

**PRODUCTIVIDAD PRIMARIA DEL FITOPLANCTON ESTIMADA CON  
LOS MÉTODOS DE OXÍGENO Y CARBONO CATORCE EN UNA  
ESTACIÓN DEL ESTERO DE PUNTA BANDA, MÉXICO**

**PRIMARY PRODUCTIVITY OF PHYTOPLANKTON ESTIMATED WITH  
THE OXYGEN AND CARBON FOURTEEN METHODS AT ONE  
STATION OF ESTERO DE PUNTA BANDA, MEXICO**

Ramón Sosa-Ávalos<sup>1</sup>  
Roberto Millán-Núñez<sup>2\*</sup>  
Eduardo Santamaría-del Ángel<sup>2\*\*</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias Marinas  
Universidad de Colima  
Apartado postal 9-21  
Manzanillo, Colima, México

<sup>2</sup> Facultad de Ciencias Marinas  
Universidad Autónoma de Baja California  
Apartado postal 453  
Ensenada, Baja California, México

\* E-mail: [rmillan@bahia.ens.uabc.mx](mailto:rmillan@bahia.ens.uabc.mx)  
\*\* E-mail: [santam@bahia.ens.uabc.mx](mailto:santam@bahia.ens.uabc.mx)

*Recibido en abril de 1997; aceptado en junio de 1997*

**RESUMEN**

Con el propósito de estimar la productividad primaria del fitoplancton mediante el método de oxígeno disuelto ( $\Delta O_2$ ) con diferentes tiempos de incubación y compararlo con la estimada mediante el método de carbono catorce ( $^{14}C$ ), se realizaron simultáneamente experimentos de productividad primaria con ambos métodos, los días 12 de noviembre de 1993, 3 y 16 de febrero de 1994, y 24 de mayo de 1994. La productividad primaria bruta (PPB) estimada por el método de  $\Delta O_2$  fue similar a los valores derivados por el método de  $^{14}C$ , con  $\alpha = 0.05$ . Además, para conocer la variabilidad de la concentración de clorofila y abundancia bacteriana, se recolectó agua de mar cada 30 min durante el periodo de muestreo. Se concluye que, debido a su abundancia, es importante considerar las bacterias en estudios encaminados a estimar la productividad primaria en cuerpos costeros, ya que afectan el resultado del método de  $\Delta O_2$ , por la utilización del oxígeno por parte de las bacterias cuando hay suficiente sustrato dentro de las botellas. Los valores de la PPB estimada con el método de  $\Delta O_2$  pueden ser recomendadas como una alternativa viable al método de  $^{14}C$  para situaciones donde no es conveniente o posible el uso de isótopos radioactivos, siempre y cuando se realicen los experimentos con réplicas y por lo menos con tres tiempos finales de incubación.

*Palabras clave:* productividad primaria, clorofila *a*, bacterias, laguna costera.

**ABSTRACT**

In order to estimate primary productivity of the phytoplankton using the dissolved oxygen ( $\Delta O_2$ ) method with different incubation times and to compare it with that estimated using the carbon

fourteen ( $^{14}\text{C}$ ) method, simultaneous primary productivity experiments were carried out with both methods, on 12 November 1993, 3 and 16 February 1994, and 24 May 1994. The gross primary productivity (GPP) estimated with the  $\Delta\text{O}_2$  method was similar to the values derived from the  $^{14}\text{C}$  method, with  $\alpha = 0.05$ . Furthermore, to know the variability of the chlorophyll concentration and bacterial abundance, sea water was collected every 30 min during the sampling period. We conclude that it is important to consider bacteria in studies that estimate primary productivity in coastal areas, since bacterial abundance affects the results of the  $\Delta\text{O}_2$  method, due to the utilization of the oxygen when there is enough substrate inside the bottles. The GPP values estimated with the  $\Delta\text{O}_2$  method can be recommended as viable alternatives to the  $^{14}\text{C}$  method for situations where it is not convenient or possible to use radioactive isotopes, provided that the experiments are accomplished with replicas and at least three final incubation times.

*Key words:* primary productivity, chlorophyll *a*, bacteria, coastal lagoon.

## INTRODUCCIÓN

El entendimiento y la caracterización de los flujos de carbono en el mar requieren de estimaciones precisas de las tasas de producción primaria (PP) fitoplanctónica y bacteriana, ya que van a ser éstas las que rijan el flujo de la materia orgánica a los niveles superiores. En la actualidad, la PP puede ser estimada mediante varios métodos; los más utilizados son el de evolución de oxígeno disuelto ( $\Delta\text{O}_2$ ) y el de asimilación de carbono catorce ( $^{14}\text{C}$ ). Los trabajos de Williams *et al.* (1983), Grande *et al.* (1989) y Bidigare *et al.* (1992) mencionan que existen fuertes discrepancias entre las estimaciones de la PP con ambos métodos, especialmente bajo condiciones oligotróficas, de mucha luz o bajas tasas de fotosíntesis/respiración.

Dado que se considera al método de  $^{14}\text{C}$  como el más preciso (Williams *et al.*, 1979; Williams *et al.*, 1983), ambos métodos pueden dar resultados comparables si se consideran algunos factores en el método de  $\Delta\text{O}_2$ , como utilizar un adecuado cociente fotosintético (PQ) (Williams *et al.*, 1979; Peterson, 1980) y la actividad bacterioplanctónica por su papel en los procesos de remineralización y en el ciclo de la materia orgánica dentro de la trama trófica (Pomeroy, 1974; Azam *et al.*, 1983), ya que aproximadamente el 50% de la PP en el mar puede pasar directamente hacia las bacterias.

La magnitud de los factores antes mencionados varía dependiendo del área de estudio. Por ejemplo, en la región oceánica, la PP se debe principalmente al fitoplancton, mientras que en la zona costera, generalmente la PP está

## INTRODUCTION

Precise estimates of the rates of phytoplanktonic and bacterial primary production (PP) are needed to understand and characterize carbon flows in the sea, since they control the flow of organic matter to the upper levels. At present, PP can be estimated with various methods; the most utilized are the evolution of dissolved oxygen ( $\Delta\text{O}_2$ ) and carbon fourteen assimilation ( $^{14}\text{C}$ ). The works of Williams *et al.* (1983), Grande *et al.* (1989) and Bidigare *et al.* (1992) state that there are strong discrepancies between the PP estimates of both methods, especially when there are oligotrophic conditions, considerable light or low rates of photosynthesis/respiration.

