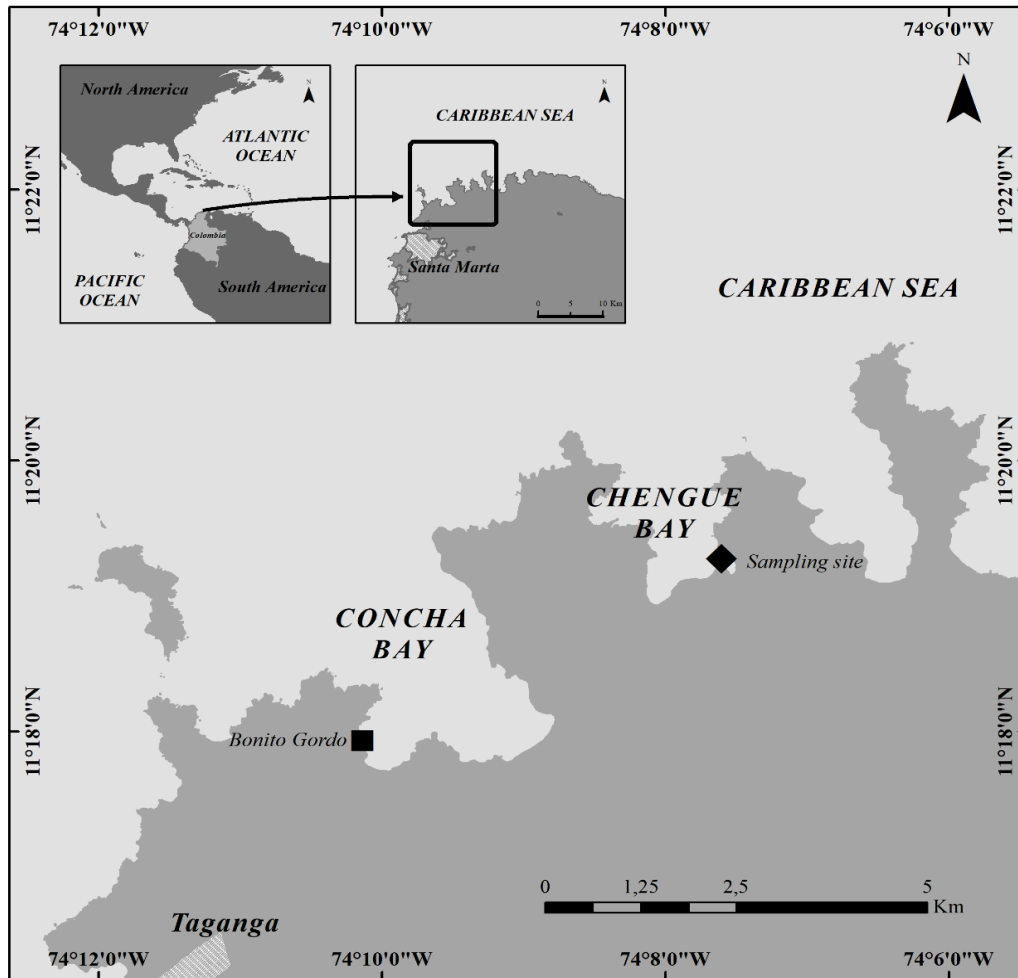


Figura 3-1: Localización del sitio donde se obtuvieron los organismos en Bahía Concha (Bonito Gordo), en el Parque Nacional Natural Tayrona (PNNT), Colombia.

Estas hojas fueron obtenidas manualmente entre marzo y abril 10 de 2018, a una profundidad aproximada de 2m, cortadas suavemente desde su base para evitar el desprendimiento de los organismos e introducidas cuidadosamente en bolsas plásticas de cierre hermético (Ziploc®) con agua de mar. En el laboratorio las bolsas fueron agitadas suavemente por dos min para desprender los organismos adheridos, luego de lo cual la mayor parte de las hojas fueron extraídas manualmente y el agua de mar con los organismos desprendidos fue pasada a través de un tamiz de 250 micrómetros para acabar de extraer restos más pequeños de otras partículas y material vegetal remanente, reservando el agua filtrada con los organismos para la posterior búsqueda y aislamiento de las células con la ayuda de portaobjetos excavados y de un microscopio invertido Nikon Eclipse TS100. El aislamiento de los organismos de interés se realizó mediante micropipetas elaboradas a partir de capilares de vidrio adaptadas a mangueras de silicona

que permite la succión y extracción de los organismos de interés. Una vez aisladas, las células fueron transferidas a un portaobjetos excavado con una gota de agua de mar filtrada y estéril. El procedimiento de transferencia de la célula en agua de mar estéril se repitió varias veces con el fin de lavarla y aislarla hasta observarla completamente sola y sin ningún otro contaminante. Cada célula así aislada fue inoculada en una microplaca de 36 pozos que contenían medio de cultivo K diluido a la mitad sin silicatos (Keller *et al.*, 1987) elaborado con agua de mar del área de origen de los organismos previamente filtrada mediante filtros Millipore AP-40 de fibra de vidrio (de 0,7 μm de poro, marca Merck), esterilizada por autoclave y ajustada a 36 de salinidad y mantenidas a 25°C de temperatura y un fotoperiodo de 12:12 h luz/oscuridad a 90 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ mediante lámparas fluorescentes “cool-white”. En los pozos que presentaron buen crecimiento, las células fueron transferidas y mantenidas en viales de vidrio nuevos de 7,4 mL y en matraces de 20 mL, en las mismas condiciones en que fueron incubadas.

El primer código (INV MYZ0001) correspondió a especímenes del género *Gambierdiscus*, mientras que INVMYZ0002 y INV MYZ0003 correspondieron a *Prorocentrum*. Todos se encuentran actualmente preservados en formalina en el Museo Marino de Historia Natural de Colombia Makuriwa perteneciente al Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (INVEMAR), en Santa Marta (Colombia). Algunos especímenes de la cepa INVMYZ0002 se encuentran montada en un SEM stub depositado bajo el código (C-A-99709) en The Natural History Museum of Denmark (Copenhague) como holotipo al tratarse de una nueva especie.

3.2.2 Análisis Morfológico

▪Observaciones al microscopio de luz y microscopía electrónica de barrido (MEB)

La observación, identificación, medición y registro fotográfico de los organismos se llevó a cabo en un microscopio óptico Leica DMLA (Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Germany) con contraste de fase y epifluorescencia con lámpara UV, equipado con cámara fotográfica AxioCam HR3 y un procesador de imágenes ZEN 2 lite. Las células cultivadas se montaron sobre portaobjetos cubriéndolas con cubreobjetos. Las imágenes que son de epifluorescencia se obtuvieron aplicando una gota de calcoflúor sobre los organismos para la tinción de sus placas, antes de cubrirlos con el cubreobjetos (Fritz y Trimer, 1985), observándolos posteriormente bajo un filtro de luz UV (Reguera *et al.*, 2011).

Para la observación de los organismos pertenecientes a la cepa INV MYZ0001 a través de microscopía electrónica de barrido (MEB), se fijaron dos mililitros de cultivo en fase exponencial con formaldehído por espacio de 24 h a temperatura ambiente, luego fueron lavados pasándolas tres veces a través de un filtro de policarbonato Whatman de 5 μm con mezclas de agua de mar filtrada (estéril) y agua destilada, incrementado paulatinamente esta última en concentraciones: 10, 20, 30, 50, 80, 90 y 100%, seguidamente fueron deshidratadas aumentando la concentración de etanol en las siguientes concentraciones: 30, 50, 75, 95 y 100%. Los filtros con las muestras deshidratadas se montaron sobre un portamuestras (stub) de aluminio y se dejaron secar a temperatura ambiente por espacio de 24 h, realizando posteriormente la metalización con oro en un metalizador Sputtering K550X, para finalmente realizar su observación y registro fotográfico en un microscopio electrónico de barrido Quanta 450F, HV 5.00 kv, WD 9,4 mm (FEI Company, Hillsboro, OR, USA). Para la cepa INV MYZ0003, se trataron 2 ml de cultivo en fase exponencial con Triton al 4 % (20 min) y se lavaron con agua destilada a través de filtros de membrana de 10 μm (TCTP, Isopore, Irlanda) para eliminar las membranas celulares externas. Luego, las células se fijaron con formaldehído al 4% durante 24 h a 5 °C, antes de deshidratarlas haciéndolas pasar (dos veces en cada paso) por concentraciones crecientes de etanol: 30, 50, 75, 90, 95 y 100% y se secaron utilizando un equipo secador de punto crítico (Baltec CPD030). Posteriormente se montaron filtros con especímenes en un stub, con leit tab de carbón y se aplicaron vapores de tetróxido de osmio, durante 30 min. Finalmente, los especímenes fueron recubiertos con oro usando un Quorum Q150R ES sputter coater y observados con un FEI QUANTA 200-r con un voltaje de aceleración de 5Kv (en las instalaciones de la Universidad Nacional de Colombia). El mismo procesamiento de las muestras empleado para la observación en MEB para la cepa INV MYZ0003 se usó en la cepa INV MYZ0002, diferenciándose únicamente por el uso de equipos diferentes: el recubrimiento en oro de los especímenes mediante un recubridor por pulverización K550X y la observación de estos en un microscopio JEOL JSM6700 F (JEOL, Tokio, Japón) con una tensión de aceleración de 5 Kv, ubicado en las instalaciones de CACTI (Universidade de Vigo, España).

La identificación preliminar de los organismos se efectuó mediante consulta a expertos, artículos y guías especializadas como las de Taylor (1987), Steindinger and Tangen (1997), Litaker *et al.* (2009), Almazán-Becerril *et al.* (2015), Hoppenrath *et al.* (2013), Hoppenrath *et al.* (2014).

3.2.3 Análisis molecular

▪Extracción de ADN, ampliación en PCR y secuenciación de ADN

***Gambierdiscus*, cepa INVMYZ0001**

Un 1 mL de la cepa INV MYZ0001 se colocó en un tubo eppendorf y centrifugó a 3300 g por 5 min, descartando el sobrenadante y añadiendo al pellet obtenido 1 mL de agua destilada grado molecular, repitiendo la centrifugación dos veces más y descartando de nuevo el sobrenadante. Terminado el procedimiento anterior, el ADN se extrajo usando la técnica de Chelex®, según metodología modificada de Richlen y Barber (2005), empleada por Fraga y Rodríguez (2014). Las regiones D1-D3, D8-D10 de la larga subunidad (LSU) rRNA y el espaciador interno transcrito (ITS, por sus siglas en inglés) región (ITS-1, 5.8S DNAr, ITS-2) fueron amplificadas usando el par de cebadores D1R/LSUB (5'-ACCCGCTAATTTAAG-CATA-3'/5'-ACGAACGATTTGCACGTCAG-3') (Scholin *et al.*, 1994), FD8/RB (5'-GGATTGGCTCTGAGGGTTGGG-3'/5'-GATAGG AAGAGCCGACATCGA-3'; Chinain *et al.* 1999) y ITSF01/PERKITS-AS (5'-GAGGAAGGAGAAGTCGTAACAAGG-3'/5'-GCTTACTTATATGC TTAAATTCAG-3'; (Ki y Han, 2007; Kotob *et al.* 1999). La reacción de amplificación (de 25 µL) incluyó 0,75 pmol de cada cebador, 2 µL de extracto de ADN y 10 µL de Horse-Power DNA polimerasa master mix (Canvax, Spain), que contiene 2 x PCR buffer, 0,4 mM de cada nucleótido, 4 mM de MgCl₂, and 0.1 U Taq DNA polimerasa/µL, completando el volumen con agua destilada grado molecular.

La amplificación de la cadena de la cadena de la polimerasa (PCR) se realizó en un termociclador Eppendorf Mastercycler EP5345 (Eppendorf AG, Nueva York, USA), de acuerdo a las siguientes condiciones: 1) Regiones LSU D1-D3 y D8-D10, con desnaturalización inicial a 94 °C por 4 min, 30 ciclos de desnaturalización a 94 °C por 30 segundos, alineación a 54 °C por 1 min, elongación a 72 °C por 2 min, y ciclo final de elongación a 72 °C por 10 min; 2). Para ITS las condiciones fueron casi idénticas, exceptuando la alineación a 55 °C por 1 min. Después de la inspección del producto de la PCR mediante electroforesis en gel agarosa, éste fue purificado con ExoSAP-IT (USB Corporation, Cleveland, OH, USA). El ADN purificado fue secuenciado con la técnica de mezcla AB 3130 BigDye V3.1 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

***Prorocentrum*, cepa INVMYZ0003:**

Para la extracción de ADN, se aislaron mediante micropipetas de 3 a 5 células de la cepa INV MYZ0003, que posteriormente se lavaron tres veces mediante inoculación y aislamiento en gotas de agua destilada de grado molecular y se almacenaron durante 24 h a -40 °C en un tubo de 200 µL. Luego, se sometieron a un choque frío con nitrógeno líquido durante 1 min y se calentaron (94 °C, 1 min) en un Eppendorf Mastercycler EP5345 (Eppendorf AG, Nueva York, EE. UU.).

Las regiones D1-D3 del gen LSU rRNA fueron amplificadas por PCR utilizando el par de cebadores D1R/LSUB (5'-ACCCGCTAATTTAAG-CATA-3' / 5'-ACGAACGATTTGCACGTCAG-3') (Scholin *et al.*, 1994). Las amplificaciones se realizaron en un Eppendorf Mastercycler EP5345, usando Horse-Power™ Taq DNA Polymerase MasterMix 2x (Canvax, España) siguiendo las instrucciones del fabricante.

Las condiciones de PCR para las amplificaciones del gen LSU rRNA fueron las siguientes: 5 min de desnaturalización inicial a 94 °C, seguidos de 30 ciclos de 35 s de desnaturalización a 94 °C, 35 s de hibridación a 51 °C (LSU) y 1 min de elongación a 72 °C, con un paso final de elongación de 7 min a 72 °C. Los productos de PCR se purificaron con ExoSAP-IT Express (Applied Biosystems, Foster City, CA, EE. UU.). Las reacciones de secuenciación se realizaron utilizando el kit de secuenciación del ciclo de reacción Big Dye Terminator v.3.1 y se migraron en un analizador genético SeqStudio (ambos en Applied Biosystems, Foster City, CA, EE. UU.) en las instalaciones de secuenciación CACTI (Universidade de Vigo).

***Prorocentrum*, cepa INVMYZ0002:**

Para la cepa INV MYZ0002, se aislaron de tres a cinco células mediante micropipeta, luego se lavaron y almacenaron durante 24 h a -40 °C en un tubo de 200 µL. Posteriormente, las muestras se sometieron a un choque frío con nitrógeno líquido durante 1 min y finalmente calentado (94 °C, 1 min) en un Eppendorf Mastercycler EP5345 (Eppendorf AG, Nueva York, EE. UU.). Las regiones LSU DNAr D1-D3 se amplificaron usando el par de cebadores D1R/LSUB (5'-ACCCGCTAATTTAAG-CATA-3'/5'-ACGAAC GATTTGCACGTCAG-3') (Scholin *et al.*, 1994). El DNAr ITS completo fue amplificado usando ITSF01 (5'-AGGAAGGAGAAGTCGTAACAAGG-3') (Ki y Han, 2007) y PERK-ITS-AS (5'-CTTACTTA TATGCTTAAATTCAG-3') (Kotob *et al.*, 1999). LSU D1-D3 y las amplificaciones de DNAr ITS se realizaron por (PCR) en un Eppendorf Mastercycler EP5345, utilizando Horse-

Power™ Taq DNA Polymerase MasterMix 2x (Canvax, España) siguiendo las instrucciones del fabricante. Las condiciones del PCR para las amplificaciones LSU DNAr y DNAr ITS seguidas fueron las descritos en Sunesen *et al.* (2020). Los productos de PCR de la cepa INV MYZ0002 se purificaron con ExoSAP-IT Express (Applied Biosystems, Foster City, CA, EE. UU.). Las reacciones de secuenciación se realizaron utilizando el Kit de secuenciación del ciclo de reacción Big Dye Terminator v.3.1 y migró en un analizador genético SeqStudio (ambos en Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) en las instalaciones de secuenciación de CACTI (Universidad de Vigo).

▪Análisis filogenético

***Gambierdiscus*, cepa INV MYZ0001:**

Las secuencias LSU (regiones D1-D3 y D8-D10) de la cepa INV MYZ0001 (Gamban Ex. No. MT797858) fueron alineadas usando el alineamiento múltiple CLUSTALW en Mega-X (Kumar *et al.*, 2018). Ambas ampliaciones fueron examinadas a ojo para corregir la secuencia final (864 y 819 pares de bases, pc, respectivamente). Se realizó Blast de nucleótidos estándar para recuperar secuencias relacionadas con *Gambierdiscus* de la base de datos GenBank. El alineamiento final D8-D10, que incluyó 54 secuencias fue usado para construir la filogenia con *Fukuyoa paulensis* Gómez, Qiu, Lopes et Lin como grupo externo. El modelo de reconstrucción filogenético (Máxima Verisimilitud, MV) fue realizado en MEGA X con un modelo de sustitución Kimura 2-parámetros de forma gamma (K2+G, $\gamma = 0,365$). Las posiciones finales en la alineación fueron 875 y los valores de bootstrap se estimaron a partir de 1000 repeticiones. Respecto a la región D1-D3, se utilizaron 35 secuencias para construir la filogenia, con *Fukuyoa yasumotoi* (Holmes) Gómez, Qiu, Lopes et Lin como grupo externo. La selección del modelo filogenético (MV) se realizó en MEGA X con un modelo de sustitución Tamura-Nei con forma gamma (TN93 + G, $\gamma = 0,945$). Las posiciones finales en la alineación fueron 968 y los valores de bootstrap se estimaron a partir de 1000 repeticiones. El ITS DNAr (incluidas las regiones parciales ITS-1, y las completas 5.8S e ITS-2, 383 pb) no se incluyeron en análisis filogenéticos adicionales, pero se incluyeron distancias genéticas promedio, utilizando la fórmula:

$$dA \ dXY = (dX + dY) / 2,$$

donde d_{XY} es la distancia promedio entre los grupos X e Y, y d_X y d_Y son las distancias medias dentro del grupo (Nei, 1987), que se calcularon para los clados de *Gambierdiscus* más cercanos relacionados usando MEGA X.

***Prorocentrum*, cepa INV MYZ0003:**

La secuencia del gen LSU rRNA de la cepa INV MYZ0003 (GenBank Acc. No. OM522663) se ensambló en Bioedit (Hall, 1999), con una longitud final de 772 pb. Una alineación que incluye *Prorocentrum* spp. disponible en la base de datos GenBank se elaboró utilizando MEGA 7 (Kumar *et al.*, 2018), incluyendo 33 secuencias de distintas especies/filotipos de *Prorocentrum*. La alineación final de LSU rRNA incluyó 757 posiciones. Se usaron secuencias de *Adenoides eludens* (Herdman) Balech como grupo externo.

La selección del modelo filogenético (Máxima Verosimilitud, MV) se realizó con la herramienta ModelTest en MEGA 7. Se seleccionó un modelo de parámetro Kimura-2 (K2+G, $\gamma = 1,01$).

Las relaciones filogenéticas también se determinaron utilizando la inferencia filogenética bayesiana (IB), y en este caso, los modelos de sustitución se obtuvieron muestreando todo el espacio del modelo reversible de tiempo general (GTR, por sus siglas en inglés) siguiendo el procedimiento descrito en los manuales de Mr. Bayes v3.2. Los árboles bayesianos se realizaron con Mr. Bayes v3.2 (Huelsenbeck y Ronquist, 2001). Los parámetros del programa fueron statefreqpr = dirichlet (1,1,1,1), nst = mixed, rates = gamma. Los análisis filogenéticos involucraron dos análisis paralelos, cada uno con cuatro cadenas. Los árboles iniciales para cada cadena se seleccionaron al azar utilizando los valores predeterminados por el programa Mr. Bayes. El número correspondiente de patrones de sitios únicos para las alineaciones de LSU rRNA fue de 276. El número de generaciones utilizadas en estos análisis fue de 1.000.000. Las probabilidades posteriores se calcularon a partir de cada 100 árboles muestreados después de la estabilización de probabilidad logarítmica (fase "burn-in"). Los análisis filogenéticos de Máxima Verosimilitud se realizaron en MEGA 7. Los valores de bootstrap se estimaron a partir de 1000 repeticiones.

Las topologías generales por MV y el método de inferencia bayesiana (IB) fueron muy similares. Los árboles filogenéticos se representaron mediante el método MV con valores bootstrap y probabilidades posteriores del IB. Las distancias p no corregidas [proporción

(p) de sitios de nucleótidos en los que dos secuencias son diferentes (Transiciones + Transversiones), es decir, la proporción de sitios de nucleótidos que son diferentes] se calcularon usando MEGA 7. Por lo tanto, no hubo correcciones para sustituciones múltiples en el mismo sitio, se consideran sesgos de tasa de sustitución (p. ej., diferencias en las tasas de transición y transversión) o diferencias en las tasas evolutivas entre sitios (Nei y Kumar, 2000).

***Prorocentrum*, cepa INVMYZ0002:**

Las secuencias LSU D1–D3 y DNAr ITS tenían longitudes finales de 811 y 602 pb, respectivamente para la cepa INV MYZ0002 (GenBank Acc. No. MW251881). Las alineaciones fueron elaboradas utilizando el programa MAFFT versión 7 en línea (Kato et al., 2019), con el método de refinamiento iterativo L-INS-i. Las secuencias pertenecientes a las especies/filotipos más similares de *Prorocentrum* fueron seleccionadas. Las alineaciones finales LSU D1-D3 y DNAr ITS incluyeron 62 y 54 secuencias con 992 y 922 posiciones en el conjunto de datos final, respectivamente. El modelo filogenético de selección por el método de Máxima Verosimilitud (MV) se realizó en MEGA 10.2.2 (Kumar et al., 2018). El modelo de Kimura 2-parámetros se seleccionó para LSU ($K2+G$, $\gamma = 0,71$), al igual que para la filogenia ITS ($K2+G$, $\gamma = 0,95$). Se usaron las secuencias de los géneros *Karlodinium*, *Takayama* y *Scrippsiella* como grupos externos en LSU, mientras que el árbol ITS no tuvo estos grupos. Los análisis filogenéticos de Máxima verosimilitud fueron realizados en MEGA 10.2.2. Los valores de bootstrap se estimaron a partir de 1000 repeticiones. Las relaciones filogenéticas se determinaron también utilizando el método de Inferencia Bayesiana (IB) y, en este caso, los modelos de sustitución se obtuvieron por muestreo en todo el espacio del modelo reversible de tiempo general (GTR) siguiendo el procedimiento descrito en el manual de Mr. Bayes v3.2. Los árboles bayesianos se realizaron con Mr. Bayes v3.2 (Huelsenbeck y Ronquist, 2001) y los parámetros del programa fueron statefreqpr = dirichlet (1,1,1,1), nst = mixto, tasas = gama. Los análisis filogenéticos involucraron dos análisis paralelos, cada uno con cuatro cadenas. Los árboles iniciales para cada cadena fueron seleccionados al azar, utilizando los valores predeterminados por el programa Mr. Bayes. El correspondiente número de patrones de sitios únicos para las alineaciones LSU D1–D3 y DNAr ITS fueron 305 y 295, respectivamente. El número de generaciones utilizado en estos análisis fue 1,000,000. Las probabilidades posteriores fueron calculadas a partir de cada 100 árboles muestreados después de la estabilización de la probabilidad logarítmica y la fase "burn-in" del 25 %.

Para todas las topologías por MV e IB los métodos fueron muy similares. Los árboles filogenéticos fueron representados usando el método MV con valores bootstrap y probabilidades posteriores del IB. Distancias- p no corregidas [proporción (p) de sitios de nucleótidos en el que dos secuencias son diferentes (Transiciones + Transversiones), es decir proporción de sitios de nucleótidos que son diferentes] se calcularon para las secuencias LSU D1–D3 y DNAr ITS-2 utilizando MEGA 10.2.2. Por lo tanto, no correcciones por sustituciones múltiples en el mismo sitio, la tasa de sustitución de sesgos (por ejemplo, diferencias en las tasas de transición y transversión), o diferencias en las tasas evolutivas entre los sitios fueron consideradas (Nei y Kumar, 2000).

3.2.4 Perfil toxicológico

▪ Procesamiento de muestras y extracción de toxinas

***Gambierdiscus*, cepa INVMYZ0001**

No se realizaron en esta cepa análisis de toxicidad.

***Prorocentrum*, cepa INVMYZ0003**

La cepa INVMYZ0003, perteneciente a *Prorocentrum* se cultivó en un matraz Erlenmeyer de 500 mL que contenía 218 mL de medio de cultivo K (Keller *et al.*, 1987) diluido a la mitad y sin silicatos añadidos, bajo las mismas condiciones de cultivo para el mantenimiento de cepas detalladas anteriormente.

Una vez que el cultivo de microalgas llegó al final de la fase de crecimiento, se recogió una alícuota fijada con Lugol para determinar la densidad celular bajo el microscopio óptico usando una cámara Sedgewick-Rafter. Las densidades de *P. borbonicum* recolectadas para los análisis de toxinas fueron de 14880 células mL⁻¹. Las células se recolectaron filtrando todo el cultivo a través de un filtro de fibra de vidrio GF/C de 25 mm de diámetro (Whatman, International Ltd., Alemania) y se realizaron dos extracciones consecutivas, cada una con 1500 µL de metanol: agua (8:2). Este extracto soluble en agua y metanol se mantuvo congelado (-20 °C) hasta el análisis de las toxinas.

***Prorocentrum*, cepa INVMYZ0002**

Antes del análisis de toxinas, las células de *Prorocentrum* de la cepa INV MYZ0002 se cultivaron en 500 mL de medio, en las condiciones de cultivo descritas anteriormente. Periódicamente se tomaron alícuotas del cultivo que se fijaron con solución de Lugol para los conteos celulares. Se recogieron submuestras de cada alícuota y se diluyeron con agua de mar filtrada y se enumeraron las células (promedio de 2 a 3 muestras) utilizando una cámara Sedgwick-Rafter. Después de esto, se recolectaron alícuotas de cultivo para el análisis de toxinas en las primeras fases de crecimiento exponencial ("cultivo 1": 9 días; 3067 células mL⁻¹; n = 2) y en fase tardía de cultivo estacionario ("cultivo 2": 58 días; 51744 células mL⁻¹; n = 2).

Cuatro alícuotas de 46 mL de los cultivos 1 y 2 en las fases de crecimiento ya descritos se recolectaron para el análisis de toxinas y se tomaron alícuotas de 3 mL para el conteo de células. Se tomó también una muestra adicional de 25 mL para verificar el tiempo requerido para romper completamente las células durante la sonicación. Se sonicaron sub-alícuotas de esta muestra durante 2, 4 o 6 min y cada extracto fue inspeccionado visualmente bajo un microscopio invertido (Eclipse TE2000-S, Nikon Corporation, Tokio, Japón) para determinar el más eficiente tiempo de sonicación.

Siguiendo una metodología modificada de Quilliam *et al.* (1996), las cuatro alícuotas de cada cultivo (correspondientes a 141×10^3 células para el cultivo 1 y $2,38 \times 10^6$ células para el cultivo 2), se transfirieron a tubos cónicos de polipropileno de 50 mL y se centrifugaron a $5240 \times g$ durante 10 min, a 10 °C. Luego, los sobrenadantes se decantaron cuidadosamente sin perturbar los sedimentos celulares. Para determinar la concentración de toxinas extracelulares, cada alícuota de 46 mL de sobrenadante se concentró y se purificó mediante extracción en fase sólida (EFS; Waters SPE-PAK tC18, 500 mg, 3cc), siguiendo el procedimiento descrito por Riobó *et al.* (2013). Los extractos purificados se filtraron a través de 0,22 µm antes del análisis de toxinas extracelulares por LC-HRMS.

Las toxinas intracelulares de alícuotas que contenían pellets celulares se extrajeron siguiendo una versión modificada del método 1 descrito en Quilliam *et al.* (1996). Los pellets celulares se transfirieron a tubos Eppendorf y extraídos primero con 1 mL de metanol al 100 % y sonicación durante 6 min a 50 W mientras se mantuvieron los recipientes de las muestras en hielo. Esto fue seguido por centrifugación a $20600 \times g$. Los sobrenadantes se recuperaron en tubos Eppendorf individuales y se volvieron a extraer los

sedimentos celulares con 1 mL de solución de metanol al 100 % y mezclado por vórtex durante 2 min. Después de la centrifugación, se combinaron ambos sobrenadantes de cada alícuota (volumen final 2000 μ L). Cada extracto celular se subdividió en tres submuestras. La primera (750 μ L) se filtró a través de 0.22 μ m (filtro de jeringa de PTFE, Filter-Lab®, Barcelona, España), previo análisis por LC-HRMS. La segunda (750 μ L) fue limpiada por EFS (Riobó *et al.*, 2013), mientras que la tercera submuestra de cada extracto (500 μ L) fue hidrolizada (Villar-González *et al.*, 2007) para verificar la presencia de ésteres de OA y DTX y luego se limpió por EFS (Riobó *et al.*, 2013). Luego, los extractos purificados se filtraron a través de un filtro de jeringa PTFE 0.22 μ m (Filter-Lab®, Barcelona, España), antes del análisis LC-HRMS.

▪Análisis toxicológicos

○ *Prorocentrum*, cepa INVMYZ0003

Ensayos hemolíticos: La actividad hemolítica de la solución estándar de palitoxina (PLTX) obtenida de *Palythoa tuberculosa* (Wako Chemical Industries, Ltd., Japón) y el extracto de *P. borbonicum* se analizaron mediante hemólisis retardada de eritrocitos de oveja utilizando el antagonista de PLTX ouabaína de acuerdo a Riobó *et al.* (2008). Los eritrocitos se separaron del plasma mediante centrifugación durante 10 min a 400 x g a 10 °C y se lavaron dos veces con tampón de fosfato isotónico (PBS, Phosphate Buffered Saline, por sus siglas en inglés) que contenía albúmina de suero bovino (ASB) al 0,1 %, 1 mM de cloruro de calcio ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) y un 1 mM ácido bórico (H_3BO_3). Luego el filtrado se diluyó en solución de PBS a una concentración final de $1,7 \times 10^7$ glóbulos rojos mL^{-1} .

Una alícuota del extracto soluble en metanol-agua (500 μ L) se secó y se disolvió en 5 mL de solución de PBS (dilución 1:10). El ensayo se realizó usando las siguientes diluciones de extracto de *P. borbonicum* en el tampón de hemólisis: 1:10, 1:10², 1:10³ y 1:10⁴.

Cada ensayo se llevó a cabo por triplicado en una placa de 96 micropocillos mezclando 150 μ L de solución de sangre con 150 μ L de extracto diluido. Se prepararon controles de hemólisis para 0 y 100% de lisis mezclando 150 μ L de solución de sangre con 150 μ L de solución de PBS y en agua destilada, respectivamente. Las microplacas se incubaron durante 22 h a 25 °C y luego se centrifugó toda la placa durante 10 min a 400 x g a 10 °C.

De cada pocillo se transfirieron 200 μL del sobrenadante a una nueva placa y se midió la absorbancia a 405 nm con un lector de microplacas (BioRad 550, USA). Se promediaron las mediciones de tres réplicas.

El efecto hemolítico del compuesto de palitoxina del extracto de microalgas se expresó en picogramos de equivalentes de PLTX por célula (pg PLTX equiv célula⁻¹) (Riobó *et al.*, 2008).

Determinación por cromatografía líquida de alta presión con detectores de fluorescencia y con arreglo de diodos y sistema de derivatización post columna Pickering (HPLC-DAD): los análisis HPLC-DAD de extractos metanólicos solubles en agua de *P. borbonicum* y la PLTX de referencia se realizaron utilizando un Sistema Alliance HPLC que consta de un módulo de separaciones 2695 y un detector de matriz de fotodiodos Waters 996. Las Borbotoxinas y las PLTX se determinaron según Ten-Hage *et al.* (2002). Las condiciones para los análisis fueron las siguientes: las toxinas se separaron en una columna de fase inversa Poroshell 120 EC-C18 (100 x 2,1 mm, 2,7 μm de tamaño de partícula) mantenida a 25 °C a una velocidad de flujo de 0,2 mL min⁻¹. La fase móvil consistió en agua acidificada Milli-Q a pH 2,5 con ácido trifluoroacético (eluyente A) y acetonitrilo (eluyente B). Las condiciones de gradiente fueron las siguientes: 20% B a 0 min, 60% B a 20 min, 100% B de 25 min a 28 min, 20% B de 32 min a 35 min (condiciones iniciales). El efluente de la columna fue monitoreado por absorbancia UV a 233 nm (espectro UV registrado entre 200 y 325 nm). Los volúmenes de inyección de extracto de *P. borbonicum* y el estándar PLTX (25 ng mL⁻¹) fue de 100 μL y 40 μL , respectivamente. Para la identificación de toxinas, se empleó una solución estándar de PLTX obtenida de *Palythoa tuberculosa* (Wako Chemical Industries, Ltd., Japón).

Determinación por cromatografía en fase líquida a alta presión (alta resolución, HPLC) acoplada a detección por espectrometría de masas de alta resolución (HRMS): los análisis de HPLC-HRMS se realizaron utilizando un Thermo Scientific Dionex LC acoplado a un espectrómetro de masas Q Exactive equipado con un analizador de masas Orbitrap. Se aplicaron dos métodos, uno para determinar borbotoxinas y palitoxinas y el otro para Toxinas Diarreicas por Mariscos (TDM). Las TDM se determinaron de acuerdo con el Procedimiento Operativo Estandarizado (POE) validado por el Laboratorio de Referencia de la Unión Europea para Biotoxinas Lipófilas Marinas

(EURLMB, 2015). Las borbotoxinas y las PLTX fueron determinadas según García-Altare *et al.* (2015).

Las condiciones para los análisis de TDMs fueron las siguientes: se realizaron en modo positivo y negativo (rango de escaneo: 100-1200 m/z). Las toxinas se separaron en una columna Gemini NX C18 (100 x 2 mm, tamaño de partícula de 3 μm) mantenido a 40 °C a velocidad de flujo de 0,4 mL min^{-1} . La fase móvil constaba de 0,05 % de amoníaco (eluyente A) y 90 % de acetonitrilo (eluyente B): 10 % de eluyente A. Las condiciones de gradiente fueron las siguientes: 25% B de 0 a 1,5 min, 95 % B de 7,5 a 9,5 min, 25 % B de 12,5 a 16,5 min (condiciones iniciales). Para la identificación de toxinas, se usó una solución de mezcla estándar que contiene OA, DTX2, DTX1 y PTX2 (Laboratorio CIFGA, España).

Condiciones para análisis de borbotoxinas y PLTX: los análisis se llevaron a cabo en modo positivo con y sin all-ion fragmentación (AIF) (NCE 35 eV) (rango de exploración para MS completo y modo AIF: 200-3000 m/z). La columna era idéntica a la utilizada para análisis HPLC-DAD y eluido con la misma velocidad de fluido, pero en este caso se mantuvo a 30 °C. Las fases móviles fueron agua Mili-Q (eluyente A) y 95% acetonitrilo/agua (eluyente B), ambos con 30 mM de ácido acético. Se usó el siguiente gradiente de elución: 28 % B en 0 min, 50 % B a los 10 min, 100 % B de 15 a 16 min, 28 % B de 17 a 25 min (condiciones iniciales). El volumen del extracto de *P. borbonicum* y el estándar PLTX (25 ng mL^{-1}) inyectado fue de 20 μL . Para la identificación de toxinas se utilizó el mismo estándar PLTX que en los análisis HPLC-DAD.

○ ***Prorocentrum*, cepa INVMYZ0002**

Determinación por cromatografía en fase líquida a alta presión (alta resolución, HPLC) acoplada a detección por espectrometría de masas de alta resolución (HRMS): para los análisis en LC-HRMS de los extractos de la cepa INV MYZ0002 se utilizó un LC de alta velocidad Dionex acoplado a un espectrómetro de masas Q Exactive, equipado con un analizador de masas Orbitrap y una sonda ESI para ionización por electrospray (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EE. UU.). El software utilizado para el análisis de MS fue Xcalibur 4.1 (Thermo Fisher Scientific). Los análisis se realizaron en condiciones alcalinas (Gerssen *et al.*, 2009; Van den Top *et al.*, 2011). Los análogos de toxinas específicos probados fueron OA, dinophysistoxin-1(DTX1), dinofisistoxina-2 (DTX2) y pectenotoxina-2 (PTX2). La columna utilizada para las separaciones fue una Gemini® NX-C18 de 110 Å (3 μm , 2,0 mm x 100 mm) (Phenomenex

Inc., Torrance, CA, EE. UU.). Las condiciones del gradiente de las fases móviles y la temperatura de la columna fueron las descritas en Regueiro *et al.* (2011). Los estándares OA, DTX1 y DTX2 fueron de CIFGA (Lugo, España). El estándar PTX2 usado era del Consejo Nacional de Investigación Canadá. Las toxinas se cuantificaron mediante calibraciones estándar externas.

El espectrómetro de masas se operó tanto en positivo como en negativo ESI (ESI+, ESI-) con cambio de polaridad. Las condiciones de la fuente fueron como sigue: voltaje de pulverización - 4000 V y +3700 V, temperatura capilar 320 °C, gas envolvente 40 unidades arbitrarias (au) y gas auxiliar 0 au. El instrumento se configuró en modo Full MS con los siguientes parámetros: rango de escaneo de 100 a 1000 *m/z*, configuración de resolución de masa de 140 000, control automático de ganancia (CAG) objetivo de 3×10^6 , tiempo máximo de inyección de 200 ms. Para la identificación de OA y DTX2, se seleccionaron los cromatogramas de iones extraídos dentro del rango de 803–804 *m/z* en modo negativo, mientras que para DTX1 y PTX2 se eligieron los cromatogramas con iones extraídos en modo positivo dentro de los rangos 836–837 *m/z* y 876–877 *m/z*, respectivamente.

Para el caso de la cepa INV MYZ0002, que se reportó como una nueva especie, los resultados morfológicos, como toxicológicos compararon con los de otras cepas que conformaban un grupo separado junto con ésta de acuerdo a los árboles filogenéticos obtenidos (Figura 3-12 y Figura 3-13), y que apoyaron su identidad como especie nueva, estas cepas fueron la LM-084 (GenBank Acc. No. OM2231114 y OM223093) hallada en el Atlántico (Brasil) y la OUN248P ((GenBank Acc. No. LC415605) hallada en Pacífico (Japón).

