

Comentario a un artículo reciente¹

Contribución de las cianobacterias a la biomasa fitoplanctónica en Bahía San Quintín

En la nota de investigación de Millán-Núñez *et al.* (2004b), a fin de contribuir a la caracterización de la comunidad fitoplanctónica de Bahía San Quintín (BSQ), estos autores presentaron los resultados de un análisis quimiotaconómico utilizando la concentración pigmentaria de muestras de fitoplancton colectadas durante abril de 2001. Los autores reportan la presencia de *Prochlorococcus* sp. en la bahía y concluyen que éstas y otras cianobacterias son importantes en BSQ. Sin embargo, el reporte de la presencia del pigmento divinil clorofila *a* (DVChl *a*), como pigmento huella de *Prochlorococcus*, y la conclusión de que este organismo contribuye sustancialmente a la biomasa fitoplanctónica en BSQ no se sustentan en la descripción metodológica ni en los resultados que presentan dichos autores.

El método de separación y cuantificación de pigmentos utilizado por Millán-Núñez *et al.* (2004b) no separa la DVChl *a* de la clorofila *a* (Chl *a*) ya que utiliza una columna cromatográfica con recubrimiento de cadenas de 18 carbonos (C₁₈) y solamente utilizando columnas con características más polares (C₈) se ha logrado la resolución de este par pigmentario (Goericke y Repeta, 1993). Sin embargo, cuando existe la coelución de los dos pigmentos se puede estimar su concentración individualmente utilizando las ecuaciones dicromáticas propuestas por Latasa *et al.* (1996), al presentar la DVChl *a* el máximo de absorción desplazado hacia al rojo aproximadamente 9 nm respecto al de la Chl *a*. Por lo tanto, para aplicar esta metodología se requiere de la medición del espectro de absorción del pico donde coeluyen las clorofilas durante el análisis cromatográfico, o la medición de la absorbancia en dos longitudes de onda simultáneamente. Esta técnica, recomendada por Bidigare y Trees (2000), no es muy utilizada en trabajos recientes sobre estudios de la estructura de la comunidad fitoplanctónica, ya que desde la aparición del método C₈ de Goericke y Repeta (1993) se han desarrollado varios métodos que separan físicamente la DVChl *a* de la Chl *a* que tienen una buena resolución de la mayoría de los pigmentos fitoplanctónicos (Van Heukelem y Thomas, 2001).

Sólo existe una intercomparación usando muestras naturales del método de Latasa *et al.* (1996) y métodos que separan físicamente la DVChl *a* de la Chl *a* (Hooker *et al.*, 2003). Claustre *et al.* (2004) reportan que la sobreestimación de la clorofila total (TChl *a*) se reduce cuando se utilizan las ecuaciones simultáneas de Latasa *et al.* (1996); sin embargo, demuestran que existe una tendencia a subestimar la TChl *a* y

¹ “Variabilidad de la comunidad de fitoplancton en Bahía San Quintín estimada mediante el análisis de pigmentos”, R. Millán-Núñez, E. Millán-Núñez, S. Álvarez-Borrego, C.C. Trees y E. Santamaría-del-Ángel. *Ciencias Marinas* (2004), 30(1A): 145–153.

Comment on a previously published paper¹

Contribution of cyanobacteria to phytoplankton biomass in San Quintín Bay

In the research note by Millán-Núñez *et al.* (2004b), contributing to the characterization of the phytoplankton community at San Quintín Bay (SQB; Baja California, Mexico), the authors present the results of a chemotaxonomic analysis using pigment concentrations in phytoplankton samples collected in April 2001. The authors report the occurrence of *Prochlorococcus* sp. and conclude that it and other cyanobacteria are important in the bay. Nevertheless, the presence of the pigment divinyl chlorophyll *a* (DVChl *a*), as a signature pigment of *Prochlorococcus*, and the conclusion that these organisms contribute significantly to phytoplankton biomass in SQB are not supported by either the methodological description or the results presented.