Even though the  $^{14}\text{C}$  method is considered the most precise (Williams *et al.*, 1979; Williams *et al.*, 1983), both methods can provide comparable results if some factors of the  $\Delta\text{O}_2$  method are considered, such as: the use of an appropriate photosynthetic quotient (PQ) (Williams *et al.*, 1979; Peterson, 1980); and the role of the bacterioplankton in remineralization processes and in the organic-matter cycle within the trophic scheme (Pomeroy, 1974; Azam *et al.*, 1983), since approximately 50% of the PP in the sea passes directly to the bacteria.

The magnitude of the above-mentioned factors varies depending on the study area. For example, in the ocean, PP is mainly due to phytoplankton, whereas in coastal zones, PP is generally influenced by the presence of other primary producers (Nixon, 1980; Newell, 1984; Painchaud and Therriault, 1989).

influenciada por la presencia de otros productores primarios (Nixon, 1980; Newell, 1984; Painchaud y Therriault, 1989).

Los registros de PP, estimados mediante el método de  $\Delta O_2$  en las lagunas costeras de México, muestran heterogeneidad en los procedimientos técnicos, principalmente en el tiempo de incubación, lo que dificulta el establecimiento de valoraciones comparativas (Contreras, 1985; Santoyo, 1994; Millán-Núñez y Lara-Lara, 1995).

En el Estero de Punta de Banda, se ha reportado que existe una relación de la abundancia del fitoplancton y la PP con las corrientes de marea, lo que hace que ésta sea un factor a considerar en las estimaciones del fitoplancton y PP (Millán-Núñez *et al.*, 1981; Millán-Núñez y Millán-Núñez, 1987; Muñoz-Anderson y Millán-Núñez, 1991).

Una de las dificultades en el método de  $\Delta O_2$  es el obtener valores de oxígeno disuelto suficientemente altos para ser detectados por el mismo método. Un tiempo de incubación adecuado daría una concentración de oxígeno disuelto suficiente para la estimación de PP, comparable con las del método de  $^{14}C$ . Este tiempo de incubación no debe ser muy largo para evitar los efectos de botella y de respiración (Parsons *et al.*, 1985).

El objetivo de este trabajo es estimar y comparar los resultados de PP obtenidos por el método de  $\Delta O_2$ , a diferentes tiempos de incubación, con los resultados de PP obtenidos por el método de  $^{14}C$ , así como estimar la variabilidad de la concentración de clorofila y la abundancia bacteriana en el agua de mar durante el periodo de incubación, para una localidad en el Estero de Punta Banda, México.

## ÁREA DE ESTUDIO

El Estero de Punta Banda es una laguna costera, localizada entre los 31°42' y 31°47' de latitud Norte y los 116°37' y 116°40' de longitud Oeste, en la costa del Océano Pacífico de Baja California, en el extremo suroeste de la Bahía de Todos Santos, a 13 km al sur de la ciudad de Ensenada, Baja California (fig. 1). Presenta forma de *L*; el lado corto de aproximadamente 3 km, orientado en dirección sureste, y

The PP records estimated with the  $\Delta O_2$  method for coastal lagoons of Mexico show heterogeneity in the technical procedures, mainly in the incubation periods, which makes it difficult to establish comparative estimates (Contreras, 1985; Santoyo, 1994; Millán-Núñez and Lara-Lara, 1995).

A relation of phytoplankton abundance and PP to tidal currents has been reported for Estero de Punta Banda, which is why this relationship should be considered in phytoplankton and PP estimates (Millán-Núñez *et al.*, 1981; Millán-Núñez and Millán-Núñez, 1987; Muñoz-Anderson and Millán-Núñez, 1991).

One of the difficulties with the  $\Delta O_2$  method is obtaining dissolved oxygen values that are high enough to be detected. An appropriate incubation period would provide a sufficient concentration of dissolved oxygen for the PP estimate, comparable to the  $^{14}C$  method. This incubation period should not be very long so as to avoid bottle and respiration effects (Parsons *et al.*, 1985).

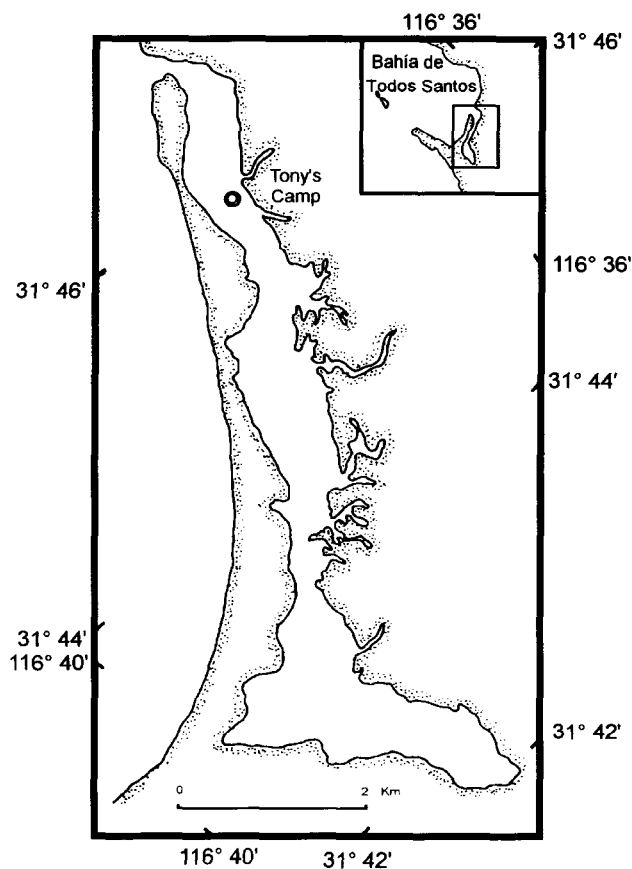
The objective of this study is to estimate and compare the PP results obtained with the  $\Delta O_2$  method, at different incubation periods, with those obtained with the  $^{14}C$  method, as well as to estimate the variability of the chlorophyll concentration and bacterial abundance in sea water during the incubation period, for one location in Estero de Punta Banda, Mexico.

## STUDY AREA

Estero de Punta Banda is a coastal lagoon located between 31°42' and 31°47'N and 116°37' and 116°40'W on the Pacific coast of Baja California, on the southwest tip of Todos Santos Bay, 13 km south of Ensenada, Baja California (fig. 1). It has an *L* shape; the short side is approximately 3 km long, with a south-east direction, and the long side is 7.5 km long, with a north-northeast direction and constitutes the main channel of the lagoon (Pritchard *et al.*, 1978).