3.3 Resultados

3.3.1 Morfología

▪ *Gambierdiscus*, cepa INV MYZ0001

La cepa INV MYZ0001 está compuesta por células de *Gambierdiscus*, los cuales exhiben cloroplastos con coloración pardo dorado (Figura 3-2 A y B). Presentan forma semicircular tanto en vista apical como antiapical, con la epiteca e hipoteca convexas (Figura 3-2 A-D), lo que les da un aspecto lenticular (Figura 3-3 A). Las tallas variaron entre $87,9 \pm 6,1 \mu\text{m}$ ($n=28$, rango entre 78,7 y 103,3 μm) en cuanto a la longitud dorso ventral y entre $88,1 \pm 6,7$ ($n=28$, rango entre 78,5 y 99,9 μm) en cuanto a ancho. Las tecas, carecen de

ornamentaciones y presentan numerosos poros redondos con bordes lisos (Figura 3-2 E y F).

La epiteca presenta 11 placas (Figura 3-2 C y E; Figura 3A), presentado la siguiente configuración tecal: Po, 4', 6'', ?c, ?s, 5''', 2'''''. La placa del poro apical es ovalada dentro de la que encuentra una fisura en forma de anzuelo rodeada de poros ubicada casi en el centro de la epiteca (Figura 3-3 B). Entre las placas apicales, la 2' es rectangular, simétrica y la de mayor tamaño; seguida en tamaño por la placa 3' que es pentagonal y la 4' de forma hexagonal (Figura 3-2 C y E); mientras que la placa 1', ubicada en el lado ventral de la placa 4' es diminuta y de difícil observación en microscopía de luz, siendo más visible en microscopía electrónica (Figura 3-3 A y C). Con respecto a las placas precingulares, la 1'' es cuadrangular, estando en contacto con las placas 1', 4', 2' y 2''; la placa 2'' es cuadrangular y bastante elongada; la 3'' es cuadrangular y simétrica, ubicada casi dorsalmente en la célula; la 4'' y la 5'' son cuadrangulares y de casi igual tamaño (Figura 3-2 C); siendo la 6'' pequeña y más fácil observable en microscopía electrónica (Figura 3-3 A y C). El cíngulo es ecuatorial, profundo y estrecho (Figura 3-3 A), extendiéndose dentro del sulcus, el cual es profundo y compuesto por dos cámaras ubicadas una anterior de la otra (Figura 3-3 C).

La hipoteca presenta siete placas. Compuesta por 5 placas postcingulares (5''') y dos placas antiapicales (2''''), notándose también la placa sulcal posterior (sp) (Figura 3-2 D y F). Entre las placas postcingulares, la placa 1''' es la más pequeña y de forma triangular, mientras que la 4''' es la más grande y de forma cuadrangular. Respecto a las placas antiapicales, la 2'''' es mucho más grande que la 1''''', destacándose también por su mayor tamaño respecto al resto de las placas de la hipoteca, siendo de forma pentagonal ancha y por su ubicación casi central en la hipoteca (Figura 3-2 D y F).

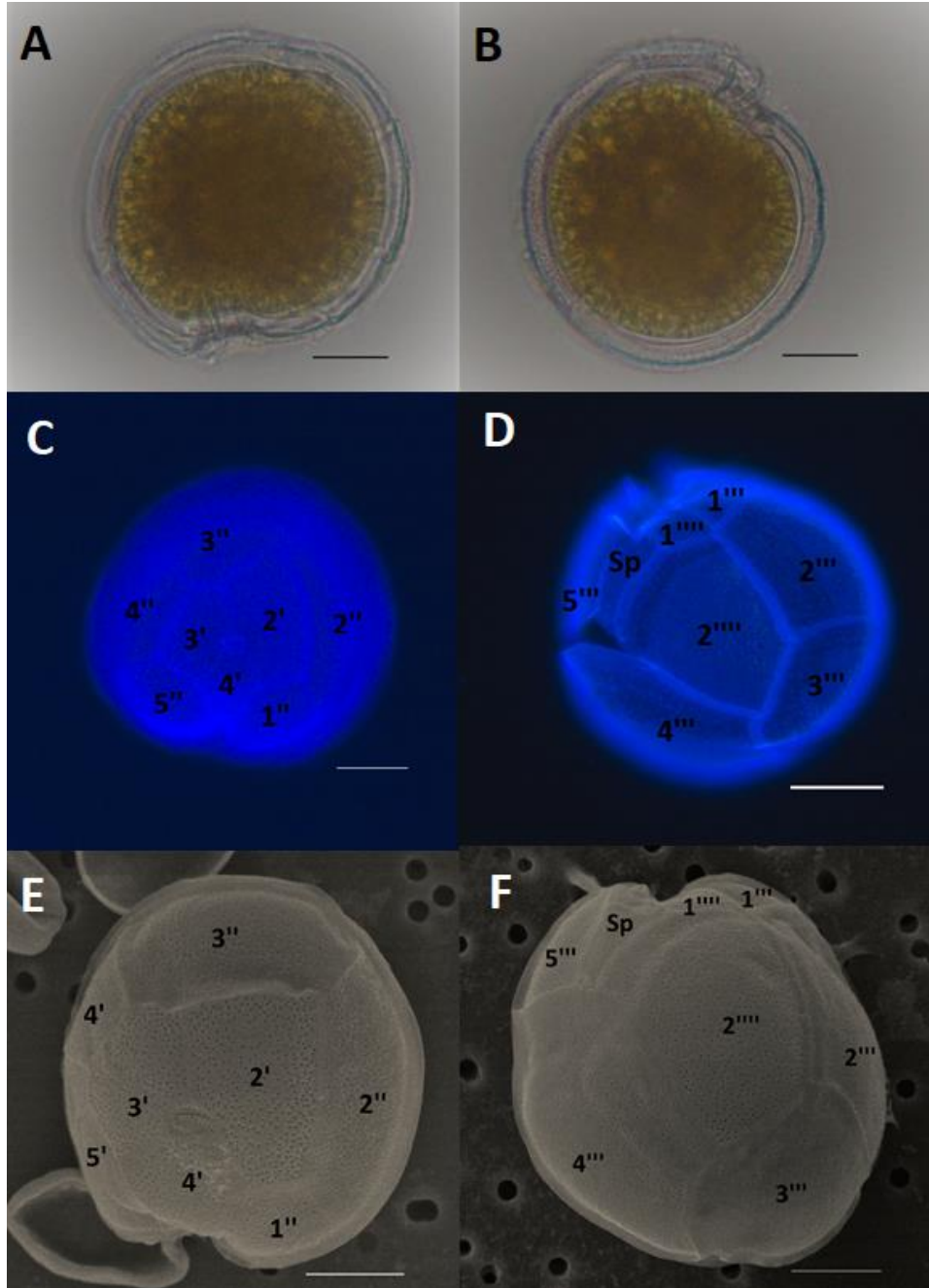


Figura 3-2: Microfotografía de *Gambierdiscus caribaeus* (cepa INV MYZ0001) vista al microscopio óptico (A-D) y al MEB (E y F). A y B, células vivas en vista apical y antiapical, respectivamente. C y D, células teñidas con calcoflúor, para mejor distinción de las placas, en vista apical y antiapical, respectivamente. E y F, células vistas en microscopía electrónica de Barrido, en vista apical y antiapical, respectivamente. Barra de escala: (A-F) = 20 μ m.

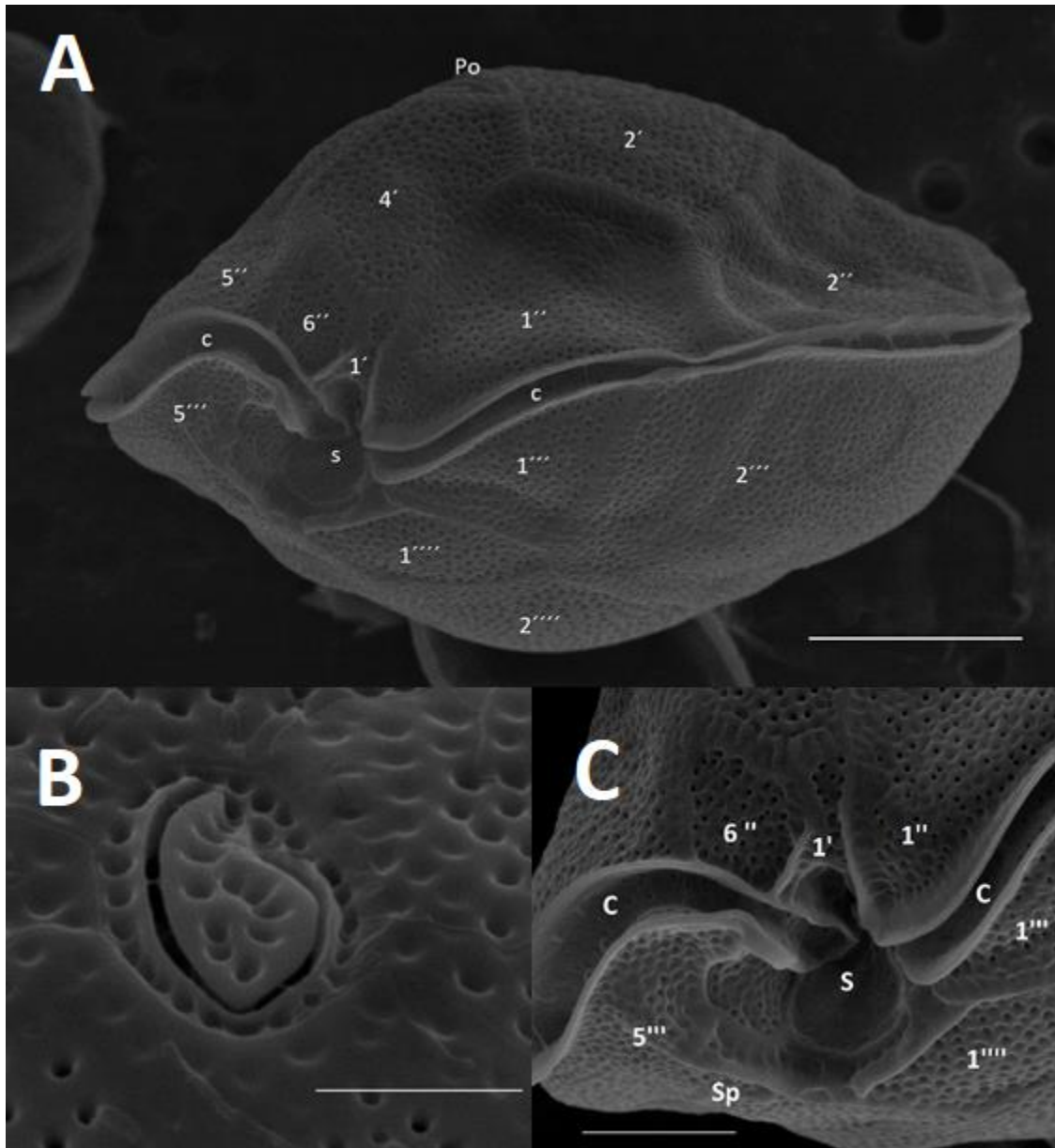


Figura 3-3: Imágenes de MEB de *Gambierdiscus caribaeus* (cepa INV MYZ0001). A. vista del área ventral. B. Vista de la placa del poro apical (Po). C. vista del área de la intersección del cíngulo con el sulcus. C= cíngulo. S= sulcus. Sp= sulcal posterior. Barras de escala: A= 20 μm , B= 5 μm , C= 10 μm .

Los rasgos morfológicos como la forma semicircular en vista apical como antipical, la presencia de una placa antiapical ancha y pentagonal de 2''''', así como una placa apical rectangular y simétrica 2' observada en los especímenes examinados son distintivos de *G. caribaeus*, de acuerdo a la descripción original de Litaker *et al.* (2009).

▪ ***Prorocentrum*, cepa INV MYZ0003**

La cepa de *Prorocentrum* (INV MYZ0003) exhibió células simétricas o ligeramente asimétricas de ovales anchas a ovoides, con el área posterior ampliamente redondeada, en vista lateral (Figura 3-4 A-E). La longitud (L) varió entre 19,0 y 27,4 μm (media $23,5 \pm 2,5 \mu\text{m}$; n = 35), la profundidad (P) entre 14,9 y 23,5 μm (media $20,2 \pm 1,9 \mu\text{m}$; n = 35) y las relaciones L/P entre 0,94-1,32 (media $1,17 \pm 0,08$; n = 35). Las células vivas que contienen un cloroplasto de color marrón dorado con un pirenoide central aparente visible en cada placa tecal (Figura 3-4 A).

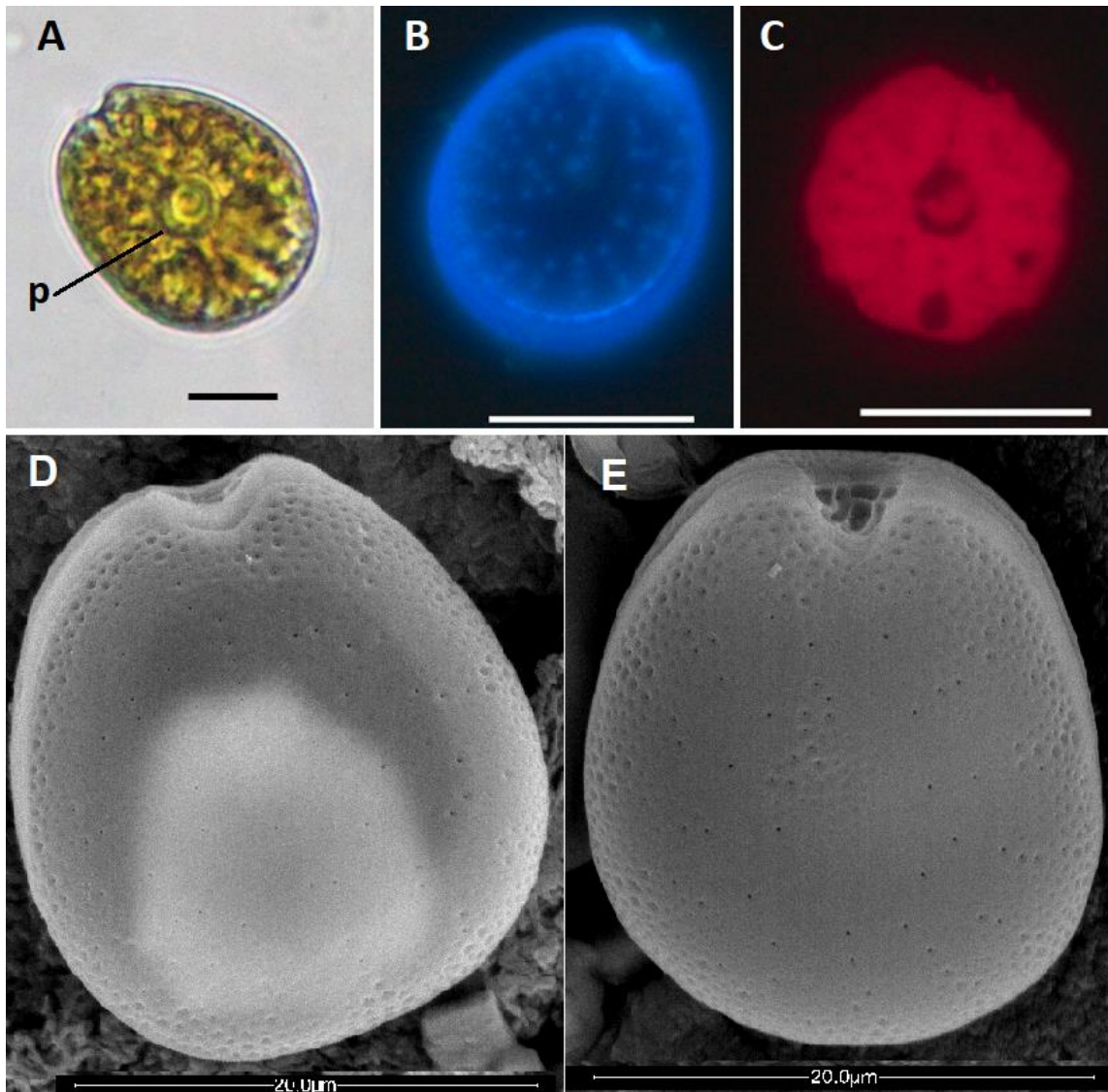


Figura 3-4: *Prorocentrum borbonicum* (cepa INV MYZ0003): microfotografías de luz (A-C) and electrónicas de barrido (D-E). (A) Célula viva, en vista lateral derecha, p= pirenoide (B) Placa tecal izquierda mostrando los grandes poros tecales (C) Cloroplastos. Escala de la barra: 20 μm . (D) Célula en vista lateral izquierda and (E) Célula en vista lateral derecha mostrando depresiones y poros y la forma en V-del área periflagelar (E).

Ambas placas tecales son foveadas (Figura 3-4 D y E; Figura 3-5 A y B) con diferentes tamaños de poros redondos dispersos generalmente dentro de las depresiones (Figura 3-4 D y E; Figura 3-5 A y B).

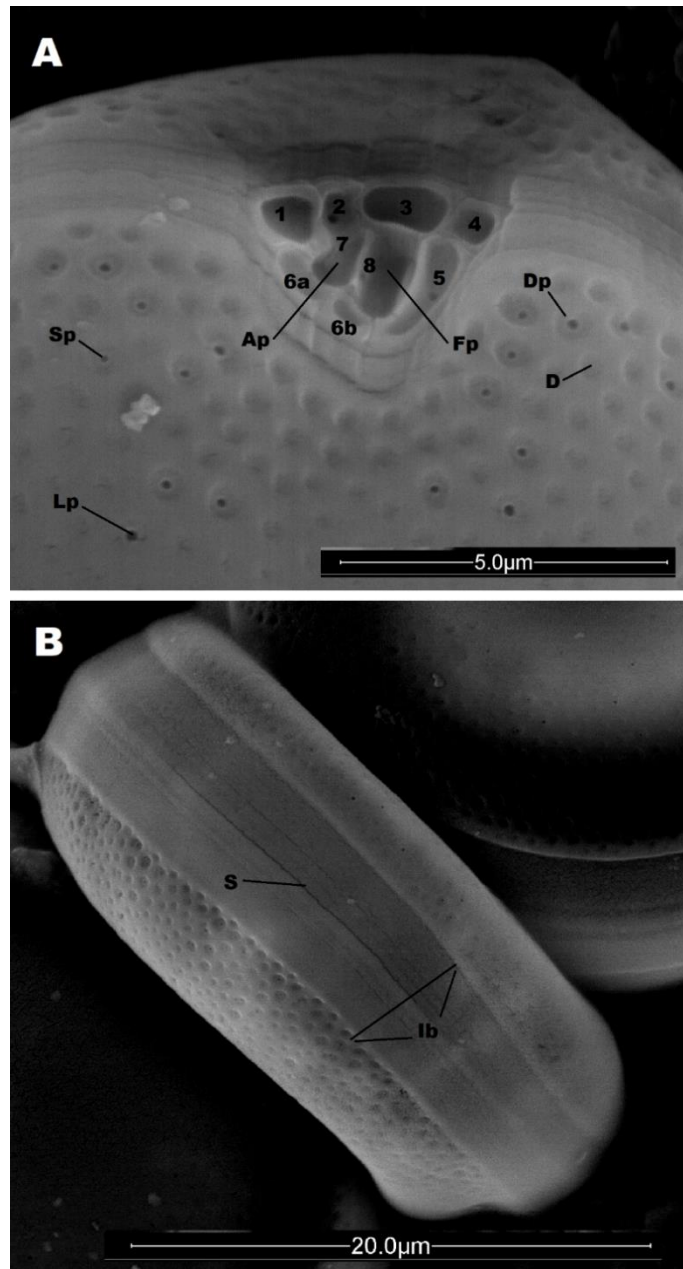


Figura 3-5: *Prorocentrum borbonicum* (cepa INV MYZ0003): microfotografía de barrido (A-B). (A) Vista del área periflagelar y parte de la placa tecal derecha, mostrando: Ap= poro accesorio; Fp= poro flagelar; D= depresiones, SP= Poros tecales pequeños; Lp: poros tecales grandes; Dp= depresiones con poros; y nueve plaquetas que componen el área periflagelar ((1, 2, 3, 4, 5, 6a, 6b, 7 and 8). (B) Placas tecales vistas en vista antiapical mostrando: S= sutura; Ib= Banda intercalar.

Los poros más grandes son menos numerosos y tienden a estar ausentes hacia el centro de las placas tecales (Figura 3-4 B, D y E). A veces, los poros parecen estar dispuestos en un patrón radial. Las depresiones son redondas y más notorias en los bordes y a veces en una pequeña área central de la célula (Figura 3-4 D y E). La banda intercalar es suave (Figura 3-5 B). Amplia zona periflagelar en forma de V (Figura 3-4 A, E y Figura 3-5 A). Carece de estructuras como crestas, protuberancias, proyecciones curvas, alas o espinas (Figura 3-5 A). El collar en la placa izquierda no era visible. Tampoco se observó un reborde grueso que rodeara la zona periflagelar (Figura 3-5 A). Las plaquetas que rodean los poros flagelares y accesorios pueden presentar rebordes (Figura 3-4 E y Figura 3-5 A). El poro accesorio es más pequeño que el poro flagelar (Figura 3-4 E y Figura 3-5 A).

Siguiendo la nomenclatura propuesta por Hoppenrath *et al.* (2013), en esta especie se pueden observar nueve plaquetas (1, 2, 3, 4, 5, 6a, 6b, 7, 8) (Figura 3-5 A). Las plaquetas 1 a 4 en contacto con el borde de la placa techal izquierda, mientras que las plaquetas 5, 6a, 6b y 7 en contacto principalmente con la placa techal derecha (Figura 3-5 A).

La plaqueta 1 triangular y excavada con una depresión. Esta plaqueta se conecta con las plaquetas 2, 6a, 7 y externamente con el poro accesorio. La plaqueta 2 es pequeña y cuadrada y tiene una depresión y está en contacto con las plaquetas 1, 3, 7 y 8 y forma el lado izquierdo del poro accesorio. La plaqueta 3 es grande, rectangular y excavada en 1 depresión, está en contacto con las plaquetas 2, 4, 5 y 8. La plaqueta 4 es cuadrada y pequeña, con una depresión, está en contacto con las plaquetas 3 y 5. La plaqueta 5, se caracteriza por ser alargada y delgada, con forma de un amplio arco curvo, está en contacto con las plaquetas 3, 4, 6b formando en conjunto la mayor parte del lado derecho, izquierdo y ventral del poro flagelar; La plaqueta 5 generalmente presenta una depresión alargada que le da una apariencia de canal. La plaqueta 6 se divide característicamente en dos plaquetas cuadrangulares (6a y 6b), la 6a en contacto con las plaquetas 1, 6b, 8, 7 y con el lado derecho del poro accesorio; el 6b en contacto con las plaquetas 6a, 5 y 8 y con el lado derecho del poro flagelar. La plaqueta 7 adyacente a la 1, es interna y rodea parte del poro accesorio, también está en contacto con la placa 2. La plaqueta 8 separa los poros flagelar y accesorio formando un puente entre la plaqueta 6a y 6b por un lado y las plaquetas 2 y 3 por el otro (Figura 3-5 A).

▪ *Prorocentrum*, cepa INV MYZ0003

Prorocentrum porosum E. Arteaga-Sogamoso, F. Rodríguez, A. Amato, B. Ben-Gigirey, C. Tibiriça, N. Chomérat, L. Mafra, T. Nishimura, M. Adachi, et J.E. Mancera-Pineda sp. nov.

Descripción: Las células de *Prorocentrum porosum* son simétricas, ampliamente ovoides, 35,9–50,2 μm de largo (L; media 44,1 \pm DE: 2,1; n = 114) y 25,4 – 45,7 μm de profundidad (P; media 38,2 \pm 2,7; n = 114) y L/P= 1,02–1,41(media 1,16 \pm 0,07; n = 114). La superficie de ambas placas tecales y las bandas intercalares son suaves. Ambas placas tecales tienen un anillo de 69–92 poros marginales (media 77 \pm 6,6; n = 24) y 102–149 poros tecales (media 128 \pm 11; n = 25) dispersos aleatoriamente excepto en el centro. Los poros son redondeados, alargados bordeando el área periflagelar, pero principalmente en forma de riñón en el resto de ambas placas tecales, 0,28–0,68 μm de largo (L; media 0,51 \pm 0,10; n = 28) y 0,22 – 0,39 μm de profundidad (P; media 0,31 \pm 0,04; n = 28). Amplia zona periflagelar en forma de V sin espinas, compuesta por ocho plaquetas que dejan lugar a un poro flagelar y a un poro accesorio. Una o más depresiones están presentes en las plaquetas.

Células fotosintéticas con pirenoides.

Localidad tipo: Parque Nacional Natural Tayrona, Magdalena, Colombia, Caribe colombiano (11°19'16,4" N; 74°07'36,5" O; 2 m de profundidad) (Figura 3-1).

Holotipo: muestra de la cepa INV MYZ0002 montada en un SEM stub depositado bajo el código (C-A-99709) en The Natural History Museum of Denmark (Copenhague) como holotipo.

Isotipo: material fijado en formalina (4%) para la cepa INV MYZ0002 es mantenido en el Museo de Historia Natural Marina de Colombia (MHNMC)-Makuriwa, de INVEMAR, Santa Marta, Colombia.

Caracterización molecular: las secuencias de INV MYZ0002 fueron depositadas en GenBank bajo Acc. Nos. MW251881 (LSU DNAr) y MW251880 (su ADNr).

Etimología: el nombre de la especie hace referencia a la gran cantidad de poros tecales y marginales que presenta este organismo, lo que lo diferencia de especies/filotipos estrechamente relacionados del género *Prorocentrum*.

Hábitat: *Prorocentrum porosum* se puede encontrar en aguas relativamente poco profundas (2 – 26 m) con alta transparencia y salinidad entre 32 y 36, viviendo como epífita en hojas de pastos marinos (*Thalassia testudinum*), algas pardas (*Padina minor*) o sustratos artificiales (estructura metálica de naufragios) en regiones tropicales/subtropicales.

Morfología: células simétricas ampliamente ovoides en vista lateral, con el borde apical (o anterior) ligeramente ahusado y el posterior redondeado (Figura 3-6 a Figura 3-8). La comparación morfológica y morfométrica entre las cepas estudiadas de las tres localidades se resumen en la Tabla 3.3 (mostrada más adelante).

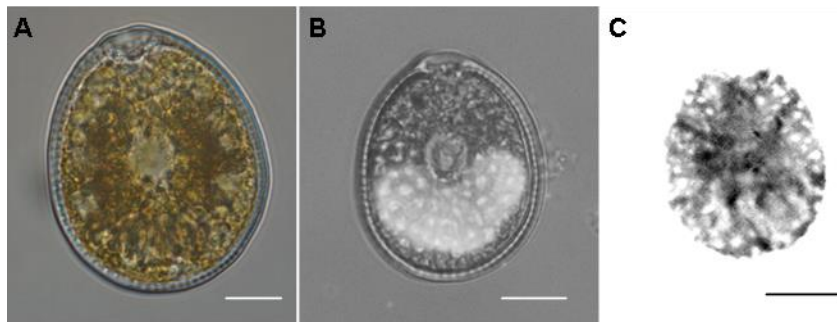


Figura 3-6: Microfotografías de luz y epifluorescencia de *Prorocentrum porosum* (cepa INV MYZ0002): (A) Célula viva en vista lateral derecha. Escala de barra= 10µm; Imagen de epifluorescencia mostrando el núcleo y el perinoide. Escala de barra= 20 µm; Imagen de epifluorescencia mostrando cloroplastos. Escala de barra= 20 µm.

La longitud de las células, medida de todas las cepas, varió entre 35,9 y 50,2 µm, (media \pm DE: $44,1 \pm 2,1$; n= 114), profundidad entre 25,4 y 45,7 µm ($38,2 \pm 2,7$; n = 114) y relaciones longitud/profundidad entre 1,02 y 1,41 ($1,2 \pm 0,1$; n = 114). Un pirenoide central es notablemente visible en las células vivas, pero no se pudo descartar que sean dos superpuestos (Figura 3-6 A y B).

El núcleo en forma de riñón ubicado en la región posterior (Figura 3-6 B). Las células tienen cloroplastos ramificados y reticulados que rodean el área central (Figura 3-6 C). Ambas placas tecales tienen una superficie lisa con 102 – 149 poros (128 ± 11 ; n = 25). Los poros son redondeados o alargados alrededor del área periflagelar, pero generalmente en forma de riñón en el resto de la teca. Midió 0,28 y 0,68 µm de longitud ($0,51 \pm 0,1$; n = 28) y 0,22 – 0,39 µm de profundidad ($0,31 \pm 0,04$; n = 28) (Figura 3-7 A, G, H), y se distribuyeron aleatoriamente en la mayor parte de la superficie teical, excepto en la zona central (Figura 3-7 B y C). Los bordes de las placas tecales están completamente rodeadas por aproximadamente 69–92 ($77 \pm 6,6$; n = 24) poros marginales uniformemente espaciados

(Figura 3-7 A, D y E). Una banda intercalare suave o estriada horizontalmente fue observada (Figura 3-7 A, D y E), de espesor variable en función de la edad de las células (Figura 3-7 F).

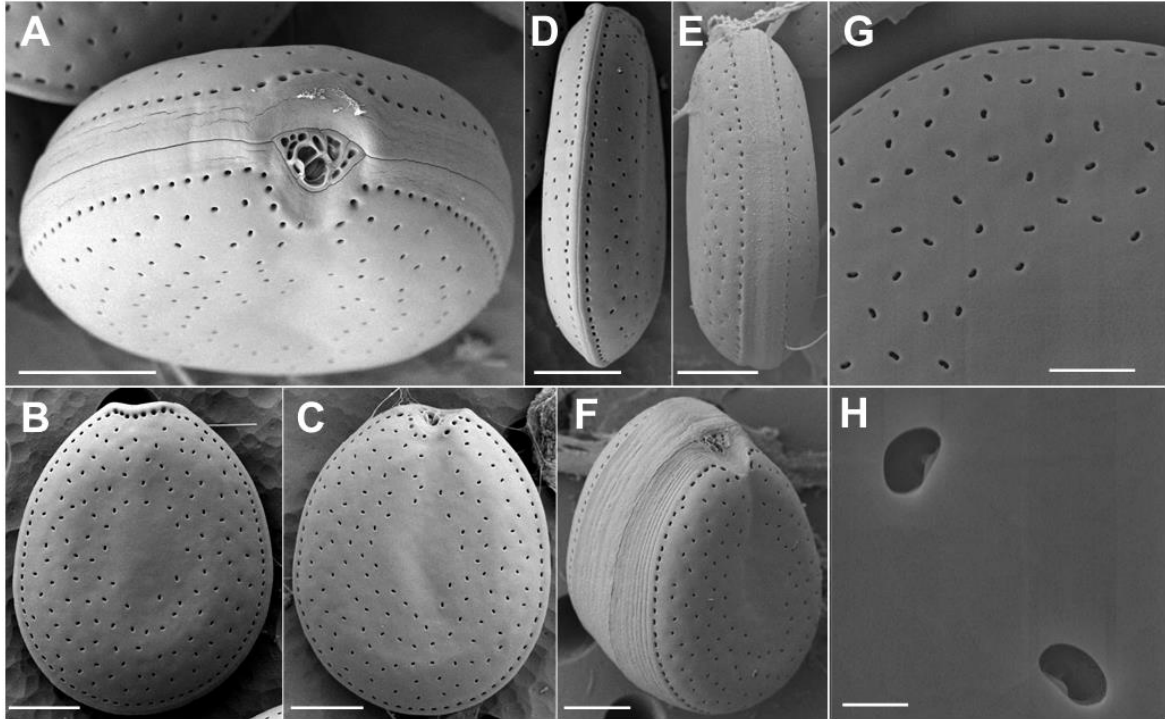


Figura 3-7: Microfotografía de barrido de *Prorocentrum porosum* (cepa INV MYZ0002): (A) Vista apical mostrando el área periflagelar. Escala de barra= 10 μ m; (B, C) Vista izquierda y derecha de las células. Escala de barra= 10 μ m; (D, E) Bandas intercalares. Escala de barra= 10 μ m; (F) Célula con bandas intercalares amplias. Escala de barra= 10 μ m; (G y H) Detalles de los poros del lado izquierdo de la célula. Escala de barra= 2 y 0,5 μ m, respectivamente.

Una amplia área periflagelar en forma de V que presenta frecuentemente collar (Figura 3-6 A y B; Figura 3-7 A). Placas tecales y plaquetas que carecen de estructuras como crestas, protuberancias, proyecciones curvas, alas o espinas (Figura 3-8 A, B). No se observó rebordes que rodearan la zona periflagelar. A veces las plaquetas rodean los poros flagelares y accesorios (por ejemplo, plaquetas 1, 5 y 6).

Siguiendo la nomenclatura propuesta por Hoppenrath *et al.* (2013), En esta especie se observan ocho plaquetas periflagelares (Figura 3-8). En la figura 3-8 C se muestra un dibujo esquemático. Plaquetas 1 – 4 en contacto con el borde de la placa tecal izquierda, con las plaquetas 1, 4, 5 y 6 tocando la placa tecal derecha. La conexión entre el área periflagelar y la teca izquierda tiene forma variable, de recta a curva (Figura 3-8). La plaqueta 1 es triangular y excavada, con tres a cuatro depresiones (Figura 3-8). Esta la

plaqueta se conecta con las plaquetas 2, 6, 7 y externamente con el poro accesorio. La plaqueta 2 es pequeña, cuadrada a pentagonal y tiene una o dos depresiones (Figura 3-8), conectando con la plaqueta 7. La plaqueta 2 está también en contacto con las plaquetas 1, 3 y 8, y forma el lado izquierdo del poro accesorio. La plaqueta 3 es cuadrada a trapezoidal y excavada por cuatro depresiones, es grande y está en contacto con las plaquetas 2, 4, 5 y 8, formando un borde del poro flagelar. La plaqueta 4 tiene una forma triangular elongada de longitud variable, con varias depresiones (entre uno y cuatro, normalmente tres). Está en contacto con las plaquetas 3 y 5, formando con este último el lado ventral del área periflagelar en forma de V (Figura 3-8). La plaqueta 5, caracterizada por ser alargada y delgada, con una amplia forma de arco curvo, está en contacto con las plaquetas 3, 4, 6 y forma la mayor parte del lado derecho del poro flagelar (Figura 3-8). generalmente presenta una depresión alargada que le da una apariencia de canal, aunque en algunos casos puede presentar depresiones. La plaqueta 6 es característicamente cuadrada y corta, en contacto con las plaquetas 1, 5, 7, 8, y con parte de los poros flagelar y accesorio. También forma una placa a veces solapando, la plaqueta 7 y al poro accesorio (Figura 3-8). Plaqueta 7, que es interna y rodea parte del poro accesorio, es adyacente a 1 y también está en contacto con la plaqueta 2. La plaqueta 8 separa los poros flagelar y accesorio, formando un puente que conecta la plaqueta 6 en un lado y plaquetas 2 y 3 en el otro lado (Figura 3-8).

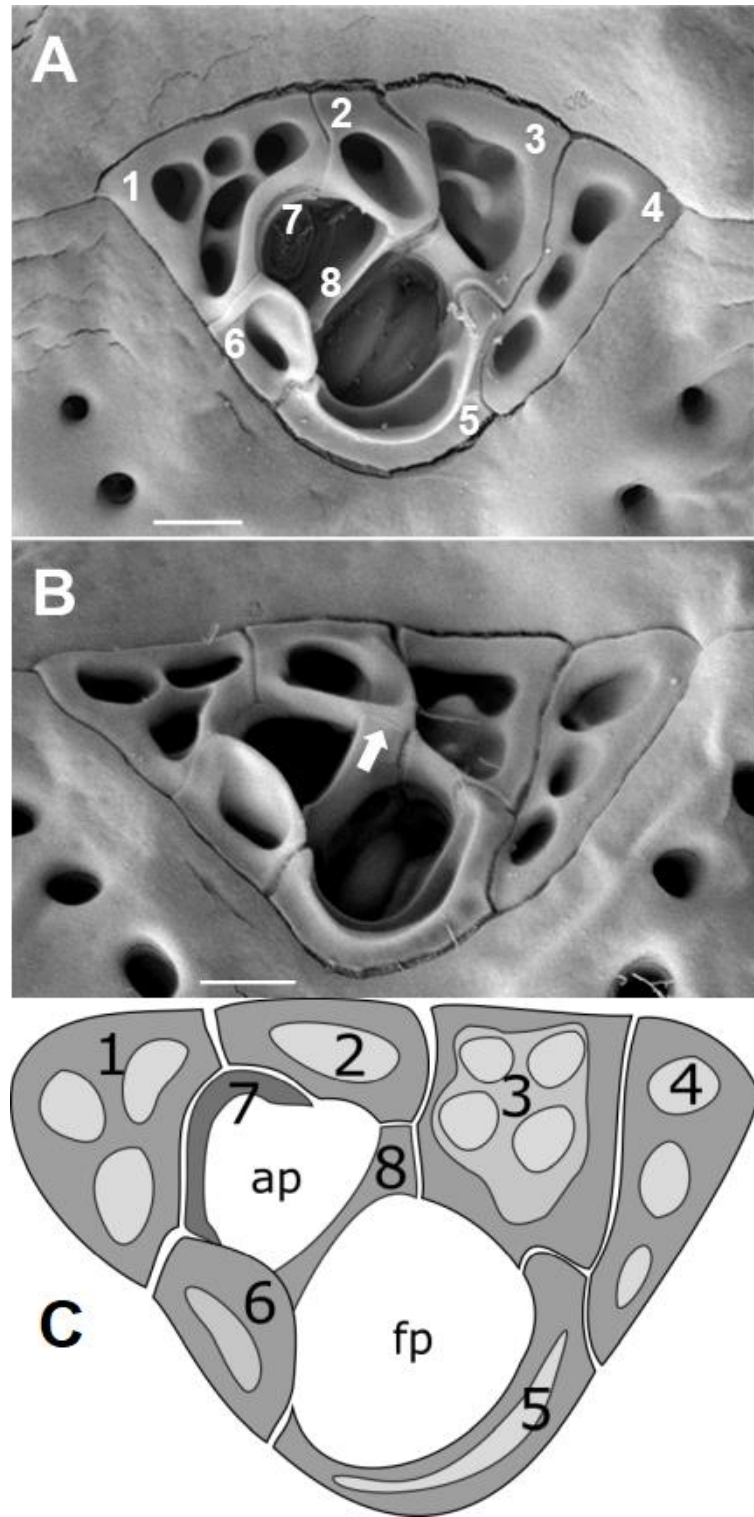


Figura 3-8: Microfotografía de barrido de *Prorocentrum porosum* (cepa INV MYZ0002), mostrando detalles del área periflagelar: (A) Ubicación de las 8 plaquetas periflagelares; (B) Un ejemplo de variación morfológica entre placas. Escala de barra= 2 μ m; (C), Esquema del área periflagelar de *P. porosum*.