The method for the separation and quantification of pigments used by Millán-Núñez *et al.* (2004b) does not separate DVChl *a* from chlorophyll *a* (Chl *a*), since it employs a C₁₈ chromatographic column and the determination of this pigment has only been achieved using columns with more polar characteristics (C₈) (Goericke and Repeta, 1993). When there is coelution of two pigments their individual concentration can be estimated using the dichromatic equations proposed by Latasa *et al.* (1996), DVChl *a* presenting maximum absorption displaced approximately 14 nm to the red side relative to that of Chl *a*. To apply this methodology, therefore, it is necessary to determine the peak in the absorption spectrum where the chlorophylls coelute during the chromatographic analysis or to simultaneously measure the absorbance at two wavelengths. This technique, recommended by Bidigare and Trees (2000), has not been widely used in recent studies on phytoplankton community structure, because since the appearance of Goericke and Repeta's (1993) C₈ method, several procedures have been developed to physically separate DVChl *a* from Chl *a* that successfully isolate most phytoplankton pigments (Van Heukelem and Thomas, 2001).

Only one intercomparison using natural samples has been made of Latasa *et al.*'s (1996) method and the techniques to physically separate DVChl *a* from Chl *a* (Hooker *et al.*, 2003). Claustre *et al.* (2004) reported that overestimation of total Chl *a* (TChl *a*) is reduced when the simultaneous equations proposed by Latasa *et al.* (1996) are applied; however, they show that there is a tendency to underestimate TChl *a* and that dispersion of the data increases as the ratio between DVChl *a* and Chl *a* decreases (DVChl *a*/TChl *a*). They also establish that correction using dichromatic equations is only suitable when the Chl *a* allomers and epimers are excluded (Claustre *et al.*, 2004). Millán-Núñez *et al.* (2004b) do not mention the method used to estimate DVChl *a*, so if Latasa *et al.*'s (1996) method was used, the degree of error should be determined for the

aumento de la dispersión de los datos al disminuir la razón entre DVChl *a* y TChl *a* (DVChl *a*/TChl *a*). Asimismo, establecen que la corrección por medio de las ecuaciones dicromáticas sólo sirve cuando se excluyen los alómeros y epímeros de la Chl *a* (Claustre *et al.*, 2004). Millán-Núñez *et al.* (2004b) no hacen mención a la forma de estimación de la DVChl *a*, por lo que si se utilizó la metodología propuesta por Latasa *et al.* (1996) se debe de determinar el grado de error para las muestras obtenidas de BSQ dado que la concentración de DVChl *a* y, por lo tanto, la contribución de *Prochlorococcus* reportada es alta considerando la zona de estudio.

En su artículo, Millán *et al.* (2004b) no reportan las razones pigmentarias utilizadas para la estimación de la abundancia de las diferentes clases algales por medio del CHEMTAX. Aunque se menciona que las razones fueron obtenidas de la literatura, no se mencionan las fuentes ni los valores utilizados. La validez de la estimación de abundancias de los grupos del fitoplancton depende de la elección de las razones pigmentarias adecuadas para las clases algales que se espera encontrar (Mackey *et al.*, 1996). Por ejemplo, el trabajo reporta una contribución baja de las clorofitas (clases prasinophyceae y chlorophyceae) a la biomasa fitoplanctónica, aún cuando los pigmentos, violaxantina, luteína y en especial clorofila *b*, que son indicadores de estas clases, están presentes en concentraciones relativamente altas como para reconsiderar el aporte de este grupo a las muestras.