## MATERIAL AND METHODS

Four field trips were made, two during spring tides (12 November 1993 and 24 May



**Figura 1.** Mapa del Estero de Punta Banda (México). El círculo indica la estación de muestreo.  
**Figure 1.** Map of Estero de Punta Banda (Mexico). The circle indicates the sampling station.

el largo de 7.5 km, orientado en dirección noreste, que constituye el canal principal del Estero (Pritchard *et al.*, 1978).

#### MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizaron cuatro salidas de campo, dos en mareas vivas (12 de noviembre de 1993 y 24 de mayo de 1994) y dos en mareas muertas (3 y 16 de febrero de 1994), frente a una localidad aproximada a 1.5 km de la boca del Estero de Punta Banda, conocida como "Tony's Camp" (fig. 1). En cada muestreo se tomaron dos muestras de agua, a las 0900 y a las 1200 horas, las cuales se submuestrearon para los experimentos de PP.

1994) and two during neap tides (3 and 16 February 1994), to a location approximately 1.5 km from the mouth of Estero de Punta Banda known as "Tony's Camp" (fig. 1). Two water samples were taken at 0900 and 1200 hours in each sampling, which were subsampled for the PP experiments.

For the PP experiments using  $\Delta O_2$ , thirty-three 150-mL BOD borosilicate bottles were filled, three of which were taken as the initial dissolved oxygen and were fixed immediately with solutions of the Winkler method (Bryan *et al.*, 1976) and with the recommendations of Cajal-Medrano *et al.* (1991). Of the remaining bottles, 15 were light and 15 were dark. The light bottles were placed in transparent acrylic

Para los experimentos de PP mediante  $\Delta O_2$ , se llenaron 33 botellas BOD de borosilicato de 150 mL. Tres de ellas se tomaron como oxígeno disuelto inicial y se fijaron inmediatamente con las soluciones del método Winkler (Bryan *et al.*, 1976) y las recomendaciones de Cajal-Medrano *et al.* (1991). De las restantes, 15 fueron botellas claras y 15 botellas oscuras. Las botellas claras se colocaron en tubos de acrílico transparente y las oscuras se forraron con papel aluminio y se colocaron en tubos de acrílico forrados con malla oscura, reduciendo en su totalidad la penetración de la luz al interior de la botella. Ambos tubos fueron expuestos a luz natural en un incubador portátil. Para evitar un calentamiento en el interior del tubo, se mantuvo circulación continua con agua de mar.

Los tiempos de incubación generalmente fueron de 4, 5, 6 y 7 h en cada muestreo. Las incubaciones iniciaron a partir de las 0900 horas, excepto en el primer muestreo donde la incubación inició a las 1000 horas. Al término de cada incubación, se tomaron tres botellas claras y tres oscuras: éstas se fijaron de manera similar a las botellas iniciales. La estimación de la concentración de oxígeno dentro de las botellas claras y oscuras se determinó por medio de un sistema de titulación Winkler de alta precisión (Cajal-Medrano *et al.*, 1991).

Para estimar la PP por el método de asimilación de  $^{14}C$ , se llenaron seis botellas de borosilicato de 150 mL, tres claras y tres oscuras. Las botellas fueron inoculadas con 2  $\mu Ci$  de  $NaH^{14}CO_3$  y colocadas en tubos de acrílico, de manera similar a los experimentos con oxígeno disuelto. El tiempo de incubación fue de 1.5 h; al término de éste, el agua de cada botella fue filtrada, en filtros de membrana de 25 mm de diámetro y 0.45  $\mu m$  de poro. Posteriormente, los filtros fueron expuestos a vapores de HCl concentrado, para eliminar el carbono inorgánico marcado no asimilado. Los filtros se colocaron en viales de centelleo con 15 mL de líquido de centelleo (Ecolumen). Para la determinación del carbono radioactivo, se utilizó un contador de centelleo líquido Beckman, modelo LS5000.

Los cálculos de la PP, tanto para  $\Delta O_2$  como para  $^{14}C$ , se determinaron siguiendo los métodos

tubes. The dark ones were covered with aluminium foil and placed in acrylic tubes covered with dark mesh, to prevent light from penetrating the bottles. Both tubes were exposed to natural light in a portable incubator. Sea water was circulated continuously over the tubes to avoid internal heating.

The incubation periods for each sampling were generally 4, 5, 6 and 7 h. The incubations started at 0900 hours, except in the first sampling when they began at 1000 hours. At the end of each incubation, three light and three dark bottles were removed and fixed in a similar manner to the initial bottles. The oxygen concentration inside the light and dark bottles was determined with the high-precision Winkler titration system (Cajal-Medrano *et al.*, 1991).

To estimate PP with the  $^{14}C$  assimilation method, six 150-mL borosilicate bottles were filled, three light and three dark. The bottles were inoculated with 2  $\mu Ci$  of  $NaH^{14}CO_3$  and placed in acrylic tubes as in the dissolved oxygen experiments. The incubation period was 1.5 h. After this, the water from each bottle was passed through 0.45- $\mu m$  pore membrane filters of 25 mm diameter. The filters were then exposed to fumes of concentrated HCl to eliminate the unassimilated labeled inorganic carbon. The filters were placed in scintillation vials with 15 mL of scintillation liquid (Ecolumen). A Beckman liquid scintillation counter, model LS5000, was used to determine the radioactive carbon.

The PP estimates for both  $\Delta O_2$  and  $^{14}C$  were calculated following the methods of Strickland and Parsons (1972) and Parsons *et al.* (1985).

For the PP estimates ( $mg C m^{-3} h^{-1}$ ) with  $\Delta O_2$ , a PQ was used, which was calculated from the ratio of the average data of the gross photosynthesis ( $\mu moles O_2 L^{-1} h^{-1}$ ) and the PP of the  $^{14}C$  method ( $\mu moles C L^{-1} h^{-1}$ ). Gross primary productivity (GPP) was calculated by subtracting the value of the dark bottle from the value of the light bottle.

To determine the concentration of chlorophyll *a* and bacterial abundance, water samples from the same area were collected every 30 min starting at 0900 hours. Chlorophyll *a* was

descritos por Strickland y Parsons (1972) y Parsons *et al.* (1985).

En las estimaciones de PP ( $\text{mg C m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ ) mediante  $\Delta\text{O}_2$ , se utilizó un PQ, calculado a partir de la razón del dato promedio de la fotosíntesis bruta ( $\mu\text{moles O}_2 \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) y la PP del método  $^{14}\text{C}$  ( $\mu\text{moles C L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ). La productividad primaria bruta (PPB) fue calculada tomando el valor de la botella clara menos el valor de la botella oscura.