3.3.2 Análisis filogenético

▪ *Gambierdiscus*, cepa INVMYZ0001

Los resultados filogenéticos de la secuencia LSU (región D8-D10) (Figura 3-9), consistentemente colocan a *Gambierdiscus* INV MYZ0001 dentro del grupo perteneciente a *G. caribaeus*, junto con otras cuatro secuencias de distintos orígenes geográficos a nivel mundial, lo que confirma su presencia también en el Caribe colombiano. La cepa INV MYZ0001 mostró valores p de 0,0013 en relación con un grupo de secuencias de *G. caribaeus* recuperadas de GenBank ($n = 34$), mucho menos que la variación intraespecífica de tal clado ($p = 0,0040$). Las especies más cercanas fueron *Gambierdiscus carpenteri* Kibler, Litaker, Faust, Holland, Vandersea et Tester ($p = 0,0079$; $n = 21$) y *Gambierdiscus jejuensis* Jang y Jeong ($p = 0,0252$; $n = 14$).

También se confirmó la identificación de *G. caribaeus* por la secuenciación LSU región D1-D3 (Figura 3-10). Por ejemplo, la variación intraespecífica en ocho secuencias de *G. caribaeus* recuperadas de GenBank muestran valores de p de 0,0034 en la región D1-D3, mientras que los valores de p de INV MYZ0001 fueron tres veces menores ($p = 0,0013$) en relación con aquellos. Las especies más cercanas a *G. caribaeus* fueron, de acuerdo con los resultados de D8-10, el recientemente descrito *G. jejuensis* ($p = 0,0536$; $n = 3$) y *G. carpenteri* ($p = 0,0664$; $n = 2$). En cuanto a la secuencia ITS obtenida para INV MYZ0001, el pequeño número de secuencias de *Gambierdiscus* disponible en GenBank limita su comparación. Sin embargo, también se encontró la coincidencia más cercana para *G. caribaeus* NOAA11, aislado de Belice. La secuencia ITS de este estudio carecía de los 29 pb iniciales de ITS-1 y mostraba completas las regiones 5.8S e ITS-2. En total 376 de 388 posiciones nucleótidos (97%) fueron idénticas entre ambas secuencias. La mayoría de las diferencias (11 de 12) se encontraron en fragmento parcial ITS-1 y 5.8S DNAr, con cinco delecciones, tres nucleótidos degenerados que no se pudieron comparar y cuatro sustituciones de nucleótidos (dos transiciones y transversiones). La región ITS-2 era idéntica a excepción de la posición de un nucleótido degenerado en INV MYZ0001. Las siguientes secuencias más cercanas pertenecían a *G. carpenteri* (NOAA1: GU968493) y *G. jejuensis* (GCJJ1: HE775087), y mostraron solo 91 y 90 % de identidad en sus fragmentos ITS compartidos (317 y 384 pb), respectivamente.

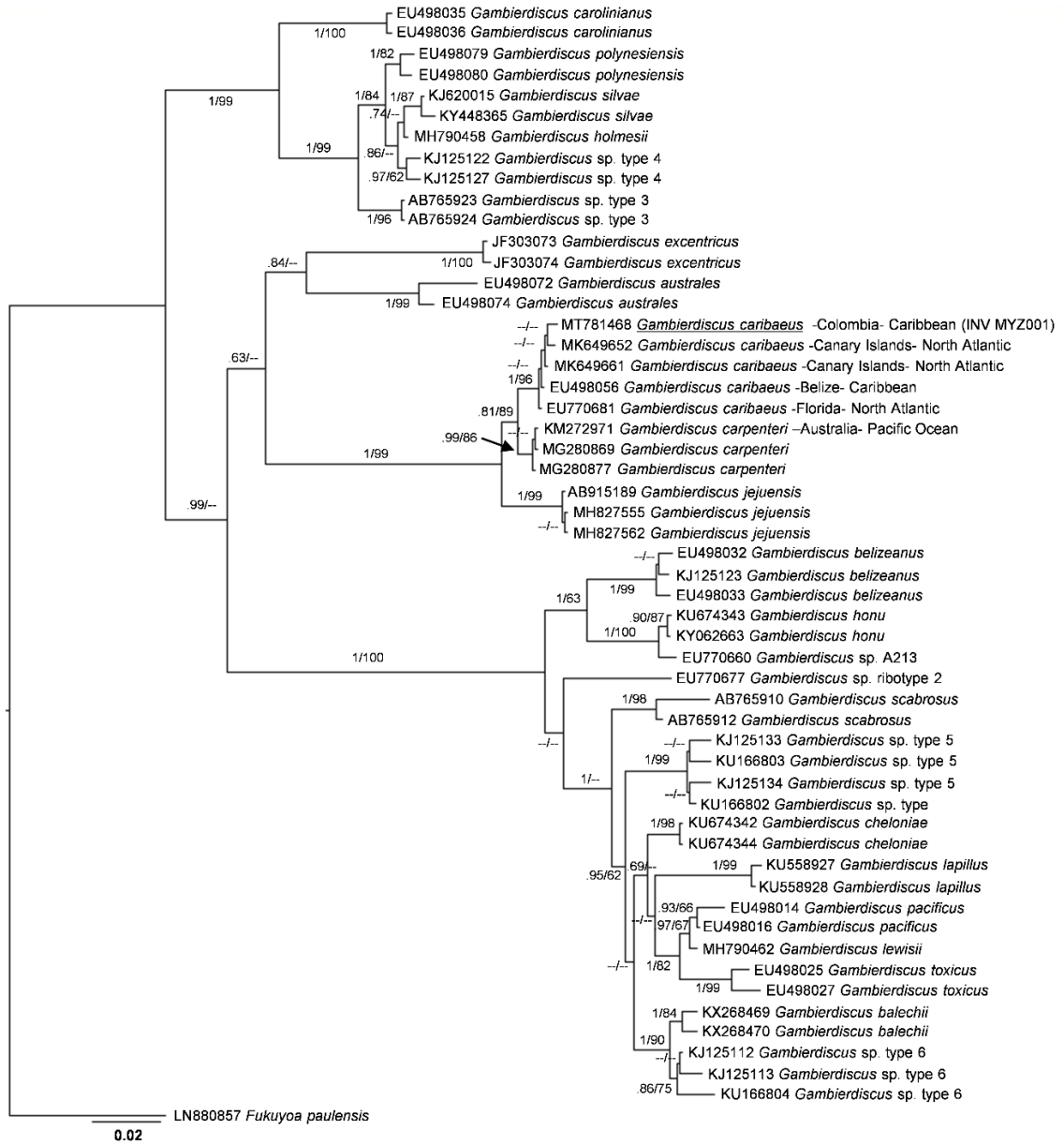
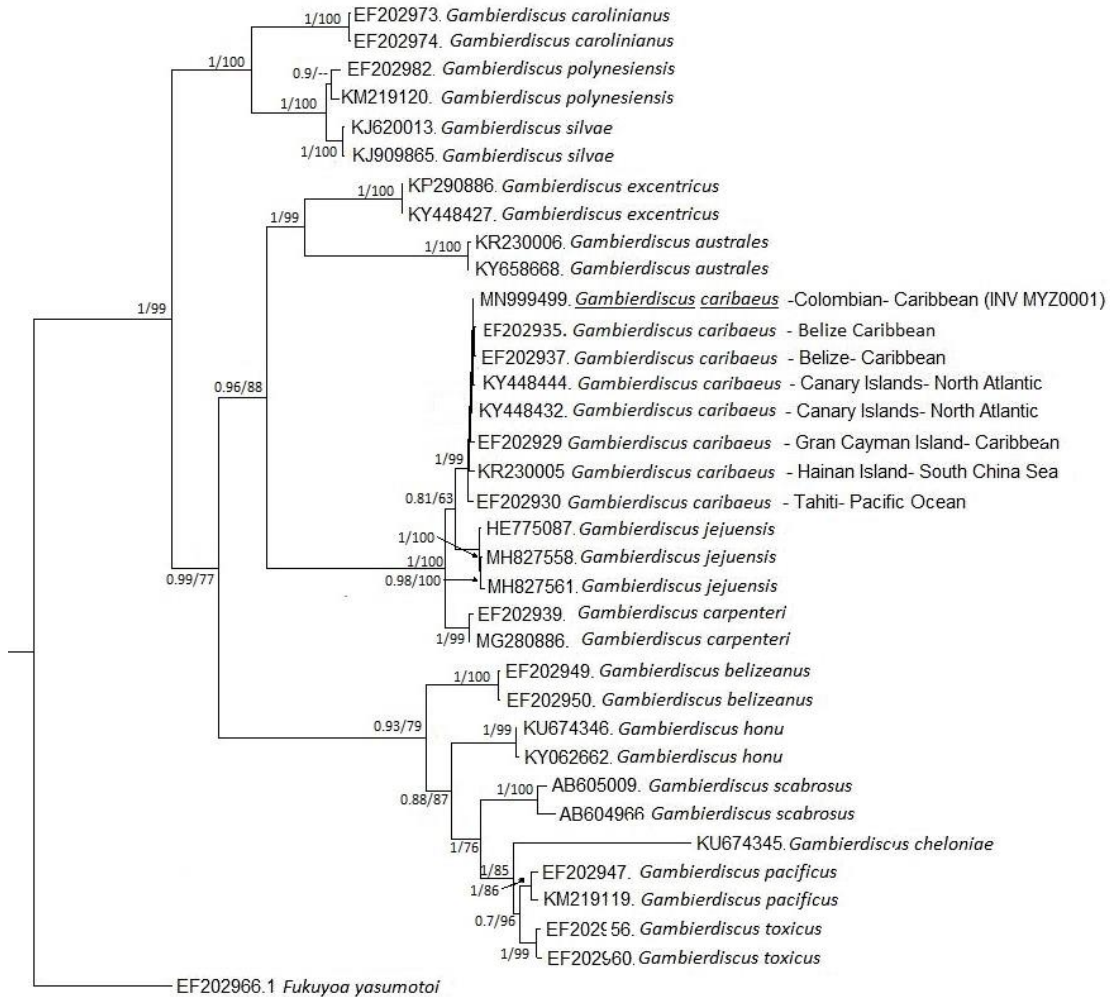


Figura 3-9: Árbol filogenético, inferido mediante método Bayesiano de la subunidad mayor (LSU rDNA, regiones D8-D10), mostrando la relación entre especies de *Gambierdiscus*. La secuencia de *Gambierdiscus caribaeus* cepa INV MYZ0001, se encuentra subrayada. Los valores de los nodos indican probabilidades posteriores y valores bootstrap (método MV; n = 1000). Guiones denotan valores <0,60 y <60, respectivamente.



0.08

Figura 3-10: Árbol filogenético, inferido mediante método Bayesiano de la subunidad mayor (LSU rDNA, regiones D1-D3), mostrando la relación entre especies de *Gambierdiscus*. La secuencia de *Gambierdiscus caribaeus* cepa INV MYZ0001, se encuentra subrayada. Los valores de los nodos indican probabilidades posteriores y valores bootstrap (método MV; n= 1000). Guiones denotan valores de <0,60 y <60, respectivamente.

▪ *Prorocentrum*, cepa INV MYZ0003:

La secuencia parcial de LSU rRNA obtenida para *P. borbonicum* INV MYZ0003 se colocó sin ambigüedades en un clado molecular incluyendo otras cuatro secuencias de *P. borbonicum* con similar longitud recuperada de GenBank (Figura 3-11). La especie más cercana fue *P. sipadanense*. En particular, la secuencia obtenida en este estudio fue idéntica a tres cepas originarias del Mar de China Meridional. Otras tres secuencias de *P. borbonicum* disponible en GenBank fueron excluidas de la filogenia dada su menor longitud (<600 pb), éstos pertenecían al Mar de China Meridional (MH381781, MH359126) y Florida

(EE. UU.; KT898187; David, 2014) y eran idénticos a través de sus secuencias con la cepa INV MYZ0003.

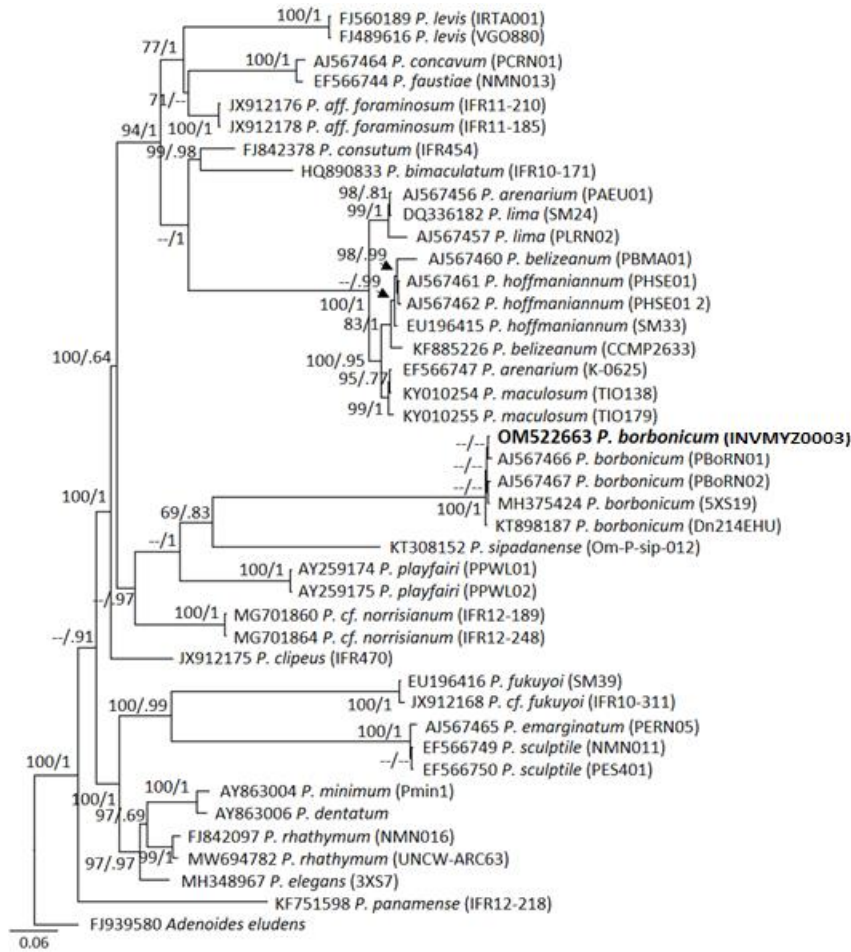


Figura 3-11: Árbol filogenético, inferido mediante método Bayesiano de la subunidad mayor (LSU rDNA, regiones D1-D3), mostrando la relación entre especies de *Prorocentrum*. La secuencia de *Prorocentrum borbonicum* cepa INV MYZ0003, se encuentra en negrilla. Los valores de los nodos indican probabilidades posteriores y valores bootstrap (método MV; n= 1000). Bootstrap con valores <60 y probabilidades posteriores <0,6 no son mostradas (como guiones).

▪ ***Prorocentrum*, cepa INVMYZ0002**

La filogenia de LSU D1-D3 (Figura 3-12) coloca a *P. porosum* en una rama diferenciada, sostenida por un alto bootstrap y valores de probabilidad, junto con secuencias anteriores de cepas PL1-11 (etiquetado como *P. lima*; Murray *et al.*, sin publicar) y OUN248P [*Prorocentrum* sp. tipo 2; Nishimura *et al.* (2020a)]. Las especies/filotipos de *Prorocentrum* más estrechamente relacionados fueron *P. caipirignum* Fraga, Menezes & Nascimento, *P. cf. lima* [*p. lima* morfotipo 5 por Zhang *et al.* (2015)], *Prorocentrum* sp. tipo 1 [Nishimura *et al.* (2020a)], y *P. hoffmannianum* Faust.

En cuanto a la filogenia DNAr ITS, las únicas secuencias disponibles para *P. porosum* son los derivados del presente estudio (Figura 3-13). En general, la topología resultante fue muy similar a la de la LSU D1-D3, aunque una mayor resolución fue obtenida para los diferentes clados de *Prorocentrum* considerados.

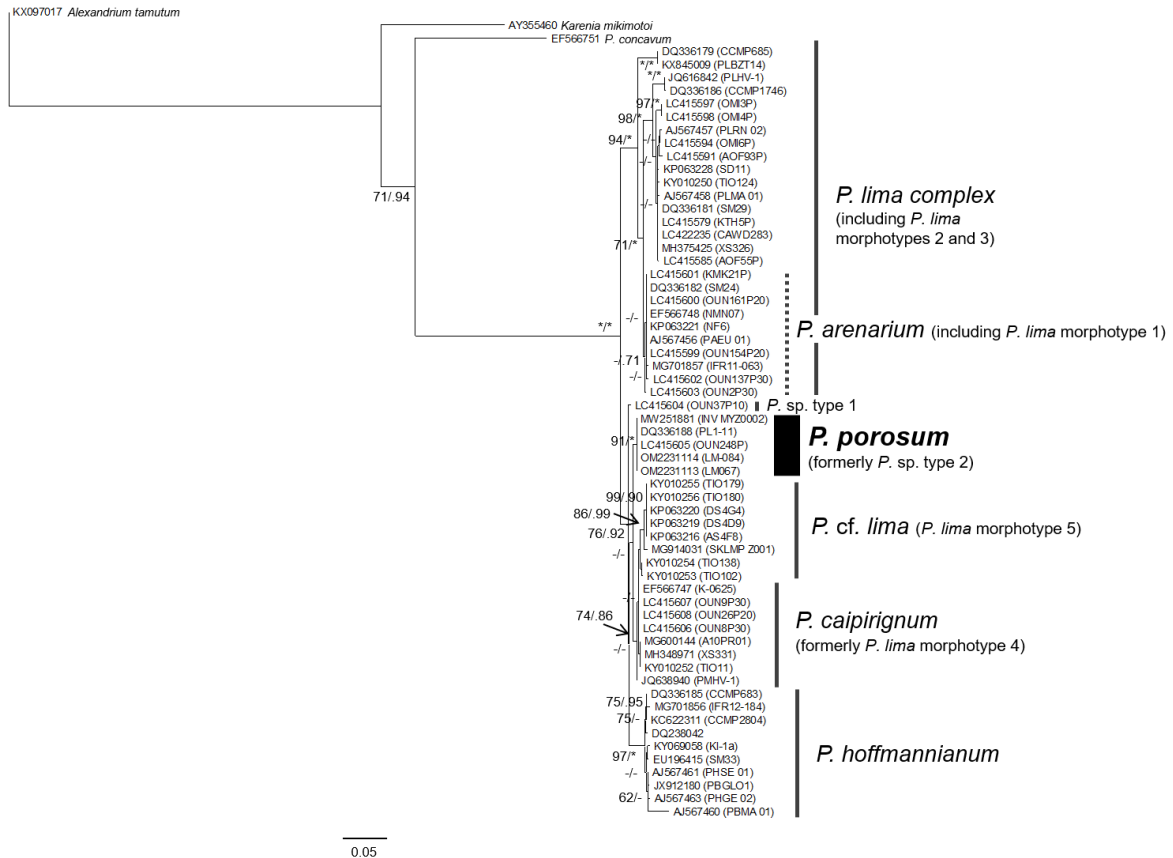


Figura 3-12: Árbol filogenético, inferido mediante método de máxima verosimilitud de la subunidad mayor (LSU rDNA, regiones D1-D3), mostrando la relación entre especies de *Prorocentrum porosum* sp. nov. (cepa INV MYZ0003), en negrilla y otras especies/filotipos estrechamente relacionados. Los valores de los nodos internos indican valores bootstrap (método MV) y probabilidades posteriores (análisis Bayesiano). Bootstrap con valores <60 y probabilidades posteriores <0,6 no son mostradas (como guiones). Asteriscos indican máximo soporte.

En cuanto a LSU, las distancias medias dentro de los grupos para *P. caipirignum*, *P. cf. lima* (*P. lima* morfotipo 5) y *P. hoffmannianum* fueron 0,0061, 0,0021 y 0,0107, respectivamente. A su vez, las distancias p medias entre *P. porosum* y estas especies/filotipos fueron más altos que las anteriores (0,0124, 0,0113 y 0,0301, respectivamente), así como que con respecto a la secuencia única de *Prorocentrum* sp. tipo 1 (0,0134). Estos valores fueron ligeramente más divergentes que las comparaciones

correspondientes calculadas entre *P. caipirignum* vs. *P. cf. lima*, *P. hoffmannianum* y *Prorocentrum* sp. tipo 1 (0,0095, 0,0261 y 0,0188, respectivamente).

En el caso de ITS-2, las distancias medias dentro del grupo fueron 0,0077 y 0,0163 para *P. caipirignum* y *P. hoffmannianum*. Estos valores fueron varias veces menores que *p*-distancias entre *P. porosum* y su más cercano especies/filotipos [0,0879, 0,0665 y 0,0749, para *P. caipirignum*, *P. cf. lima* (*P. lima* morfotipo 5) y *P. hoffmannianum*, respectivamente], algo inferior a los valores correspondientes entre *P. caipirignum* vs. *P. cf. lima* y *P. hoffmannianum* (0,0785 y 0,0780, respectivamente).

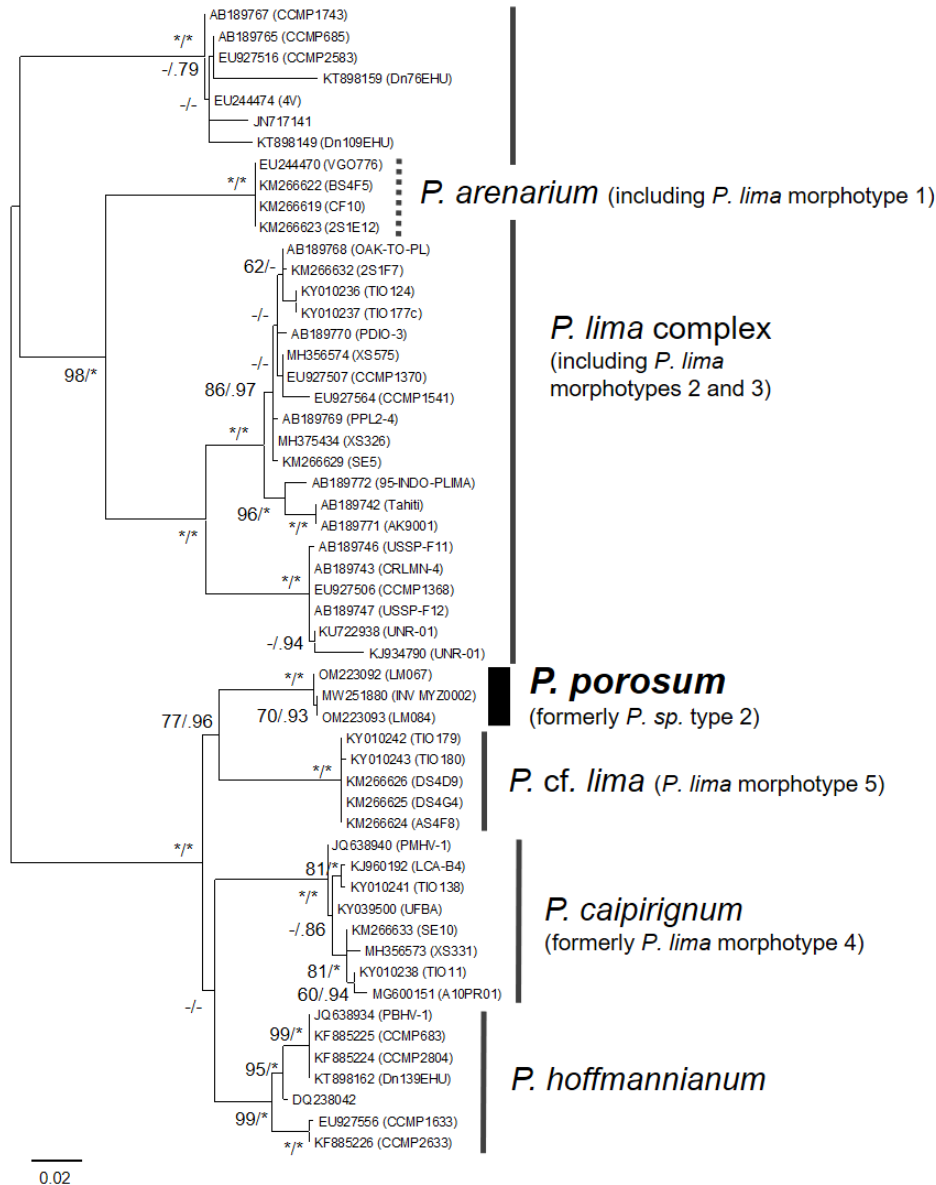


Figura 3-13: Árbol filogenético de ITS, inferido mediante método de máxima verosimilitud de la subunidad mayor, mostrando la relación entre especies de *Procentrum porosum* sp. nov (cepa INV MYZ0003), en negrilla, y otras especies/filotipos estrechamente relacionados. Los valores de los nodos internos indican valores bootstrap (método MV) y probabilidades posteriores (análisis Bayesiano). Bootstrap con valores <60 y probabilidades posteriores <0,6 no son mostradas (como guiones). Asteriscos indican máximo soporte.

3.3.3 Análisis toxigénico

▪ *Procentrum*, cepa INV MYZ0003:

Ensayos hemolíticos

El extracto soluble en agua y metanol de *P. borbonicum* mostró actividad hemolítica típica debido a PLTX que fue inhibido en presencia de Ouabaína, un antagonista de PLTX. Las mediciones de absorbancia de soluciones de hemólisis de control: 0% (1 sangre: 1 solución PBS) y 100% (1 sangre: 1 agua destilada) se utilizaron para calcular los porcentajes de hemólisis del estándar y diluciones de muestra. Concentraciones de doce diluciones de PLTX estándar que estuvieron de 2,5 pg μL^{-1} a 0,025 pg μL^{-1} y sus respectivos porcentajes de hemólisis (del 88 % al 5 %) se utilizaron para trazar la curva de calibración. Los porcentajes de actividad hemolítica de las diluciones 1:10 y 1:10² del extracto de muestra original estaban fuera del rango de linealidad de la curva de calibración (96 % y 93 % respectivamente). Por lo tanto, la cuantificación se logró con diluciones 1:10³ y 1:10⁴ del extracto original, con porcentajes de actividad hemolítica de 83 % y 34 %, respectivamente. La ecuación de la curva de calibración se obtuvo de la función acumulativa modificada de Weibull en términos del modelo Dosis Respuesta según Riobó *et al.* (2008). El contenido de las toxinas en las células fue calculado promediando ambas diluciones. Como resultado, la concentración de compuestos similares a PLTX en *P. borbonicum*, cepa INV MYZ0003, se estimó en 1,9 pg PLTX equivalentes célula⁻¹.

HPLC-DAD y HPLC-HRMS

Como resultado de los análisis HPLC-HRMS del extracto de *P. borbonicum*, las toxinas lipofílicas (OA, DTX2, DTX1 y PTX2) no fueron detectadas, mientras que la borbotoxina (A o B) y la 42-hidroxi-palitoxina (42-OH-PLTX) fueron identificados inequívocamente.

Debido a la falta de un estándar de calibración para borbotoxina, la identificación de este compuesto por HPLC-HRMS se basó en el espectro de masas descrito para *P. borbonicum* (Reunión Island) por Ten-Hage (2002). Se detectó un pico a los 1,46 min monitoreando iones pseudomoleculares $[\text{M}+\text{H}]^+$ a m/z 1038,6063 y el aducto de sodio $[\text{M}+\text{H}+\text{Na}]^{2+}$ a m/z 530,7981, ambos de ellos característicos de las borbotoxinas A/B (Ten-Hage, 2002). Además, el espectro de masas de este pico presentó el aducto de sodio $[\text{M}+\text{Na}]^+$ a m/z 1060,5882, el aducto de potasio $[\text{M}+\text{K}]^+$ en m/z 1076,5838 y otros dos iones característicos reportado en borbotoxinas en m/z 1054,6012 y en m/z 1070,5966 (Figura 3-14). El espectro UV de este compuesto se midió entre 200 y 325 nm y mostró dos características máximas de absorbancia a 234 nm y 283 nm. (Figura 3-15).

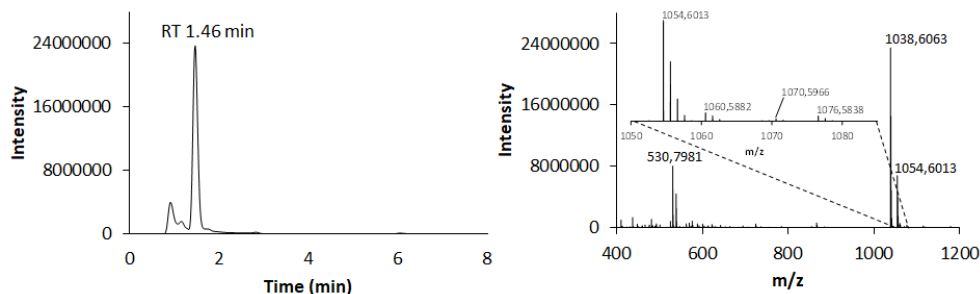


Figura 3-14: Cromatograma HPLC-HRMS del extracto soluble metanol-agua de *P. borbonicum* (cepa INV MYZ0003). (Izquierda) Monitoreado a una ventana de m/z 1038-1039 Da. (Derecha) Espectro de masas para un pico de 1,46.

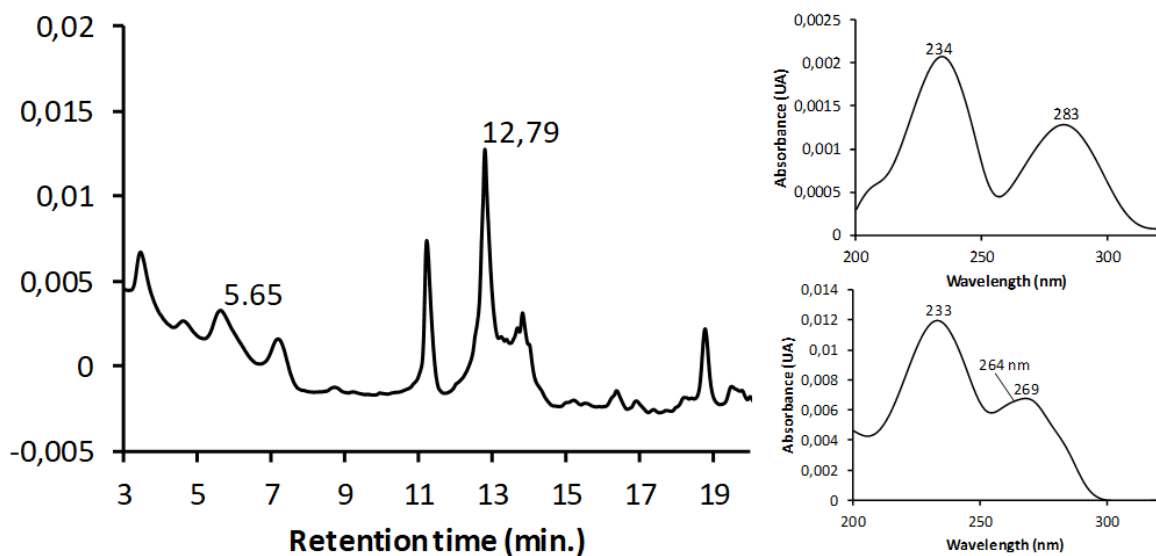


Figura 3-15: Cromatograma HPLC-DAD del extracto soluble metanol-agua de *P. borbonicum* (cepa INV MYZ0003) monitoreado a 233 nm (izquierda). Picos a tiempo de retención de 5,65 y 12,79 min correspondientes a borbotoxinas A/B y a 42-OH-PLTX respectivamente, Espectro UV entre 200 y 235 nm (derecha) a 5,65 min (arriba) y 12,79 (abajo).

Teniendo en cuenta que en la HPLC de fase inversa cuanto más polares son los solutos éstos eluyen primero, implicaría que el compuesto de borbotoxina (RT 1,46 min) es más polar que el estándar PLTX que fue retenido más tiempo en columna y eluyó a los 5,8 min. Para analizar la presencia de PLTX, se obtuvieron cromatogramas de iones extraídos de los espectros de MS completos de HR para el estándar PLTX seleccionando los picos de iones más abundantes en m/z 1351,7469 $[M+2H+Na]^{+2}$ y m/z 906,8226 $[M+2H+Ca]^{+3}$ (correspondientes a grupos de iones bi-cargados y tri-cargados respectivamente) así como

la característica fragmento de ion a m/z 327,1927 ($C_6H_{27}N_2O_5$, Δ 3.825) atribuido a la escisión entre los carbonos 8 y 9 (Figura 3-16).

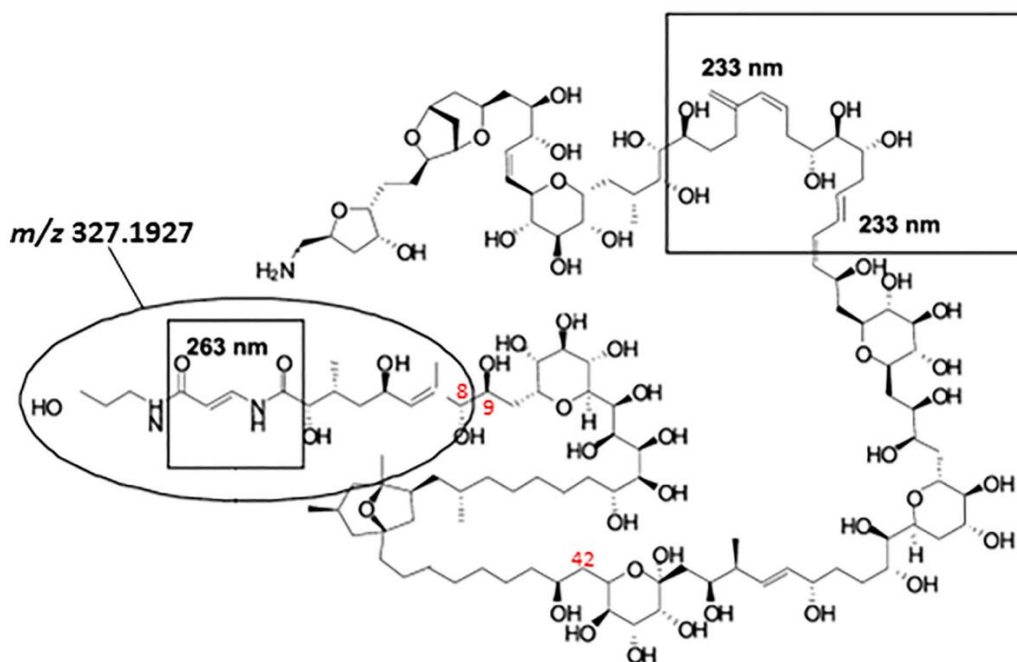


Figura 3-16: Estructura molecular de la molécula de PTLX. Los cuadrados muestran las dobles cadenas responsables de las características del perfil de absorción UV. El óvalo muestra fragmentos iónicos a m/z 327,1927 atribuido al clivaje entre los carbonos 8 y 9 (en rojo). El carbono 42 también es numerado (en rojo). Este carbono está ligado a un átomo de hidrógeno y a un grupo hidroxilo en PLTX y moléculas 42-OH-PTLX, respectivamente.

Durante los análisis LC-HRMS del extracto de *P. borbonicum* un pico principal se detectó a los 5,72 min en el cromatograma monitoreado dentro de la ventana de masa m/z 326,5 – 327,5 Da. El espectro de masas de este pico mostró abundantes picos de iones en m/z 1359,7429 $[M+2H+Na]^{+2}$ y m/z 912,1533 $[M+2H+Ca]^{+3}$. Esto sugirió que este compuesto contenía 16 unidades de masa más que PLTX (*P. tuberculosa*), igual que 42-OH-PTLX (Ciminiello *et al*, 2009). El análisis comparativo de los espectros HRMS de la PLTX estándar (1) y el similar a PLTX (compuesto 2) mostró similitudes estructurales evidentes entre a los dos compuestos como la presencia del ion fragmento en m/z 327,1927 y picos abundantes por pérdidas de moléculas de agua posteriores de los iones precursores.

Los espectros HRMS de (1) y (2) mostraron iones monocargados $[M+2H]^+$ en m/z 2680,5044 ($C_{129}H_{225}O_{54}N_3$, RBD 19,0; 3,621 ppm) y m/z 2696,4996 ($C_{129}H_{225}O_{55}N_3$, RBD 19,0; 3,705 ppm) respectivamente. Ambas señales eran muy bajas para ser utilizadas para asignación de fórmulas moleculares. Sin embargo, la composición elemental calculada por

la adquisición de datos del software Xcalibur estuvo de acuerdo con la fórmula molecular teórica de la PLTX estándar (*P. tuberculosis*) para (1) ($C_{129}H_{223}O_{54}N_3$) y también con evidencias posteriores para la asignación de fórmula molecular del compuesto 2 ($C_{129}H_{223}O_{55}N_3$) obtenido a partir de análisis comparativo de grupos de iones bicargados y tricargados contenida en el espectro HRMS de (1) y (2). En particular, se confirmó que los grupos de iones bicargados contenidos en el espectro HRMS de (2) se desplazaron hacia arriba en 8 unidades de masa en comparación con los de (1) y la confirmación adicional fue proporcionada por masas exactas de los iones tricargados más abundantes. (Tabla 3.1).

Tabla 3.1: Datos de LC-HRMS de PLTX y un compuesto similar a PLTX 2 (42-OH-PLTX) obtenidos a partir de espectros de MS completos adquiridos en los rangos de masa m/z 2000-3000, m/z 1200-1400 y m/z 850-950.

	PLTX	Compound 2 (42-OH-PLTX)
MONO-CHARGED IONS		
$[M+2H]^+$	2680,5044	2696,4996
Formula	$C_{129}H_{225}O_{54}N_3$	$C_{129}H_{225}O_{55}N_3$
RDB; Δ ppm	19,0; 3.621	19,0; 3.705
BI-CHARGED IONS		
$[M+2H-4H_2O]^{+2}$	1304,7343	1312,7316
Formula	$C_{129}H_{218}O_{50}N_3$	$C_{129}H_{218}O_{51}N_3$
RDB; Δ ppm	22,5; 3.406	22,5; 3.266
$[M+2H-3H_2O]^{+2}$	1313,7402	1321,7370
Formula	$C_{129}H_{220}O_{51}N_3$	$C_{129}H_{220}O_{52}N_3$
RDB; Δ ppm	21,5; 3.853	21,5; 3.257
$[M+2H-2H_2O]^{+2}$	1322,7465	1330,7424
Formula	$C_{129}H_{222}O_{52}N_3$	$C_{129}H_{222}O_{53}N_3$
RDB; Δ ppm	20,5; 4.596	20,5; 3.248
$[M+2H+Na]^{+2}$	1351,7469	1359,7429
Formula	$C_{129}H_{225}O_{54}N_3Na$	$C_{129}H_{225}O_{55}N_3Na$
RDB; Δ ppm	18,5; 3.656	18,5; 2.490
$[M+2H+K]^{+2}$	1359,7308	1367,7260
Formula	$C_{129}H_{225}O_{54}N_3K$	$C_{129}H_{225}O_{55}N_3K$
RDB; Δ ppm	18,5; 1.378	18,5; -0.280
TRI-CHARGED IONS		

	PLTX	Compound 2 (42-OH-PLTX)
$[M+2H+Ca]^{+3}$	906,8226	912,1533
Formula	$C_{129}H_{225}O_{54}N_3Ca$	$C_{129}H_{225}O_{55}N_3Ca$
RDB; Δ ppm	19,0; 4.379	19.0; 3.215

Asignación de fórmulas moleculares a los picos de iones monoisotópicos de iones mono, bi y tricargados. Equivalente relativo de dobles enlaces (RDB) y tolerancia de masa (ppm).

