

**Informe final\* del Proyecto JC006**  
**Computarización de la colección de dinoflagelados marinos (CODIMAR)**

**Responsable:** Dra. María de Lourdes Morquecho Escamilla  
**Institución:** Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C.  
Programa de Planeación Ambiental y Conservación  
Laboratorio de Ecología de Fitoplancton  
**Dirección:** Mar Bermejo # 195, Playa Palo de Santa Rita, La Paz, BCS, 23090, México  
**Correo electrónico:** [lmorquecho@cibnor.mx](mailto:lmorquecho@cibnor.mx)  
**Teléfono, fax** 612-123-8484, ext. 3111 y 3167  
**Fecha de inicio:** Abril 30, 2012  
**Fecha de término:** Julio 23, 2014  
**Principales resultados:** Base de datos, fotografías, Informe final  
**Forma de citar\*\* el informe final y otros resultados:** Morquecho Escamilla, Ma. de L., Okolodkov, Y. y A. Reyes Salinas. 2016. Computarización de la colección de dinoflagelados marinos (CODIMAR). Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. **Informe final SNIB-CONABIO, proyecto No. JC006, México D. F.**

**Resumen:**

Esta propuesta con una duración de dos años, tiene como objetivo computarizar y mejorar la calidad curatorial de la Colección de Dinoflagelados Marinos (CODIMAR) del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR). La base de datos de la CODIMAR se integrará al Sistema Nacional de Información sobre Biodiversidad de la CONABIO (SNIB), bajo la modalidad de colecciones científicas de plagas que afecten la salud humana. La CODIMAR está integrada por 131 cepas de dinoflagelados marinos aislados primordialmente del sur del Golfo de California y está formalmente registrada en la Dirección General de Vida Silvestre de la SEMARNAT. El acervo de la colección está integrado primordialmente por cepas con cualidades nocivas que pueden llegar a afectar la salud humana, ambiental y ocasionar pérdidas económicas en actividades acuícolas, pesqueras y turísticas (ver Tabla I al final de este documento). El acervo ha resultado fundamental para realizar investigación básica sobre taxonomía, fisiología, filogenia y toxicidad de especies nocivas como es el caso de *Gymnodinium catenatum* y *Cochlodinium polykrikoides*, así como en actividades docentes de nivel posgrado. Para lograr computarizar y mejorar la calidad curatorial del acervo se contempla completar la identificación taxonómica a nivel especie de 49 cepas para intercalarlas al acervo oficial de la colección. El trabajo taxonómico se realizará mediante métodos tradicionales de microscopía de luz (diseción de la teca y observación de células en vivo) y de ser necesario se recurrirá a la microscopía electrónica de barrido. Se mejorará la calidad curatorial de las cepas mediante la combinación de métodos de axenización que incluye el uso de la micropipeta, diluciones seriadas y antibióticos. Como respaldo taxonómico, se mantendrán muestras en líquido fijadas con solución de Lugol y formol de cada una de las cepas. También se organizará y compilará un archivo fotográfico para crear láminas que describan los rasgos taxonómicos característicos de cada una de las especies identificadas y considerando los lineamientos que estipula la CONABIO para la elaboración de fotografías e ilustraciones digitales. El trabajo taxonómico será validado por un colega experto internacional en taxonomía de dinoflagelados marinos. La base de datos general de la colección se conformará considerando el sistema de información Biótica 5.0.

- 
- \* El presente documento no necesariamente contiene los principales resultados del proyecto correspondiente o la descripción de los mismos. Los proyectos apoyados por la CONABIO así como información adicional sobre ellos, pueden consultarse en [www.conabio.gob.mx](http://www.conabio.gob.mx)
  - \*\* El usuario tiene la obligación, de conformidad con el artículo 57 de la LFDA, de citar a los autores de obras individuales, así como a los compiladores. De manera que deberán citarse todos los responsables de los proyectos, que proveyeron datos, así como a la CONABIO como depositaria, compiladora y proveedora de la información. En su caso, el usuario deberá obtener del proveedor la información complementaria sobre la autoría específica de los datos.



CENTRO DE  
INVESTIGACIONES  
BIOLÓGICAS  
DEL NOROESTE, S.C.



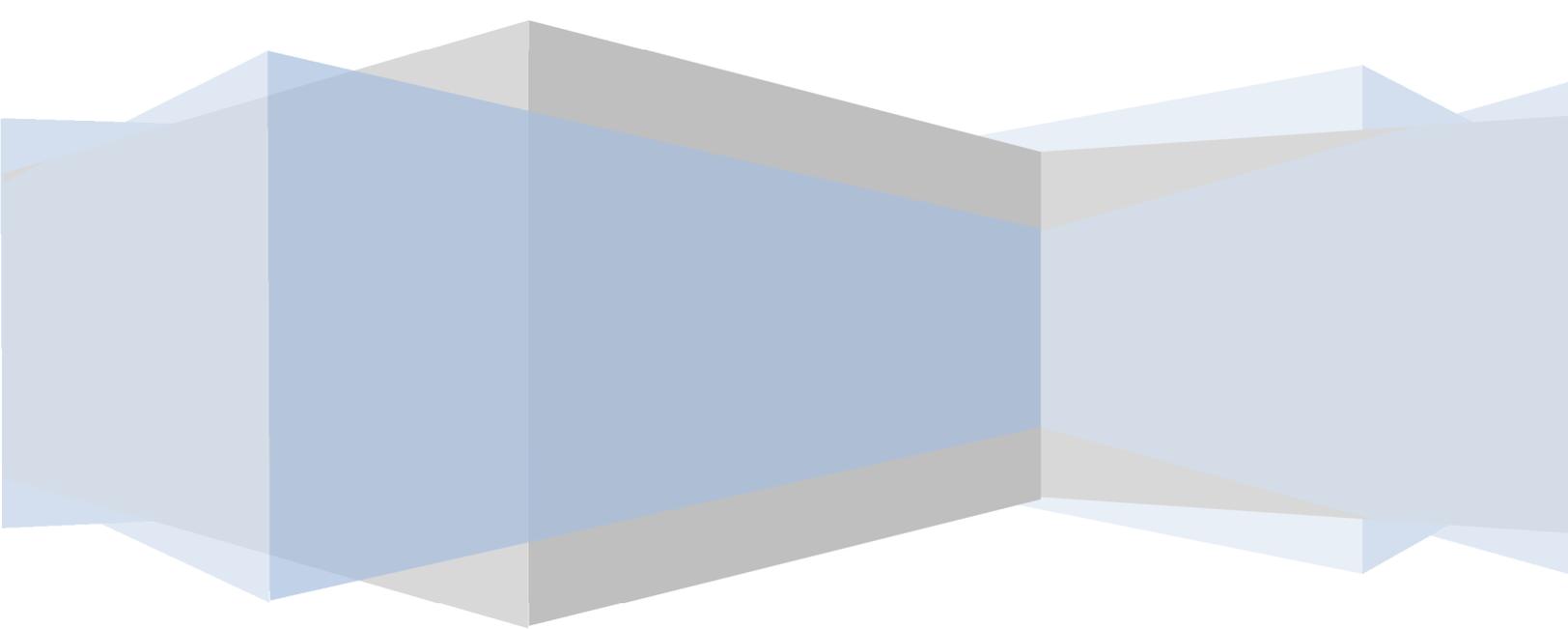
# Computarización de la Colección de Dinoflagelados Marinos (JC006)