Para determinar la concentración de clorofila *a* y abundancia bacteriana, se recolectaron muestras de agua de la misma localidad, cada 30 min a partir de las 0900 horas. Para la estimación de la clorofila *a*, se filtró 1 L de agua a través de un filtro de membrana de 0.45  $\mu\text{m}$  de poro y 47 mm de diámetro; las muestras se congelaron para su posterior análisis en el laboratorio. Los pigmentos se extrajeron con acetona al 90% y los extractos se leyeron a 750, 665, 645 y 630 nm antes y después de acidificarse con dos gotas de HCl al 10%, en un espectrofotómetro marca Milton Roy Spectronic, modelo 2000. Para su transformación a concentración de pigmento, se utilizaron las ecuaciones descritas por Millán-Núñez y Álvarez-Borrego (1978a).

Para la estimación de la abundancia bacteriana, se colocaron 15 mL de muestra de agua de mar en viales de 20 mL, las cuales fueron fijadas con 2 mL de formaldehído al 37%, previamente filtrado por 0.2  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro. Siguiendo las recomendaciones de Turley y Hughes (1992), las muestras se filtraron al día siguiente a través de un filtro de 0.2  $\mu\text{m}$  de poro y 25 mm de diámetro. Posteriormente, los filtros se prepararon de acuerdo con la técnica descrita por Parsons *et al.* (1985). Para cada filtro se contaron 20 campos en un microscopio de epifluorescencia, utilizando DAPI (4'-diamidino-2-fenilindol) como colorante. El proceso de conteo se llevó a cabo durante los 30 días subsiguientes al muestreo (Turley y Hughes, 1992).

Con respecto a la respiración de las bacterias, las muestras de agua se filtraron a través de un filtro de 1  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro y 47 mm de diámetro (con el objeto de eliminar los organismos fito y zooplanctónicos de las

determinadas por pasar 1 L de agua a través de un filtro de membrana de 0.45- $\mu\text{m}$  de diámetro. Las muestras se congelaron hasta su análisis en el laboratorio. Los pigmentos se extrajeron con 90% de acetona, y los extractos se leyeron a 750, 665, 645 y 630 nm antes y después de acidificarse con dos gotas de 10% HCl, usando un Milton Roy Spectronic espectrofotómetro, modelo 2000. Se transformaron a concentraciones de pigmento usando las ecuaciones de Millán-Núñez y Álvarez-Borrego (1978a).

Para la estimación de la abundancia bacteriana, 15 mL de la muestra de agua de mar se colocaron en viales de 20 mL, los cuales se fijaron con 2 mL de 37% de formaldehído que había sido previamente pasado a través de un filtro de 0.2- $\mu\text{m}$  de diámetro. Siguiendo las recomendaciones de Turley y Hughes (1992), las muestras se pasaron el día siguiente a través de un filtro de 0.2- $\mu\text{m}$  de diámetro. Los filtros se prepararon de acuerdo con la técnica de Parsons *et al.* (1985). Se contaron 20 campos para cada filtro con un microscopio de epifluorescencia, usando DAPI (4'-diamidino-2-fenilindol) como tinte. El proceso de conteo se llevó a cabo durante los 30 días siguientes al muestreo (Turley y Hughes, 1992).

Para determinar la respiración bacteriana, las muestras de agua se pasaron a través de un filtro de 1- $\mu\text{m}$  de diámetro (para eliminar los organismos fito- y zooplanctónicos de las muestras). Se usaron 18 botellas de vidrio borosilicato de 150 mL que se llenaron con el agua filtrada, de las cuales tres se fijaron inmediatamente con soluciones de la técnica de Winkler (Bryan *et al.*, 1976; Cajal-Medrano *et al.*, 1992) para el oxígeno inicial. Las restantes 15 se cubrieron con aluminio y se colocaron en tubos acrílicos cubiertos con malla oscura, para prevenir la penetración de la luz. Las incubaciones se realizaron en triplicado y comenzaron a las 1100 horas, con períodos de incubación de 4, 5, 5.5, 5.75 y 6 h (3 febrero); 4, 5, 5.5, 6 y 6.25 h (16 febrero); y 4, 5, 5.5, 6 y 6.5 h (24 mayo). El oxígeno consumido por la bacteria (respiración bacteriana) se determinó con la técnica de titulación de precisión alta en Cajal-Medrano *et al.* (1991).

muestras). Con el agua filtrada se llenaron 18 botellas de borosilicato de 150 mL, de las cuales tres fueron fijadas inmediatamente con las soluciones del método Winkler (Bryan *et al.*, 1976; Cajal-Medrano *et al.*, 1991), para el oxígeno inicial. Las 15 restantes se cubrieron con papel aluminio y se colocaron en tubos de acrílico forrados con malla oscura, reduciendo en su totalidad la penetración de la luz al interior de la botella. Las incubaciones fueron por triplicado y se iniciaron a partir de las 1100 horas, con periodos de incubación de 4, 5, 5.5, 5.75 y 6 h (3 de febrero); 4, 5, 5.5, 6 y 6.25 h (16 de febrero); y 4, 5, 5.5, 6 y 6.5 h (24 de mayo). El consumo de oxígeno por parte de las bacterias (respiración bacteriana) se determinó por el método de titulación de alta precisión descrito en Cajal-Medrano *et al.* (1991).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La concentración de la clorofila *a*, con relación al intervalo de las mareas (fig. 2), presentó una variación irregular a través del tiempo, con cambios drásticos en la concentración con respecto al valor inicial. Estos cambios fueron, en un lapso de 30 a 60 min, hasta 30 veces su concentración más baja (fig. 2c, d), de tal forma que los valores altos de concentración corresponden a mayor abundancia del fitoplancton en la distribución en parches, lo cual coincide con lo reportado por Millán-Núñez y Álvarez-Borrego (1978b), Millán-Núñez *et al.* (1981) y Muñoz-Anderson y Millán-Núñez (1991).

El PQ promedio para cada día de muestreo fue de 1.62, 1.25 y 0.87, respectivamente, calculado a partir de los PQ estimados en cada tiempo de incubación (tabla 1). Debido a que en el último muestreo no se realizaron los experimentos con  $^{14}\text{C}$ , se utilizó un PQ de 1.25, tomando en cuenta la concentración de nitratos y amonio en el agua de mar (Sosa-Ávalos, 1994).