El espectro UV de PLTX mostró dos picos de absorción aportado por dos cromóforos a 233 y 264 nm, siendo la intensidad a 233 nm el doble que a 264 nm. Esta característica UV del perfil de absorción se observó en 42-OH-PLTX (Figura 3-15).

▪ *Prorocentrum*, cepa INV MYZ0002

En LC-HRMS para los extractos de *P. porosum*, cepa INV MYZ0002, los cromatogramas iónicos extraídos de la exploración completa (m/z 100–1000) se seleccionaron de la siguiente manera: en modo negativo m/z : 803–804 para OA y DTX2, en modo positivo 836–837 m/z y 876–877 m/z , para DTX1 y PTX2 respectivamente. Los tiempos de retención fueron 2,07 min para OA, 3,36 min para DTX2, 4,19 min para DTX1 y 8,21 min para PTX2. OA y DTX2 son isómeros y sus espectros corresponden a $[M - H]^-$ a 803,4560 m/z (Figura 3-17). Mediante el uso de estándares de referencia certificados, también se verificaron los espectros DTX1 y PTX2. Espectro DTX1 correspondió a $[M + NH_4]^+$ en 836,5146 m/z y $[M + Na]^+$ en 841,4699 m/z . El espectro de PTX2 correspondió a $[M + NH_4]^+$ en 876,5095 m/z y $[M + Na]^+$ a 881,4647 m/z (datos no mostrados).

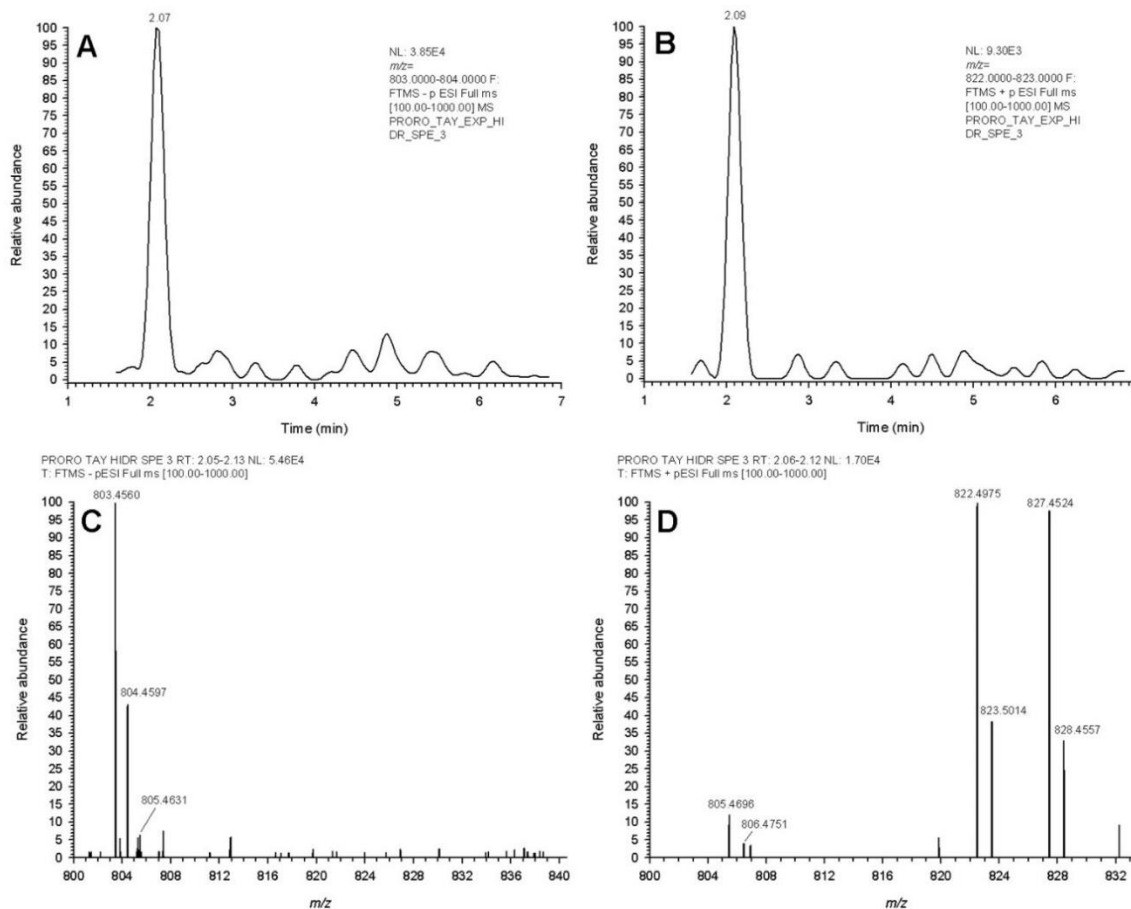


Figura 3-17: Análisis de toxinas en HPLC-HRMS de *P. porosum* (cepa INV MYZ0003). Instantáneas de cromatogramas de iones extraídos: A) m/z: 803-804 en polaridad negativa y B) m/z: 822-823 en polaridad positiva, mostrando el pico OA en el extracto celular hidrolizado limpiado. Espectros OA: C) m/z: 803-804 en polaridad negativa y D) m/z: 822-823 en polaridad positiva. El aducto de amonio $[M + NH_4]^+$ (m/z: 822,4975), junto con el menos intenso $[M + H]^+$ m/z: 805,4696 y el aducto sodio $[M + Na]^+$ m/z: 827,4524 puede ser observado.

El análisis de las cuatro alícuotas extracelulares (medio clarificado) de 46 mL de *P. porosum* cepa INV MYZ0002 en el “cultivo 1” reveló la presencia de OA a una concentración media de $8,76 \pm 1,23 \text{ ng mL}^{-1}$ de extracto (equivalente a $2,86 \pm 0,40 \text{ pg celular}^{-1}$), mientras que en “cultivo 2” el valor medio fue de $9,65 \pm 2,52 \text{ ng mL}^{-1}$ extracto ($0,19 \pm 0,05 \text{ pg eq. célula}^{-1}$). No se detectaron DTX2, DTX1 y PTX2.

Del mismo modo, no se detectó DTX2, DTX1 y PTX2 en los extractos intracelulares crudos de la cepa INV MYZ0002. Sin embargo, se detectaron interferencias en torno al tiempo de retención de OA. Esto provocó implementar el mismo paso de limpieza (EFS, extracción fase sólida) que el utilizado para las toxinas extracelulares, pero purificando sólo 750 μL de extracto. El análisis de este extracto purificado reveló la presencia de OA en las

alícuotas analizadas, arrojando un valor medio ($n = 4$) de $0,50 \pm 0,09$ pg de OA libre célula⁻¹ "para el cultivo 1" y $0,73 \pm 0,21$ pg OA libre células⁻¹ ($n = 4$) para el "cultivo 2". También se registraron interferencias durante el análisis de los extractos intracelulares crudos hidrolizados de la cepa INV MYZ002, por consiguiente, también se empleó el procedimiento de limpieza (EFS) para permitir la cuantificación de OA total (suma de OA libre y ésteres de OA hidrolizados). La hidrólisis reveló la presencia de niveles más altos de OA en el extracto intracelular, con valores medios ($n = 4$) de $2,66 \pm 0,33$ pg total de células OA⁻¹ para el "cultivo 1" y $5,08 \pm 1,09$ pg total de células OA⁻¹ para el "cultivo 2". Tampoco se detectaron DTX2 y DTX1 en los extractos intracelulares hidrolizados.

3.4 Discusión

3.4.1 Morfología

▪ *Gambierdiscus*, cepa INV MYZ0001

La mayoría de los caracteres morfológicos detallados en el presente estudio para la cepa INV MYZ0001 concuerda con la original descripción para *G. caribaeus* (Litaker *et al.*, 2009). Comparando las características morfológicas de *G. caribaeus* con *G. carpenteri* y *G. jejuensis*, sus dos parientes más cercanos en los árboles filogenéticos, se establecieron las siguientes semejanzas y diferencias: 1) todas ellas comparten una placa conspicua, ancha y pentagonal 2'''''' (equivalente a la placa 1p en Litaker *et al.* 2009 y Jang *et al.* 2018), 2) células con ornamentación de las tecas suave con forma lenticular y redondeada en vista apical (excepto en *G. carpenteri* cuyas células son ligeramente oblongas), 3) la placa 2 'es rectangular (excepto en *G. jejuensis*, en la que es ligeramente trapezoidal), y 4) la placa de 3" (equivalente a placa de 4" en Litaker *et al.* 2009 y Jang *et al.* 2018) es simétrica en *G. caribaeus* mientras que es asimétrica en *G. carpenteri* y *G. jejuensis*.

Sin embargo, dadas las dificultades para discriminar entre especies estrechamente relacionadas de *Gambierdiscus* usando solo caracteres morfológicos, los resultados moleculares ahora implementados ayudaron a confirmar la presencia de *G. caribaeus* en el Caribe colombiano y Caribe sur. Este resultado refuerza la opinión de que esta especie ha sido la más comúnmente identificada en muestras del Caribe (Litaker *et al.* 2010). Mientras que las especies hermanas de *G. caribaeus*, a saber, *G. carpenteri* y *G. jejuensis*, han sido reportadas en el Caribe y aguas del Pacífico, y en el Pacífico solamente, respectivamente (Tester *et al.* 2020).

▪ *Prorocentrum*, cepa INV MYZ0003

La mayoría de los caracteres morfológicos detallados en el presente estudio para la cepa INV MYZ0003 concuerda con la descripción original para *P. borbonicum* (Ten-Hage *et al.*, 2000a). Aunque se observaron algunas diferencias, como la presencia de una plaqueta periflagelar adicional en el INV Cepa MYZ0003 comparada con las ocho reportadas en Ten-Hage *et al.* (2000a). Sin embargo, esta característica se ajusta a la descripción de Hoppenrath *et al.* (2013) quienes consideran que el número de plaquetas para esta especie es entre ocho o nueve, así como la de Zou *et al.* (2021) que cuentan nueve en una cepa encontrada en el Mar del Sur de China. La notoriedad general de las depresiones a través de las placas tecales en la descripción original (Ten-Hage *et al.*, 2000a), que para INV MYZ0003 fueron más notables en las ubicadas hacia los bordes, y a veces en pequeñas áreas centrales de las placas tecales (Figura 3-4 D, E), ésto probablemente debido a la delgada capa de mucílago y/o membranas que quedaron en nuestro material. Esto también hizo difícil apreciar claramente los poros tecales, porque, aunque se pueden distinguir varios tamaños (Figura 3-5 A) no fue posible apreciar los poros grandes ubicados fuera de las depresiones y los poros de menor tamaño mencionado por Ten-Hage *et al.* (2000a). Por otro lado, aunque las medidas de largo y ancho en algunas de las células descritas en el presente trabajo excedieron a los valores más altos reportados en la descripción original, en general hubo una buena superposición entre los rangos de tamaño de ambas cepas (Tabla 3.2).

Tabla 3.2: Comparación de las características morfométricas (mín–máx [media \pm SD]) y morfológicas entre la cepa INV MYZ0003 y la descripción original de *P. borbonicum* (Ten-Hage *et al.* 2000).

	Descripción original	Presente estudio (INV MYZ0003)
Longitud celular (μm)	18-24 [20.0 \pm 1.2]	19-27 [23.5 \pm 2.5]
Profundidad celular (μm)	16-20 [18.1 \pm 1.0]	15-24 [20.2 \pm 1.9]
Relación longitud/profundidad	1.11	1.17
Forma celular	Simétrica, oval amplio a ovoide	Simétrica a ligeramente asimétrica, oval amplio a ovoide
Asimetría del ápice	Simétrica-Truncada	Simétrica -Truncada
Presencia cresta marginal	No	No
Forma del área periflagelar	V amplia	V amplia

	Descripción original	Presente estudio (INV MYZ0003)
Número de plaquetas	8	9 (1 2 3 4 5 6a 6b 7 8)
Poros flagelares y accesorios	Si	Si
Ornamentación tecal	Foveada	Foveada
Talla de las depresiones (μm)	0.4-0.5	0.3-0.6
Talla de los poros (μm)	Pequeños: 0.07-0.08 Largos: 0.16-0.17	Large: 0.11-0.21
Patrón de los poros	Dispersos	Dispersos
Área central de las tecas	Desprovista de poros grandes, con poros pequeños	Desprovista de poros grandes
Posición de los poros	Dentro y entre las depresiones	Dentro de las depresiones, ¿entre?
Banda intercalar	Suave	Suave
Poros marginales	No	No
Pirenoide	Si, central	Si, central

P. borbonicum se destaca por formar parte de las especies epibentónicas más pequeñas del género *Prorocentrum* (L <28 μm) junto con *P. elegans* Faust, *P. formosum* Faust, *P. norrisianum*, Faust & Morton y *P. sipadanense* Mohammad-Noor, Daugbjerg & Moestrup, difiriendo de *P. borbonicum* de los tres primeros por presentar una teca con superficie foveada superficial (Ten-Hage *et al.*, 2000a) siendo generalmente lisa en *P. elegans* (Faust, 1993a), *P. formosum* (Faust, 1993b) y *P. norrisianum* (Faust, 1997). Aunque *P. sipadanense* también presenta una teca foveada superficial, es fácilmente diferenciable de *P. borbonicum* por características tales como: ápice asimétrico oblicuo truncado en *P. sipadanense* (Saburova y Chomérat, 2016) siendo truncado simétrico en *P. borbonicum*; poros tecales escasos y asimétricamente dispersos en *P. sipadanense* (Saburova y Chomérat, 2016) perceptible y visible para LM, mientras que para *P. borbonicum* están dispuestos más o menos simétricamente y sólo los poros más grandes son visibles para ML (Figura 3-4 B); la presencia de poros marginales conspicuos distribuidos irregularmente en *P. sipadanense* (Mohammad-Noor *et al.*, 2007; Saburova y Chomérat, 2016) no presentes en *P. borbonicum*; y presencia de una cresta marginal prominente en *P. sipadanense* (Saburova y Chomérat, 2016), ausente en *P. borbonicum*.

Respecto a sus contrapartes filogenéticamente más cercanos (*P. panamense*, *P. sipadanense* y *P. playfairi*; ver más adelante), morfológicamente, *P. borbonicum* comparte con *P. playfairi* y *P. panamense* la presencia de una superficie foveada reticulada de sus placas tecales, diferenciándose principalmente de éstos en el tamaño, puesto que son mucho más grandes (largo > 42,5 y ancho > 30). Otras diferencias fueron la ausencia de pirenoide en *P. playfairi* (Croome y Tyler, 1987); la asimetría (en forma de corazón) en las placas tecales de las células *P. panamense* (Grzebyk *et al.*, 1998). Por otro lado, *P. playfairi* tiene como particular característico ecofisiológica la de habitar en aguas dulces (Croome y Tyler, 1987). Finalmente se destaca las características que *P. borbonicum* comparte con *P. sipadanense* en cuanto a su cercanía filogenética y tamaño.

▪ ***Prorocentrum*, cepa INVMYZ0002**

Comparación entre cepas de *P. Porosum*

Las células de la cepa colombiana de *P. porosum* (INV MYZ0002) y la cepa brasileña (LM-084) exhibieron formas redondeadas o ampliamente ovoides, mientras que las japonesas (cepa OUN248P) tendrían a ser más elípticas. Además, las células de la cepa japonesa fueron generalmente más pequeñas, con menos poros tecales y marginales (Tabla 3.3); a pesar de esto el número de poros tecales y marginales en células de la cepa japonesa todavía sigue siendo muy altos en comparación con los de otras especies de *Prorocentrum*, permitiendo su distinción, como se discutirá más adelante. En cuanto a las características del área periflagelar, incluyendo el número y disposición de plaquetas (Tabla 3.3), no se observaron diferencias entre las tres cepas: todas exhibieron ocho plaquetas (Tabla 3.3) algunas de ellas usualmente pueden presentar más de una depresión, lo que podría ser una característica que ayudaría en la distinción de esta especie.

Comparación con otras especies filogenéticamente similares:

Los caracteres diagnósticos de los morfotipos de *P. lima* incluyen la morfología superficial de las placas tecales y del área periflagelar, pero su variabilidad ha dificultado la identificación de las especies dentro del llamado “complejo *Prorocentrum lima*” (Nagahama *et al.*, 2011; Nascimento *et al.*, 2017; Chomérat *et al.*, 2019). Como resultado, este complejo incluye varios clados y morfotipos (por ejemplo, Zhang *et al.*, 2015; Chomérat *et al.*, 2019) pero solo dos especies reconocidas: *P. caipirignum* y *P. arenarium* (y este último solo por algunos autores - ver Nascimento *et al.*, 2017).

Con fines comparativos, las características morfológicas de *P. porosum* y las otras especies/filotipos dentro del complejo *P. lima* estrechamente relacionados con *P. porosum* se muestran en la Tabla 3.4. Algunas de estas características fueron propuestas por Hoppenrath *et al.* (2013) como base para circunscribir las especies de *Prorocentrum*. En general, *P. porosum* difiere principalmente de las otras especies estrechamente relacionadas por el número alto de poros tecales y marginales, que no se superponen con los rangos típicos que caracterizan los taxones comparados (aunque esto no se determinó para *P. hoffmannianum*, debido a la falta de suficiente información). A su vez, se comparan algunas características para todas - o casi la mayoría, de las especies/filotipos analizados (Tabla 3.4). Éstas incluyen la amplia forma de V del área periflagelar; la superficie suave de las placas tecales izquierda y derecha [excepto en *P. hoffmannianum*, siendo reticulado-foveado cerca los márgenes y liso en el centro (Rodríguez *et al.*, 2018)], la ausencia de estructuras como espinas, rebordes gruesos y protuberancias; y la presencia de una teca cubierta por poros excepto hacia la zona central, así como de poros accesorios y flagelares, poros marginales, pirenoides y ocho plaquetas periflagelares, excepto en *P. caipirignum*, que tiene solo 6-7 plaquetas según Nascimento *et al.* (2017). Cabe destacar, sin embargo, que el número de plaquetas periflagelares puede variar en *P. caipirignum* [ver Luo *et al.*, 2017 (designado como *P. cf. maculosum*)].

Tabla 3.3: Comparación morfológica y morfométrica entre cepas de *Prorocentrum porosum* de Colombia (INV MYZ0002), Brasil (LM-084) y Japón (OUN248P).

	Cepas			
	INV MYZ0002	LM-084	OUN248P	Total
Forma celular	Ovoide amplio	Ovoide amplio	Ovoide amplio - oval	Ovoide amplio - oval
Talla celular				
Longitud (µm)	40,2–50,2	40,1–46,8	35,9–43,5	35,9–50,2
Profundidad (µm)	33,8–45,7	33,5–40,4	25,4–35	25,4–45,7
Longitud/profundidad	1,02–1,29	1,02–1,37	1,15–1,41	1,02–1,41
Area periflagelar				
Forma	V amplia	V amplia	V amplia	V amplia
Presencia de collar	A veces	A veces	A veces	A veces
Presencia de espina	No	No	No	No
Protrusiones	No	No	No	No
Plaquetas con listones	Yes	Yes	Yes	Yes
Plaquetas con depresiones	Si, varias en algunas plaquetas	Si, varias en algunas plaquetas	Si, varias en algunas plaquetas	Si, varias en algunas plaquetas

	Cepas			
	INV MYZ0002	LM-084	OUN248P	Total
Forma celular	Ovoide amplio	Ovoide amplio	Ovoide amplio - oval	Ovoide amplio - oval
Número de plaquetas	8	8	8	8
Poros flagelar	Si	Si	Si	Si
Poros accesorio	Si	Si	Si	Si
Ornamentación tecal	Suave	Suave	Suave	Suave
Poros tecaes				
Número de poros	114–149	112–139	102–120	102–149
Poros redondos	Si	Si	Si	Si
Poros oblongos	Si	Si	Si	Si
Ovoides	No	No	No	No
Forma reniforme	Si (principalmente)	Si (principalmente)	Si	Si
Poros con patrón	No, dispersa	No, dispersa	No, dispersa	No, dispersa
Poros en el centro de las tecas	Desprovisto	Desprovisto	Desprovisto	Desprovisto
Longitud poros (µm)	0,55–0,68	0,52–0,57	0,28–0,43	0,28–0,68
Ancho poros (µm)	0,27–0,39	0,32–0,52	0,22–0,28	0,22–0,39
Poros Marginales				
Número de poros	70–92	71–74	69–70	69–92

La presencia de poros tecaes en forma de riñón es otra característica que distingue a *P. porosum* de *P. lima* y *P. hoffmannianum*, los cuales presentan poros redondos, oblongos u ovoides (Tabla 3.4). Sin embargo, esta forma de poro también está presente en *P. caipirignum* [Zhang *et al.* (2015) (como *P. lima* morfotipo 4 y *P. cf. lima* morfotipo 5; Luo *et al.* (2017) (como *P. cf. maculoso*); Nascimento *et al.* (2017)]. Las depresiones encontradas en las plaquetas periflagelares de *P. porosum* también están presentes en *P. hoffmannianum* y *P. caipirignum*, pero no se informa explícitamente en *P. cf. lima* [como *P. lima* morfotipo 5 en Zhang *et al.*, (2015)] (Tabla 3.4), ni en *P. lima* (Nagahama *et al.*, 2011).

Los valores L/P de las células de *P. porosum* (1,02–1,41) son diferentes a los reportados para *P. cf. lima* (*P. lima* morfotipo 5), pero son similares a los de *P. hoffmannianum*, y se superponen, total o parcialmente, a los de *P. caipirignum* (Tabla 3.4). No se proporcionaron datos L/P para *P. lima* cepa UNR-01 en Nascimento *et al.* (2017) pero *P. porosum* muestra relaciones L/P generalmente más bajas que las reportadas para otras cepas de *P. lima* (1,27–1,77; n = 25) en Nagahama *et al.* (2011). De hecho, las cepas de Nagahama *et al.* (2011) pertenecían al complejo *P. lima* [clados A y B, este último que contiene también

UNR-01, como se clasifica en Zhang *et al.* (2015)], e incluyeron los morfotipos 2 y 3 de *P. lima*, que son ovados y similares a los epitipos de *P. lima* (Nagahama *et al.*, 2011), con una relación L/P de 1,37 [Figura 2A en Nagahama y Fukuyo (2005)].

La forma celular de *P. porosum* se parecen más a la de *P. arenarium*, aunque las células de este último se describieron originalmente como redondas o ligeramente ovaladas (Faust, 1994). *P. arenarium* es considerado por varios autores como sinónimo de *P. lima* (Grzebyk *et al.*, 1998), pero como una especie diferente por Nascimento *et al.* (2017), quienes lo atribuirían a *P. lima* morfotipo 1 sensu Zhang *et al.* (2015). Sin embargo, los poros tecales suelen ser redondos en *P. arenarium* y exhibe menos poros tecales y marginales [42–84 y 28–77 (Zhang *et al.*, 2015); 65–73 y 50–57 (Faust, 1994), respectivamente] que *P. porosum*. Finalmente, las dos especies están claramente distantes genéticamente entre sí (Figura 3-12 y Figura 3-13).

Los análisis filogenéticos sitúan a *P. cf. lima* [*P. lima* morfotipo 5 por Zhang *et al.*, (2015)] como el taxón más cercano en relación con *P. porosum*. Ellos comparten varias características comunes, como placas tecales lisas; poros dispersos en forma de riñón (ausentes hacia el centro); un anillo marginal de poros grandes en ambas placas tecales; área periflagelar en forma de V, con un pirenoide conspicuo hacia el centro de la célula. Sin embargo, en *P. cf. lima* [*P. lima* morfotipo 5 por Zhang *et al.*, (2015)], la forma de la célula es oblonga u ovalada, mostrando relaciones L/P mucho mayores que *P. porosum* (Tabla 3.4).

El número de poros tecales y marginales es menor en *P. cf. lima* (*P. lima* morfotipo 5) y esta parece ser la principal diferencia en relación con *P. porosum* (Tabla 3.4). Además, las células de *P. cf. lima* (*P. lima* morfotipo 5) tienden a ser más pequeñas que las de *P. porosum* (Tabla 3.4).

En Bahía Chengue, cerca del área de estudio en Colombia, Arbeláez *et al.* (2017) informaron la presencia de células similares a *P. lima*, que eran más pequeñas (L: $40,4 \pm 2,9 \mu\text{m}$) y más alargadas que las de *P. porosum*. La misma observación ocurrió con células similares a *P. lima* encontradas junto con *P. porosum* en Bonito Gordo durante el presente estudio. En nuestro caso, las células similares a *P. lima* fueron notablemente más pequeñas (aún no hay secuencias genéticas disponibles) con longitudes de 33,0 a 40,9 μm , con una relación L/P entre 1,2 y 1,5 (n = 38).

Tabla 3.4: Comparación morfológica entre *Prorocentrum Porosum* y otras especies/morofotipos de *Prorocentrum* estrechamente relacionados filogenéticamente.

	<i>P. porosum</i> sp. nov. (antes <i>P. sp. tipo 2</i>) ¹	<i>P. cf. lima</i> (<i>P. lima</i> morfotipo 5) ²	<i>P. caipirignum</i> ³	<i>P. caipirignum</i> (como <i>P. cf. maculosum</i>) ⁴	<i>P. hoffmannianum</i> ⁵
Forma celular	Ovoide amplia a oval	Oblongo a oval	Elíptico	Oval a ovoide	Ovoide
Simetría	Simétrico	Simétrico	Simétrico	Simétrico	Simétrico
Talla celular					
Longitud (µm)	35,9–50,2	39,7–44,0	37–44	38,7–51,7	33,2–49,2
Profundidad (µm)	25,4–45,7	25,2–28,9	29–36	26,1–39,9	28,7–44,0
Longitud/Profundidad	1,02–1,41	1,48–1,61	1,17–1,37	1,18–1,55	1,02–1,35
Área periflagelar					
Forma	V amplia	V amplia	V amplia	V amplia	V amplia
Collar (teca izquierda)	A veces	Si (curvo o recto)	A veces	-	Si
Brida gruesa	No	No (de acuerdo a fotos)	No	No (de acuerdo a fotos).	Si
Presencia de espina	No	No (de acuerdo a fotos)	No	No (de acuerdo a fotos).	No
Protrusiones	No	No (de acuerdo a fotos)	No	No (de acuerdo a fotos).	No
Plaquetas con listón	Si	Si (de acuerdo a fotos)	Si (de acuerdo a fotos)	Si (de acuerdo a fotos).	Si
Plaquetas con depresiones	Si, varias en algunas plaquetas	Si	Si, generalmente simple por plaqueta	Si, varios en algunas plaquetas	Si, varios en algunas plaquetas
No. of plaquetas	8	8	6-7	8	8
Poro flagelar	Si	Si	Si	Si	Si
Poro accesorio	Si	Si	Si	Si	Si
Ornamentación en tecas	Suave	Suave	Suave	Suave	Reticulado-foveado
Poros tecales					
Número de poros	102–149	56–78	62–76	59–79	-
Poros redondos	Si	No	Si	No	Si
Poros oblongos	Si	Si	Si	Si	No
Poros ovoideos	No	No	No	No	Si
Poros reniformes	Si (principalmente)	Si	Si	Si	No
Poros en patrones	No, disperso	No, disperso (de acuerdo a fotos)	En muchos casos concéntrico	No, disperso (de acuerdo a fotos)	No, disperso
Poros en zona central de la teca	Desprovisto	Desprovisto (De acuerdo a fotos)	Desprovisto	Desprovisto	Desprovisto
Longitud poros (µm)	0,28–0,68	-	0,50–0,90	0,39–0,86	0,39–0,75
Ancho poros (µm)	0,22–0,39	-	-	0,18–0,51	-
Marginal pores					
Número de poros	69–92	51–69	53–59	51–66	-
Tipo de poros	Oblongo? reniforme	Oblongo o reniforme	Oblongo o reniforme (de	Oblongo o reniforme (de	Redondos a ovoideos
Depresiones tecales					
Número de depresiones	-	-	-	-	855–1013
Depresiones redondas	-	-	-	-	Si
Depresiones oblongas	-	-	-	-	Si
Depresiones ovoideas	-	-	-	-	No
Depresiones reniformes	-	-	-	-	No
Longitud depresiones (µm)	-	-	-	-	0,75
Ancho depresiones (µm)	-	-	-	-	0,40
Banda intercalar	Suave horizon.	-	Suave	Transversal	Suave
Pirenoide	Si	Si	Si	Si	Si
Forma del núcleo	Reniforme	-	-	Elongado	Oval
Posición del núcleo	Posterior	-	Posterior	Posterior	Posterior

¹ Este Trabajo (cepas: INV MYZ002, LM-084 and OUN248P); ² Zhang et al. (2015) (strain: SE10 and cepas: AS4F8, DS4G4 and DS4D9); ³ Nascimento et al. (2017) (cepas: LCA-B4, UFBA064); ⁴ Luo et al. (2017) (cepas: TIO11, TIO102, TIO138, TIO179, TIO180); ⁵ Herrera-Sepúlveda et al. (2015) (cepas: CCMP2804, CCMP683).

3.4.2 Distribución geográfica

■ *Gambierdiscus*, cepa INV MYZ0001

Gambierdiscus caribaeus fue originalmente aislado y descrito en el Caribe (Belice, Isla Gran Caimán) y Aguas del Pacífico (Tahití, Palau) por Litaker *et al.* (2009). Desde entonces, se ha reportado su presencia en muchas localidades en todo el mundo, como Corea (Jeong *et al.* 2012), Hainan Isla en el Mar de China Meridional (Zhang *et al.* 2016), Tailandia (Tawong *et al.* 2016), Islas Canarias Rodríguez *et al.* 2017), Hawái (Pisapia *et al.* 2017), Vietnam (Ho *et al.* 2018) y Malasia (Mustapa *et al.* 2019).

En el Atlántico occidental tropical y subtropical, cerca del área de este estudio, *G. caribaeus* parece ser ampliamente distribuido en el Caribe y el Golfo de México, desde el norte en Florida y Texas, a través de las islas del Caribe y en áreas continentales de México, Belice,

Estados Unidos, Islas Vírgenes y Cuba (Tester *et al.* 2013; Rains y Parsons 2015; Díaz-Asencio *et al.* 2019). De acuerdo con lo anterior, el presente estudio confirma la presencia de *G. caribaeus* en Colombia y en el sur del Caribe.

Para el caso de Colombia, las características morfológicas en este estudio fueron comparables con los expuestos por Arbeláez *et al.* (2017) en especímenes identificados como *Gambierdiscus* cf. *caribaeus* recolectados en dos sistemas costeros en la Bahía de Chengue, también ubicado en el TNNP, al este de Bonito Gordo. Estos autores reportan por primera vez, a partir de características únicamente morfológicas, la presencia de *G. cf. caribaeus* en el Caribe colombiano, aunque el promedio los tamaños de las células que encontraron fueron ligeramente más pequeños ($82,7 \pm 4,3 \mu\text{m}$ para la longitud ventral-posterior y $81,2 \pm 6,7 \mu\text{m}$ para el ancho) que los reportados en este estudio.

▪ ***Prorocentrum*, cepa INVMYZ0003**

Respecto a *P. borbonicum*, esta especie se aisló y describió por primera vez de una franja de arrecife de coral de St Leu de la isla de La Reunion (Francia, suroeste del Océano Índico) por Ten-Hage *et al.* (2000a). Desde entonces, también se ha informado en algunos lugares del mundo como el Mar de China Meridional (Zou *et al.*, 2021); mar Mediterráneo (Aligizaki *et al.*, 2009) y Florida (David, 2014). Hasta 2019, *P. borbonicum* no había sido reportada para las costas de Latinoamérica (Durán-Riveroll *et al.*, 2019) sin embargo, desde ese año se reportó en playas de la provincia de Santa Elena en Ecuador (Catuto, 2019) y luego en la costa de Paraná en Brasil (Junqueira de Azevedo, 2020). Según los resultados de este trabajo, este sería el primer reporte de la presencia de esta especie en el Caribe colombiano y para el área del Caribe.

Es de destacar los pocos lugares donde este organismo ha sido reportado en comparación con otros organismos del mismo género, quizás porque no suele encontrarse en altas densidades y/o por su pequeño tamaño, pasaría desapercibido (Saburova y Chomérat, 2016).

3.4.3 Ecología y comportamiento

▪ ***Gambierdiscus*, cepa INVMYZ0001**

La amplia distribución tropical de *G. caribaeus* concuerda con la observación de que las cepas de esta especie toleran altos límites térmicos superiores para el crecimiento ($33,6 \text{ }^\circ\text{C}$, Kibler *et al.* 2012; $26,9\text{--}29,0 \text{ }^\circ\text{C}$, Tester *et al.* 2020 y referencias en el mismo) en

relación con estudios comparativos con otras especies de *Gambierdiscus*. También según las pruebas realizadas por Kibler *et al.* (2012), las condiciones características del mar Caribe tales como altas temperaturas, salinidad e irradiancia, junto con los amplios rangos de tolerancia de *G. caribaeus* (entre 16,8 y 33,6 °C de temperatura; entre 14,5 y 41 para salinidad y 12 - 700 μmol de fotones $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para la irradiancia) favorecería su presencia en esta región.

Gambierdiscus caribaeus fue colectado como epífita sobre hojas de *Thalassia testudinum*, un pasto marino de amplia y permanente distribución en el área de muestreo, caracterizado al igual que otras fanerógamas y macroalgas marinas por servir como sustrato para un gran número de organismos (González y Díaz 2008). Sin embargo, no se descarta que se pueda encontrar en otros tipos de sustratos. Por ejemplo, el TNNP exhibe una alta diversidad, con 364 especies de algas registradas (11 cianobacterias, 218 Rhodophyta, 35 Heterokontophyta (sin incluir Phaeophyceae) y 52 Chlorophyta (Díaz-Pulido y Díaz-Ruiz 2003). Entre éstos se reportan: *Polysiphonia ramentacea* Harvey, *Derbesia marina* (Lyngbye) Solier, *Ulva fasciata* Delile (= *Ulva lactuca* Linnaeus), *Dasya* C. Agardh y *Dictyota Lamouroux*, que se han destacado por estar entre los sustratos más colonizados por *G. caribaeus* (Rains y Parsons, 2015; Mustapa *et al.* 2019;); y *Dasya*, *Dictyota cervicornis* Kützing (= *Canistrocarpus cervicornis* (Kützing) De Paula et De Clerck), *Acanthophora spicifera* (Vahl) Børgesen, *Jania* Lamouroux y el césped de algas *Polysiphonia* *Ceramium* por estimular el crecimiento de éste (Mustapa *et al.* 2019; Rains y Parsons 2015). Por lo tanto, estos ensamblajes ofrecerían un favorable nicho para la presencia y desarrollo de las poblaciones *G. caribaeus* en la zona. En este sentido, diferentes grados de preferencia de microhábitat (incluidos factores bióticos y abióticos) han sido evaluados en el campo para *Gambierdiscus* (Boisnoir *et al.* 2019; Bravo *et al.* 2020; Lee *et al.* 2020), configurando la distribución espacial y la abundancia de sus poblaciones.

En los cultivos, las células de *G. caribaeus* generalmente exhibieron un comportamiento sedentario, principalmente ubicado en la parte inferior de los matraces, con pocos individuos nadando activamente en la columna de agua. Las células se unieron flojamente a la parte inferior de los matraces donde se cultivaron, como también notó Mustapa *et al.* (2019), que informó que *G. caribaeus* tenía la adherencia más baja en un estudio comparativo con *Gambierdiscus balechii* Fraga, Rodríguez et Bravo y *Gambierdiscus* tipo 7.

▪ *Prorocentrum*, cepa INVMYZ0003

Durante el 2018, en el PNNT, morfotipos con apariencia y tamaño de *P. borbonicum* se encontraron también en hojas de *T. testudinum* y en colectores de malla de fibra de vidrio colocados durante 24 h en estos prados en los meses de marzo (temporada seca mayor), junio (lluvia menor) y octubre (lluviosa mayor). Durante este último mes se encontraron las mayores abundancias, tanto en las mallas como en *T. testudinum*; con valores registrados de temperatura entre 26,5 y 31,6° C y salinidad entre 32,6 y 36,8.

Aunque *P. borbonicum* se encontró en *T. testudinum*, no se descarta que se pueda encontrar en otro tipo de sustratos, al considerar la gran diversidad de macroalgas existentes en el PNNT (Díaz-Pulido y Díaz-Ruíz, 2003). Aligizaki *et al.* (2009) también encontraron *P. borbonicum* en sedimentos en aguas costeras griegas.

El PNNT también es un punto crítico de biodiversidad de arrecifes de coral, con algunos parches de fanerógamas y manglares también presentes, ubicados entre la ciudad de Santa Marta (>455000 habitantes) y varias desembocaduras de ríos pequeños (Bayraktarov *et al.*, 2014). Las características geomorfológicas generales están influenciadas por las estribaciones noroccidentales de la Sierra Nevada de Santa Marta que entran hacia el mar, configurando un litoral en el que se alternan promontorios rocosos y ensenadas con playas, entre las que se encuentra Bahía Concha (Bonito Gordo). La región experimenta una fuerte variación estacional en sus variables (temperatura, salinidad, viento y corrientes de agua) debido a la alternancia de estaciones secas con surgencias costeras y estaciones lluviosas. Por ejemplo, la temperatura (disminuyendo en promedio de 28 a 21°C) (Salzwedel y Müller, 1983; Bayraktarov *et al.*, 2014), la salinidad (aumentando de 33 a 38) (Salzwedel y Müller, 1983; Bayraktarov *et al.*, 2014) y mayor viento en las estaciones secas (Salzwedel y Müller, 1983).

En cultivos, las células de *P. borbonicum* generalmente exhibieron un comportamiento sedentario, principalmente ubicado en la parte inferior de los contenedores, con algunas células nadando activamente en la columna de agua. Hubo fuertes adhesiones hacia el fondo de los contenedores formando generalmente agregaciones que aumentaron a medida que los cultivos envejecieron.