Hasta este punto se ha hecho referencia a problemas de tipo metodológico; sin embargo, existe un problema de interpretación de los resultados en el ámbito de la importancia ecológica de las diferentes clases algales presentes en BSQ. La probable alta contribución de *Prochlorococcus* a la biomasa fitoplanctónica sólo se demuestra para una estación (Molino Viejo). En las demás estaciones la contribución de la DVChl *a* a la TChl *a* (Chl *a* + DVChl *a* + alómeros y epímeros) es menor a 10% (fig. 3b, c de Millán-Núñez *et al.*, 2004b). Por lo tanto, no se puede concluir que en BSQ este grupo sea importante, y solamente se explicaría la alta concentración de *Prochlorococcus* en la estación de Molino Viejo mediante la presencia de un microambiente en esa localidad. La concentración de Chl *a* reportada en esta estación es menor que en las demás, lo cual puede ser cierto pero no concuerda con los datos de abundancia celular reportados en la tabla 1. Si se multiplica el número de diatomeas reportado por la concentración media de Chl *a* por célula para este grupo (1 pg célula⁻¹; Goericke y Montoya, 1998) la concentración de Chl *a* para la primera hora de muestreo equivaldría a 26 µg L⁻¹, lo que no concuerda con los valores de TChl *a* reportados. La tabla 1 puede tener errores de edición ya que la concentración celular debería de estar reportada probablemente en cél L⁻¹ y no en cél mL⁻¹, y los valores de las horas de muestreo 20 y 21 son exactamente iguales a los valores obtenidos 24 horas después, lo cual es poco probable.

Por último, la gran abundancia de *Prochlorococcus* en BSQ no se puede comparar con regímenes oceánicos oligotróficos

samples obtained at SQB since the concentration of DVChl *a* and, therefore, the contribution of *Prochlorococcus* could be high considering the study area.

Millán-Núñez *et al.* (2004b) do not report the pigment ratios used to estimate the abundance of different algal classes using the CHEMTAX program. Though they mention that the ratios were obtained from the literature, they do not indicate the sources or values used. Validity of the estimates of phytoplankton class abundance depends on the choice of suitable pigment ratios for the algal classes that are expected to be found (Mackey *et al.*, 1996). For example, the work reports a low contribution of chlorophytes (classes Prasinophyceae and Chlorophyceae) to the phytoplankton biomass, even though the pigments violaxanthin, lutein and especially chlorophyll *b*, which are indicators of these classes, occur in high enough concentrations to reconsider this group's contribution to the samples.

In addition to methodological problems, there also seems to be a problem with the interpretation of the results relative to the ecological importance of the different algal classes in SQB. The probable high contribution of *Prochlorococcus* to the phytoplankton biomass is only shown for one station (Molino Viejo). At the other stations the contribution of DVChl *a* to TChl *a* (Chl *a* + DVChl *a* + allomers and epimers) is less than 10% (fig. 3b–c in Millán-Núñez *et al.*, 2004b). Therefore, it cannot be concluded that this group is important in SQB and the high concentration of *Prochlorococcus* at Molino Viejo can only be explained by the presence of a microenvironment at this site. The Chl *a* concentration reported for this station is lower than that obtained at the other stations; this could be true but does not concur with the cell abundance data given in table 1. If the number of diatoms reported for mean Chl *a* concentration per cell for this group is multiplied (1 pg cell⁻¹; Goericke and Montoya, 1998), the concentration of Chl *a* for the first sampling hour would be 26 µg L⁻¹, which does not concur with the TChl *a* values reported. Table 1 seems to have a few errors, since cell concentration should have been given in cells per litre and not in cells per millilitre, and the values for sampling hours 20 and 21 are exactly the same as those obtained 24 hours afterwards, which is unlikely.

Finally, the great abundance of *Prochlorococcus* at SQB cannot be compared with oligotrophic oceanic regimes like the Arabian and Mediterranean Seas, where this genus plays a significant ecological role (Bustillos-Guzmán *et al.*, 1995; Goericke, 2002). The relative importance of *Prochlorococcus* is considerable in ecosystems where there is a predominance of organic nutrients, such as amino acids and nucleic acids, and regenerated nutrients, such as NH₄ (Zubkov *et al.*, 2003). At SQB, where diatoms predominate, the system responds to inorganic nitrogen fluxes (NO₃ and NO₂), and this zone is considered a net sink for nitrogen (Álvarez-Borrego, 2004). It therefore seems unlikely that such a high biomass of *Prochlorococcus* would occur at SQB. The contribution of *Prochlorococcus* to phytoplankton biomass has only been observed at more oceanic (oligotrophic) stations, where