Informe final

**Dra. Lourdes Morquecho Escamilla (Curadora)**

**Dr. Yuri Okolodkov (Taxónomo Especialista)**

**M. en C. Amada Reyes Salinas (Técnico Asociado)**



## Contenido

<b>1</b>	<b>RESUMEN</b> .....	<b>3</b>
<b>2</b>	<b>ANTECEDENTES</b> .....	<b>4</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>5</b>
<b>3.1</b>	<b>General</b> .....	<b>5</b>
<b>3.2</b>	<b>Particulares</b> .....	<b>5</b>
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b> .....	<b>6</b>
<b>4.1</b>	<b>Determinación taxonómica de las cepas</b> .....	<b>6</b>
<b>4.2</b>	<b>Purificación de las cepas</b> .....	<b>6</b>
<b>4.3</b>	<b>Organización y corrección de la base de datos</b> .....	<b>7</b>
<b>4.4</b>	<b>Elaboración de láminas fotográficas</b> .....	<b>7</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>8</b>
<b>5.1</b>	<b>Identificación del 100% de las cepas no determinadas</b> .....	<b>8</b>
<b>5.2</b>	<b>Purificación de las cepas con antibióticos</b> .....	<b>10</b>
<b>5.3</b>	<b>Registros capturados en BIOTICA 5.0</b> .....	<b>13</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>14</b>
<b>7</b>	<b>PERSPECTIVAS</b> .....	<b>14</b>
<b>8</b>	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS</b> .....	<b>15</b>

## 1 RESUMEN

Esta propuesta con una duración de dos años tuvo como objetivo computarizar y mejorar la calidad curatorial de la *Colección de Dinoflagelados Marinos (CODIMAR)* del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR). La base de datos de la CODIMAR se integrará al Sistema Nacional de Información sobre Biodiversidad de la CONABIO (SNIB), bajo la modalidad de colecciones científicas de plagas que afecten la salud humana. La CODIMAR está integrada por 131 cepas de dinoflagelados marinos aislados principalmente del sur del Golfo de California y está formalmente registrada en la Dirección General de Vida Silvestre de la SEMARNAT. El acervo de la colección está integrado primordialmente por cepas con cualidades nocivas que pueden llegar a afectar la salud humana y ambiental y ocasionar pérdidas económicas en actividades acuícolas, pesqueras y turísticas. El acervo ha resultado fundamental para realizar investigación básica sobre taxonomía, fisiología, filogenia y toxicidad de especies nocivas como es el caso de *Gymnodinium catenatum* y *Cochlodinium polykrikoides*, así como en actividades docentes de nivel posgrado. Para lograr computarizar y mejorar la calidad curatorial del acervo se contempló en este proyecto: a) completar la identificación taxonómica a nivel especie de 57 cepas, b) realizar pruebas de purificación de las cepas, d) organizar y compilar un archivo fotográfico para elaborar láminas que describan con imágenes la características taxonómicas y morfológicas de las especies, y e) computarizar la base de datos en BIOTICA 5.0. En este informe final se integran los resultados entregados en el 1er y 2º informe, se corrige y completa la captura de la base de datos con 141 ID ejemplar y se entrega el último lote de láminas fotográficas para completar un total 30 láminas elaboradas. Para el caso de las pruebas de purificación de las cepas se entrega un avance del 74%.

## 2 ANTECEDENTES

Las Floraciones Algas Nocivas (FAN) afectan la salud humana y ambiental, así como actividades económicas como la pesca, acuicultura y turismo. Con el fin de predecir y minimizar el impacto de las FAN, agencias pertenecientes a la UNESCO han planteado programas de investigación interdisciplinarios, en los que se contempla la definición de las características biológicas y de adaptación que determinan como, cuando y bajo qué condiciones las microalgas nocivas se presentan y producen sus efectos dañinos. Sin embargo, para lograr este objetivo es necesario que primero se aislen, mantengan cepas en cultivo y se formalice el establecimiento de colecciones de referencia.

Con el propósito de apoyar las metas de las agencias internacionales de investigación relacionadas con el estudio de las FAN, sometimos ante el CONACyT (convocatoria 2000) el proyecto titulado: "Hacia el establecimiento del primer banco de información taxonómica y biológica de dinoflagelados en México", cuyo objetivo principal fue el establecimiento de la primera colección viva de dinoflagelados marinos en México. Los resultados de esta convocatoria fueron favorables, por lo que a partir de octubre del 2000 iniciamos los trabajos tendientes a establecer la Colección de Dinoflagelados Marinos (CODIMAR).