La PPB para cada uno de los muestreos, varió de 6.66 a 11.75, de 8.42 a 16.40, de 19.63 a 40.23, y de 80.4 a 97.5  $\text{mg C m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ , respectivamente (tabla 1), con una tendencia a incrementarse correlativamente con la irradiancia solar, es decir, de los meses fríos a los calientes. La PP estimada por el método

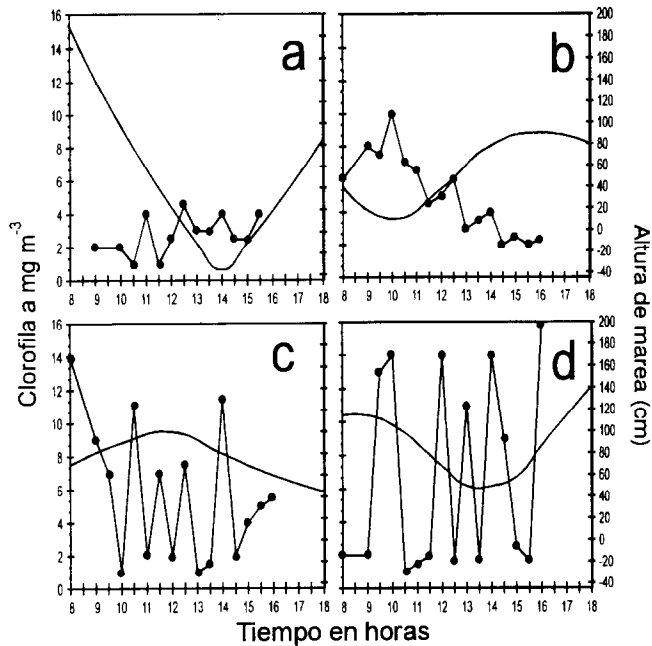
## RESULTS AND DISCUSSION

The concentration of chlorophyll *a* relative to the tide range (fig. 2) showed an irregular variation through time, with drastic changes in concentration with respect to the initial value. These changes were up to 30 times the lowest concentration (fig. 2c, d), during a 30- to 60-min period. The high concentration values correspond to a greater abundance of phytoplankton in patchy distribution, which coincides with that reported by Millán-Núñez and Álvarez-Borrego (1978b), Millán-Núñez *et al.* (1981) and Muñoz-Anderson and Millán-Núñez (1991).

The average PQ for each sampling day was 1.62, 1.25 and 0.87, respectively, calculated from the PQ estimates for each incubation period (table 1). Since  $^{14}\text{C}$  experiments were not conducted in the last sampling, a PQ of 1.25 was used that took into account the concentration of nitrates and ammonium in the sea water (Sosa-Ávalos, 1994).

The GPP for each sampling varied from 6.66 to 11.75, 8.42 to 16.40, 19.63 to 40.23 and 80.4 to 97.5  $\text{mg C m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ , respectively (table 1), and presented an increasing trend correlated with solar irradiance, that is, from the colder to the warmer months. The PP estimated with the  $^{14}\text{C}$  method for the first experiment of each sampling, which marked the beginning of the simultaneous incubation with that of oxygen, was 11.81, 6.60 and 34.36  $\text{mg C m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ , respectively (table 1).

The following values were obtained for the second experiment with  $^{14}\text{C}$  in each sampling: 14.28, 20.26 and 24.12  $\text{mg C m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ , respectively, which presented an increasing trend towards the warm months (table 1). The PP values estimated with  $^{14}\text{C}$  for the same day presented a slight increasing trend towards noon, due to greater solar irradiance, which is similar to that reported by Muñoz-Anderson and Millán-Núñez (1991). However, even though there was increased solar irradiance during the third sampling, the PP value decreased, due to the low concentration of chlorophyll from the second experiment (2  $\text{mg m}^{-3}$ ), compared to the concentration of chlorophyll from the first experiment (9  $\text{mg m}^{-3}$ ) (fig. 2c).



**Figura 2.** Variación de la concentración de clorofila *a* (●-●-●) y de la altura de marea (—) durante los muestreos: (a) 12 de noviembre de 1993; (b) 3 de febrero de 1994; (c) 16 de febrero de 1994; (d) 24 de mayo de 1994.

**Figure 2.** Variation of the chlorophyll *a* concentration (●-●-●) and tidal height (—) during the samplings: (a) 12 November 1993; (b) 3 February 1994; (c) 16 February 1994; (d) 24 May 1994.

de  $^{14}\text{C}$  para el primer experimento de cada muestreo, que inició la incubación simultáneamente con la del oxígeno, fue de 11.81, 6.60 y 34.36  $\text{mg C m}^{-3} \text{h}^{-1}$ , respectivamente (tabla 1).

En el segundo experimento con  $^{14}\text{C}$  en cada muestreo, se estimaron los siguientes valores: 14.28, 20.26 y 24.12  $\text{mg C m}^{-3} \text{h}^{-1}$ , respectivamente, con una tendencia de incrementarse hacia los meses cálidos (tabla 1). Los valores estimados de PP con  $^{14}\text{C}$  en el mismo día presentaron una ligera tendencia de incrementarse hacia las horas del mediodía, debido a la mayor irradiancia solar, similar a lo reportado por Muñoz-Anderson y Millán-Núñez (1991). Sin embargo, para el tercer muestreo, aunque también se incrementó la irradiancia solar, el valor de PP decreció, debido a la baja concentración de clorofila del segundo experimento (2  $\text{mg m}^{-3}$ ), en relación con la concentración de clorofila del primer experimento (9  $\text{mg m}^{-3}$ ) (fig. 2c).

The GPP values for each incubation period (table 1) tended to increase slightly between 4 and 6 h of incubation and then decrease. This is due to the decrease in the production rate of oxygen inside the bottle, with respect to the incubation period (because of the bottle effect). The average GPP value for each experiment was compared with the first PP experiment using  $^{14}\text{C}$ . In general, there were no differences between them, at  $\alpha = 0.05$ , except in the second sampling. Irwin (1991) reported good agreement between the GPP results obtained with  $\Delta\text{O}_2$  and with  $^{14}\text{C}$  for the Bedford Basin.

Many authors have compared both methods and have obtained similar results, mainly in experiments conducted in the laboratory and in natural oligotrophic environments, but with long incubation periods (>12 h) (Ryther and Vaccaro, 1954; Williams *et al.*, 1979; Williams *et al.*, 1983; Bender *et al.*, 1987; Grande *et al.*, 1989). Arestegui *et al.* (1966) transformed GPP



**Tabla 1.** Fecha de muestreo (día/mes/año). Valores de productividad primaria obtenidos con los métodos de  $\Delta O_2$  y  $^{14}C$  (PPB = productividad primaria bruta). Cociente fotosintético (PQ) para cada tiempo de incubación.