como los mares Arábigo y Mediterráneo donde este género tiene un rol ecológico significativo (Bustillos-Guzmán *et al.*, 1995; Goericke, 2002). La importancia relativa de *Prochlorococcus* es alta en ecosistemas donde predominan nutrientes orgánicos como aminoácidos y ácidos nucleicos, y nutrientes regenerados como NH_4 (Zubkov *et al.*, 2003). En BSQ, donde predominan las diatomeas, el sistema responde a flujos de nitrógeno inorgánico (NO_3 y NO_2), y se considera a esta zona como un sumidero neto de nitrógeno (Álvarez-Borrego, 2004). Por lo tanto, es poco probable que se encuentre tan alta biomasa de *Prochlorococcus* en BSQ. La contribución de *Prochlorococcus* a la biomasa fitoplanctónica sólo ha sido observada en estaciones más oceánicas (oligotróficas) donde la DVChl *a* llega a representar hasta 30% de la TChl *a* (García-Mendoza, datos no publicados). Asimismo, en muestras tomadas en la Bahía de Todos Santos la DVChl *a* es prácticamente indetectable (García-Mendoza, datos no publicados).

DVChl *a* can account for 30% of TChl *a* (García-Mendoza, unpublished data). Moreover, in samples taken at Todos Santos Bay (Baja California), DVChl *a* is almost undetectable (García-Mendoza, unpublished data). The high concentration of DVChl *a* reported by Millán-Núñez *et al.* (2004b) should therefore be validated by analyzing the error in the estimate of this pigment and, if possible, a chromatographic technique should be applied that physically separates Chl *a* for its quantification.

English translation by Christine Harris.

Por lo tanto, la alta concentración de DVChl *a* reportada por Millán-Núñez *et al.* (2004b) debe ser validada mediante el análisis del error en la estimación de este pigmento y, de ser posible, se debe aplicar una técnica cromatográfica que la separe físicamente de la Chl *a* para su cuantificación.

Ernesto García-Mendoza* y Antonio Almazán-Becerril

Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE)

* E-mail: ergarcia@cicese.mx

Respuesta

En nuestra nota de investigación presentamos un ejemplo de variabilidad de la comunidad fitoplanctónica de BSQ con base en el análisis de pigmentos por HPLC que antes no se había realizado para muestras de la bahía. Los análisis de pigmentos por HPLC proporcionan más información que los tradicionales por espectrofotometría o fluorimetría. En los resultados de HPLC que mostramos, además de los pigmentos del fitoplancton, se reportó la DVChl *a*, que es un pigmento específico que sin duda indica la presencia de proclorofitas (Partensky *et al.*, 1999). Por lo tanto, en nuestra nota de investigación mencionamos que es la primera vez que se reporta la presencia de proclorofitas en BSQ. En nuestro escrito sólo mencionamos que la DVChl *a* sugiere fuertemente la presencia de *Prochlorococcus*; en él también se menciona que el grupo de los *Prochlorococcus* contribuyó hasta en un 40% al TChl *a*, lo cual fue un valor máximo y que de ninguna manera pretende ser representativo. Para todo BSQ, lo que se podría discutir es si *Prochlorococcus* ha sido introducida a la bahía por advección por las corrientes de marea, y si su presencia más bien podría representar eventos episódicos dado que el agua de la bahía es renovada por intercambio con aguas oligotróficas del océano adyacente. Esto, de nuevo, es materia de investigación para trabajos futuros. Los datos no publicados del autor del comentario apoyan nuestra conclusión sobre la presencia de *Prochlorococcus* en la bahía, ya que él menciona la presencia de estos organismos en una estación relativamente cercana a la boca de la bahía y sería lógico esperar que con el intercambio