En febrero de 2004 la CODIMAR fue formalmente registrada en el Padrón de Colecciones Científicas y Museográficas Públicas o Privadas de Especímenes Silvestres (clave BCS-ALG-161-0104) y en el Padrón de Prestadores de servicios vinculados con la comercialización de ejemplares, partes y derivados de la vida silvestre (clave SGPA-DGVS-COM-081-D.F.) de la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). Actualmente, el acervo de la colección está conformado con las principales especies de dinoflagelados tóxicos de México. Asimismo, como resultado de la asistencia técnica que se le dio a una egresada del posgrado del CIBNOR, se cuenta con varias cepas aisladas de un área del litoral noroccidental de Cuba. También se decidió incorporar a la colección un lote de cepas de rafdofíceas debido que tienen cualidades ictiotóxicas. Para acceder al acervo de la CODIMAR se dispone de un sitio en Internet (<http://www.cibnor.mx/es/investigacion/colecciones-biologicas/codimar>).

La función primordial de la colección es la de proveer cultivos de dinoflagelados marinos a la comunidad científica y académica nacional e internacional, para que sean utilizados en investigación y enseñanza. Las características y composición del acervo convierten a la CODIMAR en una de las más importantes colecciones de cepas de microalgas nocivas en México y Latinoamérica. Se han suministrado cepas a países como Estados Unidos de América (Virginia Institute of Marine Science, Stony Brook University, National Oceanic and Atmospheric Administration) y Australia (University of Tasmania). El acervo también se ha utilizado en cursos de nivel maestría de los programas de posgrado del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR) y del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología de la UNAM (ICMyL-UNAM).

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 General**

- Computarizar a la Colección de Dinoflagelados Marinos (CODIMAR).

#### **3.2 Particulares**

- Identificar a nivel de especie 57 cepas de dinoflagelados marinos para intercalarlas a la CODIMAR.
- Mejorar la calidad de curación de 74 cepas identificadas a nivel de especie, mediante métodos de purificación.
- Computarizar la base de datos de la CODIMAR para ingresarla al Sistema Nacional de Información sobre Biodiversidad (SNIB), bajo la modalidad de colección científica de plagas que afectan la salud humana.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Determinación taxonómica de las cepas

El análisis taxonómico de las cepas se llevó a cabo mediante métodos tradicionales y el uso de microscopía fotónica (contraste de fases) y de epifluorescencia. Para la determinación taxonómica de los dinoflagelados tecados, se aplicó el método de disección de la teca con una solución 1:1 hipoclorito de sodio y agua destilada, así como el uso de tintes como Calcofluor White M2R (Fritz y Triemer 1985), Trypan Blue (Lebour 1925) y un tinte preparado a base de yodo (Imamura y Fukuyo 1987). Para el caso de las formas desnudas o frágiles se realizaron observaciones de células en vivo. Cuando fue necesario un análisis morfológico más preciso de rasgos taxonómicos característicos, se recurrió al uso de métodos de preparación de muestras para su observación con microscopio electrónico de barrido, considerando las propuestas metodológicas de Truby (1997), Boltovskoy (1995), Botes et al. (2002) y Mason et al. (2003).

El análisis taxonómico consideró la clasificación propuesta por Fensome et al. (1993), actualizada por Okolodkov (2011) y la lista florística comentada de los dinoflagelados del Pacífico mexicano (Okolodkov y Gárate-Lizárraga 2006).

De cada una de las especies identificadas se elaboró una lámina fotográfica (formato JPG, 300 dpi) integrada tanto por fotografías tomadas con microscopio fotónico, como electrónico de barrido. Cada fotografía se enumeró, incluyó escala ( $\mu\text{m}$ ) y en los casos en que fue necesario se indicó con flechas y/o fórmula tabular los rasgos taxonómicos característicos de la especie. Cada lámina fotográfica incluye una descripción detallada de su contenido. De cada una de las especies identificadas se enviaron láminas fotográficas preliminares al taxónomo especialista para su validación.

### 4.2 Purificación de las cepas

De acuerdo a la metodología propuesta por Ki y Han (2005)<sup>1</sup>, un lote de 55 cepas se sometió a una prueba de purificación con una mezcla de antibióticos compuesta de estreptomina ( $100 \mu\text{g ml}^{-1}$ ), ampicilina ( $150 \mu\text{g ml}^{-1}$ ), penicilina G ( $150 \mu\text{g ml}^{-1}$ ) y gentamicina ( $200 \mu\text{g ml}^{-1}$ ). El proceso de purificación se llevó a cabo en 4 etapas, de la 1 a la 3, alícuotas de inóculos densos de cada una de las cepas fueron sometidos a lavados sucesivos (agua de mar estéril), periodos de incubación de 24 hrs. ( $20^{\circ}\text{C}$  o  $25^{\circ}\text{C}$ , ciclos de luz-oscuridad de 12 hrs.) en medio de cultivo fresco GSe (Doblin et al. 1999) o f/2 enriquecido con Se (Anderson et al. 1984) y la separación de las células activas mediante fototaxismo. Al cuarto día del tratamiento, se aplicó la mezcla de antibióticos por 24 hrs., para finalmente lavar el inóculo y re-inocularlo por triplicado en las condiciones estándar de la colección.

---

<sup>1</sup> Inicialmente, se propuso utilizar una combinación de antibióticos compuesta por penicilina, estreptomina y amfotericina B; sin embargo, se decidió sustituirla por la combinación propuesta por Ki y Han (2005) debido a que fue probada con éxito y sin comprometer la supervivencia en dos especies de dinoflagelados tecados.

Para corroborar la presencia de actividad bacteriana antes y después del tratamiento, así como estimar las unidades formadoras de colonias (UFC), alícuotas diluidas (1: 100) de los inóculos se sembraron en agar marino 2216 e incubaron a 20 y 35°C por 96 y 46 hrs., respectivamente. Como respaldo se mantuvieron cultivos no puros de cada una de las cepas tratadas durante 4 meses, las cuales se depuraron o mantuvieron dependiendo de la sobrevivencia y crecimiento de las replicas tratadas con antibióticos.