▪ *Prorocentrum*, cepa INVMYZ0002:

La presencia de *P. porosum* en Colombia, Brasil y Japón, indicaría que es una especie de amplia distribución mundial además de encontrarse en sustratos diferentes: sobre

sustrato vivo como hojas de *T. testudinum* y sobre la macroalga *Padina minor* como se encontraron en Colombia y Japón, respectivamente, y sobre sustrato inerte en mallas de fibra de vidrio expuestas en Brasil.

3.4.4 Relaciones Filogenéticas

▪ *Gambierdiscus*, cepa INV MYZ0001

La caracterización molecular de especies de *Gambierdiscus* es generalmente apoyado por secuencias de ADNr de SSU y/o LSU (Litaker *et al.* 2009; Fraga y Rodríguez, 2014; Rhodes *et al.* 2017; Kretzschmar *et al.* 2019a), mientras que SSU, LSU y ITS DNAr se han utilizado para diseñar conjuntos de cebadores específicos para análisis semicuantitativo (qPCR) en campo (p. ej., Vandersea *et al.* 2012; Nishimura *et al.* 2013; Díaz Asencio *et al.* 2019). Sin embargo, dada la variabilidad en cuanto a las secuencias ITS DNAr, estudios previos informaron solo comparaciones entre especies estrechamente relacionadas en lugar de filogenias (Litaker *et al.* 2009; Kretzschmar *et al.* 2019b). En este estudio las secuencias, LSU y ITS DNAr sin ambigüedad, identificaron la cepa INV MYZ0001 como perteneciente a *G. caribaeus*, con *G. carpenteri* y *G. jejuensis* como especies hermanas, de acuerdo con estudios previos (p. ej., Jang *et al.* 2018).

▪ *Prorocentrum*, cepa INV MYZ0003

Filogenéticamente, la cepa INV MYZ0003 identificada como *P. borbonicum*, representa un clado bien definido a través de las secuencias LSU DNAr, dada las grandes distancias genéticas con respecto a las especies relacionadas más cercanas (*P. panamense*, *P. sipadanense* y *P. playfairi*). Por lo que no fue necesario el uso de más marcadores moleculares para representar su posición. Este no siempre es el caso para otras *Prorocentrum* spp. que dado su similitud genética necesitan al menos de un marcador molecular adicional (ITS DNAr, ITS2 estructura secundaria) para delinear sus diferencias entre ribotipos cercanos (por ejemplo, Nascimento *et al.*, 2017).

▪ *Prorocentrum*, cepa INV MYZ0002

Las relaciones filogenéticas de cepas colombianas y brasileñas de *P. porosum* se infirieron a partir de dos genes de ARN ribosomal codificados nuclearmente marcadores (LSU DNAr D1–D3 y regiones ITS) para abordar la delimitación de especies. Estos resultados confirman las filogenias disponibles de *Prorocentrum*, representando a *P. porosum* dentro

del llamado “Clado 2 de *Prorocentrum*” (Mur ray *et al.*, 2009), que incluye otras especies bénticas (Figura 3-12 y Figura 3-13).

Las especies más emparentadas en ambas filogenias fueron *P. caipirignum*, *P. hoffmannianum* y dos filotipos reportados como *P. cf. lima*- uno designado como *P. lima* morfotipo 5 (sensu Zhang *et al.*, 2015), y el otro como *Prorocentrum sp.* tipo 1 (Nishimura *et al.*, 2020a). Sin embargo, solo la secuencia LSU DNAr D1-D2 está disponible para este último, lo que excluye cualquier evaluación adicional de la filogenia de ITS o estructuras secundarias en esa región.

Recientemente, Nishimura *et al.* (2020a) propusieron un nuevo filotipo, *Prorocentrum sp.* tipo 2, incluyendo dos cepas, PL1-11 (no disponible) y la cepa japonesa OUN248P (una cepa perdida incluida en el presente estudio para el examen morfológico), que coincidía con el clado de *P. porosum*. Las *p*-distancias medias calculadas en el presente trabajo entre las cepas de *P. porosum* y su especie estrechamente relacionada, *P. caipirignum*, fueron equivalentes al rango de los valores obtenidos cuando este último fue comparado con otras especies/filotipos similares en ambos árboles. Respecto al DNAr ITS, las distancias-*p* entre *P. porosum* y sus parientes cercanos especies/filotipos (0,066–0,088), son significativamente más grandes que 0,04, un valor límite que puede usarse para delinear la mayoría de las especies de dinoflagelados de vida libre (Litaker *et al.*, 2007). Sin embargo, estos autores advirtieron recientemente que las especies evolucionadas podrían mostrar valores de *p* por debajo de ese límite, requiriéndose de datos morfológicos y genéticos adicionales para resolver su posición. Sin embargo, este no es el caso de *P. porosum*, en el que las secuencias ITS de DNAr pueden obtenerse fácilmente y usarse como códigos de barras de especies.

Dada la falta de información morfológica previa para *Prorocentrum sp.* cepas tipo 2 PL1-11 y OUN248P, su similitud genética no quedó clara en Nishimura *et al.* (2020a) si lo harían representan una nueva especie. Previamente, Chomérat *et al.* (2019) representado también una filogenia parcial LSU basada en DNAr de *Prorocentrum*, que incluye el complejo *P. lima*, y adscribieron cada secuencia de acuerdo con los cinco morfotipos designados por Zhang *et al.* (2015), excepto el de cepa PL1-11 que permaneció sin etiquetar en esa oportunidad. Recientemente, Nishimura *et al.* (2020a) designaron los clados 1–4 del complejo *P. lima* basándose en las secuencias LSU D1-D3. Los autores también atribuyeron a *P. lima* los morfotipos 1, 2, 3, 4 y 5 como complejo *P. lima* clado 3,

complejo *P. lima* subclado 1a, *P. lima* complejo subclade 1b, *P. caipirignum* subclade c y *P. cf. lima*, respectivamente (Figura 3 en Nishimura *et al.*, 2020a). En el presente estudio, las características morfológicas y moleculares de las cepas colombianas, brasileras y japonesas fueron investigadas y comparadas con las de las especies/filotipos estrechamente relacionadas, y estos resultados apoyaron la erección de *P. porosum* como una nueva especie.

3.4.5 Toxigenidad

▪ ***Gambierdiscus*, cepa INVMYZ0001**

Varios trabajos han demostrado la toxicidad de esta especie (Tawong *et al.* 2016; Litaker *et al.* 2017) y la producción de ciguatoxinas y maitotoxinas a través de bioensayos de neuro-2a y lisis de eritrocitos (Holland *et al.* 2013; Litaker *et al.* 2017; Pisapia *et al.* 2017). A pesar de su inferior capacidad toxigénica observada en estos estudios comparativos, su presencia en el Caribe continental colombiano podría estar relacionada con los brotes de ciguatera, ya reportados en la zona (Álvarez, 1997; Álvarez, 1999; Gaitán 2007). Otra posibilidad es que existan otras especies de *Gambierdiscus* más tóxicas aún no descubiertas y que sean más difíciles de mantener y crecer en el laboratorio, como principales responsables de PPC en la región. Los resultados del presente trabajo demuestran la importancia de fortalecer la identificación de especies del género *Gambierdiscus* en el Caribe colombiano para comprender mejor la dinámica regional y las tendencias de la ciguatera. Además, se sugiere que es necesario ampliar el muestreo estos dinoflagelados, para conocer el tamaño, composición y distribución de sus poblaciones, a otras zonas del Caribe colombiano.

▪ ***Prorocentrum*, cepa INVMYZ0003**

Realizando bioensayos en ratones con extractos crudos de *P. borbonicum* Ten-Hage *et al.* (2000a) y Ten-Hage *et al.* (2002) encontraron letalidad, con síntomas previamente asociados a neurotoxicidad como postración, parálisis por cojera progresiva (desde las extremidades posteriores a las anteriores), disnea y convulsiones terminales, sin detectar toxinas diarreas o paralizantes usando análisis en HPLC. Estos síntomas podrían deberse probablemente a cualquier análogo de PLTX, ya que son característicos en ratones después de la inyección intraperitoneal con muestras que contienen compuestos similares a PLTX (Riobó *et al.*, 2011). De manera similar, *P. borbonicum* aislado de aguas costeras griegas también fue letal para el camarón de salmuera *Artemia* sin detectar la

presencia de ácido okadaico (Aligizaki *et al.*, 2009). Según Ten-Hage *et al.* (2002), los experimentos electrofisiológicos sugirieron la presencia de compuestos similares a palitoxina; también se sugirió que *P. borbonicum* poseía toxinas polares de acción rápida. Los mismos autores, tras análisis con HPLC-MS y MS/MS, revelaron la presencia de dos nuevas toxinas isoméricas, denominadas borbotoxina-A y borbotoxina-B.

Se encontró que el mecanismo de acción de la borbotoxina-A es el bloqueo de la postsinapsis de los receptores nicotínicos de la acetilcolina. Estos receptores están involucrados en varias funciones centrales, incluyendo: control voluntario del movimiento, la memoria y la atención, sueño y estado de alerta, dolor y ansiedad (Le Novère *et al.*, 2002). En este estudio, se confirmó la presencia de borbotoxina, pero el resultado más relevante fue la identificación y cuantificación del análogo de la PLTX, “42-hidroxi-palitoxina (42-OH-PLTX)” responsable de la actividad hemolítica en *P. borbonicum* INV MYZ003. La palitoxina (PLTX) y su análogo 42-OH-PLTX se encuentran entre las biotoxinas marinas no proteicas más potentes que existen (Ciminiello *et al.*, 2009). Estos compuestos se aislaron por primera vez en 1971 y 2009, respectivamente, de zoantidos del género *Palythoa* en Hawái (Moore y Scheuer, 1971; Ciminiello *et al.*, 2009), con 42-OH-PLTX siendo el principal análogo de la palitoxina presente en las muestras de *Palythoa toxica* y un componente principal del extracto tóxico de la muestra de *P. tuberculosa*, con efectos biológicos similares a los del propio PLTX (Ciminiello *et al.*, 2009). Kerbrat *et al.* (2011) también reportan la presencia de estas toxinas en la cianobacteria *Trichodesmium erythraeum* en Nueva Caledonia (Oceanía). En bioensayos por inyección intraperitoneal con extractos de esta cianobacteria en ratones Kerbrat *et al.* (2011) observaron síntomas como reducción de actividad y capacidad de respuesta, espasmos convulsivos frecuentes, intranquilidad y parálisis parcial, que progresó rápidamente a una total parálisis, que podría conducir a su muerte. Por su parte Mori *et al.* (2016), descubrió un compuesto con actividad idéntica a PLTX en *Chondria armata*, al estudiar las propiedades como vermífugo e insecticida de esta alga roja.

Entre los casos más representativos por sus negativos impactos a nivel socioeconómico, ecológico y de salud humana, debido a la producción de PLTX y varios de sus análogos, se destacan varias especies de dinoflagelados del género *Ostreopsis*, tales como: ostreocinas en *Ostreopsis siamensis* (Usami *et al.*, 1995; Terajima *et al.*, 2019); mascarenotoxinas en *Ostreopsis mascarenensis* (Lenoir *et al.*, 2004) y ovatoxinas en *Ostreopsis ovata* (Ciminiello *et al.*, 2008a; García-Altare *et al.*, 2015). De acuerdo con lo

anterior, este estudio reporta por primera vez de la presencia de un análogo de palitoxina (42-OH-PLTX), en un dinoflagelado de un género distinto de *Ostreopsis*, como lo es *Prorocentrum*, representada por *P. borbonicum*, confirmando las sospechas de Ten-Hage *et al.* (2002) sobre la presencia de análogos de palitoxina en este organismo.

Aunque la palitoxina y varios de sus congéneres también se han detectado en varios organismos marinos como peces (Fukui *et al.*, 1987), moluscos, cangrejos, estrellas de mar, corales, esponjas, poliquetos, gorgonias (Aligizaki *et al.*, 2011; Biré *et al.*, 2013), su presencia se atribuye generalmente a su tránsito y bioacumulación a través de la red trófica, también asociada por su estrecha coexistencia observada con zoantidos que producen estas toxinas, sin establecer claramente su productor original.

La presencia de 42-OH-PLTX y borbotoxinas en *P. borbonicum* lo implica como otro de los productores y potenciales dispersores de estas biotoxinas, no solo en Colombia donde se ha reportado por primera vez, pero posiblemente en otras áreas del mundo donde se ha encontrado. La presencia de *P. borbonicum* en el Caribe debería ser considerado un riesgo potencial para la salud y bienestar humano, más aún cuando la economía de la región del Caribe se basa en el turismo, una industria que ha registrado ingresos de 25 mil millones de dólares estadounidenses por año, lo que representa el 20% del Producto Interno Bruto (Burke and Maidens, 2005; Kingsbury, 2005; Pantojas, 2006). Este hallazgo debe servir para fortalecer el monitoreo de las floraciones de algas nocivas bénticas (BHAB) y diseñar e implementar un sistema de alerta temprana.

▪ ***Prorocentrum*, cepa INVMYZ0002**

Los análisis de LC-HRMS indicaron que la cepa colombiana INVMYZ0002 de *P. porosum* era toxigénica (productoras de OA), haciéndola como posible candidata como potencialmente causante de episodios de DSP u otros efectos negativos atribuidos a la OA en el Caribe colombiano. Sin embargo, las cantidades fueron limitadas (<2 pg de células libres de OA⁻¹). No se observaron en esta cepa cantidades detectables de otras toxinas diarreicas de los mariscos (DST) (es decir, DTX1 y DTX2) y otras toxinas lipofílicas (es decir, PTX1, PTX2, PTX6 e YTX). En cualquier caso, los resultados de los análisis obtenidos en este trabajo apuntan a la producción de OA en sus formas libres y de éster por parte de *P. porosum*. Esta toxina ha sido previamente aislada de varias especies de *Prorocentrum*, incluyendo *P. lima* (Murakami *et al.*, 1982), *P. hoffmannianum* (Aikman *et al.*, 1993), *P. concavum* (Dickey *et al.*, 1990), *P. arenarium* (Ten-Hage *et al.*, 2000b), *P.*

rhathymum (Caillaud *et al.*, 2010), *P. caipirignum* (Nascimento *et al.*, 2017), *P. cf. fukuyoi* (Nishimura *et al.* 2020b), y *P. foraminosum* (Kameneva *et al.*, 2015) [reassignado como *P. aff. foraminosum* por Chomérat *et al.* (2019)].

El ácido okadaico y sus análogos son inhibidores altamente específicos de serina/treonina, proteína fosfatasas PP1 y PP2A, alteraciones en ADN y componentes celulares, efectos sobre el sistema inmunológico, nervioso y desarrollo embrionario y el papel potencial como agente cancerígeno han sido reportados (Prego-Faraldo *et al.*, 2013; Valdíglesias *et al.*, 2013; Louzao *et al.*, 2015; Amar *et al.*, 2018). Nuestros hallazgos destacan la importancia de investigar las DST y las especies de algas nocivas relacionadas (como *P. porosum*) para prevenir efectos adversos para la salud de los seres humanos y organismos marinos.

Perfiles de DST distintos son producidos por diferentes especies de *Prorocentrum* (Lee *et al.*, 2020) e incluso por diferentes cepas de una misma especie. Para las cepas de *P. lima*, por ejemplo, Bravo *et al.* (2001) reportaron la detección de libre OA, DTX1 y DTX2, junto con ésteres OA y DTX2, mientras que Rhodes *et al.* (2006) detectaron OA (libre y ésteres) y bajos niveles de DTX1 libre, y Kilcoyne *et al.* (2020) detectaron OA, DTX1 y sus ésteres. De igual forma, Moreira-González *et al.* (2019) detectaron OA y DTX1 en cepas de *P. lima* de Cuba y el sur de Brasil, pero sólo OA en otra cepa del noreste de Brasil. El ácido okadaico también fue el único DST detectado en dos cepas de *P. caipirignum* en Brasil (Nascimento *et al.*, 2017). En una evaluación mucho más completa, Nishimura *et al.* (2020a) informaron que las 242 cepas probadas del complejo *P. lima* y *P. caipirignum* produjo OA en niveles marcadamente variables, y algunas cepas del complejo *P. lima* y *P. caipirignum* también produjeron DTX1, aunque en niveles muy bajos en el caso de *P. caipirignum*.

Rhodes *et al.* (2006) analizaron OA libre y total en extractos de una cepa de *P. lima* durante 34 días (fase estacionaria alcanzada después de 18 días). E informaron que las células inicialmente liberaron OA libre en el medio de cultivo, pero la proporción de OA libre (tanto extracelular como celular) a ésteres de OA (celular) disminuyó a medida que el cultivo se acercó a la fase estacionaria. Rhodes *et al.* (2006) no detectaron ésteres de OA extracelular en el medio. Para la cepa INV MYZ0002 de *P. porosum* en el presente estudio, los análisis de la toxina se realizaron en células en cualquiera de las fases exponenciales tempranas, cuando no se observó lisis celular, ni fase estacionaria de crecimiento. Se pudo cuantificar OA intracelular (formas libres y ésteres) y extracelular libre en todas las

alícuotas analizadas. Niveles de OA en crudo e hidrolizado los extractos celulares fueron mayores en la fase exponencial tardía. Lo contrario ocurrió en el medio extracelular.

En resumen, basado en datos morfológicos y moleculares, una nueva especie bentónica del género *Prorocentrum* productora de OA se caracterizó a partir de aislados obtenidos de las regiones tropicales/subtropicales del Atlántico (Mar Caribe colombiano y noreste de Brasil) y océano Pacífico (Sur de Japón). *Prorocentrum porosum* es filogenéticamente cercano a otras especies tóxicas (*P. caipirignum* y *P. hoffmannianum*) y filotipos descritos en la literatura (*P. cf. lima* = *P. lima* morfotipo 5 y *Prorocentrum sp.* tipo 1). Basado en las pocas secuencias de ADNr de LSU disponibles. *P. porosum* parece estar distribuido en áreas tropicales/subtropicales de ambas Cuencas del Atlántico y del Pacífico. Su contribución relativa dentro de los ensamblajes de dinoflagelados bentónicos es aún desconocida y debe ser considerado en estudios adicionales.

3.5 Conclusiones y recomendaciones

Para el Caribe continental colombiano se confirma la presencia de un dinoflagelado bentónico del género *Gambierdiscus* (*G. caribaeus*), se reporta por primera vez otro del género *Prorocentrum* (*P. borbonicum*) y se reporta y describe una nueva especie, también del género *Prorocentrum* (*P. porosum*), todos con propiedades toxigénicas.

Se confirma por primera vez la presencia de una toxina análoga de la palitoxina (42-hidroxi-palitoxina: 42-OH-PLTX) en un dinoflagelado del género *Prorocentrum* (en *P. borbonicum*), estos análogos solo han reportado hasta fecha en los dinoflagelados bentónicos del género *Ostreopsis*.

Los resultados obtenidos demuestran el escaso conocimiento en el Caribe colombiano que se tiene respecto a los dinoflagelados bentónicos, por lo que dado su importancia toxigénica, requieren de más estudios que permitan en el futuro prevenir o mitigar sus impactos.

El descubrimiento de una especie con amplia distribución mundial, ratifica una vez más el poco conocimiento hacia estos organismos, que para este caso en particular pone de manifiesto la necesidad del uso mancomunado de técnicas morfológicas como moleculares.

Bibliografía

- Accoroni, S. 2012. Ecology, morphological variability and life cycle stages of the toxic benthic dinoflagellate *Ostreopsis* cf. *ovata*. Tesis de doctorado en biología y ecología marina. Università politécnica de le marche. Roma, Italia, 37 p.
- Accoroni, S., T. Romagnoli, S. Pichierri y C. Totti. 2012a. Effects of the bloom of harmful benthic dinoflagellate *Ostreopsis* cf. *ovata* on the microphytobentos community in the northern Adriatic Sea. *Harmful Algae*, 55: 179-190.
- Accoroni, S., T. Romagnoli, S. Pichierri, F. Colombo y C. Totti. 2012b. Morphometric analysis of *Ostreopsis* cf. *ovata* cells in relation to environmental conditions and bloom phases. *Harmful Algae*, 19: 15-22.
- Accoroni, S., F. Colombo, S. Pichierri, T. Romagnoli, M. Marini, C. Battocchi, A. Penna y C. Totti. 2012c. Ecology of *Ostreopsis* cf. *ovata* blooms in the northwestern Adriatic Sea. *Cryptogamie Algologie*, 33(2):191-198.
- Accoroni, S. y C. Totti. 2016. The toxic benthic dinoflagellates of the genus *Ostreopsis* in temperate areas: a review. *Advances in Oceanography and Limnology*, 7(1): 1-15. DOI: 10.4081/aiol.2016.5591
- Aikman, K. E., D. R. Tindall y S. L. Morton. 1993. Physiology and potency of the dinoflagellate *Prorocentrum hoffmannianum* (Faust) during one complete growth cycle, In: Smayda, T.J., Shimizu, Y. (Eds.), *Toxic phytoplankton blooms in the sea*. Elsevier Science New York, pp. 463-468.
- Aligizaki, K. y G. Nikolaidi. 2006. The presence of the potentially toxic genera *Ostreopsis* and *Coolia* (Dinophyceae) in the North Aegean Sea, Greece. *Harmful Algae*, 5(6): 717–730.
- Aligizaki, K., A., P. Katikou y G. Nikolaidi. 2009a. Toxic benthic dinoflagellates and potential risk in the Mediterranean Sea. *International conference of molluscan shellfish safety*. Nantes, Francia. 6 p.
- Aligizaki, K., G. Nikolaidis, P. Katikou, A. D. Baxevanis and T. J. Abatzopoulos. 2009b. Potentially toxic epiphytic *Prorocentrum* (Dinophyceae) species in Greek coastal waters. *Harmful Algae*, 8: 299–311. doi: 10.1016/j.hal.2008.07.002

- Aligizaki, K., P. Katikou, y A. Milandri. 2011. Occurrence of palytoxin group toxins in seafood and future strategies to complement the present state of the art. *Toxicon*, 57: 390–399. doi: 10.1016/j.toxicon.2010.11.014
- Almazán-Becerril, A., S. Escobar-Morales, G. Rosiles-González y F. Valadez. 2015. Benthic epiphytic dinoflagellates from the northern portion of the Mesoamerican reef system. *Bot. Mar.*, 58(2): 115-128.
- Alvarez, F. 1981. Introducción a la ecología del mar. Fascículos de ecología II. Editorial Mejoras, Bogotá. 90 p.
- Álvarez, R. 1997. Primer caso de ciguatera en el Caribe colombiano por *Seriola zonata* (Mitchill, 1815) (Pisces: Carangidae). *Biomédica*, 17: 67-68.
- Álvarez, R. 1999. Tres brotes de ictiosarcotoxicosis por ingestión de *Sphyraena barracuda* (Walbaum) y *Seriola zonata* (Mitchill, 1815) en el Caribe de Colombia. *Biomédica*, 9: 35-38.
- Amar, M., R. Aráoz, I. B. Iorga, T. Yasumoto, D. Servent and J. Molgó. 2018. Prorocentrolide-a from cultured *Prorocentrum lima* dinoflagellates collected in Japan blocks sub-types of nicotinic acetylcholine receptors. *Toxins*, 10, 97. doi: 10.3390/toxins10030097
- Anderson, D. M. and P. S. Lobel. 1987. The continuing enigma of ciguatera. *Biol. Bull.*, 172: 89–107.
- Andrade, C. A. 1993. Análisis de la velocidad del viento en el mar Caribe. *Bol. Cient. Cent. Invest. Oceanogr. Hidrogr.*, 13: 33-43.
- Arbeláez, M. N. 2017. Variación espacio-temporal del ensamblaje de dinoflagelados potencialmente tóxicos epífitos de *Thalassia testudinum* (Bank ex Köning, 1805) en Santa Marta, Caribe colombiano. M. Sc. Tesis. Universidad Nacional de Colombia sede Caribe. Magister en ciencias-Biología, 110 pp.
- Arbeláez, N., J. E. Mancera-Pineda y B. Reguera. 2017. Dinoflagelados epífitos de *Thalassia testudinum* en dos sistemas costeros de Caribe colombiano. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*, 46(2): 9-40.
- Ardila, N., D. Von Schiller, S. Moreno, D. Alonso y G. Ospina. 1997. Peces epibentónicos asociados a *Thalassia testudinum*, en la bahía de Taganga, Magdalena, Caribe colombiano. En A. Santos y L. Nieto (Eds.), IV Simposio Colombiano de Ictiología. Resúmenes de Conferencias y Exposiciones. Agosto, 1997. Universidad del Magdalena, Santa Marta.
- Arteaga-Sogamoso, E., F. Rodríguez y J. E. Mancera-Pineda. 2021. Morphological and molecular characterization of *Gambierdiscus caribaeus* (Dinophyceae), with a confirmation of its occurrence in the Colombian Caribbean Tayrona National Natural Park. *Botanica Marina*, 64: 149-159.

- Arteaga-Sogamoso, E., P. Riobó, F. Rodríguez, J. E. Mancera-Pineda y J. Franco-Angulo. 2022. First record of the dinoflagellate *Prorocentrum borbonicum* in the continental coast of Colombian Caribbean: A new 42-hydroxi-palytoxin producer. *Front. Mar. Sci.* 9: 973250. [https://doi.org/ 10.3389/fmars.2022.973250](https://doi.org/10.3389/fmars.2022.973250)
- Arteaga-Sogamoso, E., F. Rodríguez, A. Amato, B. Ben-Gigirey, S. Fraga, L. L. Mafra, L. F. Fernandez, C. E. J. de Azevedo Tibiriçá, N. Chomérat, T. Nishimura, C. Homma, M. Adachi y J. E. Mancera-Pineda. 2023. Morphology and phylogeny of *Prorocentrum porosum* sp. nov. (Dinophyceae): a new benthic toxic dinoflagellate from the Atlantic and Pacific Oceans. *Harmful Algae*, 121-102356. Accessed at. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2022.102356>
- Bagnis, R., A. Inoue, S. Rongeras, M. Galonnier, J. Bennet, J. Chateau y J. Pastural. 1981. Quelques aspects bioécologiques de *Gambierdiscus toxicus*, peridinien benthique responsable de la ciguatera à Tahiti. Paper read at 2do Colloque de microbiologie Marine. Marseille, France. June. 24-25.
- Ballantine, D. L., A. T. Bardales y T. H. Tosteson. 1985. Seasonal abundance of *Gambierdiscus toxicus* and *Ostreopsis* sp. in coastal waters of southwest Puerto Rico. *Proceedings of the Fifth International Coral Reef Congress, Tahiti.* 4: 417-422.
- Bartels, G. 1970. Geomorphologische höhenstufen der Sierra Nevada de Santa Marta (Kolumbien). *Giessener Geographische Schriften*, 21, 1-56.
- Bayraktarov, E., V. Pizarro y C. Wild. 2014. Spatial and temporal variability of water quality in the coral reefs of Tayrona national natural park, Colombian Caribbean. *Environ. Monit. Assess.*, 186: 3641–3659. doi: 10.1007/s10661-014-3647-3
- Biré, R., S. Trotereau, R. Lemée, C. Delpont, B. Chabot, Y. Aumond., *et al.* 2013. Occurrence of palytoxins in marine organisms from different trophic levels of the French Mediterranean coast harvested in 2009. *Harmful Algae.* 28: 10–22. doi: 10.1016/j.hal.2013.04.007
- Boisnoir, A., P. Y. Pascal, S. Cordonnier y R. Lemeé. 2019. Spatio-temporal dynamics and biotic substrate preferences of benthic dinoflagellates in the Lesser Antilles, Caribbean Sea. *Harmful Algae*, 81: 18–29.
- Bomber, J. W. 1985. Ecological studies of benthic dinoflagellates associated with ciguatera from the Florida Keys. M. S. Thesis. Department of Oceanography and Ocean Engineering, Florida Institute of Technology. 104 p.
- Bomber, J. W., S. L. Morton, J. A. Babinchack, D. R. Norris y J. G. Morton. 1988. Epiphytic dinoflagellates on drift algae: another toxigenic community in the ciguatera food chain. *B. Mar. Sci.*, 43: 204-2014.
- Bomber, J. W., M. G. Rubio y D. R. Norris. 1989. Epiphytisms of dinoflagellates associated with the disease ciguatera: substrate specificity and nutrition. *Phycologia*, 28: 360-368.

- Borbón M. E. 2015. Asociación entre la temperatura ambiental y temperatura superficial del mar sobre la aparición de casos de ciguatera en el departamento de San Andrés y Providencia. Tesis, Universidad Distrital Francisco José de Caldas. 83p. http://repository.udistrital.RYEGTRHW5Edu.co/bitstream/11349/3738/1/MILENA_BORBON.pdf
- Bravo, I., M. L. Fernández, I. Ramilo y A. Martínez. 2001. Toxin composition of the toxic dinoflagellate *Prorocentrum lima* isolated from different locations along the Galician coast (NW Spain). *Toxicon*, 39: 1537-1545.
- Bravo, I., F. Rodríguez, I. Ramilo y J. Afonso-Carrillo. 2020. Epibenthic harmful marine dinoflagellates from Fuerteventura (Canary Islands), with special reference to the ciguatoxin producing *Gambierdiscus*. *J. Mar. Sci. Eng.*, 8: 909.
- Bula-Meyer, G. 1990. Oceanografía. En; Jimeno, M. C. (ed). Caribe de Colombia. Fondo José Celestino Mutis, Bogotá, pp. 135-153.
- Burke, L. y J. Maidens. 2005. Arrecifes en peligro (Washington. D. C: World Resources Institute).
- Caillaud, A., P. de la Iglesia, M. Campàs, L. Elandaloussi, M. Fernández, N. Mohammad-Noor, K. Andree y J. Diogène. 2010. Evidence of okadaic acid production in a cultured strain of the marine dinoflagellate *Prorocentrum rhathymum* from Malaysia. *Toxicon*, 55: 633—637.
- Caire J. F., A. Raymon y R. Bagnis. 1985. Ciguatera: study of the setting up and the evolution of *Gambierdiscus toxicus* population on an artificial substrate introduced in an atoll lagoon with follow up associated environmental factors. In: Desalle, B., R. Galzin, B. Salvat (Eds.). Proceedings of the fifth International Coral Reef Congress: French Polynesian Coral Reef Vol 1, Tahiti, 27 May-01 June, pp. 429-435.
- Carella, F., A. Sardo, O. Mangoni, D. Di Cioccio, G. Urciuolo, G. De Vico y A. Zingone. 2015. Quantitative hispatology of the Mediterranean mussel (*Mytilus galloprovincialis* L.) exposed to the harmful dinoflagellate *Ostreopsis cf. ovata*. *J. Invertebr. Patol.*, 127: 130-140.
- Carlson, R. D. y D. R. Tindall. 1985. Distribution and periodicity of toxic dinoflagellates in the Virgin Islands, In: Anderson D. M., D. M White, A. W and D. G. Baden (Eds), Toxic Dinoflagellates. Elsevier, Amsterdam, pp. 171-176.
- Carnicer, O., C. Guallar, K. B. Andree, J. Diogène y M. Fernández-Tejedor, 2015. *Ostreopsis cf. ovata* dynamics in the NW Mediterranean Sea in relation to biotic and abiotic factors. *Environ. Res.*, 143: 89-99.
- Carreño, L. A. y E. Mera. 2008. Intoxicación alimentaria, Informe Colombia. En: Mancera-Pineda J. E. (Ed.). IOC Regional Science Planning Workshop on Harmful Algal Blooms in IOCARIBE ANCA IV. San Andrés Isla, Universidad Nacional de Colombia, Sede Caribe, 81 pp.
- Catuto, R. E. 2019. Composición y abundancia de dinoflagelados epibentónicos asociados a las macroalgas en dos playas de la provincia de Santa Elena. Tesis de pregrado, Universidad Estatal Provincia de Santa Helena. Santa Elena, Ecuador. 46 p.

- Celis, J. S. y J. E. Mancera-Pineda. 2015. Análisis histórico de la incidencia de ciguatera en las islas del Caribe durante 31 años: 1980 – 2010. *Bol. Invest. Mar. Cost.*, 44: 7-32.
- Chinain, M., M. A. Faust y S. Pauillac. 1999. Morphology and molecular analyses of the three toxic species of *Gambierdiscus* (Dinophyceae): *G. pacificus*, sp. Nov., *G. australes*, sp. Nov., and *G. polynesiensis*, sp. Nov. *J. Phycol.*, 35(6): 1282-1296.
- Chomérat, N., B. B. Gwenaël y Z. Frédéric. 2019. A taxonomical study of benthic *Prorocentrum* species (Prorocentrales, Dinophyceae) from Anse Dufour (Martinique Island, eastern Caribbean Sea). *Marine Biodiversity*, 49: 1299-1319.
- Ciminiello, P., C. Dell'Aversano, E. Fattorusso, M. Forino, L. Tartaglione, C. Grillo, y N. Melchiorre. 2008a. Putative Palytoxin and its new analogue, Ovatoxin-a, in *Ostreopsis ovata* Collected along the Ligurian coasts during the 2006 Toxic Outbreak. *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.*, 19(1): 111-120.
- Ciminiello, P., C. Dell'Aversano, E. Fattorusso, M. Forino, L. Tartaglione, C. Grillo, *et al.* 2008b. LC-MS/MS and HRMS/MS data demonstrated the presence of putative palytoxin and the novel ovatoxin-a in plankton collected during the ligurian 2006 toxic outbreak. *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.*, 19: 111–120. doi: 10.1021/ac060250j
- Ciminiello, P., C. Dell'Aversano, E. Dello Iacovo, E. Fattorusso, M. Forino, L. Grauso, *et al.* 2009. Stereostructure and biological activity of 42-hydroxy palytoxin: a new palytoxin analog from Hawaiian *palythoa* spp. *Chem. Res. Toxicol.*, 22: 1851–1859. doi: 10.1021/tx900259v
- Ciminiello, P., C. Dell'Aversano, E. Fattorusso, M. Forino, L. Tartaglione, C. Grillo and N. Melchiorre. 2011. Putative palytoxin and its new analogue, ovatoxin-a, in *Ostreopsis ovata* collected along the Ligurian coasts during the 2006 toxic outbreak. *J. Am. Soc. Mass. Spect.*, 19: 111-120.
- Ciminiello, P., C. Dell'Aversano, E. Dello Iacovo, E. Fattorusso, M. Forino, L. Tartaglione, G. Benedettini, M. Onorari, F. Serena, C. Battocchi, S. Casabianca and A. Penna. 2014. First finding of *Ostreopsis* cf. *ovata* toxins in marine aerosols. *Environ. Sci. Technol.*, 48(6): 3532-3540.
- Cohu, S., T. Thibaut, L. Mangialajo, J. P. Labat, O. Passafiume, A. Blanfuné, N. Simon, J. M. Cottalorda y R. Lemée. 2011. Occurrence of the toxic dinoflagellate *Ostreopsis* cf. *ovata* in relation with environmental factors in Monaco (NW Mediterranean). *Mar. Pollut. Bull.*, 62(12): 2681-2691.
- Cohu, S. y R. Lemée. 2012. Vertical distribution of the toxic epibenthic dinoflagellates *Ostreopsis* cf. *ovata*, *Prorocentrum lima* and *Coolia monotis* in the NW Mediterranean Sea. *Cah. Biol. Mar.*, 53:373-380.
- Croome, R. L. y P. A. Tyler. 1987. *Prorocentrum playfairi* and *Prorocentrum foveolata*, two new dinoflagellates from Australian freshwaters. *Br. Phycological. J.*, 22 (1): 67–75. doi: 10.1080/00071618700650091

- David, H. 2014. Characterization of potentially toxic dinoflagellates of the genera *Coolia*, *Ostreopsis* and *Prorocentrum* from the Atlantic Iberian Peninsula. [dissertation] (País Vasco, Spain: Universidad del País Vasco).
- Del Favero, G., S. Sosa, M. Pelin, E. D'Orlando, C. Florio, P. Lorenzon, M. Poli y A. Tubaro. 2012. Sanitary problems related to the presence of *Ostreopsis* spp. in the Mediterranean Sea: a multidisciplinary scientific approach. *Ann. Ist. Super. Sanità*, 48 (4): 407- 414.
- Delgado, G. 2005. Dinoflagelados bentónicos tóxicos asociados a la ciguatera: abundancia, toxicidad y relación con los factores ambientales en un área del litoral noroccidental de Cuba. Tesis de doctorado en Ciencias del Mar. Centro de Invest. Biol. Noroeste S.C. La Paz, México, 72 p.
- Delgado, G., C. H. Lechuga-Deveze, G. Popowski, L. Troccoli y C. A. Salinas. 2006. Epiphytic dinoflagellates associated with ciguatera in the northwestern coast of Cuba. *Rev. Biol. Trop.*, 54(2): 299-310.
- Díaz, J., L. Barrios y D. Gómez-López. 2003. Las praderas de pastos marinos en Colombia: Estructura y distribución de un ecosistema estratégico. INVEMAR. Serie de publicaciones especiales No. 10. 160 p.
- Díaz-Asencio, L., M. Vandersea, N. Chomérat, S. Fraga, R. J. Clausing, R. W. Litaker, D. Chamero-Lago, M. Gómez-Batista, A. Moreira-González, P. Tester, *et al.* 2019. Morphology, toxicity and molecular characterization of *Gambierdiscus* spp. towards risk assessment of ciguatera in south central Cuba. *Harmful Algae*, 86: 119–127.
- Díaz-Pulido, G. y Díaz-Ruíz, M. 2003. Diversity of benthic marine algae of the Colombian Atlantic. *Biota Colombiana*, 4 (2): 203–246. doi: 10.21068/ bc.v4i2.134
- Dickey, R.W., S. C. Bobzin, D. J. Faulkner, F. Aladar-Bencsath y D. Andrzejewski. 1990. Identification of okadaic acid from a Caribbean dinoflagellate, *Prorocentrum concavum*. *Toxicon*, 28: 371-377.
- Donoso, M. 1990. Circulación de las aguas en el mar Caribe. 345-354. En: CCO (Ed). *Memorias VII Seminario Nacional de Ciencias y Tecnologías del Mar*. Comisión Colombiana de Oceanografía, Cali. 792 p.
- Doty, M. 1971. Measurement of water movement in reference to benthic algal growth. *Bot. Mar.*, 14: 32-35.
- Durán-Riveroll, L. M., A. D. Cenbella y Y. B. Okolodkov. 2019. A review on the biodiversity and biogeography of toxigenic benthic marine dinoflagellates of the coasts of Latin America. *Front. Mar. Sci.*, 6. doi: 10.3389/ fmars.2019.00148
- Edler, L. y M. Elbrächter. 2010. The Utermöhl method for quantitative phytoplankton analysis 13–20. In: Karlson, B., C. Cusack y E. Bresnan. *Microscopic and molecular methods for quantitative phytoplankton analysis*. Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, (IOC Manuals and Guides 55, Paris, 110 pp.