Reply

In our research note we present an example of the variability of the phytoplankton community at SQB based on HPLC pigment analysis, not previously done for samples from the bay. Pigment analyses by HPLC provide more information than the traditional spectrophotometric and fluorometric methods. The HPLC results obtained show, in addition to phytoplankton pigments, the presence of DVChl *a*, a specific biomarker for prochlorophytes (Partensky *et al.*, 1999). In the research note we therefore mention that this is the first report of the presence of prochlorophytes in SQB. We also mention that DVChl *a* strongly suggests the presence of *Prochlorococcus* sp. and that this group accounted for 40% of TChl *a*, a maximum value that was in no way considered to be representative. Considering that the bay water is renewed by mixing with oligotrophic waters from the adjacent ocean, whether *Prochlorococcus* was introduced into SQB by tidal advection and whether its presence represents episodic events are research topics for future works. The unpublished data referred to by the above authors support our conclusion regarding the occurrence of *Prochlorococcus* in SQB, since they mention the presence of these organisms at a station relatively close to the mouth and it would be logical to assume that as a result of the water exchange between the bay and ocean, they would also occur in the bay. The origin, however, of the high abundances of *Prochlorococcus* in the inner eastern part of the bay is still not clear.

entre la bahía y el océano adyacente estos se encuentren también en la bahía. Sin embargo, el origen de las altas abundancias de *Prochlorococcus* en el extremo interno oriental de la bahía aún no es clara.

Es evidente que los autores del comentario desconocen la literatura reciente al sugerir que los métodos utilizados en nuestro estudio fueron inapropiados. El método de HPLC propuesto por Wright *et al.* (1991) y utilizado en nuestro estudio para la separación de la monovinil clorofila (MVChl *a*) y la DVChl *a* ha sido validado en numerosos estudios, especialmente cuando sólo se pretende obtener proporciones relativas de la concentración de estos compuestos (ver Bidigare *et al.*, 2005, y sus referencias).

Los autores del comentario se contradicen al expresar que existe una tendencia a subestimar la TChl *a* al disminuir la razón DVChl *a*/TChl *a*, y luego sugieren que se debe estimar el error ya que la concentración de DVChl *a* es alta en BSQ. El utilizar el artículo de Claustre *et al.* (2004) con el propósito de desechar el método utilizado por Millán-Núñez *et al.* (2004) no es apropiado ni válido. En su trabajo Claustre *et al.* (2004) sólo utilizaron el método de Wright *et al.* (1991), además de que no estandarizaron con DVChl *a* y en el pasado ignoraron los errores cuando está presente la DVChl *a* (Hooker *et al.*, 2000). La selección de longitud de onda y la respuesta del detector de absorción de DVChl *a* y MVChl *a* del European Joint Research Center, donde se realizó el estudio de Claustre *et al.* (2004), probablemente son diferentes a los del sistema de Latasa *et al.* (1996).

La técnica de CHEMTAX es relativamente nueva (Mackey *et al.* 1996) y por lo tanto son pocos los trabajos que existen en la literatura. Las razones de pigmentos son muy importantes para el uso de esta técnica, pero los datos son muy escasos. Actualmente realizamos análisis sobre las razones pigmentarias en el fitoplancton de la zona de estudio bajo diferentes condiciones de luz y nutrientes, porque sabemos que éstas cambian con las condiciones físicas y químicas del agua de mar (Mackey *et al.*, 1998). Por lo tanto, en la nota de investigación sólo sugerimos que las razones de pigmentos que se usen en CHEMTAX sean las de las especies del fitoplancton del área de estudio. Es por lo anterior que los resultados sobre porcentajes de contribución de los diferentes grupos deben ser tomados como una primera aproximación. Por ello, en nuestro trabajo sólo mencionamos que la presencia de DVChl *a* sugiere fuertemente la presencia de *Prochlorococcus*. El método CHEMTAX sólo se aplicó a la serie de tiempo de Molino Viejo porque para las otras localidades muestreadas no se tienen suficientes muestras. Por otro lado, las concentraciones de DVChl *a* para las muestras de las estaciones 3–6 sugieren que la contribución relativa de *Prochlorococcus* en el brazo este es mayor que en el brazo oeste.