### **4.3 Organización y corrección de la base de datos**

El acervo de la colección se computarizó siguiendo el formato y especificaciones de la versión 5.0 del sistema de información *BIOTICA*, apoyándonos en el cuaderno de ejercicios prácticos del curso de capacitación que imparte la Dirección General de Bioinformática de la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO).

Las correcciones a la base de datos se realizaron tomando en cuenta las indicaciones y sugerencias proporcionadas por la sub-coordinación de inventarios bióticos que resultaron de la revisión de los avances presentados en los informes parciales.

### **4.4 Elaboración de láminas fotográficas**

La toma de fotografías de las especies se realizó con un sistema de análisis de imágenes que está integrado por dos microscopios fotónicos (Carl Zeiss Axiovert 100 y Olympus BX41), una cámara digital a color (CoolSNAP-Procf de MEDIA CYBERNETICS) y el software ImagePro-PLUS 4.1. Para el caso de algunas especies, se lograron obtener imágenes con microscopio electrónico de barrido. Las láminas fotográficas de cada una de las especies determinadas se construyeron con el software Corel DRAW X3 v.13, integrando en cada fotografía la numeración y la escala de medida. En algunos casos también se insertaron leyendas que indican la tabulación, ornamentaciones y la posición de organelos (por ej., núcleo, estigma y/o flagelos). Cada lámina se entregó en formato JPG considerando los *Lineamientos para la entrega de fotografías e ilustraciones digitales 2012* indicados por la CONABIO, y se complementó con un archivo Excel que incluye la descripción de cada lámina y datos generales implicados en la obtención y autoría de las imágenes.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Identificación del 100% de las cepas no determinadas

Se completó la identificación taxonómica a nivel de especie de 57 cepas. Como puede observarse en la Tabla 1, decidimos mantener 19 cepas en estatus *con forma de "cf."* (en latín: *confer*, en español: *comparar*) debido a que los géneros *Ostreopsis*, *Scrippsiella* y *Pentapharsodinium* están integrados por especies crípticas que exhiben un alto grado de variabilidad intraespecífica (morfológica) y de especiación (características genéticas) por lo que actualmente se consideran como *complejos de especies* (Zinssmeister et al. 2011, GEOHAB 2012, Soehner et al. 2012).

Tabla 1. Cepas de dinoflagelados y rafidoficeas identificadas.

Grupo	Cepas identificadas	Especie	Autoridad taxonómica y año de descripción	Localidad de aislamiento	
Gymnodiniales	7	<i>Cochlodinium polykrikoides</i>	Margalef, 1961	ISJ-CIBCS	
	7	<i>Ostreopsis cf. ovata</i>	Fukuyo, 1981	ISJ-CIBCS	
	4	<i>Coolia monotis</i>	Meunier, 1919	ISJ-CIBCS	
Gonyaulacales	6	<i>Protoceratium reticulatum</i>	(Claparède et Lachmann) Bütschli, 1885	ISJ-CIBCS	
	2	<i>Protoceratium cf. globosum</i>	Kofoid et Michener, 1911	BACO	
	1	<i>Pyrophacus horologium</i>	Stein, 1883	ISJ-CIBCS	
Dinoflagelados				ISJ-CIBCS	
		3	<i>Prorocentrum cf. concavum</i>	Fukuyo, 1981	
				CUBA	
	Prorocentrales	1	<i>Prorocentrum compressum</i>	(Bailey) Abé ex Dodge, 1975	BAPAZ-CIBCS
		1	<i>Prorocentrum micans</i>	(Ehrenberg) F. Stein, 1878	BAPAZ-CIBCS
		2	<i>Prorocentrum lima</i>	(Ehrenberg) F. Stein, 1878	CUBA
		3	<i>Prorocentrum rathymum</i>	Loeblich, Sherley et Schmidt, 1979	BAPAZ-CIBCS
					MA-BMCF
Peridinales	5	<i>Scrippsiella trochoidea</i>	(F. Stein) Loeblich, 1976	BACO	
	3	<i>Scrippsiella cf. trochoidea</i>	(F. Stein) Loeblich, 1976	BACO	
	1	<i>Scrippsiella spinifera</i>	Honsell et Cabrini, 1991	ISJ-CIBCS	
	4	<i>Pentapharsodinium cf. dalei</i>	Indelicato et Loeblich III, 1986	BACO BAMAZ-PU	
Rafidoficeas	6	<i>Chattonella marina</i>	(Subrahmanyam) Hara et Chihara, 1982	BAPAZ-CIBCS	
	1	<i>Chattonella subsalsa</i>	Biecheler, 1936	ISJ-CIBCS LANAV	
<b>Total de cepas identificadas</b>	<b>57</b>				

ISJ-CIBCS= Isla San José, Complejo Insular de Baja California Sur (10). BAPAZ-CIBCS= Bahía de La Paz, Complejo Insular de Baja California Sur (10). BACO= Bahía Concepción (11). MA-BACF= Barra de Malva-Cabo Falso (5). BAMAZ-PU= Bahía de Mazatlán, Piaxtla-Urias (20). LANAV= Laguna Navachiste, Sinaloa.

Los taxones crípticos requieren para ser identificarlos con un 100% de certeza de estudios genéticos y del ciclo de vida. La realización de este tipo de investigaciones queda fuera de los alcances de este proyecto, sólo se realizó un último procesamiento de los especímenes para su observación con el microscopio electrónico de barrido e intentar observar con un mejor detalle la zona sulcal, el complejo del poro apical y corroborar la presencia y/o ausencia de ornamentaciones en la teca. Desafortunadamente, no se tuvo éxito en la preparación de muestras con la metodología propuesta por Haifeng et al. (2013), si bien se logró una mejor conductividad de las muestra con el uso del tetróxido de osmio, el etanol en combinación con procesos de centrifugación y lavados sucesivos resultó ser agresivo y la teca se disolvió o despegó por completo del citoplasma (Figura 1).