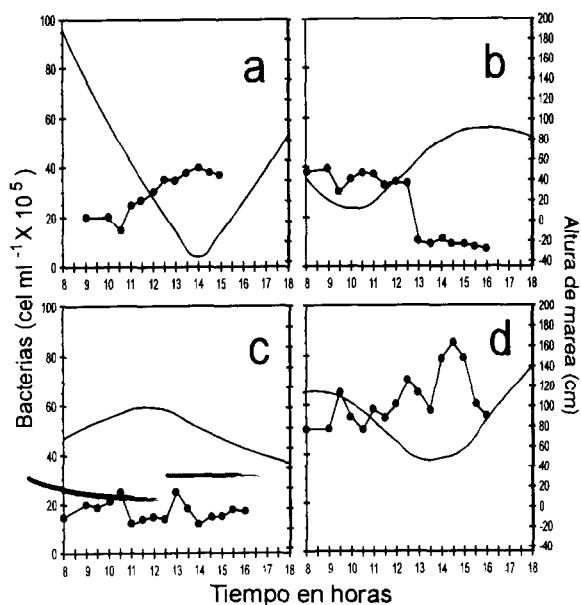
**Table 1.** Sampling date (day/month/year). Values of primary productivity obtained with the  $\Delta O_2$  and  $^{14}C$  methods (PPB = gross primary productivity). Photosynthetic quotient (PQ) for each incubation period.

Fecha	Método de $\Delta O_2$			Método de $^{14}C$	
	Incubación (h)	PPB ( $mg\ C\ m^{-3}\ h^{-1}$ )	PQ	Exp. 1 ( $mg\ C\ m^{-3}\ h^{-1}$ )	Exp. 2 ( $mg\ C\ m^{-3}\ h^{-1}$ )
12/11/93	4.0	6.66	1.09	11.81	14.28
	5.0	10.98	1.78		
	6.0	10.61	1.69		
	6.5	11.75	1.89		
		$\bar{X} = 9.99 \pm 2.28$	$\bar{X} = 1.62$		
03/02/94	4.0	14.75	1.36	6.60	20.26
	5.0	16.40	1.54		
	6.0	13.45	1.27		
	7.0	8.42	0.82		
		$\bar{X} = 3.26 \pm 3.4$	$\bar{X} = 1.24$		
16/02/94	4.0	40.23	1.18	34.36	24.12
	5.0	35.77	1.10		
	6.0	19.63	0.57		
	7.0	20.01	0.47		
	8.0	33.94	1.00		
		$\bar{X} = 29.92 \pm 9.5$	$\bar{X} = 0.87$		
24/05/94	4.0	97.5			
	5.0	80.4			
	6.0	82.5			
	7.0	89.57			
	8.0	83.63			
		$\bar{X} = 86.72 \pm 3.5$	$\bar{X} = 1.25$		

Los valores de la PPB de cada tiempo de incubación (tabla 1) presentaron una ligera tendencia de incrementarse, entre las 4 y 6 h de incubación, para posteriormente decrecer. Esto es debido a la disminución de la tasa de producción de oxígeno en la botella, en relación con el tiempo de incubación (por el efecto de botella). El valor promedio de PPB de cada experimento se comparó con el primer experimento de PP con  $^{14}C$ . En general, no presentaron diferencias entre sí, a un  $\alpha = 0.05$ ,

and PP data to a logarithm and reported a regression of  $r^2 = 0.89$  for coastal waters of the Antarctic Peninsula.

Bacterial abundance showed marked changes during each sampling day (fig. 3). It tended to increase during ebb tides, especially in the first, second and fourth samplings; the highest values for Estero de Punta Banda were recorded in the fourth sampling. This may be because the salt marshes are flooded during rising tides and, as the tide begins to ebb, the



**Figura 3.** Variación de la abundancia bacteriana (●-●-●) y de la altura de marea (—) durante los muestreos: (a) 12 de noviembre de 1993; (b) 3 de febrero de 1994; (c) 16 de febrero de 1994; (d) 24 de mayo de 1994.

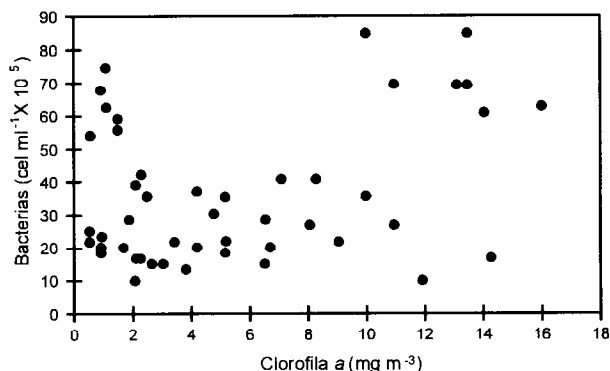
**Figure 3.** Variation of the bacterial abundance (●-●-●) and tidal height (—) during the samplings: (a) 12 November 1993; (b) 3 February 1994; (c) 16 February 1994; (d) 24 May 1994.

excepto para el segundo muestreo. Irwin (1991) reportó una alta concordancia entre los resultados de PPB medida con  $\Delta O_2$  y el estimado con  $^{14}C$  para la cuenca de Bedford.

Diversos autores han realizado comparaciones entre ambos métodos y reportan concordancia de resultados, principalmente para experimentos efectuados en condiciones de laboratorio y en medios naturales oligotróficos, pero con incubaciones largas (>12 h) (Ryther y Vaccaro, 1954; Williams *et al.*, 1979; Williams *et al.*, 1983; Bender *et al.*, 1987; Grande *et al.*, 1989). Arestegui *et al.* (1996) reportaron, con datos de PPB y PP transformados a logaritmo, una regresión con una  $r^2 = 0.89$  para las aguas costeras de la península Antártica.

La abundancia bacteriana presentó cambios marcados en cada día de muestreo (fig. 3). Se

bacteria found in these areas are transported towards the main channel of the water body and, along with the resuspended bottom matter, are carried to the surface, increasing their abundance. The highest values were obtained during the May sampling, compared to the other three samplings. The bacterial abundance tended to be greater during the ebb of the spring tides than during the ebb of the neap tides. It did not tend to increase with the chlorophyll concentration (fig. 4), which is similar to that reported by Wright *et al.* (1987) for many estuaries in Massachusetts. The above suggests that there are other important sources of carbon in Estero de Punta Banda that provide substrate for bacterial growth. Painchaud and Therriault (1989) found similar processes in the St. Lawrence Estuary.