- EURLMB. 2015. EU-Harmonised standard operating procedure for determination of lipophilic marine biotoxins in molluscs by LC–MS/MS. EU reference laboratory for monitoring of marine biotoxins. Available at: https://www.aesan.gob.es/en/CRLMB/web/public_documents/seccion/crlmb_standard_operating_procedures.htm (Accessed May 10, 2022)
- Faust, M. A. 1993a. *Prorocentrum belizeaum*, *Prorocentrum elegans*, and *Prorocentrum caribbaeum*, three new benthic species (Dinophyceae) from a mangrove island, twin cays, Belize. *J. Phycol.*, 29: 100–107. doi: 10.2216/i0031-8884-32-6-410.1
- Faust, M. A. 1993b. Three new benthic species of *Prorocentrum* (Dinophyceae) from twin cays, Belize: *P. maculosum* sp. nov., *P. foraminosum* sp. nov. and *P. formosum* sp. nov. *Phycologia*, 32 (6): 410–418. doi: 10.2216/i0031-8884-32-6-410.1
- Faust, M. A. 1994. Three new benthic species of *Prorocentrum* (Dinophyceae) from Carrie Bow Cay, Belize: *P. sabulosum* sp. nov., *P. sculptile* sp. nov., and *P. arenarium* sp. nov. *Journal of Phycology*, 30: 755-763.
- Faust, M. A. 1997. Three new benthic species of *Prorocentrum* (Dinophyceae) from Belize: *P. norrisianum*, sp. nov., *P. tropicalis* sp. nov., and *P. reticulatum* sp. nov. *J. Phycol.*, 33: 851–858. doi: 10.1111/j.0022-3646.1997.00851.x
- Faust, M.A., J. Larsen and Ø. Moestrup. 1999. Potentially toxic phytoplankton. 3. Genus *Prorocentrum* (Dinophyceae). ICES Identification Leaflets for Plankton. Ed. J.A. Lindley. Natural Environment Research Council. Copenhagen. 24 p.
- Ferreira, C. E. L. 2006. Sea urchins killed by toxic algae. *JMBA Global Mar. Environ.* Spring, 3: 23–24.
- Fraga, S., R. Rodríguez, A. Caillaud, J. Diogéne, N. Raho y M. Zapata. 2011. *Gambierdiscus excentricus* sp. nov (Dinophyceae), a benthic toxic dinoflagellate from the Canary Islands (NE Atlantic Ocean). *Harmful Algae*, 11: 10–22.
- Fraga, S. y F. Rodríguez. 2014. Genus *Gambierdiscus* in the Canary Islands (NE Atlantic Ocean) with description of *Gambierdiscus silvae* sp. nov., a new potentially toxic epiphytic benthic dinoflagellate. *Protist.*, 165(6): 839–53.
- Franco-Herrera, A. 2005. Una aproximación a la oceanografía de la ensenada de Gaira: El Rodadero, más allá que un centro turístico. Universidad Jorge Tadeo Lozano, Santa Marta. 58 pp.
- Fritz, L. y R. E. Trimer. 1985. A rapid and simple technique utilizing calcofluor white MR2 for visualization of dinoflagellates technology. *J. Phycol.*, 21: 664–664. doi: 10.1111/j.0022-3646.1985.00662.x
- Fukui, M., M. Murata, A. Inoue, M. Gawel y T. Yasumoto. 1987. Occurrence of palytoxin in the trigger fish *Melichthys vidua*. *Toxicon*, 25: 1121– 1124. doi: 10.1016/0041-0101(87)90269-8

- Gaitán, J. D. 2007. Ictiotoxismo por consumo de barracuda (*Sphyraena barracuda*) y morena manchada (*Gymnothorax moringa*) en la comunidad de pescadores artesanales de Tasajera, Caribe colombiano. *Duazary*, 4(2): 160-167.
- Gallitelli, M., N. Ungaro, L. M. Addante, N. G. Silver y C. Sabba. 2005. Respiratory illness as a reaction to tropical algal blooms occurring in temperate climate. *J. Am. Med. Assoc.*, 293: 2599-2600.
- García-Altare, M., L. Tartaglione, C. Dell' Aversano, O. Carnicer, P. de la Iglesia, M. Forino, *et al.* 2015. The novel ovatoxin-g and isobaric palytoxin (so far referred to as putative palytoxin) from *Ostreopsis cf. ovata* (NW Mediterranean Sea): structural insights by LC-high resolution MS(n.). *Anal. Bioanal. Chem.*, 407: 1191–1204. doi: 10.1007/s00216-014-8338-y
- García-Hoyos, L. M., A. Franco-Herrera, J. S. Ramírez-Barón y D. A. López-Cerón. 2010. Dinámica océano-atmósfera y su influencia en la biomasa fitoplanctónica, en la zona costera del departamento del Magdalena, Caribe colombiano. *Bol. Invest. Mar. Cost.*, 39(2): 307-335.
- GEOHAB, 2012. Global Ecology and Oceanography of Harmful Algal Blooms, GEOHAB Core Research Project: HABs in Benthic Systems. In: Berdalet, P. (Ed.), IOC of UNESCO and SCOR, Paris and Newark. 64 pp.
- Gerssen, A., P. P. J. Mulder, M. A. McElhinney y J. de Boer. 2009. Liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for the detection of marine lipophilic toxins under alkaline conditions. *Journal of Chromatography, A* 1216: 1421-1430.
- Gillespie, N. C., M. J. Holmes, J. B. Burke y J. Doley. 1985. Distribution and periodicity of *Gambierdiscus toxicus* in Queensland, Australia. In: Anderson, D.M., White, A.W., Baden, D.G. (Eds.), *Toxic Dinoflagellates*. Elsevier, Oxford, pp. 183–188.
- Giussani, V., V. Asnaghi, A. Pedroncini y M. Chiantore. 2017. Management of harmful benthic dinoflagellates requires targeted sampling methods and alarm thresholds. *Harmful Algae*, 68: 97-104.
- Gómez, F., D. Moreira y P. López-García. 2011. Avances en el estudio de los dinoflagelados (Dinophyceae) con la filogenia molecular. *Hidrobiológica*, 21(3): 343-364.
- González, L. y J. Díaz. 2008. Distribución de dinoflagelados epifitos potencialmente tóxicos asociados a praderas de *Thalassia testudinum* en la Isla la Tortuga, la bahía de Mochima y el golfo de Cariaco, Venezuela. *Boletín del Instituto Oceanográfico de Venezuela*, 47: 47–58. Corpus ID: 128771941
- Granéli, E., C. E. L. Ferreira, T. Yasumoto, E. Rodríguez y M. H. B. Neves. 2002. Sea urchins poisoning by benthic dinoflagellate *Ostreopsis ovata* on the Brazilian coast. In: *Book of Abstracts, Xth International Conference on Harmful Algae*, Florida, USA, p. 113.

- Granéli, E., N. K. Vidyarathna, E. Funari, P. R. T. Cumarantunga y R. Scenati. 2011. Can increases in temperature stimulate blooms of the toxic benthic dinoflagellate *Ostreopsis ovata*?. *Harmful Algae*, 10: 165-172.
- Grzebyk, D., B. Berland, B. A. Thomassin, C. Bosi y A. Arnoux. 1994. Ecology of ciguateric dinoflagellates in the coral reef complex of Mayotte Island (S.W. Indian Ocean). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 178: 51–66.
- Grzebyk, D., Y. Sako y B. Berland. 1998. Phylogenetic analysis of nine species of *Prorocentrum* (Dinophyceae) inferred from 18S ribosomal DNA sequences, morphological comparisons, and description of *Prorocentrum panamensis* sp. nov. *J. Phycology*, 34(6): 1055–1068. doi: 10.1046/j.1529-8817.1998.341055.x.
- Hall, T. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT. *Nucleic Acids*, 41: 95–98. doi: 10.14601/Phytopathol_Mediterr-14998u1.29
- Hallegraeff, G. M., D. M. Anderson y A.D. Cembella. 2004. Manual on harmful marine microalgae. Monographs on Oceanographic Methodology, UNESCO. París. 793 p.
- Ho, V.T., L. Nguyen-Ngoc y H. Y. N. Bing. 2018. First report of *Gambierdiscus caribaeus* and *G. carpenteri* (Dinophyceae) from Nha Trang Bay, South Central Vietnam. *J. Mar. Biol. Assoc. India*, 60: 5–11.
- Holland, W. C., R. W. Litaker, C. R. Tomas, S. R. Kibler, A. R. Place, E. D. Davenport y P. A. Tester. 2013. Differences in the toxicity of six *Gambierdiscus* (Dinophyceae) species measured using an in vitro human erythrocyte lysis assay. *Toxicon*, 65: 15–33.
- Hoppenrath, M., N. Chomérat, T. Horiguchi, M. Schweinkert, Y. Nagahama y S. Murray. 2013. Taxonomy and phylogeny of the benthic *Prorocentrum* species (Dinophyceae). A proposal and review. *Harmful Algae*, 27: 1-28.
- Hoppenrath, M., S. A. Murray, N. Chomérat and T. Horiguchi. 2014. Marine benthic dinoflagellates – unveiling their worldwide biodiversity. Ed. Senckenberg. Stuttgart. 276 p.
- Huelsenbeck, J. P. y F. Ronquist. 2001. MRBayes: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics*, 17:754–755. doi: 10.1093/bioinformatics/17.8.754
- IDEAM y UPNE. 2006. Atlas de viento y energía eólica de Colombia. Imprenta Nacional, Bogotá, 186 pp.
- IDEAM, 2018 a [COMUNICADO PARA EL SISTEMA NACIONAL DE PREVENCIÓN \(ideam.gov.co\)](#)
- IDEAM, 2018 b [BOLETÍN DE MONITOREO FENOMENO EL NIÑO Y LA NIÑA - IDEAM](#)
- IDEAM, 2018 c [1b232572-56f7-49e4-9266-5d4a63fe42b9 \(ideam.gov.co\)](#)

- IDEAM, 2019 [09e90b7d-474a-4712-8603-ae64520b4422 \(ideam.gov.co\)](https://www.ideam.gov.co)
- INVEMAR. 2013. Diseño e implementación de sistemas de alerta temprana y evaluación de la toxicidad de los florecimientos de algas nocivas (FAN's) en la región del Caribe. Proyecto ARCAL-RLA/7/014. Informe final Colombia, 74 pp.
- Jackson, A. E., J. C. Marr y J. L. McLachlan. 1993. The production of diarrhetic shellfish toxin by an isolate of *Prorocentrum lima* from Nova Scotia, Canada. In: Smayda T. J. y Y. Shimizu (eds.), Toxic phytoplankton blooms in the sea. Elsevier Scientific Publishing. Amsterdam, pp. 513-518.
- Jang, S. H., H. J. Jeong y Y. D. Yoo. 2018. *Gambierdiscus jejuensis* sp. nov, an epiphytic dinoflagellate from the waters of Jeju Island, Korea, effect of temperature on the growth, and its global distribution. Harmful Algae, 80: 149–157.
- Jauzein, C., I. Açaf, S. Accoroni, V. Asnaghi, F. Anna, M. H. Hachani, M. Abboud-Abi Saab, M. Mariachiara, L. Mangialajo, C. Totti, I. Zaghmouri y R. Lemée. 2018. Optimization of sampling, cell collection and counting for the monitoring of benthic harmful algal blooms: Application to *Ostreopsis* spp. blooms in the Mediterranean Sea. Ecological Indicators, 91: 116-127.
- Jeong, H. J., A. S. Lim, S. H. Jang, H. W. Yih, N. S. Kan y S. Y. Lee. 2012. First report of the epiphytic dinoflagellate *Gambierdiscus caribaeus* in the temperate waters off Jeju Island, Korea: morphology and molecular characterization. J Eukaryot Microbiol., 59(6): 637–650.
- Junqueira de Azevedo, C. E. 2020. Dinoflagelados bénticos em áreas de costões rochosos e recifes distribuição, toxinas e impactos potenciais. Tesis doctorado, Universidade Federal do Paraná. Estado de Paraná, Brasil. 140 p.
- Kameneva, P. A., K. V. Efimova, V. G. Rybin y T. Y. Orlova. 2015. Detection of dinophysistoxin-1 in clonal culture of marine dinoflagellate *Prorocentrum foraminosum* (Faust M.A., 1993) from the Sea of Japan. Toxins, 7: 3947-3959.
- Katoh, K., J. Rozewicki y K. D. Yamada. 2019. MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. Briefings in Bioinformatics, 20: 1160-1166.
- Keller, M. D., R. C. Sevin, W. Claus y R. L. L. Guillard. 1987. Media for the culture of oceanic ultraphytoplankton. J. Phycol., 23: 633–638. doi: 10.1111/j.1529- 8817.1987.tb04217.x
- Kerbrat, A. S., Z. Amzil, R. Pawlowicz, S. Golubic, M. Sibat, H. T. Darius, *et al.* 2011. First evidence of palytoxin and 42-hydroxy-palytoxin in the marine cyanobacterium *Trichodesmium*. Mar. Drugs, 9: 543–560. doi: 10.3390/md9040543
- Ki, J. S. y M. S. Han. 2007. Informative Characteristics of 12 Divergent Domains in Complete Large Subunit rDNA Sequences from the Harmful Dinoflagellate Genus, *Alexandrium* (Dinophyceae). Journal of Eukaryotic Microbiology, 54: 210-219.

- Kibler, S. R., R. W. Litaker, W. C. Holland, M. W. Vandersea y P. A. Tester. 2012. Growth of eight *Gambierdiscus* (Dinophyceae) species: Effects of temperature, salinity and irradiance. *Harmful Algae*, 19: 1-14.
- Kilcoyne, J., S. Burrell, C. Nulty, R. Salas, E. J. Wright, I. Rajotte y C. O. Miles. 2020. Improved isolation procedures for okadaic acid group toxins from shellfish (*Mytilus edulis*) and microalgae (*Prorocentrum lima*). *Marine Drugs*, 18.
- Kingsbury, P. 2005. Jamaican Tourism and the politics of enjoyment. *Geoforum*, 36: 113 - 132. doi: 10.1016/j.geoforum.2004.03.012.
- Kotob, S. I., S. M. McLaughlin, P. Van Berkum y M. Faisal. 1999. Discrimination between two *Perkinsus* spp. isolated from the softshell clam, *Mya arenaria*, by sequence analysis of two internal transcribed spacer regions and the 5.8S ribosomal RNA gene. *Parasitology*, 119: 363-368.
- Kretzschmar, A. L., M. E. Larsson, M. Hoppenrath, M. A. Doblin y S. A. Murray. 2019a. Characterization of two toxic *Gambierdiscus* spp. (Gonyaulacales, Dinophyceae) from the Great Barrier Reef (Australia): *G. lewisii* sp. nov. and *G. holmesii* sp. nov. *Protist*, 170: 1–26.
- Kretzschmar, A. L., A. Verma, G. Kohli y S. A. Murray. 2019b. Development of a quantitative PCR assay for the detection and enumeration of a potentially ciguatoxin-producing dinoflagellate, *Gambierdiscus lapillus* (Gonyaulacales, Dinophyceae). *PloS One* 14: e0224664.
- Kumar, S., G. Stecher, M. Li, C. Knyaz y K. Tamura. 2018. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol. Biol. Evol.*, 35: 1547–1549. doi: 10.1093/molbev/msy096
- Lawrence, J.E., A. G. Baude, M. A. Quilliam y A. D. Cembella. 2000. Colonization and growth of the toxic dinoflagellate *Prorocentrum lima* and associated fouling macroalgae on mussels in suspended culture. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 201: 147-154.
- Le Novère, N. P., J. Corringer y J. P. Changeux. 2002. The diversity of subunit composition in nAChRs: evolutionary origins, physiologic and pharmacologic consequences. *J. Neurobiol.*, 53: 447–456. doi: 10.1002/neu.10153
- Lee, L. K., Z. F. Lim, L. L. Chan, H. Gu, R. W. Litaker, P. A. Tester, C. P. Leaw y P. T. Lim. 2020. Effects of substratum and depth on benthic harmful dinoflagellate assemblages. *Sci. Rep.*, 10: 11251.
- Lee, T. C. H., P. L. Chan, S. J. Xu y F. W. Lee. 2020. Comparison of growth and toxicity responses between non-toxic and toxic strains of *Prorocentrum hoffmannianum*. *Aquatic Biology*, 29: 59-70.

- Lenoir, S., L. Ten-Hage, J. Turquet, J. P. Quod, C. Bernard y M. C. Hennion. 2004. First evidence of palytoxin analogues from an *Ostreopsis mascarenensis* (Dinophyceae) benthic bloom in southwestern Indian ocean. *J. Phycol.*, 40: 1042– 1051. doi: 10.1111/j.1529-8817.2004.04016.x
- Litaker, R. W., M. W. Vandersea, K. S. Reece, A. Stokes, B. A. Yonish, S. R. Kibler, M. N. D. Black, K. A. Steidinger, F. M. Lutzoni y P. A. Tester. 2007. Recognizing dinoflagellate species using ITS rDNA sequences. *J. Phycol.*, 43: 344–355.
- Litaker, R.W., M. Vandersea, M. Faust, S. Kibler, M. Chinain, M. Holmes, W. Holland y P. Tester. 2009. Taxonomy of *Gambierdiscus* including four new species, *Gambierdiscus caribaeus*, *Gambierdiscus carolinianus*, *Gambierdiscus carpenteri* and *Gambierdiscus ruetzleri* (Gonyaulacales, Dinophyceae). *Phycologia*, 48(5): 344–390.
- Litaker, R. W., M. W. Vandersea, M. A. Faust, S. R. Kibler, A. W. Nau, W. C. Holland, M. Chinain, M. J. Holmes y P. A. Tester. 2010. Global distribution of ciguatera causing dinoflagellates in the genus *Gambierdiscus*. *Toxicon*, 56: 711-730.
- Litaker, R.W., M. Vandersea, M. Faust, S. Kibler, A.W. Nau, W. Holland, M. Chinain, M. Holmes y P.A. Tester. 2010. Global distribution of ciguatera causing dinoflagellates in the genus *Gambierdiscus*. *Toxicon*, 56: 711–730.
- Litaker, R. W., W. C. Holland, D. R. Hardison, F. Pisapia, P. Hess, S. R Kibler, *et al.* 2017. Ciguatotoxicity of *Gambierdiscus* and *Fukuyoa* species from the Caribbean and Gulf of Mexico. *PLoS ONE* 12(10): 19p.
- Lobel, P. S., D. M. Anderson y M. Durand-Clement. 1988. Assessment of ciguatera dinoflagellate populations: sample variability and algal substrate selection. *Biol. Bull.*, 175: 94:101.
- Louzao, C., D. F. Fernández, P. Abala, M. Fraga, N. Vilariño, M. R. Vieytes y L. M. Botana. 2015. Diarrhetic effect of okadaic acid could be related with its neuronal action: Changes in neuropeptide Y M. *Toxicology Letters*, 237: 151-160.
- Luo, Z., Z. Hua, B. Krock, S. Lu, W. Yang y H. Gu. 2017. Morphology, molecular phylogeny and okadaic acid production of epibenthic *Prorocentrum* (Dinophyceae) species from the northern South China Sea. *Algal Research*, 22: 14–30.
- Mabrouk, L., A. Hamza, M. B. Brahim y M. N. Bradai. 2011. Temporal and depth distribution of microepiphytes on *Posidonia oceanica* (L.) Delile leaves in a meadow off Tunisia. *Mar. Ecol.*, 32:148-161.
- Malagón, A. y L. Perdomo. 2011. Dinoflagelados bentónicos presentes en las praderas de *Thalassia testudinum* en la bahía Chengue, Caribe colombiano. En: Resúmenes del XIV Congreso Latino-Americano de Ciencias del Mar COLACMAR.
- Mancera-Pineda, J. E., B. Gavio y G. Arencibia. 2009. Floraciones algales nocivas, intoxicación por microalgas e impactos en el desarrollo regional: El caso de San Andrés isla, Caribe colombiano: 46-62. En: Mancera-Pineda, J.E., O. Sierra y S. Pérez. 2009. Cuadernos del

- Caribe No. 13. Reserva de Biosfera Seaflower. Problema Ambiental. Universidad Nacional de Colombia, sede Caribe. San Andrés Islas, Colombia. 78 p.
- Mancera-Pineda J. E., M. Montalvo-Talaigua y B. Gavio. 2014. Potential toxic dinoflagellates associated to drift in San Andrés Island, International de la biosfera-SEAFLOWER. *Caldasia*, 36(1): 139-156.
- Mangialajo, L., R. Bertolotto, R. Cattaneo-Viotti, M. Chiantore, C. Grillo, R. Lemee, N. Melchiorre, P. Moretto, P. Povero y N. Ruggieri. 2008. The toxic benthic dinoflagellate *Ostreopsis ovata*: quantification of proliferation along the coast-line of Genova. Italy. *Mar. Pollut.*, 56: 1209-1214.
- Marasigan, A. N., A. F. Tamse y Y. Fukuyo. 2001. *Prorocentrum* (Prorocentrales: Dinophyceae) populations on seagrass-blade surface in Taklong Island, Guimaras Province, Philippines. *Plankton Biol. Ecol.*, 48(2): 79-84.
- Márquez-Calle, G. 1982. Los sistemas ecológicos marinos del sector adyacente a Santa Marta, Caribe colombiano II: Sistemas Pelágicos. *Ecología Tropical*, 2: 19-23.
- Marr, J. C., A. E. Jackson y J. L. McLachlan. 1992. Occurrence of *Prorocentrum lima*, a DSP toxin-producing species from the Atlantic coast of Canada. *J. Appl. Phycol.*, 4: 17-24.
- Martin, A. P. 2003. Phytoplankton patchiness: the role of lateral mixing. *Prog. Oceanogr.*, 57: 125–174.
- Martínez, A. 1977. Ictiosarcotoxicosis: una intoxicación potencialmente frecuente. *Tribuna Médica*, 56: 34-40.
- Mohammad-Noor, N., N. Daugbjerg, Ø. Moestrup y A. Anton. 2007. Marine epibenthic dinoflagellates from Malaysia - a study of live cultures and preserved samples based on light and scanning electron microscopy. *Nord. J. Bot.*, 24: 629–690. doi: 10.1111/j.1756-1051.2004.tb01938.x
- Momigliano, P., L. Sparrow, D. Blair, y K. Heimann. 2013. The diversity of *Coolia* spp. (Dinophyceae Ostreopsidaceae) in the Central Great Barrier Reef Region". *PLOS ONE*. 8 (10): e79278. doi:10.1371/journal.pone.0079278. PMC 3806851. PMID 24194962.
- Monti, M., M. Minocci, A. Beran y I. Ljiljana. 2007. First record of *Ostreopsis* cf. *ovata* on macroalgae in the Northern Adriatic Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 54: 598-601.
- Moore, R. E. y P. J. Scheuer. 1971. Palytoxin: A new marine toxin from a coelenterate. *Sci. (Washington. D.C.)* 172(3982): 495–498. doi: 10.1126/ science.172.3982.495.
- Moreira-González, A. R., L. F. Fernandes, H. Uchida, A. Uesugi, T. Suzuki, N. Chomérat, G. Bilien y L. L. Mafra Jr. 2019. Variations in morphology, growth, and toxicity among strains of the *Prorocentrum lima* species complex isolated from Cuba and Brazil. *J. Appl. Phycol.*, 31, 519–532

- Mori, S., K. Sugahara, M. Maedab, K. Nomotoa, T. Iwashitaa y T. Yamagakia. 2016. Insecticidal activity guided isolation of palytoxin from a red alga, *Chondria armata*. *Tetrahedron Letters*, 5732: 3612–3617. doi: 10.1016/j.tetlet.2016.06.108
- Morton, S. L., D. R. Norris y J. W. Bomber. 1992. Effect of temperature, salinity and light-intensity on the growth and seasonality of toxic dinoflagellates associated with ciguatera. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 157:79-90.
- Morton, S. L., J. W. Bomber, D. R. Tindall y K. E. Aikman. 1993. Response of *Gambierdiscus toxicus* to light: cell physiology and toxicity. In: T. J. Smayda, Y. Shimizu. (Eds.), *Toxic Phytoplankton Blooms in the Sea*. Elsevier, New York, pp. 541–546.
- Murakami, Y., Y. Oshima, y T. Yasumoto. 1982. Identification of okadaic acid as a toxic component of a marine dinoflagellate *Prorocentrum lima*. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 48: 69-72.
- Murray, S., L. C. Ip, R. Moore, Y. Nagahama y Y. Fukuyo. 2009. Are proro-centroid dinoflagellates monophyletic? A study of 25 species based on nuclear and mitochondrial genes. *Protist*, 160: 245-264.
- Mustapa, N. I., H. L. Yong, L. K. Lee, Z. F. Lim, H. C. Lim, S. T. Teng, Z. Luo, H. Gu, C. P. Leaw y P. T. Lim. 2019. Growth and epiphytic behavior of three *Gambierdiscus* species (Dinophyceae) associated with various macroalgal substrates. *Harmful Algae*, 89: 1–10.
- Nagahama, Y. y Y. Fukuyo, 2005. Redescription of *Cryptomonas lima*, collected from Sorrento, Italy, the Basionym of *Prorocentrum lima*. *Plankton Biol. Ecol.*, 52: 107–109.
- Nagahama, Y., S. Murray, A. Tomaru y Y. Fukuyo. 2011. Species boundaries in the toxic dinoflagellate *Prorocentrum lima* (Dinophyceae, Prorocentrales), based on morphological and phylogenetic characters. *J. Phycol.*, 47: 178–189.
- Nakahara, H., T. Sakami, M. Chinain y Y. Ishida. 1996. The role of macroalgae in epiphytism of the toxic dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus* (Dinophyceae). *Phycol. Res.*, 44: 113-117.
- Nakajima, I., Y. Oshimay T. Yasumoto. 1981. Toxicity of benthic dinoflagellates in Okinawa. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 47: 1029–1033.
- Nascimento, S. M., M. C. Q. Mendes, M. Menezes, F. Rodríguez, C. Alves-de-Souza, S. Branco, et al. 2017. Morphology and phylogeny of *Prorocentrum caipirignum* sp. nov. (Dinophyceae), a new tropical toxic benthic dinoflagellate. *Harmful Algae*, 70: 73–89. doi: 10.1016/j.hal.2017.11.001
- Nei, M. y S. Kumar. 2000. *Molecular evolution and phylogenetics* (New York: Oxford University Press).
- Nei, M. 1987. Genetic distance and molecular phylogeny. In: Ryman, R. and Utter, F. (Eds.). *Population genetics and fishery management*. University of Washington Press, Seattle, pp. 193–223.

- Nishimura, T., S. Sato, W. Tawong, H. Sakanari, K. Uehara, M. Mahfusur, R. Shah, S. Suda, T. Yasumoto, Y. Taira, H. Yamaguchi y M. Adachi. 2013. Genetic diversity and distribution of the ciguatera-causing dinoflagellate *Gambierdiscus* spp. (Dinophyceae) in coastal areas of Japan. *PLoS One* 8: e60882
- Nishimura, T., H. Uchida, R. Noguchi, H. Oikawa, T. Suzuki, H. Funaki, C. Ihara, K. Hagino, S. Arimitsu, Y. Tanii, S. Abe, K. Hashimoto, K. Mimura, K. Tanaka, I. Yanagida y M. Adachi. 2020a. Abundance of the benthic dinoflagellate *Prorocentrum* and the diversity, distribution, and diarrhetic shellfish toxin production of *Prorocentrum lima* complex and *P. caipirignum* in Japan. *Harmful Algae*, 96: 101687.
- Nishimura, T., H. Uchida, T. Suzuki, W. Tawong, S. Abe, S. Arimitsu y M. Adachi. 2020b. First report on okadaic acid production of a benthic dinoflagellate *Prorocentrum* cf. *fukuyoi* from Japan. *Phycol. Res.*, 68: 30–40.
- Okolodkov, Y., F. Merino-Virgilio, J. Aké-Castillo, A. Aguilar-Trujillo, S. Espinosa-Matías y J. Herrera-Silveira. 2014. Seasonal changes in epiphytic dinoflagellate assemblages near the northern coast of the Yucatan Peninsula, Gulf of Mexico. *Acta Botánica Mexicana*, 107: 121-151.
- Pantojas, G. E. 2006. De la plantación al resort: El caribe en la era de la globalización. *Rev. Cienc. Soc.*, 15: 82–99. Corpus ID: 149238380
- Parsons M, L. y L. B. Preskitt. 2007. A survey of epiphytic dinoflagellates from the coastal waters of the island of Hawaii. *Harmful Algae*, 6: 658-669.
- Parsons, M. L., C. J. Settelmier y P. K. Bienfang. 2010. A simple model capable of simulating the population dynamics of *Gambierdiscus*, the benthic dinoflagellate responsible for ciguatera fish poisoning. *Harmful Algae*, 10: 71–80.
- Parsons, M.L., C. J. Settelmier y J. M. Ballauer. 2011. An examination of the epiphytic nature of *Gambierdiscus toxicus*, a dinoflagellate involved in ciguatera fish poisoning. *Harmful Algae*, 10: 598–605.
- Parsons, M. L., K. Aligizaki, M-Y. D. Bottein, S. Fraga, S. L. Morton, A. Penna y L. Rhodes. 2012. *Gambierdiscus* and *Ostreopsis*: Reassessment of the state of knowledge of their taxonomy, geography, ecophysiology and toxicology. *Harmful Algae*, 14: 107-129.
- Parsons M. L., A. L. Brandt, A. Ellsworth, A. K. Leynse, K. L. Rains y D. M. Anderson. 2017. Assessing the use of artificial substrates to monitor *Gambierdiscus* populations in the Florida Keys. *Harmful Algae*, 68: 52–66.
- Pavaux, A. S., D. Velasquez-Carjaval, K. Drouet, A. Lebrun, A. Hiroux, S. Marro, E. Christians, S. Castagnetti y R. Lemee. 2021. Daily variations of *Ostreopsis* cf. *ovata* abundances in NW Mediterranean Sea. *Harmful Algae*, 110: 102144.

- Pearce, I., J. A. Marshall y G. Hallegraeff. 2001. Toxic epiphytic dinoflagellates from east coast Tasmania, Australia. In Hallegraeff, G., S. I. Blackburn, C. J. Bolch, y R. J. Lewis (Eds) Harmful Algal Blooms. Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO. Pp. 54-57.
- Pisapia, F., W. C. Holland, D. R. Hardison, R. W. Litaker, S. Fraga, T. Nishimura, M. Adachi, L. Nguyen-Ngoc, V. Séchet, Z. Amzil, *et al.* 2017. Toxicity screening of 13 *Gambierdiscus* strains using neuro-2a and erythrocyte lysis bioassays. *Harmful Algae*, 63: 173–183.
- Prego-Faraldo, M.V., V. Valdiglesias, J. Méndez y J. M. Eirín-López. 2013. Okadaic Acid Meet and Greet: An insight into detection methods, response strategies and genotoxic effects in marine invertebrates. *Marine Drugs*, 11: 2829-2845.
- Quilliam, M.A., W. R. Hardstaff, N. Ishida, J. L. McLachlan, A. R. Reeves, N. W. Ross y A. J. Windust. 1996. Production of diarrhetic shellfish poisoning (DSP) toxins by *Prorocentrum lima* in culture and development of analytical methods, In: Yasumoto, T., Oshima, Y., Fukuyo, Y. (Eds.), Harmful and Toxic Algal Blooms. IOC of UNESCO, Sendai, Japan, pp. 289-292.
- Rains, L. K. y M. L. Parsons. 2015. *Gambierdiscus* species exhibit different epiphytic behaviors toward a variety of macroalgal hosts. *Harmful Algae*, 49: 29–39.
- Regueiro, J., A. Escudeiro-Rossignoli, G. Álvarez y J. Blanco. 2011. Automated on-line solid-phase extraction coupled to liquid chromatography–tandem mass spectrometry for determination of lipophilic marine toxins in shellfish. *Food Chemistry*, 129: 533-540.
- Reguera, B., R. Alonso, A. Moreira y S. Méndez. 2011. Guía para el diseño y puesta en marcha de un plan de seguimiento de microalgas productoras de toxinas. IOC Manuals and Guides 59, COI de UNESCO y OIEA, París y Viena, 46 p + Anexos.
- Rhodes L., J. Adamson, T. Suzuki, L. Briggs y I. Garthwaite. 2000. Toxic epiphytic marine dinoflagellates *Ostreopsis siamensis* and *Coolia monotis* (Dinophyceae) in New Zealand. *N. Z. J. Mar. Freshw. Res.*, 34: 371-384.
- Rhodes, L. L., P. T. Holland, P. McNabb, A. I. Selwood, J. E. Adamson y M. A. Quilliam. 2006. *Prorocentrum lima* strains from New Zealand: DSP toxin profiles and uptake and conversion in greenshell mussel, International Conference on Molluscan Shellfish Safety, pp. 235-241.
- Rhodes, L., K. F. Smith, A. Verma, B. G. Curley, D. T. Harwood, S. Murray, G. S. Kohli, D. Solomona, T. Rongo, R. Munday y S. A. Murray. 2017. A new species of *Gambierdiscus* (Dinophyceae) from the south-west Pacific: *Gambierdiscus honu* sp. nov. *Harmful Algae*, 65: 61–70.
- Ricaurte-Villota, C. y M. L. Bastidas (Eds.). 2017. Regionalización oceanográfica: una visión dinámica del Caribe. Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras José Benito Vives de Andrés (INVEMAR). Serie de Publicaciones Especiales de INVEMAR # 14. Santa Marta, Colombia 180 p.

- Richlen, M.L. y P. H. Barber. 2005. A technique for the rapid extraction of microalgal DNA from single live and preserved cells. *Mol. Ecol. Notes*, 5: 688–691.
- Richlen, M. L y M. Lobel. 2011. Effects of the depth, habitat, and water motion on the abundance and distribution of ciguatera dinoflagellates at Johnston Atoll, Pacific Ocean. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 421: 51-66.
- Riobó, P., B. Paz, J. M. Franco, J. Vázquez y M. A. Murado. 2008. Proposal for a simple and sensitive haemolytic assay for palytoxin. *toxicological dynamics, kinetics, ouabain inhibition and thermal stability. Harmful Algae*, 7: 415–429. doi: 10.1016/j.hal.2007.09.001
- Riobó, P. y J. Franco. 2011. Palytoxins: Biological and chemical determination. *Toxicon*, 57: 368–375. doi: 10.1016/j.toxicon.2010.09.012
- Riobó, P., B. Reguera, J. Franco, F. Rodríguez. 2013. First report of the toxin profile of *Dinophysis sacculus* Stein from LC–MS analysis of laboratory cultures. *Toxicon*, 76: 221–224.
- Rodríguez, A., J. E. Mancera-Pineda y B. Gavio. 2010. Survey of benthic dinoflagellates associated to beds of *Thalassia testudinum* in San Andrés Island, Seaflower Biosphere Reserve, Caribbean Colombia. *Acta biol. Colomb.*, 15(2): 231 – 248.
- Rodríguez, I., G. Genta-Jouve, C. Alfonso, K. Calabro, E. Alonso, J. A. Sánchez, A. Alfonso, O. P. Thomas y L. M. Botana. 2015. Gambierone, a ladder-shaped polyether from the dinoflagellate *Gambierdiscus belizeanus*. *Org. Lett.* 17, 2392–2395. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.5b00902>
- Rodríguez, F., S. Fraga, I. Ramilo, P. Rial, R. I. Figueroa, P. Riobó y I. Bravo. 2017. “Canary Islands (NE Atlantic) as a biodiversity “hotspot” of *Gambierdiscus*: implications for future trends of ciguatera in the area”. *Harmful Algae*, 35: 131–143.
- Rodríguez, F., P. Riobó, P. G. D. Crespín, A. H. Daranas, C. R de Vera, M. Norte, J. J. Fernández y S. Fraga. 2018. The toxic benthic dinoflagellate *Prorocentrum maculosum* Faust is a synonym of *Prorocentrum hoffmannianum* Faust. *Harmful Algae*, 78, 1-8.
- Rueda-Solano, L. A. y J. Castellanos-Barliza. 2010. Herpetofauna de Neguanje, Parque Nacional Natural Tayrona, Caribe Colombiano. *Acta Biol.*, 15(1): 195-206.
- Ruíz, A. 2016. Composición y abundancia de especies de dinoflagelados asociados a praderas de pastos marinos y macroalgas en la isla de Barú, durante diferentes periodos climáticos. Tesis Maestría. Universidad Nacional de Colombia sede Caribe. San Andrés, Providencia y Santa Catalina, Colombia. 146 pp.
- Saburova, M. y N. Chomérat. 2016. An emended description and phylogeny of the little-known *Prorocentrum sipadanense* mohammad-noor, daugbjerg & moestrup (Prorocentrales, dinophyceae) from the Indian ocean, Oman. *Eur. J. Phycol.*, 51: 270–281. doi: 10.1080/09670262.2015.1134815

- Sahraoui, I., D. Bouchouicha, H. H. Mabrouk y A. S. Hlaili. 2013. Driving factor of the potential toxic and harmful species of *Prorocentrum* Ehrenberg in a semi-enclosed Mediterranean lagoon (Tunisia, SW Mediterranean). *Medit. Mar. Sci.* 14/2, pp. 353-362.
- Salzwedel, H. y K. Müller. 1983. A summary of meteorological and hydrological data from the bay of Santa Marta, Colombian Caribbean. *Bull. Mar. Coast. Res.*, 13: 67–83. doi: 10.25268/bimc.invemar.1983.13.0.483
- Sar, E.A., M.E. Ferrario y B. Reguera (Eds.). 2002. Floraciones algales nocivas en el cono sur americano. Instituto Español de Oceanografía. Madrid, España. 311 p.
- Scalco, E., C. Brunet, F. Marino, R. Rossi, V. Soprano, A. Zingone y M. Montresor. 2012. Growth and toxicity responses of Mediterranean *Ostreopsis* cf. *ovata* to seasonal irradiance and temperature conditions. *Harmful Algae*, 17: 25-34.
- Scholin, C. A., M. Herzog, M. Sogin y D. M. Anderson. 1994. Identification of group and strain specific genetic markers for globally distributed *Alexandrium* (Dinophyceae). II. sequence analysis of a fragment of the LSU rRNA gene. *J. Phycology*, 30: 999–1011. doi: 10.1111/j.0022-3646.1994.00999.x
- Satake, M., M. Murata y T. Yasumoto. 1993. Gambierol: a new toxic polyether compound isolated from the marine dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus*. *J. Am. Chem. Soc.*, 115: 361–362.
- Selina, M. S. y T. Y. Orlova. 2010. First occurrence of the genus *Ostreopsis* (Dinophyceae) in the Sea of Japan. *Bot. Mar.*, 53: 243-249.
- Shears, N. T. y P. M. Ross. 2009. Blooms of benthic dinoflagellates of the genus *Ostreopsis*; an increasing and ecologically important phenomenon on temperate reefs in New Zealand and worldwide. *Harmful Algae*, 8: 916-925.
- Steidinger, K. A. y K. Tangen. 1996. Dinoflagellates. In: Tomas, C.R. (Ed.), *Identifying marine diatoms and dinoflagellates*. Academic Press, San Diego. pp. 387-584.
- Strickland, D. H. y T. R. Parsons. 1972. *A practical handbook of seawater analysis*. Bulletin 167. 2a ed. Fisheries Research. Board of Canada, Ottawa. 310 p.
- Sunesen, I., F. Rodríguez, D. Aguilar-Juarez, J. Tardivo-Kubis, A. Lavigne, A. Escudeiro-Rossignoli, P. Riobó y E. Sar. 2020. Morphology, genetics, an toxin profile of *Prorocentrum texanum* (Dinophyceae) from Argentinian marine coastal waters. *Phycology*, 59: 634-650.
- Tan, T. H., P. T. Lim, A. Mujaid, G. Usup y C. P. Leaw. 2013. Benthic harmful dinoflagellate assemblages in a fringing reef of Sampadei Island, Sarawak, Malaysia. *Mar. Res. Indonesia*, 38(2): 11-21.
- Tawong, W., T. Yoshimatsu, H. Yamaguchi y M. Adachi. 2015. Effects of temperature, salinity and their interaction on growth of benthic dinoflagellates *Ostreopsis* spp. from Thailand. *Harmful Algae*, 44: 37-45.