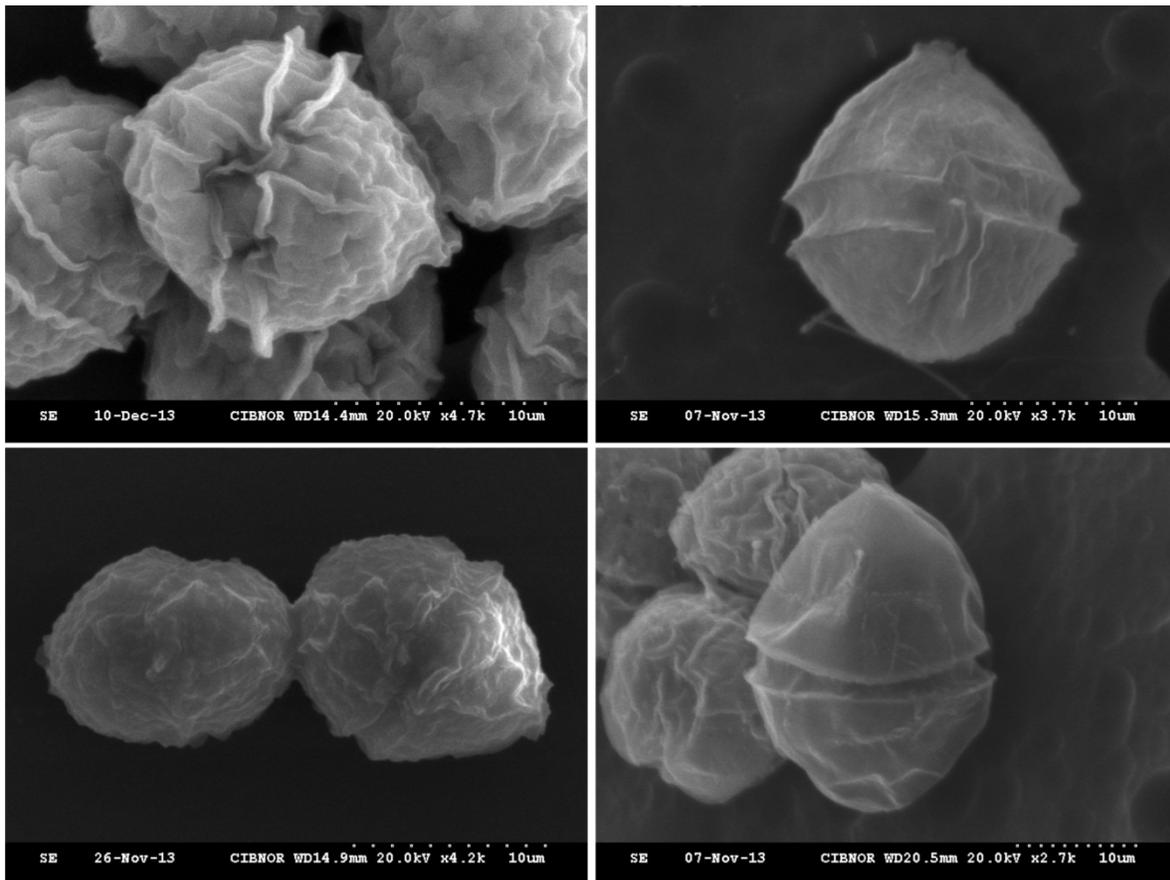


Figura 1. Células de dinoflagelados Peridinales tratados con etanol y pos fijados con tetróxido de osmio para intentar favorecer la disolución o desprendimiento de la membrana que cubre la teca.

Entre las cepas identificadas como *Protoceratium* cf. *globosum* (originalmente descrita sin ninguna ilustración por Kofoid y Michener en 1911) y *Protoceratium reticulatum*, si observamos diferencias tanto de forma como de tamaño (Figura 2), que nos sugieren que se trata de dos taxones distintos. *Protoceratium* cf. *globosum* tiene una forma redondeada (largo 20-51  $\mu\text{m}$ , ancho 31-51  $\mu\text{m}$ ) y desarrolla una retícula más fina y la teca es más oscura en comparación con *P. reticulatum* (largo 46.2-51.8  $\mu\text{m}$ , ancho 29.7-36.7  $\mu\text{m}$ ). Aunado a esto, la unión o frontera entre las placas que componen la teca es más evidente en *P. globosum*. Dadas estas diferencias, decidimos

reconocer a estos morfotipos como taxones independientes. En el mediano plazo trataremos de aplicar métodos de caracterización genética para comprobar si realmente se trata de dos especies distintas. Las cepas de *P. globosum* se mantienen a 20 °C en el medio GSe (incluye extracto de suelo), mientras que las de *P. reticulatum* a 25 °C en los medios GSe y f/2+Se, ambas con rangos de salinidad entre 35-40 ups. Es probable que las condiciones de cultivo estén influenciando una variación morfométrica de las células. Se ha comprobado que en la fase estacionaria de crecimiento de *P. reticulatum* (aislada del Mar de Norte) los cambios mayores en talla de las células vegetativas dependen de las restricciones nutricionales; condiciones limitantes de N (1/10) ocasionan una disminución de tamaño, mientras que una limitación de P (1/10) en combinación con baja salinidad, favorecen un incremento en el tamaño celular (Röder et al. 2012).