**Figura 4.** Concentración de clorofila *a* contra la abundancia de bacterias.

**Figure 4.** Concentration of chlorophyll *a* vs bacterial abundance.

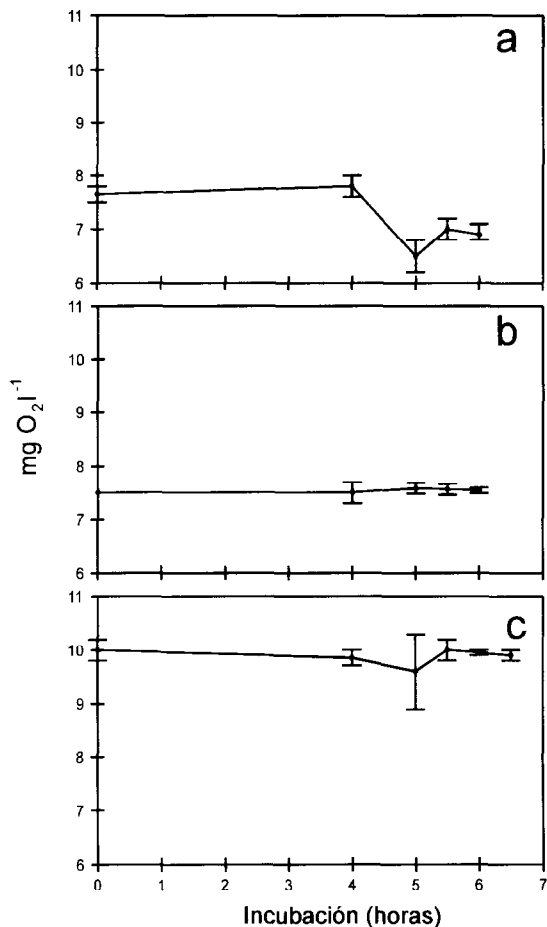
encontró que ésta tendió a aumentar, principalmente durante los reflujos de la marea, sobre todo en el primero, segundo y cuarto muestreo, siendo en este último donde se registraron los valores más altos de bacterias en el Estero de Punta Banda. Este comportamiento puede ser debido a que en el flujo de la marea se inundan las zonas de marismas, de tal forma que al presentarse el reflujos, las bacterias que se encuentran en esas zonas son arrastradas hacia el canal principal del cuerpo de agua, que aunado a la resuspensión del material de fondo, son llevadas a la superficie y aumenta su abundancia. Para el muestreo del mes de mayo, se obtuvieron los valores más grandes en relación con los otros tres muestreos. La abundancia bacteriana tendió a ser mayor durante el reflujos de las mareas vivas que durante el reflujos de las mareas muertas. La abundancia de bacterias no presentó tendencia de incrementarse con la concentración de clorofila (fig. 4); esto es similar a lo reportado por Wright *et al.* (1987) para un gran número de estuarios en Massachusetts. Lo anterior sugiere que en el Estero de Punta Banda, hay otras fuentes importantes de carbono que proveen de sustrato a las bacterias para su crecimiento. Painchaud y Therriault (1989) encontraron procesos semejantes en el estuario de St. Lawrence.

Pomeroy *et al.* (1994) mencionan que un decremento lineal en el oxígeno disuelto dentro de las botellas oscuras implica un estado

Pomeroy *et al.* (1994) state that a linear decrease in dissolved oxygen in dark bottles implies a stable community, in which the respiration rates and number of heterotroph and photoautotroph bacteria do not change; however, they report that this decreasing pattern does not always occur in tropical and subtropical waters. In Estero de Punta Banda, the respiration rate of the bacteria was, on occasion, greater than that of the entire community (fig. 5). This may be due to many factors, such as: the breaking up of cells during filtration, which increased substrate in the environment; the predators were separated from the sample during filtering, decreasing the effects of grazing on the bacteria; and the changes in the trophic structure of the communities when the bacteria were separated from their principal source of carbon (phytoplankton).

It is concluded that bacteria should be considered in studies that estimate PP in coastal waters, due to their abundance and dissolved oxygen consumption, when there is sufficient substrate inside the light and dark bottles.

The GPP values estimated with the  $\Delta O_2$  method can be recommended as a viable alternative to the  $^{14}C$  method, for situations when it is not convenient or possible to use radioactive isotopes, providing the experiments have replicas with many final incubation periods.



**Figura 5.** Concentración de oxígeno disuelto dentro de la botella oscura, de la fracción menor a 1  $\mu\text{m}$  a diferentes tiempos de incubación, para los muestreos: (a) 12 de noviembre de 1993; (b) 3 de febrero de 1994; (c) 16 de febrero de 1994.

**Figure 5.** Concentration of dissolved oxygen inside the dark bottle of the less than 1- $\mu\text{m}$  fraction at different incubation periods, for the samplings: (a) 12 November 1993; (b) 3 February 1994; (c) 16 February 1994.

estable de la comunidad, en las cuales los números y las tasas respiratorias de bacterias heterótrofas y fotoautótrofas no cambia. Sin embargo, para aguas tropicales y subtropicales, estos autores reportaron que el patrón de disminución del oxígeno disuelto no siempre ocurre. En el Estero de Punta Banda, la tasa de

Considering the high daily variability of the chlorophyll concentration, the patchy distribution of phytoplankton in the coastal lagoons and the primary productivity results obtained, it is recommended that PP, in  $\text{mg C m}^{-3} \text{ day}^{-1}$ , be estimated with at least two incubations during the day and that the incubations have replicas

respiración de las bacterias fue, en algunas ocasiones, mayor incluso que toda la comunidad (fig. 5). Esto pudo deberse a varios factores, como: el rompimiento de las células por filtración, que originó un incremento de sustrato al medio; al filtrar, los depredadores se separaron de la muestra, disminuyendo la presión de pastoreo sobre las bacterias; y los cambios en la estructura trófica de las comunidades cuando se separan a las bacterias de su fuente principal de carbono (fitoplancton).

De lo anterior, se concluye que es importante considerar a las bacterias en estudios encaminados a estimar la PP en cuerpos costeros, debido a su abundancia y al consumo de oxígeno disuelto, cuando tienen suficiente sustrato dentro de las botellas claras y oscuras.

Los valores de PPB estimados con el método de  $\Delta O_2$  pueden ser recomendados como una alternativa viable al método de  $^{14}C$ , para situaciones donde no es conveniente, o posible, el uso de isótopos radioactivos, siempre y cuando se realicen los experimentos con réplicas y varios tiempos finales de incubación.