- Tawong, W., T. Yoshimatsu, H. Yamaguchi y M. Adachi. 2016. Temperature and salinity effects and toxicity of *Gambierdiscus caribaeus* (Dinophyceae) from Thailand. *Phycologia*, 55(3): 274–8.
- Taylor, F. J. R. 1985. The distribution of the dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus* in the eastern Caribbean. In: B. Delesalle, D. G. Repsilon, y B. Salvat (Eds.), *Proceedings of the Fifth International Coral Reef Congress, Tahiti vol. 4*. Antenne Museum EPHE, Moorea, pp. 423–428.
- Taylor, F. J. R. 1987. *The biology of dinoflagellates*. Blackwell, University of California Press, 786 pp.
- Ten-Hage, L., J. Turquet, J. P. Quod, S. Piuzeux-Dao y A. Couté. 2000a. *Prorocentrum borbonicum* sp. nov. (Dinophyceae), a new toxic benthic dinoflagellate from southwestern Indian ocean. *Phycologia*, 39(4): 296–301. doi: 10.2216/i0031-8884-39-4-296.1
- Ten-Hage, L., N. Delaunay, V. Pichon, A. Couté, S. Piuzeux-Dao y J. Turquet. 2000b. Okadaic acid production from the marine benthic dinoflagellate *Prorocentrum arenarium* Faust (Dinophyceae) isolated from Europa Island coral reef ecosystem (SW Indian Ocean). *Toxicon*, 38: 1043-1054.
- Ten-Hage, L., C. Robillot, J. Turquet, F. Le Gall, J. P. Le Caer, V. Bultel, *et al.* 2002. Effects of toxic extracts and purified borbotoxins from *Prorocentrum borbonicum* (Dinophyceae) on vertebrate neuromuscular junctions. *Toxicon*, 40: 137–148. doi: 10.1016/S0041-0101(01)00200-8
- Terajima, T., H. Uchida, N. Abe y T. Yasumoto. 2019. Structure elucidation of ostreocin-a and ostreocin-E1, novel palytoxin analogs produced by the dinoflagellate *Ostreopsis siamensis*, using LC/Q-TOF MS. *Bioscience, biotechnology and biochemistry*, 3: 381-390. doi.org/10.1080/09168451.2018.1550356
- Tester, P. A., R. L. Feldman, A. W. Nau, S. R. Kibler y R. W. Litaker. 2010. Ciguatera fish poisoning and sea surface temperatures in the Caribbean Sea and the West Indies. *Toxicon*, 56: 698-710.
- Tester, P.A., M. W. Vandersea, C. A Buckel, S. R. Kibler, W. C. Holland, E. D. Davenport, R. D. Clark, K. F. Edwards, J. C. Taylor, J. L. V. Pluym, *et al.* 2013. *Gambierdiscus* (Dinophyceae) species diversity in the Flower Garden Banks National Marine Sanctuary, Northern Gulf of Mexico, USA. *Harmful Algae*, 29: 1–9.
- Tester, P.A., S. R. Kibler, W. C. Holland, G. Usup, M. W. Vandersea, C. P. Leaw, P. T. Lim, J. Larsen, N. Mohammad-Noor, M. A. Faust y R. W. Litaker. 2014. Sampling harmful benthic dinoflagellates: comparison of artificial and natural substrate methods. *Harmful Algae*, 39: 8–25.
- Tester, P. A., R. W. Litaker y E. Berdalet. 2020. Climate change and harmful benthic microalgae. *Harmful Algae*, 91: 1–27.

- Tichadou, L., M. Glaizal, A. Armengaud, H. Grosssel, R. Lemee, R. Kantin, J. L. Lasalle, G. Drouet, L. Rambaud, P. Malfait y L. de Haro. 2010. Health impact of unicellular algae *Ostreopsis* genus blooms in the Mediterranean Sea: experience of the French Mediterranean coasts surveillance network from 2006 to 2009. *Clin. Toxicol.*, 48: 839-844.
- Torigoe, K., M. Murata and T. Yasumoto. 1988. Prorocentrolide, a toxic nitrogenous macrocycle from a marine dinoflagellate, *Prorocentrum lima*. *J. Am. Chem. Soc.*, 110: 7876-7877.
- Totti, C., S. Accoroni, F. Cerino, E. Cucchiari y T. Romagnoli. 2010. *Ostreopsis ovata* bloom along the Conero Riviera (northern Adriatic Sea): Relationships with environmental conditions and substrata. *Harmful Algae*, 9: 233-239.
- UAESPNN-Unidad Administrativa Especial Sistema de Parques Nacionales. 2002. Sistema de información geográfica del Parque Nacional Natural Tayrona. Documento interno (UAESPNN), Santa Marta.
- Usami, M., M. Satake, S. Ishida, A. Inoue, Y. Kan y T. Yasumoto. 1995. Palytoxin analogs from the dinoflagellate *Ostreopsis siamensis*. *J. Am. Chem. Soc.*, 117: 5389–5390. doi: 10.1021/ja00124a034
- Valdiglesias, V., M. V. Prego-Faraldo, E. Pásaro, J. Méndez y B. Laffon. 2013. Okadaic acid: more than a diarrhetic toxin. *Marine Drugs*, 11: 4328-4349.
- Van den Top, H. J., A. Gerssen, P. McCarron y H. P. van Egmond. 2011. Quantitative determination of marine lipophilic toxins in mussels, oysters and cockles using liquid chromatography-mass spectrometry: inter-laboratory validation study. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 1-13.
- Vandersea, M. W., S. R. Kibler, W. C. Holland, P. A. Tester, T. F. Schultz, M. A. Faust, M. J. Holmes, M. Chinain, y R. W. Litaker. 2012. Development of semi-quantitative PCR assays for the detection and enumeration of *Gambierdiscus* species (Gonyaulacales, Dinophyceae). *J. Phycol.*, 48: 902–915.
- Vila, M., E. Garcés y M. Masó. 2001 Potentially toxic epiphytic dinoflagellates assemblages on macroalgae in the NW Mediterranean. *Aquat. Microb. Ecol.*, 26: 51-60.
- Villafañe, V. E. y F. M. Reid. 1995. Métodos de microscopía para la cuantificación del fitoplancton. En: K. Alveal, M. Ferrario, E. de Oliveira & E. Sar (eds). *Manual de métodos ficológicos*. Universidad de Concepción, Chile, 850 pp.
- Villar-González, A., M. L. Rodríguez-Velasco, B. Ben-Gigirey y L. M. Botana. 2007. Lipophilic toxin profile in Galicia (Spain): 2005 toxic episode. *Toxicon*, 49: 1129-1134.
- Watanabe, R., H. Uchida, T. Suzuki, R. Matsushima, M. Nagae, Y. Toyohara, M. Satake, Y. Oshima, A. Inoue y T. Yasumoto. 2013. Gambieroxide, a novel epoxy polyether compound from the dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus* GTP2 strain. *Tetrahedron* 69, 10299–10303. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.tet.2013.10.022>

- Wetzel, R. 1981. Limnología. Editorial Omega, Barcelona. 679 p.
- Yamaguchi, H., Y. Tomori, Y. Tanimoto, O. Oku y M. Adachi. 2014. Evaluation of the effects of light intensity on growth of the benthic dinoflagellate *Ostreopsis* sp. 1 using a newly developed photoirradiation-culture system and a novel regression analytical method. *Harmful Algae*, 39: 48-54.
- Yasumoto, T., I. Nakajima, R. Bagnis y R. Adachi. 1977. Finding of a dinoflagellate as a likely culprit of ciguatera. *B. Jap. Soc. Sci. Fish.* 43(8): 1021-1026.
- Yasumoto, T., A. Inoue y R. Bagnis. 1979. Ecological survey of a toxic dinoflagellate associated with ciguatera. In: Taylor, D. L. y H. H. Seliger (Eds.). *Toxic dinoflagellates blooms*. Elsevier North Holland, Inc., New York, pp. 221-224.
- Yasumoto, T., A. Inoue, T. Ochi, K. Fujimoto y otros. 1980. Environmental studies on a toxic dinoflagellate responsible for ciguatera. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 46: 1397–1404.
- Yasumoto, T., N. Seino, Y. Murakami and M. Murata. 1987. Toxins produced by benthic dinoflagellates. *Biol. Bull.*, 172: 128-131.
- Zhang, H., Y. Li, J. Cen, H. Wang, L. Cui, Y. Dong y S. Lu. 2015. Morphotypes of *Prorocentrum lima* (Dinophyceae) from Hainan Island, South China Sea: morphological and molecular characterization. *Phycologia*, 54: 503-516.
- Zhang, H., Z. Wu, J. Cen, H. Wang y S. Lu. 2016. First report of three dinoflagellates, *Gambierdiscus pacificus*, *G. australes* and *G. Caribaeus* (Dinophyceae); from Hainan Island, South China Sea. *Phycological Research*, 64: 259-273.
- Zou, J., Q. Li, H. Liu, Y. Liu, L. Huang, H. Wu., *et al.* 2021. Taxonomy and toxin profile of harmful benthic *Prorocentrum* (Dinophyceae) species from the Xisha islands, south China Sea. *J. Oceanol. Limnol.*, 40 (3): 1171–1190. doi: 10.1007/s00343-021-1045-6.

Anexos

Anexo A. Variables ambientales medidas en Bahía Chengue y Bonito Gordo en marzo (época seca mayor), junio (lluviosa menor) y octubre (lluviosa mayor) en 2018. Límite de Cuantificación del Método (LMC): amonio= 0,17 $\mu\text{mol N/L}$; nitrito+nitrato= 0,15 $\mu\text{mol N/L}$; fósforo= 0,02 $\mu\text{mol P/L}$.

Sitio	Mes.día	Temperatura (°C)	Salinidad	Nitri+Nitra ($\mu\text{mol N/L}$)	Amonio ($\mu\text{mol N/L}$)	Aproximación al Nitrógeno ($\mu\text{mol N/L}$)	Fosfato ($\mu\text{M P/L}$)	N:F	SST (mg/L)	Movimiento agua	Iluminancia (lx)	Transparencia (m)	Profundidad (m)	Precipitación (mm)
B. Chengue	Mar-08	27,4	36,7	0,15	0,17	0,32	0,02	15,3	7,16	8,19	13897	1,5	1,5	0,1
B. Chengue	Mar-09	27,5	36,7	0,18	0,17	0,35	0,04	8,0	10,3	6,59	13638	2,4	1,5	0,0
B. Chengue	Mar-10	27,7	36,8	0,15	0,19	0,34	0,02	16,3	5,93	8,06	141156	2,95	1,5	0,0
B. Chengue	Mar-11	27,3	36,5	0,15	0,17	0,32	0,02	15,3	2,37	8,88	16015	5	1,5	0,0
B. Chengue	Mar-12	28,1	36,7	0,15	0,17	0,32	0,02	15,3	2,72	7,88	13056	6,5	1,5	0,0
B. Chengue	Mar-13	27,6	36,8	0,28	0,23	0,51	0,02	24,2	3,48	7,92	14832	4,6	1,5	0,0
B. Chengue	Jun-19	28,4	36	0,15	0,17	0,32	0,02	15,3	4,22	4,8	12147	4,5	1,5	0,7
B. Chengue	Jun-20	27,8	35,6	0,15	0,17	0,32	0,02	15,3	2,91	6,3	10455	5,5	1,5	0,0
B. Chengue	Jun-21	28,6	32,6	0,17	0,17	0,34	0,02	16,3	2,47	4,9	12784	7	1,5	3,7
B. Chengue	Jun-22	29,7	34,1	0,24	0,17	0,41	0,02	19,5	2,91	5,6	17840	4,5	1,5	0,0
B. Chengue	Jun-23	28,8	35,2	0,15	0,37	0,52	0,02	24,9	5,07	4,4	15543	4,5	1,5	0,0
B. Chengue	Jun-24	28,7	35,5	0,15	0,24	0,39	0,02	18,6	12,8	5,2	19814	1	1,5	0,6
B. Chengue	Oct-18	30,2	35,1	0,29	0,19	0,48	0,02	22,8	16	8,0	22352	3	1,5	5,3
B. Chengue	Oct-19	29,7	35,3	0,37	0,39	0,77	0,02	36,3	20,1	7,6	19948	4,04	1,5	5,8
B. Chengue	Oct-20	29,2	35,6	0,24	0,17	0,41	0,02	19,7	12,7	7,9	18640	5	1,5	1,2
B. Chengue	Oct-21	29,2	35,3	0,15	0,17	0,32	0,02	15,3	3,28	7,4	20898	4,1	1,5	47,0
B. Chengue	Oct-22	29,4	35,5	0,17	0,56	0,74	0,02	35,1	6,86	8,0	21685	5	1,5	0,0
B. Chengue	Oct-23	29,3	35,4	0,30	0,17	0,47	0,02	22,3	20,1	7,8	18346	7,1	1,5	16,3
B. Gordo	Mar-09	26,7	36,7	0,42	0,17	0,59	0,02	28,1	1,03	4,66	14059	9	2	0,0
B. Gordo	Mar-10	26,9	36,8	0,23	0,18	0,42	0,02	19,7	1,13	5,83	15300	9	2	0,0
B. Gordo	Mar-11	26,9	36,7	0,19	0,21	0,40	0,02	19,1	2,05	5,15	13748	7	2	0,0
B. Gordo	Mar-12	26,8	36,5	0,15	0,19	0,34	0,02	16,3	1,11	5,99	13376	9	2	0,0
B. Gordo	Mar-13	26,7	36,6	0,32	0,17	0,49	0,02	23,2	1,31	4,65	13504	10	2	0,0
B. Gordo	Mar-14	26,9	36,6	0,29	0,17	0,46	0,03	17,5	1,39	5,26	12460	10	2	0,0
B. Gordo	Jun-20	27,1	35,7	0,15	0,17	0,32	0,02	15,3	1,38	5,8	9324	12,5	2	0,0
B. Gordo	Jun-21	27,8	31,8	0,27	0,17	0,44	0,02	21,0	2,03	4,2	10514	9	2	3,7
B. Gordo	Jun-22	28,4	32,6	0,15	0,17	0,32	0,02	15,3	4,28	4,4	12634	9	2	0,0
B. Gordo	Jun-23	28,2	33,7	0,21	0,23	0,43	0,02	20,6	4,47	4,4	11576	8	2	0,0
B. Gordo	Jun-24	28,1	34,6	0,15	0,23	0,38	0,03	11,6	12,1	4,6	12042	6	2	0,6
B. Gordo	Jun-25	27,5	35,7	0,90	0,17	1,07	0,02	50,8	1,38	4,3	11034	5,5	2	0,4
B. Gordo	Oct-19	29,4	35,3	0,17	0,17	0,34	0,02	16,2	15,8	5,6	11952	8,65	2	5,8
B. Gordo	Oct-20	29,4	35,5	0,15	0,17	0,32	0,02	15,3	2,58	5,3	12541	6	2	1,2
B. Gordo	Oct-21	29,2	35,6	0,15	0,17	0,32	0,02	15,3	3,3	5,1	11775	7,8	2	47,0
B. Gordo	Oct-22	29,0	35,5	0,15	0,17	0,32	0,02	15,3	11,9	5,5	9667	3	2	0,0
B. Gordo	Oct-23	29,2	35	0,61	0,25	0,86	0,02	40,6	17,5	5,0	8628	5,8	2	16,3
B. Gordo	Oct-24	29,1	35,4	0,43	0,33	0,76	0,02	36,1	31	5,3	9715	8,8	2	0,7

Anexo B. Resumen estadístico de las variables ambientales medidas en Bahía Chengue en marzo (época seca mayor), junio (lluviosa menor) y octubre (lluviosa mayor) en 2018.

Sitio	Variable	Mes	Promedio	Mediana	Min.	Max.	n	D. S
B. Chengue	T (°C)	Marzo	27,59	27,57	27,30	28,09	6	0,28
		Junio	28,67	28,68	27,78	29,74	6	0,64
		Octubre	29,49	29,30	29,19	30,17	6	0,38
B. Chengue	Salinidad	Marzo	36,70	36,70	36,50	36,80	6	0,11
		Junio	34,83	35,35	32,60	36,00	6	1,27
		Octubre	35,37	35,35	35,10	35,60	6	0,18
B. Chengue	NO ₂ +NO ₃ (µmol N/L)	Marzo	0,18	0,15	0,15	0,28	6	0,05
		Junio	0,17	0,15	0,15	0,24	6	0,04
		Octubre	0,25	0,27	0,15	0,37	6	0,08
B. Chengue	NH ₄ (µmol N/L)	Marzo	0,19	0,17	0,17	0,23	6	0,03
		Junio	0,22	0,17	0,17	0,37	6	0,08
		Octubre	0,28	0,18	0,17	0,56	6	0,17
B. Chengue	NO ₂ +NO ₃ +NH ₄ (µmol N/L)	Marzo	0,36	0,33	0,32	0,51	6	0,07
		Junio	0,39	0,37	0,32	0,52	6	0,08
		Octubre	0,53	0,47	0,32	0,77	6	0,18
B. Chengue	PO ₄ (µmol P/L)	Marzo	0,02	0,02	0,02	0,04	6	0,01
		Junio	0,02	0,02	0,02	0,02	6	0,00
		Octubre	0,02	0,02	0,02	0,02	6	0,00
B. Chengue	Relación N/P	Marzo	15,71	15,25	8,00	24,24	6	5,16
		Junio	18,29	17,45	15,25	24,88	6	3,67
		Octubre	25,23	22,53	15,25	36,34	6	8,55
B. Chengue	SST (mg/L)	Marzo	4,99	3,71	2,37	10,30	6	3,11
		Junio	5,06	3,57	2,47	12,80	6	3,91
		Octubre	13,17	14,40	3,26	20,10	6	6,96
B. Chengue	Transp. (m)	Marzo	3,83	3,78	1,50	6,50	6	1,86
		Junio	4,50	4,50	1,00	7,00	6	1,97
		Octubre	4,71	4,6	3,00	7,10	6	1,39
B. Chengue	Mov. Agua	Marzo	7,92	7,99	6,59	8,88	6	0,75
		Junio	5,19	5,05	4,36	6,30	6	0,69
		Octubre	7,79	7,84	7,45	8,03	6	0,24
B. Chengue	Niv. Ilum (lx)	Marzo	14262,22	14016,40	13055,83	16015,05	6	1038,38
		Junio	14763,77	14163,39	10454,60	19814,45	6	3603,19
		Octubre	20311,50	20423,04	18345,91	22351,59	6	1623,58
B. Chengue	Precipitación (mm/día)	Marzo	0,02	0,00	0,00	0,10	6	0,04
		Junio	0,83	0,30	0,00	3,70	6	1,44
		Octubre	11,83	5,55	0,00	47,00	0	17,81

Anexo C. Resumen estadístico de las variables ambientales medidas en Bonito Gordo en marzo (época seca mayor), junio (lluviosa menor) y octubre (lluviosa mayor) en 2018.

Sitio	Variable	Mes	Promedio	Mediana	Min.	Max.	n	D. S
B. Gordo	T (°C)	Marzo	26,82	26,84	26,66	26,94	6	0,11
		Junio	27,87	27,99	27,12	28,41	6	0,48
		Octubre	29,22	29,22	29,02	29,44	6	0,16
B. Gordo	Salinidad	Marzo	36,65	36,65	36,50	36,80	6	0,10
		Junio	34,02	34,15	31,80	35,70	6	1,61
		Octubre	35,38	35,45	35,00	35,60	6	0,21
B. Gordo	NO ₂ +NO ₃ (µmol N/L)	Marzo	0,27	0,26	0,15	0,42	6	0,10
		Junio	0,30	0,18	0,15	0,90	6	0,30
		Octubre	0,28	0,16	0,15	0,61	6	0,20
B. Gordo	NH ₄ (µmol N/L)	Marzo	0,18	0,18	0,17	0,21	6	0,02
		Junio	0,19	0,17	0,17	0,23	6	0,03
		Octubre	0,21	0,17	0,17	0,33	6	0,07
B. Gordo	NO ₂ +NO ₃ +NH ₄ (µmol N/L)	Marzo	0,45	0,44	0,34	0,59	6	0,09
		Junio	0,49	0,41	0,32	1,07	6	0,29
		Octubre	0,49	0,33	0,32	0,86	6	0,25
B. Gordo	PO ₄ (µmol P/L)	Marzo	0,02	0,02	0,02	0,03	6	0,00
		Junio	0,02	0,02	0,02	0,03	6	0,00
		Octubre	0,02	0,02	0,02	0,02	6	0,00
B. Gordo	Relación N/P	Marzo	20,64	19,40	16,27	28,07	6	4,33
		Junio	22,43	17,94	11,59	50,85	6	14,38
		Octubre	23,10	15,71	15,25	40,61	6	11,89
B. Gordo	SST (mg/L)	Marzo	1,34	1,22	1,03	2,05	6	0,37
		Junio	4,27	3,16	1,38	12,10	6	4,08
		Octubre	13,68	13,9	2,58	31,00	6	10,52
B. Gordo	Transp. (m)	Marzo	9,00	9,00	7,00	10,00	6	1,10
		Junio	8,33	8,50	5,50	12,50	6	2,52
		Octubre	6,68	6,90	3,00	8,80	6	2,21
B. Gordo	Mov. Agua	Marzo	5,26	5,20	4,65	5,99	6	0,56
		Junio	4,29	4,32	3,80	4,64	6	0,28
		Octubre	5,28	5,32	4,98	5,56	6	0,22
B. Gordo	Niv. llum (lx)	Marzo	13824,44	13625,88	12460,37	15799,77	6	1106,99
		Junio	11187,41	11305,15	9324,38	12633,70	6	1176,56
		Octubre	10712,89	10744,74	8628,43	12540,91	6	1577,31
B. Gordo	Precip. (mm/día)	Marzo	0,00	0,00	0,00	0,00	6	0,00
		Junio	0,78	0,20	0,00	3,70	6	1,45
		Octubre	11,83	3,50	0,00	47,00	6	18,28

Anexo D. Densidades promedio diarias de *Gambierdiscus* spp. (No. Células 100 cm⁻²) y estadísticos descriptivos registrados en sustratos artificiales (mallas de fibra de vidrio) expuestos por 24 h a lo largo de seis días consecutivos registradas en Bahía Chengue y Bonito Gordo en marzo (época seca mayor), junio (lluviosa menor) y octubre (lluviosa mayor) en 2018. N/a indica muestras donde el CV no se pudo calcular por presencia de ceros.

Morfotipo	Sitio	Mes-día	Promedio (No. Cél 100 cm ⁻²)	Mediana (No. Cél 100 cm ⁻²)	Min	Max	Ds	CV (%) mes	CV (%) diario	No. Réplicas
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Mar-08	14	0	0	95	36	471	265	7
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Mar-09	0	0	0	0	0		N/a	7
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Mar-10	24	0	0	170	64		265	7
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Mar-11	0	0	0	0	0		N/a	7
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Mar-12	0	0	0	0	0		N/a	7
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Mar-13	0	0	0	0	0		N/a	7
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Jun-19	86	0	0	304	119	266	139	7
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Jun-20	44	0	0	308	116		265	7
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Jun-21	44	0	0	153	75		171	7
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Jun-22	0	0	0	0	0		N/a	7
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Jun-23	0	0	0	0	0		N/a	7
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Jun-24	0	0	0	0	0		N/a	7
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Oct-18	22	0	0	154	58	254	265	7
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Oct-19	44	0	0	153	75		171	7
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Oct-20	99	0	0	231	123		125	7
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Oct-21	0	0	0	0	0		N/a	7
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Oct-22	0	0	0	0	0		N/a	7
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Oct-23	0	0	0	0	0		N/a	7
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Gordo	Mar-09	30	0	0	106	42	261	138	7
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Gordo	Mar-10	108	91	0	459	163		151	7
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Gordo	Mar-11	0	0	0	0	0		N/a	7
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Gordo	Mar-12	0	0	0	0	0		N/a	7
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Gordo	Mar-13	56	0	0	220	96		173	7
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Gordo	Mar-14	0	0	0	0	0		N/a	7
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Gordo	Jun-20	993	765	0	2601	876	95	88	7
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Gordo	Jun-21	482	459	0	923	360		75	7
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Gordo	Jun-22	126	0	0	653	248		196	7
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Gordo	Jun-23	458	232	0	1142	419		91	7
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Gordo	Jun-24	612	632	0	1349	446		73	7
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Gordo	Jun-25	601	685	230	909	229		38	7
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Gordo	Oct-19	99	0	0	461	181	123	184	7
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Gordo	Oct-20	158	185	0	370	166		105	7
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Gordo	Oct-21	211	0	0	738	310		147	7
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Gordo	Oct-22	132	0	0	369	175		133	7
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Gordo	Oct-23	553	369	184	1663	523		94	7
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Gordo	Oct-24	370	368	185	553	150		41	7

Anexo E. Densidades promedio diarias de *Prorocentrum cf. lima* (No. Células 100 cm⁻²) y estadísticos descriptivos registrados en sustratos artificiales (mallas de fibra de vidrio) expuestos por 24 h a lo largo de seis días consecutivos registradas en Bahía Chengue y Bonito Gordo en marzo (época seca mayor), junio (lluviosa menor) y octubre (lluviosa mayor) en 2018. N/a indica muestras donde el CV no se pudo calcular por presencia de ceros.

Morfotipo	Sitio	Mes-día	Promedio (No. cél 100 cm ⁻²)	Mediana (No. cél 100 cm ⁻²)	Min	Max	Ds	CV (%) mes	CV (%) diario	No. Réplicas
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Mar-08	144	106	0	351	123	97	86	7
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Mar-09	105	106	53	159	31		29	7
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Mar-10	180	172	0	459	205		114	7
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Mar-11	109	155	0	170	78		72	7
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Mar-12	323	322	0	769	291		90	7
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Mar-13	493	459	271	773	208		42	7
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Jun-19	20	0	0	142	54	216	265	7
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Jun-20	44	0	0	153	75		171	7
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Jun-21	0	0	0	0	0		N/a	7
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Jun-22	54	0	0	227	95		175	7
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Jun-23	125	153	0	415	149		119	7
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Jun-24	0	0	0	0	0		N/a	7
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Oct-18	417	308	0	923	290	118	70	7
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Oct-19	360	230	0	1218	443		123	7
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Oct-20	527	231	0	1845	621		118	7
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Oct-21	165	0	0	462	220		133	7
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Oct-22	393	230	0	1377	472		120	7
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Oct-23	173	231	0	464	168		97	7
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Gordo	Mar-09	7071	8313	3500	10647	3063	94	43	7
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Gordo	Mar-10	13708	14048	4726	17994	4813		35	7
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Gordo	Mar-11	10449	7359	2905	23257	7734		74	7
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Gordo	Mar-12	29094	25491	5690	66642	19783		68	7
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Gordo	Mar-13	61677	59805	43574	87385	14709		24	7
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Gordo	Mar-14	53556	44713	11195	118931	36354		68	7
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Gordo	Jun-20	262	308	0	459	211	97	80	7
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Gordo	Jun-21	109	0	0	612	229		209	7
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Gordo	Jun-22	130	0	0	461	180		139	7
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Gordo	Jun-23	132	231	0	232	124		94	7
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Gordo	Jun-24	223	231	0	422	122		55	7
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Gordo	Jun-25	207	228	0	454	136		66	7
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Gordo	Oct-19	33	0	0	231	87	259	265	7
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Gordo	Oct-20	0	0	0	0	0		N/a	7
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Gordo	Oct-21	0	0	0	0	0		N/a	7
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Gordo	Oct-22	26	0	0	184	70		265	7
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Gordo	Oct-23	264	185	0	739	279		106	7
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Gordo	Oct-24	26	0	0	183	69		265	7

Anexo F. Densidades promedio diarias de *Ostreopsis cf. ovata* (No. Células 100 cm⁻²) y estadísticos descriptivos registrados en sustratos artificiales (mallas de fibra de vidrio) expuestos por 24 h a lo largo de seis días consecutivos registradas en Bahía Chengue y Bonito Gordo en marzo (época seca mayor), junio (lluviosa menor) y octubre (lluviosa mayor) en 2018. N/a indica muestras donde el CV no se pudo calcular por presencia de ceros.

Morfotipo	Sitio	Mes-día	Promedio (No. cél 100 cm ⁻²)	Mediana (No. cél 100 cm ⁻²)	Min	Max	Ds	CV (%) mes	CV (%) diario	No. Réplicas
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Mar-08	776	238	48	4216	1522	104	196	7
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Mar-09	418	371	112	1060	316		75	7
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Mar-10	1627	1374	681	3978	1145		70	7
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Mar-11	1076	656	309	3740	1203		112	7
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Mar-12	915	850	153	1538	615		67	7
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Mar-13	1010	1020	258	1819	673		67	7
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Jun-19	8193	6536	1683	25463	7995	122	98	7
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Jun-20	14051	10919	4767	40341	12263		87	7
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Jun-21	13397	4921	2286	57999	20189		151	7
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Jun-22	7084	6850	1969	14230	5001		71	7
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Jun-23	4364	1840	1237	11323	4648		107	7
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Jun-24	5856	4844	1110	17389	5722		98	7
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Oct-18	0	0	0	0	0	365	N/a	7
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Oct-19	33	0	0	230	87		265	7
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Oct-20	33	0	0	231	87		265	7
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Oct-21	0	0	0	0	0		N/a	7
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Oct-22	33	0	0	230	87		265	7
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Oct-23	0	0	0	0	0		N/a	7
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Mar-09	37	0	0	106	50	383	135	7
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Mar-10	81	86	0	205	87		108	7
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Mar-11	49	0	0	172	84		171	7
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Mar-12	0	0	0	0	0		N/a	7
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Mar-13	44	0	0	306	116		265	7
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Mar-14	532	187	0	3076	1127		212	7
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Jun-20	1219	757	0	3180	1129	176	93	7
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Jun-21	175	0	0	769	287		164	7
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Jun-22	33	0	0	231	87		265	7
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Jun-23	392	445	0	1142	389		99	7
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Jun-24	323	225	0	899	343		106	7
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Jun-25	33	0	0	228	86		265	7
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Oct-19	0	0	0	0	0	N/A	N/a	7
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Oct-20	0	0	0	0	0		N/a	7
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Oct-21	0	0	0	0	0		N/a	7
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Oct-22	0	0	0	0	0		N/a	7
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Oct-23	0	0	0	0	0		N/a	7
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Oct-24	0	0	0	0	0		N/a	7

Anexo G. Densidades promedio diarias de *Ostreopsis* spp. (No. Células 100 cm⁻²) y estadísticos descriptivos registrados en sustratos artificiales (mallas de fibra de vidrio) expuestos por 24 h a lo largo de seis días consecutivos registradas en Bahía Chengue y Bonito Gordo en marzo (época seca mayor), junio (lluviosa menor) y octubre (lluviosa mayor) en 2018. N/a indica muestras donde el CV no se pudo calcular por presencia de ceros.

Morfortipo	Sitio	Mes-día	Promedio (No. cél 100 cm ⁻²)	Mediana (No. Cél 100 cm ⁻²)	Min	Max	Ds	CV (%) mes	CV (%) diario	No. Réplicas
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Mar-08	3312	2012	810	12950	4302	78	130	7
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Mar-09	3912	2330	392	7152	2942		75	7
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Mar-10	11782	10562	2233	20197	5705		48	7
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Mar-11	11478	10881	2550	21761	6086		53	7
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Mar-12	7319	4760	3060	15301	5178		71	7
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Mar-13	18941	17641	9640	28705	6581		35	7
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Jun-19	9196	8784	7650	11082	1270	44	14	7
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Jun-20	9299	7956	6152	13853	3063		33	7
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Jun-21	5212	4590	2286	10808	2715		52	7
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Jun-22	5942	5967	4415	7650	1108		19	7
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Jun-23	6147	5796	2453	12021	3245		53	7
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Jun-24	4646	4614	1384	8141	2544		55	7
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Oct-18	58794	58594	28154	87045	23108	33	39	7
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Oct-19	46885	47060	21947	92555	26243		56	7
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Oct-20	44852	49136	22838	56748	10907		24	7
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Oct-21	22081	19378	12251	38371	9163		41	7
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Oct-22	23026	24099	10558	34427	10442		45	7
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Oct-23	12436	9738	1494	29758	10398		84	7
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Gordo	Mar-09	10942	8578	6841	17169	4315	74	39	7
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Gordo	Mar-10	11651	9592	6267	21299	5335		46	7
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Gordo	Mar-11	8210	9812	2563	11815	3743		46	7
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Gordo	Mar-12	15045	13904	5998	31100	8506		57	7
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Gordo	Mar-13	31337	30763	20762	45350	7568		24	7
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Gordo	Mar-14	34233	25935	17612	72281	19385		57	7
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Gordo	Jun-20	32312	28297	6120	68833	24031	133	74	7
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Gordo	Jun-21	3787	2614	2601	7997	2018		53	7
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Gordo	Jun-22	4084	2999	1615	7841	2470		60	7
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Gordo	Jun-23	12874	7188	1840	46354	15614		121	7
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Gordo	Jun-24	8728	4047	1897	22933	9633		110	7
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Gordo	Jun-25	7370	7572	2066	14842	4589		62	7
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Gordo	Oct-19	197	230	0	461	159	102	81	7
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Gordo	Oct-20	211	185	0	554	224		106	7
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Gordo	Oct-21	475	370	185	1476	463		97	7
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Gordo	Oct-22	343	185	0	1293	445		130	7
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Gordo	Oct-23	685	554	0	1478	529		77	7
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Gordo	Oct-24	606	554	0	1105	494		82	7

Anexo H. Análisis de varianza de los abióticos entre sitios-mes (B. Chengue y B. Gordo) y meses (Marzo: seca mayor; Junio: lluviosa menor y Octubre: lluviosa mayor). Solo se muestran los resultados de las variables que dieron diferencias significativas entre los ítems comparados.