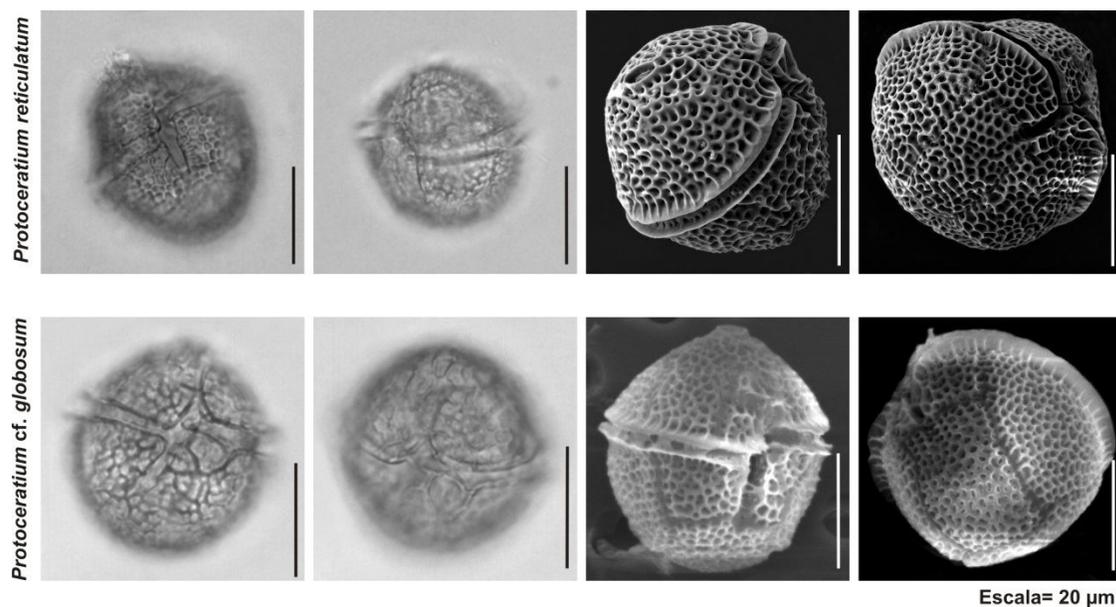


Figura 2. Variación morfológica entre *Protoceratium* cf. *globosum* y *Protoceratium reticulatum*.

Para el caso de *Prorocentrum* cf. *concauum* el taxónomo especialista sugiere mantener a esta especie en estatus "cf." debido a que los especímenes son más simétricos con respecto a los de otras regiones.

## 5.2 Purificación de las cepas con antibióticos

De acuerdo a la metodología propuesta por Ki y Han (2005), un lote de 55 cepas de dinoflagelados tecados (26) y desnudos (29), se sometieron a una prueba de purificación con una mezcla de antibióticos compuesta de *estreptomycin* ( $100 \mu\text{g ml}^{-1}$ ), *ampicilina* ( $150 \mu\text{g ml}^{-1}$ ), *penicilina G* ( $150 \mu\text{g ml}^{-1}$ ) y *gentamicina* ( $200 \mu\text{g ml}^{-1}$ ). Todas las cepas de dinoflagelados tecados sobrevivieron al tratamiento, mientras que en el caso de las formas desnudas solamente el 21% sobrevivió. La combinación de antibióticos no erradicó completamente la carga bacteriana (Tabla 2), el plaqueo en agar marino 2216 evidenció la presencia de bacterias antes y después del tratamiento. Sin embargo, el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) después de la aplicación de los antibióticos, sugiere que un componente de esta carga bacteriana se eliminó.

Tabla 2. Abundancia de bacterias heterótrofas marinas antes y después del tratamiento con antibióticos.

DINOFLAGELADOS TECADOS	Clave	UFC/mL (20°C, 96 hrs. incub.)		UFC/mL (35°C, 46 hrs. incub.)	
		ATA	DTA	ATA	DTA
<i>Alexandrium margalefi</i>	AMCQ-1	381,000	107,600	274,000	37,400
	AMCQ-2	360,000	60,600	174,500	70,200
	AMCQ-3	315,000	102,900	252,000	23,400
<i>Alexandrium tamiyavanichi</i>	AYPV-1	386,000	61,000	1,247,400	79,600
<i>Ceratium balechii</i>	CBMV-1	380,000	56,200	340,000	91,900
	CBMV-2	478,000	140,400	884,000	46,800
<i>Coolia monotis</i>	CMPV-1	471,000	88,800	340,000	78,100
	CMHV-1	136,000	65,500	416,000	29,700
<i>Lingulodinium polyedra</i>	LPCQ-1	332,000	65,500	936,000	32,800
	LPJV-1	227,000	56,100	1,550,000	47,800
	LPJV-2	323,000	48,200	490,000	78,400
<i>Protoceratium reticulatum</i>	PEJV-1	212,000	70,200	354,000	93,600
<i>Protoceratium reticulatum</i>	PEJV-4	268,000	60,800	215,000	74,900
<i>Prorocentrum belizeanum</i>	PBHV-1	215,000	79,500	378,000	74,800
	PBHV-2	165,000	37,400	155,500	89,200
<i>Prorocentrum lima</i>	PLHV-3	980,000	37,100	101,000	31,000
	PLHV-7	212,000	41,000	285,000	69,300
<i>Prorocentrum maculosum</i>	PMHV-1	178,000	32,700	1,547,200	47,100
	PMHV-2	237,000	51,300	401,000	81,600
<i>Prorocentrum mexicanum</i>	PXPV-1	317,000	51,500	361,000	75,000
	PXPV-2	374,000	84,200	462,000	102,900
<i>Prorocentrum minimum</i>	PIPV-1	258,000	145,000	470,000	98,300
	PIPV-3	237,000	37,400	1,058,400	65,500
<i>Scrippsiella spinifera</i>	SSJV-1	263,000	46,000	151,000	28,100
<i>Scrippsiella trochoidea</i>	STAV-1	356,000	98,300	598,000	59,800
	STAV-2	285,000	74,900	364,000	42,100
DINOFLAGELADOS DESNUDOS				UFC/mL (35°C, 48 hrs. incub.)	
<i>Cochlodinium fulvescens</i>	CFMV-1			748,667	276,667
	ASJV-2			5,226,667	50,000
	ASJV-3			3,466,667	16,667
<i>Akashiwo sanguinea</i>	ASJV-1			2,560,000	73,333
	ASJV-4			4,320,000	13,333
	ASJV-6			2,581,333	1,213,333

UFC= valor promedio de las unidades formadoras de colonias; ATA= antes del tratamiento con antibióticos; DTA= después del tratamiento con antibióticos.