Los autores del comentario mencionan que no se puede concluir que *Prochlorococcus* sea importante en BSQ. En nuestra nota de investigación no se concluye tal cosa, sin embargo, solamente se explicaría la alta concentración de *Prochlorococcus* en la estación de Molino Viejo mediante la

We do not agree with the above authors' comments regarding the unsuitability of the methods used. The HPLC method proposed by Wright *et al.* (1991) and used in our study to separate monovinyl Chl *a* (MVChl *a*) and DVChl *a* has been validated in several studies, especially when the objective is to obtain relative proportions of the concentration of these compounds (see Bidigare *et al.*, 2005, and references therein). We also find their comments contradictory. They say that TChl *a* tends to be underestimated when the DVChl *a*/TChl *a* ratio decreases, but then they suggest that the error should be estimated since the concentration of DVChl *a* is high in SQB. To discredit the method used by Millán-Núñez *et al.* (2004) based on the article of Claustre *et al.* (2004) is neither appropriate nor valid. Claustre *et al.* (2004) only used the method of Wright *et al.* (1991); furthermore, they did not use DVChl *a* standards and in the past they ignored errors when DVChl *a* was present (Hooker *et al.*, 2000). The wavelength selection and response of the DVChl *a* and MVChl *a* absorption detector of the European Joint Research Center, where Claustre *et al.*'s (2004) study was conducted, are probably different to those of the system used by Latasa *et al.* (1996).

The CHEMTAX technique is relatively new (Mackey *et al.* 1996) and only a few studies are available. Pigment ratios are very important when using this technique, but data are scarce. We are currently analyzing pigment ratios in phytoplankton from the study area under different conditions of light and nutrients because they are known to change with the physical and chemical conditions of seawater (Mackey *et al.*, 1998). Hence, in the research note we only suggest that the pigment ratios used in CHEMTAX be those of phytoplankton species found in SQB. Consequently, the contribution percentages of the different groups should be taken as a first approximation. The CHEMTAX method was only applied to the Molino Viejo time series because there was a lack of data for the other localities. On the other hand, the DVChl *a* concentrations of the samples from stations 3–6 suggest that the relative contribution of *Prochlorococcus* in the eastern arm is greater than in the western arm.

In the above comment, the authors mention that it cannot be concluded that *Prochlorococcus* is important at SQB. In our research note we do not conclude this. The high concentration of *Prochlorococcus* at Molino Viejo can only be explained by the occurrence of a microenvironment at this locality and the prochlorophytes were probably transported by tidal currents from the oceanic area to the lagoon; however, since little information is available in the literature about the oceanic distribution of *Prochlorococcus*, further studies are necessary to better understand this process. Though it was first indicated that this species is characteristic of oligotrophic waters, it has recently been reported for other areas such as the California Current (Millán-Núñez *et al.*, 2004) and the Gulf of California (Millán-Núñez *et al.*, 1998). Again, in the research note we only report the presence of prochlorophytes at SQB for the first time.

With regard to table 1 in the research note, there is effectively an error regarding the units: it should say cells per litre

presencia de un micro-ambiente en esta localidad. Es probable que la presencia de proclorofitas se deba a su transporte mediante corrientes de mareas de la zona oceánica a la laguna. Pero, tomando en cuenta que en la literatura hay poca información sobre la distribución de *Prochlorococcus* en el océano, es necesario hacer más estudios para entender este proceso. Aunque en un principio se indicó que esta especie es característica de aguas oligotróficas, recientemente también se ha reportado *Prochlorococcus* para muchos lugares tales como la Corriente de California (Millán-Núñez *et al.*, 2004) y en el Golfo de California (Millán-Núñez *et al.*, 1998). De nuevo, en nuestra nota de investigación sólo reportamos por primera vez la presencia de proclorofitas en la Bahía de San Quintín.

Con relación a la tabla 1 de la nota de investigación, efectivamente hay un error en las unidades, debe ser células por litro y no por mililitro, y hay otro error en los valores de abundancia de fitoplancton en la hora 19 del muestreo, por lo que se requerirá de una fe de erratas para corregirlos.