Variables	Comparaciones	Pruebas	Valor	G. L	n	p
Temperatura (°C)	ChenMarzo-ChenJunio	ANOVA/ Tukey HSD	42.14	5	36	0,00
	ChenMarzo-ChenOctubre	ANOVA/ Tukey HSD	42.14	5	36	0,00
	ChenMarzo-BonMarzo	ANOVA/ Tukey HSD	42.14	5	36	0,02
	ChenMarzo-BonJunio	ANOVA/ Tukey HSD	42.14	5	36	0,81
	ChenMarzo-BonOctubre	ANOVA/ Tukey HSD	42.14	5	36	0,00
	ChenJunio-ChenOctubre	ANOVA/ Tukey HSD	42.14	5	36	0,01
	ChenJunio-BonMarzo	ANOVA/ Tukey HSD	42.14	5	36	0,00
	ChenJunio-BonJunio	ANOVA/ Tukey HSD	42.14	5	36	0,01
	ChenJunio-BonOctubre	ANOVA/ Tukey HSD	42.14	5	36	0,17
	ChenOctubre-BonMarzo	ANOVA/ Tukey HSD	42.14	5	36	0,00
	ChenOctubre-BonJunio	ANOVA/ Tukey HSD	42.14	5	36	0,00
	ChenOctubre-BonOctubre	ANOVA/ Tukey HSD	42.14	5	36	0,84
	BonMarzo-BonJunio	ANOVA/ Tukey HSD	42.14	5	36	0,00
	BonMarzo-BonOctubre	ANOVA/ Tukey HSD	42.14	5	36	0,00
	BonJunio-BonOctubre	ANOVA/ Tukey HSD	42.14	5	36	0,00
Salinidad	ChenMarzo-ChenJunio	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	24.18	5	36	0,03
	ChenMarzo-ChenOctubre	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	24.18	5	36	0,04
	ChenMarzo-BonMarzo	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	24.18	5	36	1,00
	ChenMarzo-BonJunio	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	24.18	5	36	0,01
	ChenMarzo-BonOctubre	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	24.18	5	36	0,07
	ChenJunio-ChenOctubre	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	24.18	5	36	1,00
	ChenJunio-BonMarzo	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	24.18	5	36	0,09
	ChenJunio-BonJunio	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	24.18	5	36	1,00
	ChenJunio-BonOctubre	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	24.18	5	36	1,00
	ChenOctubre-BonMarzo	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	24.18	5	36	0,11
	ChenOctubre-BonJunio	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	24.18	5	36	1,00
	ChenOctubre-BonOctubre	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	24.18	5	36	1,00
	BonMarzo-BonJunio	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	24.18	5	36	0,02
	BonMarzo-BonOctubre	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	24.18	5	36	0,16
	BonJunio-BonOctubre	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	24.18	5	36	1,00
SST (mg/L)	ChenMarzo-ChenJunio	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	19.79	5	36	1,00

Variables	Comparaciones	Pruebas	Valor	G. L	n	p
	ChenMarzo-ChenOctubre	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	19.79	5	36	1,00
	ChenMarzo-BonMarzo	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	19.79	5	36	0,30
	ChenMarzo-BonJunio	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	19.79	5	36	1,00
	ChenMarzo-BonOctubre	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	19.79	5	36	1,00
	ChenJunio-ChenOctubre	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	19.79	5	36	1,00
	ChenJunio-BonMarzo	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	19.79	5	36	0,26
	ChenJunio-BonJunio	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	19.79	5	36	1,00
	ChenJunio-BonOctubre	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	19.79	5	36	1,00
	ChenOctubre-BonMarzo	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	19.79	5	36	0,00
	ChenOctubre-BonJunio	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	19.79	5	36	0,43
	ChenOctubre-BonOctubre	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	19.79	5	36	1,00
	BonMarzo-BonJunio	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	19.79	5	36	1,00
	BonMarzo-BonOctubre	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	19.79	5	36	0,01
	BonJunio-BonOctubre	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	19.79	5	36	1,00
Transparencia (m)	ChenMarzo-ChenJunio	ANOVA/ Tukey HSD	7.74	5	36	0,99
	ChenMarzo-ChenOctubre	ANOVA/ Tukey HSD	7.74	5	36	0,96
	ChenMarzo-BonMarzo	ANOVA/ Tukey HSD	7.74	5	36	0,00
	ChenMarzo-BonJunio	ANOVA/ Tukey HSD	7.74	5	36	0,00
	ChenMarzo-BonOctubre	ANOVA/ Tukey HSD	7.74	5	36	0,13
	ChenJunio-ChenOctubre	ANOVA/ Tukey HSD	7.74	5	36	1,00
	ChenJunio-BonMarzo	ANOVA/ Tukey HSD	7.74	5	36	0,00
	ChenJunio-BonJunio	ANOVA/ Tukey HSD	7.74	5	36	0,02
	ChenJunio-BonOctubre	ANOVA/ Tukey HSD	7.74	5	36	0,38
	ChenOctubre-BonMarzo	ANOVA/ Tukey HSD	7.74	5	36	0,01
	ChenOctubre-BonJunio	ANOVA/ Tukey HSD	7.74	5	36	0,03
	ChenOctubre-BonOctubre	ANOVA/ Tukey HSD	7.74	5	36	0,49
	BonMarzo-BonJunio	ANOVA/ Tukey HSD	7.74	5	36	0,99
	BonMarzo-BonOctubre	ANOVA/ Tukey HSD	7.74	5	36	0,31
	BonJunio-BonOctubre	ANOVA/ Tukey HSD	7.74	5	36	0,66
Iluminación (Lux)	ChenMarzo-ChenJunio	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	25.97	5	36	1,00
	ChenMarzo-ChenOctubre	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	25.97	5	36	1,00
	ChenMarzo-BonMarzo	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	25.97	5	36	1,00
	ChenMarzo-BonJunio	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	25.97	5	36	0,26

Variables	Comparaciones	Pruebas	Valor	G. L	n	p
	ChenMarzo-BonOctubre	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	25.97	5	36	0,14
	ChenJunio- ChenOctubre	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	25.97	5	36	0,46
	ChenJunio-BonMarzo	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	25.97	5	36	1,00
	ChenJunio-BonJunio	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	25.97	5	36	0,78
	ChenJunio-BonOctubre	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	25.97	5	36	0,46
	ChenOctubre-BonMarzo	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	25.97	5	36	0,49
	ChenOctubre-BonJunio	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	25.97	5	36	0,00
	ChenOctubre- BonOctubre	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	25.97	5	36	0,00
	BonMarzo-BonJunio	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	25.97	5	36	0,73
	BonMarzo-BonOctubre	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	25.97	5	36	0,43
	BonJunio-BonOctubre	Kruskal-Wallis-H/ Comparaciones múltiples	25.97	5	36	1,00
Movimiento agua	ChenMarzo-ChenJunio	ANOVA/ Tukey HSD	54.11	5	36	0,00
	ChenMarzo- ChenOctubre	ANOVA/ Tukey HSD	54.11	5	36	1,00
	ChenMarzo-BonMarzo	ANOVA/ Tukey HSD	54.11	5	36	0,00
	ChenMarzo-BonJunio	ANOVA/ Tukey HSD	54.11	5	36	0,00
	ChenMarzo-BonOctubre	ANOVA/ Tukey HSD	54.11	5	36	0,00
	ChenJunio- ChenOctubre	ANOVA/ Tukey HSD	54.11	5	36	0,00
	ChenJunio-BonMarzo	ANOVA/ Tukey HSD	54.11	5	36	1,00
	ChenJunio-BonJunio	ANOVA/ Tukey HSD	54.11	5	36	0,04
	ChenJunio-BonOctubre	ANOVA/ Tukey HSD	54.11	5	36	1,00
	ChenOctubre-BonMarzo	ANOVA/ Tukey HSD	54.11	5	36	0,00
	ChenOctubre-BonJunio	ANOVA/ Tukey HSD	54.11	5	36	0,00
	ChenOctubre- BonOctubre	ANOVA/ Tukey HSD	54.11	5	36	0,00
	BonMarzo-BonJunio	ANOVA/ Tukey HSD	54.11	5	36	0,03
	BonMarzo-BonOctubre	ANOVA/ Tukey HSD	54.11	5	36	1,00
	BonJunio-BonOctubre	ANOVA/ Tukey HSD	54.11	5	36	0,02

Anexo I. Densidad promedio (No. Células 100 cm⁻²) y estadísticos descriptivos relacionados de *Gambierdiscus* spp. registradas en sustratos artificiales (mallas expuestas por 24 h) y naturales: macrofita (área foliar de *Thalassia testudinum*), en Bahía Chengue y Bonito Gordo en marzo (época seca-S), junio (transición-T) y octubre (lluviosa-LI) en 2018. Desviación estándar(Ds), Valor mínimo (Min), Valor máximo (Max), CV, % (Coeficiente de variación en porcentaje). n/a indica muestras donde el CV no se pudo calcular por presencia de ceros.

Sustrato artificial: malla								Sustrato natural: macrofita <i>T. testudinum</i>					
Sitio	Mes-día	Promedio (No. cél*100cm ²)	Ds	Min	Max	CV(%)	No. Réplicas	Promedio (No. cél*100cm ²)	Ds	Min	Max	CV(%)	No. Réplicas
B.Chengue	mar-10-S	24	64	0	170	265	7	0	0	0	0	n/a	7
B.Chengue	mar-11-S	0	0	0	0	n/a	7	0	0	0	0	n/a	7
B.Chengue	mar-12-S	0	0	0	0	n/a	7	0	0	0	0	n/a	7
B.Chengue	mar-13-S	0	0	0	0	n/a	7	0	0	0	0	n/a	6
B.Chengue	jun-19-T	86	119	0	304	139	7	0	0	0	0	n/a	7
B.Chengue	jun-20-T	44	116	0	308	265	7	0	0	0	0	n/a	7
B.Chengue	jun-23-T	0	0	0	0	n/a	7	22	29	0	61	129	7
B.Chengue	oct-18-LI	22	58	0	154	265	7	33	52	0	115	159	6
B.Chengue	oct-19-LI	44	75	0	153	171	7	0	0	0	0	n/a	6
B.Chengue	oct-21-LI	0	0	0	0	n/a	7	0	n/a	0	0	n/a	1
B.Chengue	oct-22-LI	0	0	0	0	n/a	7	0	0	0	0	n/a	4
B.Gordo	mar-11-S	0	0	0	0	n/a	7	11	33	0	86	302	8
B.Gordo	mar-12-S	0	0	0	0	n/a	7	41	33	0	73	80	6
B.Gordo	mar-13-S	56	96	0	220	173	7	8	24	0	64	302	8
B.Gordo	mar-14-S	0	0	0	0	n/a	7	10	30	0	79	302	8
B.Gordo	jun-20-T	993	876	0	2601	88	7	602	319	158	980	53	7
B.Gordo	jun-23-T	458	419	0	1142	91	7	687	455	252	1471	66	7
B.Gordo	jun-25-T	601	229	230	909	38	7	557	441	125	1332	79	7
B.Gordo	oct-19-LI	99	181	0	481	184	7	1243	1060	0	2189	85	6
B.Gordo	oct-21-LI	211	310	0	738	147	7	0	n/a	0	0	n/a	1
B.Gordo	oct-22-LI	132	175	0	369	133	7	1284	1062	0	2401	83	4
B.Gordo	oct-24-LI	370	150	185	553	41	7	753	622	0	1603	83	6

Anexo J. Densidad promedio (No. Células 100 cm⁻²) y estadísticos descriptivos relacionados de *Prorocentrum cf. lima* registradas en sustratos artificiales (mallas expuestas por 24 h) y naturales: macrofita (área foliar de *Thalassia testudinum*), en Bahía Chengue y Bonito Gordo en marzo (época seca-S), junio (transición-T) y octubre (lluviosa-LI) en 2018. Desviación estándar(Ds), Valor mínimo (Min), Valor máximo (Max), CV, % (Coeficiente de variación en porcentaje). n/a indica muestras donde el CV no se pudo calcular por presencia de ceros.

Sustrato artificial: malla								Sustrato natural: macrofita <i>T. testudinum</i>					
Sitio	Mes-día	Promedio (No. cél*100cm ²)	Ds	Min	Max	CV(%)	No. Réplicas	Promedio (No. cél*100cm ²)	Ds	Min	Max	CV(%)	No. Réplicas
B.Chengue	mar-10-S	180	205	0	459	114	7	73	47	25	171	64	7
B.Chengue	mar-11-S	109	78	0	170	72	7	114	72	26	188	63	7
B.Chengue	mar-12-S	323	291	0	769	90	7	185	120	0	386	65	7
B.Chengue	mar-13-S	493	208	271	773	42	7	153	88	71	287	58	6
B.Chengue	jun-19-T	20	54	0	142	265	7	43	35	0	84	81	7
B.Chengue	jun-20-T	44	75	0	153	171	7	44	60	0	149	135	7
B.Chengue	jun-23-T	125	149	0	415	119	7	132	91	0	268	69	7
B.Chengue	oct-18-LI	417	290	0	923	70	7	616	429	294	1449	70	6
B.Chengue	oct-19-LI	360	443	0	1218	123	7	3325	1265	1900	5488	38	6
B.Chengue	oct-21-LI	165	220	0	462	133	7	1987	n/a	1987	1987	n/a	1
B.Chengue	oct-22-LI	393	472	0	1377	120	7	2843	702	2183	3765	25	4
B.Gordo	mar-11-S	10449	7734	2905	23257	74	7	63439	36470	22383	142362	57	8
B.Gordo	mar-12-S	29094	19783	5690	66642	68	7	42845	17677	19214	68044	41	6
B.Gordo	mar-13-S	61677	14709	43574	87385	24	7	78479	54696	37558	193946	70	8
B.Gordo	mar-14-S	53556	36354	11195	118931	68	7	96646	35872	46316	163595	37	8
B.Gordo	jun-20-T	262	211	0	459	80	7	930	485	308	1764	52	7
B.Gordo	jun-23-T	132	124	0	232	94	7	728	392	350	1531	54	7
B.Gordo	jun-25-T	207	136	0	454	66	7	9260	8825	544	20836	95	7
B.Gordo	oct-19-LI	33	87	0	231	265	7	1070	810	228	2542	76	6
B.Gordo	oct-21-LI	0	0	0	0	n/a	7	1587	n/a	1587	1587	n/a	1
B.Gordo	oct-22-LI	26	70	0	184	265	7	1727	161	1492	1854	9	4
B.Gordo	oct-24-LI	26	69	0	183	265	7	1958	596	1324	2805	30	6

Anexo K. Densidad promedio (No. Células 100 cm⁻²) y estadísticos descriptivos relacionados de *Ostreopsis cf. ovata* registradas en sustratos artificiales (mallas expuestas por 24 h) y naturales: macrofita (área foliar de *Thalassia testudinum*), en Bahía Chengue y Bonito Gordo en marzo (época seca-S), junio (transición-T) y octubre (lluviosa-LI) en 2018. Desviación estándar(Ds), Valor mínimo (Min), Valor máximo (Max), CV, % (Coeficiente de variación en porcentaje). n/a indica muestras donde el CV no se pudo calcular por presencia de ceros.

Sitio	Mes-día	Sustrato artificial: malla					Sustrato natural: macrofita <i>T. testudinum</i>						
		Promedio (No. cél*100cm ⁻²)	Ds	Min	Max	CV(%)	No. Réplicas	Promedio (No. cél*100cm ⁻²)	Std	Min	Max	CV(%)	No. Réplicas
B.Chengue	mar-10-S	1627	1145	681	3978	70	7	304	127	75	463	42	7
B.Chengue	mar-11-S	1076	1203	309	3740	112	7	617	283	153	997	46	7
B.Chengue	mar-12-S	915	615	153	1538	67	7	677	410	281	1374	61	7
B.Chengue	mar-13-S	1010	673	258	1819	67	7	630	292	383	1057	46	6
B.Chengue	jun-19-T	8193	7995	1683	25463	98	7	8858	833	7671	9923	9	7
B.Chengue	jun-20-T	14051	12263	4767	40341	87	7	7107	2049	3586	9436	29	7
B.Chengue	jun-23-T	4364	4648	1237	11323	107	7	7617	3079	3772	13012	40	7
B.Chengue	oct-18-LI	0	0	0	0	n/a	7	0	0	0	0	n/a	6
B.Chengue	oct-19-LI	33	87	0	230	265	7	0	0	0	0	n/a	6
B.Chengue	oct-21-LI	0	0	0	0	n/a	7	0	n/a	0	0	n/a	1
B.Chengue	oct-22-LI	33	87	0	230	265	7	43	87	0	173	200	4
B.Gordo	mar-11-S	49	84	0	172	171	7	0	0	0	0	n/a	8
B.Gordo	mar-12-S	0	0	0	0	n/a	7	8	19	0	47	245	6
B.Gordo	mar-13-S	44	116	0	306	265	7	0	0	0	0	n/a	8
B.Gordo	mar-14-S	532	1127	0	3076	212	7	26	50	0	110	196	8
B.Gordo	jun-20-T	1219	1129	0	3180	93	7	187	195	0	504	104	7
B.Gordo	jun-23-T	392	389	0	1142	99	7	26	47	0	118	181	7
B.Gordo	jun-25-T	33	86	0	228	265	7	543	478	0	1201	88	7
B.Gordo	oct-19-LI	0	0	0	0	n/a	7	0	0	0	0	n/a	6
B.Gordo	oct-21-LI	0	0	0	0	n/a	7	0	n/a	0	0	n/a	1
B.Gordo	oct-22-LI	0	0	0	0	n/a	7	0	0	0	0	n/a	4
B.Gordo	oct-24-LI	0	0	0	0	n/a	7	0	0	0	0	n/a	6

Anexo L. Densidad promedio (No. Células 100 cm⁻²) y estadísticos descriptivos relacionados de *Ostreopsis* spp. registrados en sustratos artificiales (mallas expuestas por 24 h) y naturales: macrofita (área foliar de *Thalassia testudinum*), en Bahía Chengue y Bonito Gordo en marzo (época seca-S), junio (transición-T) y octubre (lluviosa-LI) en 2018. Desviación estándar(Ds), Valor mínimo (Min), Valor máximo (Max), CV, % (Coeficiente de variación en porcentaje). n/a indica muestras donde el CV no se pudo calcular por presencia de ceros.

Sitio	Mes-día	Sustrato artificial: malla					Sustrato natural: macrofita <i>T. testudinum</i>						
		Promedio (No. cél*100cm ⁻²)	Ds	Min	Max	CV(%)	No. Réplicas	Promedio (No. cél*100cm ⁻²)	Std	Min	Max	CV(%)	No. Réplicas
Chengue	mar-10-S	11782	5705	2233	20197	48	7	114	55	12	173	48	7
Chengue	mar-11-S	11478	6086	2550	21761	53	7	267	105	124	448	39	7
Chengue	mar-12-S	7319	5178	3060	15301	71	7	238	114	128	435	48	7
Chengue	mar-13-S	18941	6581	9640	28705	35	7	224	102	85	360	46	6
Chengue	jun-19-T	9196	1270	7650	11082	14	7	631	209	237	918	33	7
Chengue	jun-20-T	9299	3063	6152	13853	33	7	705	451	298	1614	64	7
Chengue	jun-23-T	6147	3245	2453	12021	53	7	492	295	56	990	60	7
Chengue	oct-18-LI	58794	23108	28154	87045	39	7	10093	5193	4586	18994	51	6
Chengue	oct-19-LI	46885	26243	21947	92555	56	7	14633	7473	5716	27987	51	6
Chengue	oct-21-LI	22081	9163	12251	38371	41	7	3690	n/a	3690	3690	n/a	1
Chengue	oct-22-LI	23026	10442	10558	34427	45	7	7185	4384	2510	12833	61	4
B.Gordo	mar-11-S	8210	3743	2563	11815	46	7	8389	8189	1720	22433	98	8
B.Gordo	mar-12-S	15045	8506	5998	31100	57	7	4418	2753	1857	9648	62	6
B.Gordo	mar-13-S	31337	7568	20762	45350	24	7	3382	2750	842	9530	81	8
B.Gordo	mar-14-S	34233	19385	17612	72281	57	7	3974	2783	763	8195	70	8
B.Gordo	jun-20-T	32312	24031	6120	68833	74	7	18868	15347	7074	52327	81	7
B.Gordo	jun-23-T	12874	15614	1840	46354	121	7	9746	1924	6753	12426	20	7
B.Gordo	jun-25-T	7370	4589	2066	14842	62	7	28480	19471	6039	54888	68	7
B.Gordo	oct-19-LI	197	159	0	461	81	7	1105	702	0	2011	63	6
B.Gordo	oct-21-LI	475	463	185	1476	97	7	0	n/a	0	0	n/a	1
B.Gordo	oct-22-LI	343	445	0	1293	130	7	1885	1309	440	3001	69	4
B.Gordo	oct-24-LI	606	494	0	1105	82	7	749	639	0	1324	85	6

Anexo M. Densidades de *Gambierdiscus* spp. (No. células 100 cm⁻²) y estadísticos descriptivos relacionados registrados en sustratos artificiales (mallas de fibra de vidrio), expuestos por 24 h (1d), 72 h (3d) y 144 h (6d) en Bahía Chengue y Bonito Gordo en marzo (época seca mayor), junio (lluviosa menor) y octubre (lluviosa mayor) en 2018. n/a indica muestras donde el CV no se pudo calcular por presencia de ceros.

Morfortipo	Sitio	Mes(época)-día	Tiempo Exposición	Abundancia (No. cél 100 cm ²)	Prom	Min	Max	Ds	CV(%)
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-08	1d (24 h)	95	14	0	95	36	265
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-08	1d (24 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-08	1d (24 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-08	1d (24 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-08	1d (24 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-08	1d (24 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-08	1d (24 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-08	1d (24 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-10	3d (72h)	0	0	0	0	0	n/a
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-10	3d (72h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-10	3d (72h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-10	3d (72h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-10	3d (72h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-10	3d (72h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-10	3d (72h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-10	3d (72h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-13	6d (144 h)	0	0	0	0	0	n/a
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-13	6d (144 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-13	6d (144 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-13	6d (144 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-13	6d (144 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-13	6d (144 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-13	6d (144 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-13	6d (144 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Junio (Transición)-19	1d (24 h)	151	86	0	305	119	139
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Junio (Transición)-19	1d (24 h)	146					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Junio (Transición)-19	1d (24 h)	305					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Junio (Transición)-19	1d (24 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Junio (Transición)-19	1d (24 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Junio (Transición)-19	1d (24 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Junio (Transición)-19	1d (24 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Junio (Transición)-19	1d (24 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Junio (Transición)-21	3d (72h)	0	0	0	0	0	n/a
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Junio (Transición)-21	3d (72h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Junio (Transición)-21	3d (72h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Junio (Transición)-21	3d (72h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Junio (Transición)-21	3d (72h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Junio (Transición)-21	3d (72h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Junio (Transición)-21	3d (72h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Junio (Transición)-21	3d (72h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Junio (Transición)-24	6d (144 h)	0	0	0	0	0	n/a
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Junio (Transición)-24	6d (144 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Junio (Transición)-24	6d (144 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Junio (Transición)-24	6d (144 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Junio (Transición)-24	6d (144 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Junio (Transición)-24	6d (144 h)	0					

Morfotipo	Sitio	Mes(época)-día	Tiempo Exposición	Abundancia (No. cél 100 cm ²)	Prom	Min	Max	Ds	CV(%)
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Junio (Transición)-24	6d (144 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Junio (Transición)-24	6d (144 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-18	1d (24 h)	154	22	0	154	58	265
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-18	1d (24 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-18	1d (24 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-18	1d (24 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-18	1d (24 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-18	1d (24 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-18	1d (24 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-20	3d (72h)	0	0	0	0	0	n/a
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-20	3d (72h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-20	3d (72h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-20	3d (72h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-20	3d (72h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-20	3d (72h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-20	3d (72h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-23	6d (144 h)	0	0	0	0	0	n/a
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-23	6d (144 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-23	6d (144 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-23	6d (144 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-23	6d (144 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-23	6d (144 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-23	6d (144 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Gordo	Marzo (Seca)-09	1d (24 h)	53	30	0	106	42	183
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Gordo	Marzo (Seca)-09	1d (24 h)	106					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Gordo	Marzo (Seca)-09	1d (24 h)	53					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Gordo	Marzo (Seca)-09	1d (24 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Gordo	Marzo (Seca)-09	1d (24 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Gordo	Marzo (Seca)-09	1d (24 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Gordo	Marzo (Seca)-09	1d (24 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Gordo	Marzo (Seca)-11	3d (72h)	0	0	0	0	0	n/a
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Gordo	Marzo (Seca)-11	3d (72h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Gordo	Marzo (Seca)-11	3d (72h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Gordo	Marzo (Seca)-11	3d (72h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Gordo	Marzo (Seca)-11	3d (72h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Gordo	Marzo (Seca)-11	3d (72h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Gordo	Marzo (Seca)-11	3d (72h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Gordo	Marzo (Seca)-14	6d (144 h)	434	62	434	434	164	265
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Gordo	Marzo (Seca)-14	6d (144 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Gordo	Marzo (Seca)-14	6d (144 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Gordo	Marzo (Seca)-14	6d (144 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Gordo	Marzo (Seca)-14	6d (144 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Gordo	Marzo (Seca)-14	6d (144 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Gordo	Marzo (Seca)-14	6d (144 h)	0					
<i>Gambierdiscus</i> spp.	B. Gordo	Junio (Transición)-20	1d (24 h)	1590	993	0	2601	877	88

Anexo N. Densidades de *Prorocentrum cf. lima* (No. células 100 cm⁻²) y estadísticos descriptivos relacionados en sustratos artificiales (mallas de fibra de vidrio), expuestos por 24 h (1d), 72 h (3d) y 144 h (6d) en Bahía Chengue y Bonito Gordo en marzo (época seca mayor), junio (lluviosa menor) y octubre (lluviosa mayor) en 2018. n/a indica muestras donde el CV no se pudo calcular por presencia de ceros.

Morfotipo	Sitio	Mes(época)-día	Tiempo Exposición	Abundancia (No. cél 100 cm ⁻²)	Prom	Min	Max	Ds	CV (%)
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Marzo (Seca)-08	1d (24 h)	143	144	0	351	123	86
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Marzo (Seca)-08	1d (24 h)	265					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Marzo (Seca)-08	1d (24 h)	95					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Marzo (Seca)-08	1d (24 h)	351					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Marzo (Seca)-08	1d (24 h)	106					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Marzo (Seca)-08	1d (24 h)	48					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Marzo (Seca)-08	1d (24 h)	0					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Marzo (Seca)-10	3d (72h)	2319	2309	461	4173	1371	59
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Marzo (Seca)-10	3d (72h)	918					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Marzo (Seca)-10	3d (72h)	3710					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Marzo (Seca)-10	3d (72h)	461					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Marzo (Seca)-10	3d (72h)	4173					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Marzo (Seca)-10	3d (72h)	2782					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Marzo (Seca)-10	3d (72h)	1799					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Marzo (Seca)-13	6d (144 h)	1025	1732	3672	3672	1092	63
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Marzo (Seca)-13	6d (144 h)	966					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Marzo (Seca)-13	6d (144 h)	1384					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Marzo (Seca)-13	6d (144 h)	486					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Marzo (Seca)-13	6d (144 h)	2295					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Marzo (Seca)-13	6d (144 h)	3672					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Marzo (Seca)-13	6d (144 h)	2295					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-19	1d (24 h)	142	20	0	142	54	265
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-19	1d (24 h)	0					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-19	1d (24 h)	0					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-19	1d (24 h)	0					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-19	1d (24 h)	0					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-19	1d (24 h)	0					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-19	1d (24 h)	0					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-19	1d (24 h)	0					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-21	3d (72h)	153	44	0	153	75	171
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-21	3d (72h)	153					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-21	3d (72h)	0					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-21	3d (72h)	0					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-21	3d (72h)	0					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-21	3d (72h)	0					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-21	3d (72h)	0					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-21	3d (72h)	0					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-24	6d (144 h)	457	456	0	923	267	58
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-24	6d (144 h)	459					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-24	6d (144 h)	443					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-24	6d (144 h)	454					

Morfortipo	Sitio	Mes(época)-día	Tiempo Exposición	Abundancia (No. cél 100 cm ⁻²)	Prom	Min	Max	Ds	CV (%)
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-24	6d (144 h)	459					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-24	6d (144 h)	923					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-24	6d (144 h)	0					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-18	1d (24 h)	461	417	0	923	290	70
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-18	1d (24 h)	308					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-18	1d (24 h)	306					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-18	1d (24 h)	612					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-18	1d (24 h)	923					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-18	1d (24 h)	308					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-18	1d (24 h)	0					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-20	3d (72h)	692	428	0	692	247	58
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-20	3d (72h)	461					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-20	3d (72h)	230					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-20	3d (72h)	692					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-20	3d (72h)	461					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-20	3d (72h)	461					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-20	3d (72h)	0					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-23	6d (144 h)	692	198	0	692	247	125
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-23	6d (144 h)	231					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-23	6d (144 h)	231					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-23	6d (144 h)	232					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-23	6d (144 h)	0					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-23	6d (144 h)	0					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-23	6d (144 h)	0					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-09	1d (24 h)	3500	7071	3500	10647	3062,8	43
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-09	1d (24 h)	8313					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-09	1d (24 h)	9424					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-09	1d (24 h)	10647					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-09	1d (24 h)	3765					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-09	1d (24 h)	9443					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-09	1d (24 h)	4405					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-11	3d (72h)	283281	127798	35345	283281	99532	78
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-11	3d (72h)	35345					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-11	3d (72h)	239451					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-11	3d (72h)	56460					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-11	3d (72h)	154097					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-11	3d (72h)	57210					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-11	3d (72h)	68744					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-14	6d (144 h)	14644	442159	769564	769565	295717	67
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-14	6d (144 h)	542787					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-14	6d (144 h)	538439					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-14	6d (144 h)	671293					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-14	6d (144 h)	513408					
<i>Prorocentrum cf. lima</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-14	6d (144 h)	44980					

Anexo O. Densidades de *Ostreopsis cf. ovata* (No. células 100 cm⁻²) y estadísticos descriptivos relacionados registrados en sustratos artificiales (mallas de fibra de vidrio), expuestos por 24 h (1d), 72 h (3d) y 144 h (6d) en Bahía Chengue y Bonito Gordo en marzo (época seca mayor), junio (lluviosa menor) y octubre (lluviosa mayor) en 2018. n/a indica muestras donde el CV no se pudo calcular por presencia de ceros.

Morfortipo	Sitio	Mes(época)-día	Tiempo Exposición	Abundancia (No. cél 100 cm ⁻²)	Prom	Min	Max	Ds	CV(%)
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Marzo (Seca)-08	1d (24 h)	48	776	48	4216	1522	196
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Marzo (Seca)-08	1d (24 h)	53					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Marzo (Seca)-08	1d (24 h)	238					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Marzo (Seca)-08	1d (24 h)	424					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Marzo (Seca)-08	1d (24 h)	4216					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Marzo (Seca)-08	1d (24 h)	265					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Marzo (Seca)-08	1d (24 h)	191					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Marzo (Seca)-10	3d (72h)	5101	4409	3213	6028	1024	23
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Marzo (Seca)-10	3d (72h)	3213					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Marzo (Seca)-10	3d (72h)	6028					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Marzo (Seca)-10	3d (72h)	4152					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Marzo (Seca)-10	3d (72h)	4173					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Marzo (Seca)-10	3d (72h)	3246					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Marzo (Seca)-10	3d (72h)	4946					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Marzo (Seca)-13	6d (144 h)	6152	3212	6152	6152	1837	57
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Marzo (Seca)-13	6d (144 h)	1933					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Marzo (Seca)-13	6d (144 h)	1845					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Marzo (Seca)-13	6d (144 h)	2914					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Marzo (Seca)-13	6d (144 h)	1836					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Marzo (Seca)-13	6d (144 h)	5508					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Marzo (Seca)-13	6d (144 h)	2295					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-19	1d (24 h)	6536	8193	1683	25463	7995	98
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-19	1d (24 h)	4392					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-19	1d (24 h)	1683					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-19	1d (24 h)	7445					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-19	1d (24 h)	3197					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-19	1d (24 h)	25463					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-19	1d (24 h)	8633					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-21	3d (72h)	75128	60136	23410	83543	22614	38
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-21	3d (72h)	83543					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-21	3d (72h)	77279					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-21	3d (72h)	70590					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-21	3d (72h)	53094					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-21	3d (72h)	37905					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-21	3d (72h)	23410					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-24	6d (144 h)	8220	11572	5536	21684	6168	53
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-24	6d (144 h)	5536					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-24	6d (144 h)	8722					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-24	6d (144 h)	18148					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-24	6d (144 h)	12267					

Morfotipo	Sitio	Mes(época)-día	Tiempo Exposición	Abundancia (No. cél 100 cm ⁻²)	Prom	Min	Max	Ds	CV(%)
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-24	6d (144 h)	6426					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-24	6d (144 h)	21684					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-18	1d (24 h)	0	0	0	0	0	n/a
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-18	1d (24 h)	0					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-18	1d (24 h)	0					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-18	1d (24 h)	0					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-18	1d (24 h)	0					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-18	1d (24 h)	0					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-18	1d (24 h)	0					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-20	3d (72h)	0	0	0	0	0	n/a
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-20	3d (72h)	0					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-20	3d (72h)	0					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-20	3d (72h)	0					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-20	3d (72h)	0					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-20	3d (72h)	0					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-20	3d (72h)	0					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-20	3d (72h)	0					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-23	6d (144 h)	0	0	0	0	0	n/a
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-23	6d (144 h)	0					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-23	6d (144 h)	0					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-23	6d (144 h)	0					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-23	6d (144 h)	0					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-23	6d (144 h)	0					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-23	6d (144 h)	0					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-23	6d (144 h)	0					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-09	1d (24 h)	106	37	0	106	50	135
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-09	1d (24 h)	106					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-09	1d (24 h)	48					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-09	1d (24 h)	0					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-09	1d (24 h)	0					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-09	1d (24 h)	0					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-09	1d (24 h)	0					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-09	1d (24 h)	0					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-11	3d (72h)	461	198	0	923	363	184
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-11	3d (72h)	923					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-11	3d (72h)	0					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-11	3d (72h)	0					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-11	3d (72h)	0					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-11	3d (72h)	0					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-11	3d (72h)	0					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-11	3d (72h)	0					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-14	6d (144 h)	488	202	923	923	366	182
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-14	6d (144 h)	923					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-14	6d (144 h)	0					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-14	6d (144 h)	0					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-14	6d (144 h)	0					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-14	6d (144 h)	0					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-14	6d (144 h)	0					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-14	6d (144 h)	0					
<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	B. Gordo	Junio (Transición)-20	1d (24 h)	3180	1219	0	3180	1129	93

Anexo P. Densidades de *Ostreopsis* spp. (No. células 100 cm⁻²) y estadísticos descriptivos relacionados registrados en sustratos artificiales (mallas de fibra de vidrio), expuestos por 24 h(1d), 72 h (3d) y 144 h (6d) en Bahía Chengue y Bonito Gordo en marzo (época seca mayor), junio (lluviosa menor) y octubre (lluviosa mayor) en 2018.

Morfotipo	Sitio	Mes(época)-día	Tiempo Exposición	Abundancia (No. cél 100 cm ²)	Prom	Min	Max	Ds	CV(%)
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-08	1d (24 h)	953	3312	810	12950	4302	130
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-08	1d (24 h)	2012					
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-08	1d (24 h)	810					
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-08	1d (24 h)	1525					
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-08	1d (24 h)	2439					
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-08	1d (24 h)	12950					
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-08	1d (24 h)	2494					
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-10	3d (72h)	13911	16394	10202	25040	5539	34
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-10	3d (72h)	15837					
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-10	3d (72h)	25040					
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-10	3d (72h)	11996					
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-10	3d (72h)	22933					
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-10	3d (72h)	14839					
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-10	3d (72h)	10202					
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-13	6d (144 h)	16404	11343	17902	17902	4288	38
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-13	6d (144 h)	8697					
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-13	6d (144 h)	6459					
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-13	6d (144 h)	10199					
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-13	6d (144 h)	8263					
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-13	6d (144 h)	17902					
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Marzo (Seca)-13	6d (144 h)	11476					
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Junio (Transición)-19	1d (24 h)	11082	9196	7651	11082	1270	14
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Junio (Transición)-19	1d (24 h)	8784					
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Junio (Transición)-19	1d (24 h)	7651					
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Junio (Transición)-19	1d (24 h)	10511					
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Junio (Transición)-19	1d (24 h)	8677					
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Junio (Transición)-19	1d (24 h)	9643					
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Junio (Transición)-19	1d (24 h)	8027					
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Junio (Transición)-21	3d (72h)	9793	7123	3672	9793	2292	32
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Junio (Transición)-21	3d (72h)	9334					
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Junio (Transición)-21	3d (72h)	7613					
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Junio (Transición)-21	3d (72h)	7997					
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Junio (Transición)-21	3d (72h)	6885					
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Junio (Transición)-21	3d (72h)	4567					
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Junio (Transición)-21	3d (72h)	3672					
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Junio (Transición)-24	6d (144 h)	10504	9933	6197	17071	3874	39
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Junio (Transición)-24	6d (144 h)	7382					
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Junio (Transición)-24	6d (144 h)	12853					
<i>Ostreopsis</i> spp.	B. Chengue	Junio (Transición)-24	6d (144 h)	6197					

Morfotipo	Sitio	Mes(época)-día	Tiempo Exposición	Abundancia (No. cél 100 cm ²)	Prom	Min	Max	Ds	CV(%)
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-24	6d (144 h)	8178					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-24	6d (144 h)	7344					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Chengue	Junio (Transición)-24	6d (144 h)	17071					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-18	1d (24 h)	63346	58794	28154	87045	23108	39
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-18	1d (24 h)	58594					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-18	1d (24 h)	55364					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-18	1d (24 h)	28154					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-18	1d (24 h)	86297					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-18	1d (24 h)	87045					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-18	1d (24 h)	32757					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-20	3d (72h)	15687	20689	9869	43599	13409	65
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-20	3d (72h)	13149					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-20	3d (72h)	12918					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-20	3d (72h)	9869					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-20	3d (72h)	13380					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-20	3d (72h)	36218					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-20	3d (72h)	43599					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-23	6d (144 h)	5333	12655	3506	26990	10153	80
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-23	6d (144 h)	26990					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-23	6d (144 h)	3506					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-23	6d (144 h)	18511					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-23	6d (144 h)	6697					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-23	6d (144 h)	3691					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Chengue	Octubre (Lluviosa)-23	6d (144 h)	23857					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-09	1d (24 h)	6841	10942,3	6841	17169,1	4315,3	39
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-09	1d (24 h)	8578					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-09	1d (24 h)	13500					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-09	1d (24 h)	15468					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-09	1d (24 h)	7292					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-09	1d (24 h)	17169					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-09	1d (24 h)	7748					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-11	3d (72h)	33219	13364	4614	33219	10035	75
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-11	3d (72h)	8262					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-11	3d (72h)	18916					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-11	3d (72h)	12853					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-11	3d (72h)	5075					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-11	3d (72h)	4614					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-11	3d (72h)	10612					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-14	6d (144 h)	9274	29913	47739	47739	16650	56
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-14	6d (144 h)	45558					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-14	6d (144 h)	47739					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-14	6d (144 h)	36910					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-14	6d (144 h)	17719					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-14	6d (144 h)	11129					

Morfotipo	Sitio	Mes(época)-día	Tiempo Exposición	Abundancia (No. cél/100 cm ²)	Prom	Min	Max	Ds	CV(%)
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Marzo (Seca)-14	6d (144 h)	41062					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Junio (Transición)-20	1d (24 h)	68833	32312	6120	68833	24031	74
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Junio (Transición)-20	1d (24 h)	37487					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Junio (Transición)-20	1d (24 h)	6120					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Junio (Transición)-20	1d (24 h)	8633					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Junio (Transición)-20	1d (24 h)	57990					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Junio (Transición)-20	1d (24 h)	18820					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Junio (Transición)-20	1d (24 h)	28297					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Junio (Transición)-22	3d (72h)	47060	48058	33050	79356	15913	33
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Junio (Transición)-22	3d (72h)	47060					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Junio (Transición)-22	3d (72h)	55364					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Junio (Transición)-22	3d (72h)	40853					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Junio (Transición)-22	3d (72h)	33050					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Junio (Transición)-22	3d (72h)	79356					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Junio (Transición)-22	3d (72h)	33660					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Junio (Transición)-25	6d (144 h)	49116	58340	18820	86297	22424	38
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Junio (Transición)-25	6d (144 h)	65182					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Junio (Transición)-25	6d (144 h)	18820					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Junio (Transición)-25	6d (144 h)	49575					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Junio (Transición)-25	6d (144 h)	79871					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Junio (Transición)-25	6d (144 h)	59517					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Junio (Transición)-25	6d (144 h)	86297					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Octubre (Lluviosa)-19	1d (24 h)	230	197	0	461	159	81
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Octubre (Lluviosa)-19	1d (24 h)	231					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Octubre (Lluviosa)-19	1d (24 h)	230					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Octubre (Lluviosa)-19	1d (24 h)	230					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Octubre (Lluviosa)-19	1d (24 h)	461					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Octubre (Lluviosa)-19	1d (24 h)	0					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Octubre (Lluviosa)-19	1d (24 h)	0					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Octubre (Lluviosa)-21	3d (72h)	242	432	0	927	311	72
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Octubre (Lluviosa)-21	3d (72h)	464					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Octubre (Lluviosa)-21	3d (72h)	927					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Octubre (Lluviosa)-21	3d (72h)	694					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Octubre (Lluviosa)-21	3d (72h)	463					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Octubre (Lluviosa)-21	3d (72h)	231					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Octubre (Lluviosa)-21	3d (72h)	0					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Octubre (Lluviosa)-24	6d (144 h)	923					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Octubre (Lluviosa)-24	6d (144 h)	1107	389	0	1107	443	114
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Octubre (Lluviosa)-24	6d (144 h)	230					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Octubre (Lluviosa)-24	6d (144 h)	230					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Octubre (Lluviosa)-24	6d (144 h)	231					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Octubre (Lluviosa)-24	6d (144 h)	0					
<i>Ostreopsis spp.</i>	B. Gordo	Octubre (Lluviosa)-24	6d (144 h)	0					

Anexo Q. Morfotipos seleccionados.