El trabajo comprometido de purificación de cepas sólo se alcanzó a cubrir en un 74%. Inicialmente esto se debió a las limitaciones de espacio que tuvimos durante nuestra estancia en un área de uso compartido, mientras se nos entregaba nuestro nuevo laboratorio. Una vez que nos entregaron las nuevas instalaciones (septiembre-octubre, 2013) este trabajo tampoco lo pudimos realizar debido a que tuvimos que dedicarnos de tiempo completo a llevar a cabo la mudanza del laboratorio y la colección. Se trabajó en la reinstalación de equipos, mobiliario y materiales, así como en la puesta “a punto” de los ceparios (control de temperatura e instalación de sistema de alarma). Cabe mencionar, que el técnico que colabora en este proyecto por una lesión de rodilla, estuvo de incapacidad de mayo a septiembre de 2013 y esta situación también limitó la realización de este trabajo. Una vez que la M. en C. Reyes reanuda labores, se decidió priorizar por la captura y corrección de la base de datos, el trabajo de identificación taxonómica y la toma de microfotografías.

### Láminas fotográficas

Se elaboraron 30 láminas fotográficas, 27 corresponden a dinoflagelados y 3 a rafidofíceas (Tabla 3). La descripción de cada lámina y datos complementarios de las especies y de las imágenes se integró en el documento Excel *JC006\_CODIMAR\_Relacion y descripcion laminas fotograficas.xls*. Cabe mencionar que este documento Excel fue revisado en su totalidad y se le realizaron actualizaciones, por lo que se le deberá considerar como el principal y sustituye a los entregados anteriormente. En este último informe se entrega una nueva y última versión mejorada de las láminas de *Prorocentrum maculosum* y *Ostreopsis cf. ovata* a las que se le incluyeron imágenes obtenidas con el microscopio electrónico de barrido en enero de 2014. También se les realizaron correcciones de edición a las láminas previamente entregadas de *Alexandrium margalefi* y *Protoceratium reticulatum*. Se anexan por tanto 14 archivos JPG, 10 corresponden al último lote de láminas elaboradas y 4 se mejoraron o corrigieron.

Tabla 3. Relación de especies que cuentan con lámina fotográfica.

Dinoflagelados		Rafidofíceas	
1	<i>Akashiwo sanguinea</i>	22	<i>Prorocentrum compressum</i>
2	<i>Ceratium balechii</i>	23	<i>Protoceratium cf. globosum</i>
3	<i>Cochlodinium fulvescens</i>	24	<i>Prorocentrum rhathymum</i>
4	<i>Cochlodinium polykrikoides</i>	25	<i>Pentapharsodinium cf. dalei</i> (BACO)*
5	<i>Gymnodinium catenatum</i>	26	<i>Pentapharsodinium cf. dalei</i> (BAMAZ)**
6	<i>Prorocentrum belizeanum</i>	27	<i>Scrippsiella cf. trochoidea</i> (BACO)*
7	<i>Prorocentrum lima</i>		
8	<i>Prorocentrum maculosum</i>		
9	<i>Pyrodinium bahamense</i>		
10	<i>Scrippsiella spinifera</i>		
11	<i>Alexandrium margalefi</i>		
12	<i>Alexandrium tamiyavanichi</i>		
13	<i>Ostreopsis cf. ovata</i>		
14	<i>Protoceratium reticulatum</i>		
15	<i>Pyrophacus horologium</i>		
16	<i>Scrippsiella trochoidea</i>		
17	<i>Prorocentrum cf. concavum</i>		
18	<i>Prorocentrum micans</i>		
19	<i>Prorocentrum minimum</i>		
20	<i>Coolia monotis</i>		
21	<i>Lingulodinium polyedra</i>		

Morfotipos aislados de Bahía Concepción (BACO)\* y Bahía de Mazatlán (BAMAZ)\*\*

### 5.3 Registros capturados en BIOTICA 5.0

Se capturaron en la base de datos en BIOTICA 5.0 un total de 141 registros con información en los módulos de directorio, bibliográfico y geográfico; para el caso específico de los registros, se incluyó la información nomenclatural y de los ejemplares (cepas), considerando para éstos últimos datos complementarios. Se anexa archivo JC006CODIMAR.mdb. Se incluyeron los objetos externos relacionados, tales como láminas fotográficas de las especies y publicaciones que incluyen investigaciones realizadas con el acervo de la CODIMAR. Estas últimas fueron entregadas durante el 1er y 2º informe. También se realizaron las correcciones y aclaraciones a la base de datos resultado de la 2ª revisión realizada por la *Sub-dirección de Inventarios Bióticos* (JC006\_Correcciones y aclaraciones BD BIOTICA\_Rev 2o inf.doc).

Durante el desarrollo el proyecto se perdieron 9 cepas que cuentan con registro en la base de datos (Tabla 3). Para compensar la pérdida y cubrir al 100% los registros con cepas viables, incorporamos 11 registros de *Cochlodinium polykrikoides*. Estas nuevas cepas fueron aisladas de un florecimiento que se desarrolló en la Bahía de La Paz en septiembre de 2012. Requerimos de sus indicaciones de cómo debemos proceder con los registros de las cepas perdidas, específicamente, necesitamos saber si las eliminamos o mantenemos en la base de datos.

Tabla 3. Relación de cepas perdidas entre septiembre de 2012 y diciembre de 2013 que cuentan con registro en la base de datos de BIOTICA.