Se ha reportado que la concentración de clorofila en las células de fitoplancton de los extremos internos de BSQ es del orden de tres veces mayor a la de la clorofila de las células de la boca de la bahía (Álvarez-Borrego, 2004). Esto se debe a que la concentración de Chl *a* por célula se incrementa en lugares más turbios donde la luz es limitante.

Por último, en nuestra nota de investigación no hablamos del rol ecológico de *Prochlorococcus*, sólo concluimos que la DVChl *a* en Bahía San Quintín sugiere fuertemente la presencia de este grupo de fitoplancton en esta bahía. Álvarez-Borrego (2004) menciona que BSQ es un sumidero de formas oxidadas de nitrógeno, pero es productora de NH₄, y se hace referencia a Farfán y Álvarez-Borrego (1983) para decir que la bahía exporta NH₄. De hecho en las aguas intersticiales de los sedimentos de estas lagunas costeras el NH₄ llega a ser mayor de 1 mM, por lo que el crecimiento de *Prochlorococcus* se vería favorecido bajo esta condición. Por otro lado, cerca de la boca y por influencia oceánica por las corrientes de marea el NH₄ es mucho más bajo.

Roberto Millán-Núñez

Referencias

Álvarez-Borrego, S. (2004). Dinámica de nutrientes y fitoplancton en una laguna costera fuertemente afectada por surgencias costeras. *Cienc. Mar.*, 30(1A): 1–19.

Bidigare, R.R. and Trees, C.C. (2000). HPLC phytoplankton pigments: Sampling laboratory methods, and quality assurance procedures. In: G.S. Fargion and J.L. Mueller (eds.), *Ocean Optics Protocols for Satellite Ocean Color Sensor Validation*. Chapter 13. NASA Tm 2000-209966, Goddard Space Flight Center, Greenbelt, MD, pp. 154–161.

Bidigare, R.R., Van Heukelem, L. and Trees, C. (2005). Analysis of algal pigments by high performance liquid chromatography. In: R.A. Anderson (ed.), *Algal Culturing Techniques*. Academic Press, pp. 327–345.

Bustillos-Guzmán, J., Claustre, H. and Marty, J.C. (1995). Specific phytoplankton signatures and their relationship to hydrographic

and not per millilitre. There is also an error in the phytoplankton abundance values for sampling hour 19. These errata need to be reported.

It has been indicated that the concentration of chlorophyll in phytoplankton cells of the inner reaches of SQB are three times higher than those at the bay mouth (Álvarez-Borrego, 2004). This is because the concentration of Chl *a* per cell increases in places of greater turbidity where light is limited.

Finally, in the research note we do not comment on the ecological role of *Prochlorococcus*, but only conclude that the presence of DVChl *a* at SQB strongly indicates the occurrence of this phytoplankton group in the bay. Álvarez-Borrego (2004) reports that SQB is a sink for oxidized forms of nitrogen, but produces NH₄ and, according to Farfán and Álvarez-Borrego (1983), exports NH₄. In fact, in the sedimentary pore waters of this coastal lagoon, NH₄ can be greater than 1 mM, a condition that would favour the growth of *Prochlorococcus*. On the other hand, NH₄ is much lower near the mouth, which is influenced by oceanic tidal currents.

English translation by Christine Harris.

conditions in the coastal northwestern Mediterranean Sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 124: 247–258.

Claustre, H., Hooker, S.B., Van Heukelem, L., Berthon, J.F., Barlow, R., Ras, J., Sessions, H., Targa, C., Zubkov, Thomas, C.S., van der Linde, D. and Marty, J.C. (2004). An intercomparison of HPLC phytoplankton pigment methods using *in situ* samples: Application to remote sensing and database activities. *Mar. Chem.*, 85: 41–61.

Farfán, B.C. and Álvarez-Borrego, S. (1983). Variability and fluxes of nitrogen and organic carbon at the mouth of a coastal lagoon. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, 17: 599–612.

Goericke, R. (2002). Top-down control of phytoplankton biomass and community structure in the monsoonal Arabian Sea. *Limnol. Oceanogr.*, 47: 1307–1323.