Especie	ID Ejemplar	Número de catalogo
	1	ASPV-1
<i>Akashiwo sanguinea</i>	2	ASJV-2
	5	ASJV-4
<i>Alexandrium margalefi</i>	9	AMCQ-3
<i>Cochlodinium fulvescens</i>	16	CFPV-2
	19	GCMV-1
<i>Gymnodinium catenatum</i>	24	GCMV-4
<i>Cochlodinium polykrikoides</i>	61	CPJV-7
<i>Chattonella marina</i>	130	CSJV-1

## 6 CONCLUSIONES

- Se computarizó en BIOTICA 5.0 el 100% de las cepas que comprenden el acervo de la CODIMAR, por lo que su registro en el Sistema Nacional de Información sobre Biodiversidad (SNIB) está garantizado.
- Se mejoró la calidad de curación del acervo con: a) la identificación taxonómica a nivel de especie del 86.5% de las cepas, b) el tratamiento con antibióticos al 39% de las cepas, y c) la elaboración de 30 láminas fotográficas.
- La infraestructura que se adquirió con el financiamiento recibido garantiza la operatividad de la CODIMAR en el mediano plazo (5 a 7 años).

## 7 PERSPECTIVAS

- Las láminas fotográficas tienen el potencial de ser utilizadas para elaborar una guía taxonómica ilustrada, por lo que se le planteará a la *Subcoordinación de Especies Invasoras* la posibilidad de su realización en conjunto.
- Si la *Sub-coordinación de Evaluación* dictamina que el proyecto se concluyó de manera satisfactoria, consideraremos presentar una propuesta para una segunda fase que contemple salidas al campo para continuar con el enriquecimiento de la colección y ampliar su cobertura geográfica. Consideramos prioritario establecer cepas de especies nocivas del Golfo de Tehuantepec, Golfo de México y Mar Caribe.

## 8 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Anderson, D. M., D. M. Kulis, B. J. Binder. 1984. Sexuality and cyst formation in the dinoflagellate *Gonyaulax tamarensis*: cyst yield in batch cultures. *J. Phycol.* 20: 418–425.
- Boltovskoy, A. 1995. Técnicas de microscopia electrónica de barrido: aplicación a las microalgas. En: Alveal, K., M. E. Ferrario, E. C. Oliveira, E. Sar (Eds.). *Manual de Métodos Ficológicos*. Universidad de Concepción, Chile. pp. 119–138.
- Botes, L., B. Price, M. Waldron, G. C. Pitcher. 2002. A simple and rapid scanning electron microscope preparative technique for delicate “gymnodinioid” dinoflagellates. *Microsc. Res. Tech.* 59: 128–130.
- Doblin, M., S. I. Blackburn, G. M. Hallegraeff. 1999. Comparative study of selenium requirements of three phytoplankton species: *Gymnodinium catenatum*, *Alexandrium minutum* (Dinophyta) and *Chaetoceros* cf. *tenuissimus* (Bacillariophyta). *J. Plankton Res.* 21, 1153–1169.
- Fritz, L., R. E. Triemer. 1985. A rapid technique utilizing Calcofluor White M2R for the visualization of the dinoflagellate thecal plates. *J. Phycol.* 21: 662–664.
- GEOHAB, 2012. Global Ecology and Oceanography of Harmful Algal Blooms, GEOHAB Core Research Project: HABs in Benthic Systems. E. Berdalet, P. Tester, A. Zingone (Eds.) IOC of UNESCO and SCOR, Paris and Newark, 64 pp.
- Haifeng, G., L. Zhaohe, L. Tingting, L. Dongzhao. 2013. Morphology and phylogeny of *Scrippsiella enormis* sp. nov. and *S.* cf. *spinifera* (Peridinales, Dinophyceae) from the China Sea. *Phycologia* 52: 182-190.
- Imamura, K., Y. Fukuyo. 1987. Method for observation of theca plates of armored dinoflagellates. En: Japan Fisheries Resources Conservation Association (Ed.) *A guide for studies of red tide organisms*. Tokyo. pp. 54–73.
- Ki, J. S., M. S. Han. 2005. A versatile filtration technique to produce axenic cultures of the armored dinoflagellates *Peridiniumbipes* and *Alexandrium tamarensis* (Dinophyceae). *J. Freshw. Ecol.* 20: 239–245.
- Lebour, M. V. 1925. The dinoflagellates of northern seas. *Mar. Biol. Assoc. U.K. Plymouth*. 250 pp.
- Mason, P. L., W. K. Vogelbein, L. W. Haas, J. D. Shields. 2003. An improved stripping technique for lightly armored dinoflagellates. *J. Phycol.* 39: 253–258.
- Okolodkov, Y. B. 2011. Division Dinoflagellata (Bütschli) Fensome, Taylor, Norris, Sarjeant, Wharton et Williams, 1993. En: Karpov S.A. (Ed.). *Protista, part 3. Guide-book on zoology*.

KMK Sci. Press Ltd., St. Petersburg - Moscow, Russia. pp. 7-119, colour figures 8, 9, 11, 12, 14, 15, 17, 22, 31, 33, 37 (en ruso).

- Okolodkov, Y. B., I. Gárate-Lizárraga. 2006. An annotated checklist of dinoflagellates (Dinoflagellata) from the Mexican Pacific. *Acta Bot. Mex.* 72: 1–154.
- Röder, K., F. M. Hantzsche, C. Gebühr, C. Miene, T. Helbig, B. Krock, M. Hoppenrath, B. Luckas, G. Gerdt. 2012. Effects of salinity, temperature and nutrients on growth, cellular characteristics and yessotoxin production of *Protoceratium reticulatum*. *Harmful Algae* 15: 59–70.
- Soehner, S., C. Zinssmeister, M. Kirsch, M. Gottschling. 2012. Who am I - and if so, how many? Species diversity of calcareous dinophytes (Thoracosphaeraceae, Peridinales) in the Mediterranean Sea. *Organisms Diversity & Evolution* 12: 339-348.
- Truby, E. W. 1997. Preparation of single-celled marine dinoflagellates for electron microscopy. *Microsc. Res. Tech.* 36: 337–340.
- Zinssmeister, C., S. Soehner, E. Facher, M. Kirsch, K. J. S. Meier, M. Gottschling. 2011. Catch me if you can: the taxonomic identity of *Scrippsiella trochoidea* (F. Stein) A. R. Loeb. (Thoracosphaeraceae, Dinophyceae). *Systematics & Biodiversity* 9: 145-157.