Goericke, R. and Repeta, D. (1993). Chlorophylls *a* and *b* and divinyl chlorophylls *a* and *b* in the open subtropical North Atlantic Ocean. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 101: 307–313.

Goericke, R. and Montoya, J.P. (1998). Estimating the contribution of microalgal taxa to chlorophyll *a* in the field-variations of pigment ratios under nutrient- and light-limited growth. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 169: 97–112.

Hooker, S.B., Claustre, H., Ras, J., Van Heukelem, L., Berthon, J.F., Targa, C., Van der Linde, D., Barlow, R. and Sessions, H. (2000). The First SeaWiFS HPLC Analysis Round Robin Experiment (SeaHarre-1). In: S.B. Hooker and E.R. Firestone (eds.), *NASA Tech. Memo. 2000-206892*, Vol. 14, NASA Goddard Space Flight Center, Greenbelt, MD, 42.

Hooker, S.B., Van Heukelem, L., Berthon, J.F., Barlow, R., Ras, J., Sessions, H., Targa, C., Zubkov, C., Thomas, S., van der Linde, D. and Marty, J.C. (2003). An intercomparison of HPLC phytoplankton pigment methods using *in situ* samples: Application to remote sensing and database activities. *Mar. Chem.*, 85: 41–61.

Latasa, M., Bidigare, R.R., Ondrusek, M.E. and Kennicutt, M.C. (1996). HPLC analysis of algal pigments: A comparison exercise among laboratories and recommendations for improved analytical performance. *Mar. Chem.*, 51: 315–324.

Mackey, D.M., Mackey, D.J., Higgins, H.W. and S.W. Wright. (1996). CHEMTAX: A program for estimating class abundances from

- chemical markers: Application to HPLC measurements of phytoplankton. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 144: 265–283.
- Mackey, M.J., Higgings, H.W., Mackey, M.D. and Wright, S.W. (1998). Algal class abundances in the western equatorial Pacific: Estimation from HPLC measurements of chloroplast pigments using CHEMTAX. *Deep-Sea Res.*, I 45: 1141–1468.
- Millán-Núñez, E., Lara-Lara, J.R. and Cleveland, J.S. (1998). Variations in specific absorption coefficient and total phytoplankton in the Gulf of California. *CalCOFI Rep.*, 39: 159–168.
- Millán-Núñez, E., Sieracki, M.E., Millán-Núñez, R., Lara-Lara, J.R., Gaxiola-Castro, G. and Trees, C.C. (2004). Specific absorption coefficient and phytoplankton biomass in the southern region of the California Current. *Deep-Sea Res.*, Part II: 817–826.
- Millán-Núñez, R., Millán-Núñez, E., Álvarez-Borrego, S., Trees, C.C. y Santamaría-del-Ángel, E. (2004). Variabilidad de comunidad de fitoplancton en Bahía San Quintín estimada mediante el análisis de pigmentos. *Cienc. Mar.*, 30: 145–153.
- Partensky, F., Hess, H.R. and Vaultot, D. (1999). *Prochlorococcus*, a marine photosynthetic prokaryote of global significance. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 63(1): 106-127.
- Van Heukelem, L. and Thomas, C.S. (2001). Computer-assisted high-performance liquid chromatography method with applications to the isolation and analysis of phytoplankton pigments. *J Chromatogr.*, A 910: 31–49.
- Wright, W.S., Jeffrey, W.S., Mantoura, R.F.C., Llewellyn, C.A., Bjørland, T., Repeta, D. and Welschmeyer, N. (1991). Improved HPLC method for the analysis of chlorophylls and carotenoids from marine phytoplankton. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 77: 183–196.
- Zubkov, M.V., Fuchs, B.M., Tarran, G.A., Burkill, P.H. and Amann, R. (2003). High rate of uptake of organic nitrogen compounds by *Prochlorococcus* cyanobacteria as a key to their dominance in oligotrophic oceanic waters. *Appl. Environ. Microbiol.*, 69(2): 1299–1304.