Dada la alta variabilidad diaria de la concentración de clorofila, la distribución en parches del fitoplancton en las lagunas costeras y los resultados de productividad primaria obtenidos, se sugiere que para la estimación de la PP, en  $mg\ C\ m^{-3}\ día^{-1}$ , se lleven a cabo al menos dos incubaciones durante el día y cada incubación con réplicas con al menos tres tiempos finales de incubación (entre 4 y 7 h).

#### AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se realizó dentro del proyecto de investigación "Potencial productivo de las lagunas costeras de Baja California", de la Facultad de Ciencias Marinas de la Universidad Autónoma de Baja California, con apoyo de la Secretaría de Educación Pública (0-88-01-0077). Se agradece a CONACYT su apoyo para realizar los estudios de posgrado; a Moramay Badillo-Padilla su valiosa ayuda en los muestreos; y a los revisores anónimos sus comentarios que ayudaron a mejorar substancialmente este escrito.

with at least three final incubation periods (between 4 and 7 h).

#### ACKNOWLEDGEMENTS

This work was part of the research project "Potencial productivo de las lagunas costeras de Baja California", of the Facultad de Ciencias Marinas of the Universidad Autónoma de Baja California, with funding from the Secretaría de Educación Pública (0-88-01-0077). CONACYT funded the postgraduate studies. Our thanks to Moramay Badillo-Padilla for her help with the samplings, and to the anonymous reviewers for their comments that helped to considerably improve this paper.

English translation by Jennifer Davis.

#### REFERENCIAS

- Arestegui, J., Montero, M.F., Ballesteros, S., Basterretxea, G. and Van Lenning, K. (1996). Planktonic primary production and microbial respiration measured by  $^{14}C$  assimilation and dissolved oxygen changes in coastal waters of the Antarctic Peninsula during austral summer: implications for carbon flux studies. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 132: 191-201.
- Azam, F., Fenchel, T., Field, J.G., Gray, J.S., Meyer-Reil, L.A. and Thingstad, F. (1983). The ecological role of water-column microbes in the sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 10: 257-263.
- Bender, M., Grande, K., Johnson, K., Marra, J., Williams, P.J. LeB., Sieburth, J., Pilson, M., Langdon, C., Hitchcock, G., Orchard, J., Hunt, C., Donaghay, P. and Heinemann, K. (1987). A comparison of four methods for determining planktonic community production. *Limnol. Oceanogr.*, 32(5): 1085-1098.
- Bigdare, R.R., Prézelin, B.B. and Smith, R.C. (1992). Bio-optical models and the problems of scaling. In: P.G. Falkowski and A.D. Woodhead (eds.), *Primary*

- Productivity and Biochemical Cycles of the Sea. Plenum Press, New York, 550 pp.
- Bryan, J.R., Riley, J.P. and Williams, P.J. LeB. (1976). A Winkler procedure for making precise measurements of oxygen concentration for productivity and related studies. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 21: 191-197.
- Cajal-Medrano, R., Mitrani-Abenchuchan, E. y Castro-Delgado, M. (1991). Sistema fotoelectrónico para titulaciones de oxígeno disuelto con alta precisión y su aplicación en oceanografía biológica. *Hidrobiológica*, 1(2): 11-20.
- Contreras, F. (1985). Las Lagunas Costeras Mexicanas. Centro de Ecodesarrollo, Secretaría de Pesca, México, 253 pp.
- Grande, K.D., Williams, P.J. LeB., Marra, J., Purdie, D.A., Heinemann, K., Eppley, R.W. and Bender, M.L. (1989). Primary production in the North Pacific gyre: a comparison of rates determined by the  $^{14}\text{C}$ ,  $\text{O}_2$  concentration and  $^{18}\text{O}$  methods. *Deep-Sea Res.*, 36(11): 1621-1634.
- Irwin, B. (1991). Coulometric measurement of primary production, with comparison against dissolved oxygen and  $^{14}\text{C}$  methods in a seasonal study. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 71: 97-102.
- Millán-Núñez, R. y Álvarez-Borrego, S. (1978a). Ecuaciones espectrofotométricas tricromáticas para la determinación de clorofilas *a*, *b* y *c* y sus feofitinas. *Ciencias Marinas*, 5(1): 47-55.
- Millán-Núñez, R. y Álvarez-Borrego, S. (1978b). Series de tiempo de clorofilas *a*, *b* y *c* y sus feofitinas en las bocas de dos lagunas costeras. *Ciencias Marinas*, 5(2): 41-52.
- Millán-Núñez, E. y Millán-Núñez, R. (1987). Composición y variabilidad del fitoplancton a finales de primavera 1985 en el Estero de Punta Banda, Baja California, México. *Ciencias Marinas*, 13(4): 21-34.
- Millán-Núñez, R. y Lara-Lara, J.R. (1995). Productividad primaria del fitoplancton del Pacífico mexicano: un diagnóstico. En: F. Gonzalez-Farías y J. de la Rosa-Vélez (eds.), *Temas Selectos de Oceanografía Biológica en México*. Vol. II. Universidad Autónoma de Baja California, México, pp. 31-60.
- Millán-Núñez, E., Ortiz-Cortéz, F. y Álvarez-Borrego, S. (1981). Variabilidad temporal espacial de nutrientes y fitoplancton en una laguna costera, a finales de verano. *Ciencias Marinas*, 7(1): 103-128.
- Muñoz-Anderson, M.A. y Millán-Núñez, R. (1991). Variación anual de la productividad del fitoplancton en el Estero de Punta Banda, BC. *Ciencias Marinas*, 17(2): 57-70.
- Nixon, S.W. (1980). Between coastal marshes and coastal waters: A review of twenty years of speculations and research on the role of salt marshes in estuarine productivity and waters diversity. In: R. Hamilton and K.B. MacDonald (eds.), *Estuarine and Wetland Processes*. Plenum Press, New York, pp. 437-525.
- Newell, R.C. (1984). The biological role of detritus in the marine environment. In: M.J.R. Fasham (ed.), *Flow of Energy and Materials in Marine Ecosystems. Theory and Practice*. Plenum Press, New York, pp. 317-343.
- Painchaud, J. and Therriault, J.C. (1989). Relationships between bacteria, phytoplankton and particulate organic carbon in the upper St. Lawrence Estuary. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 56: 301-311.
- Parsons, T.R., Maita, Y. and Lalli, C.M. (1985). *A Manual of Chemical and Biological Methods for Seawater Analysis*. Pergamon Press, New York, 173 pp.
- Peterson, B.J. (1980). Aquatic primary productivity and the  $^{14}\text{C}$ - $\text{CO}_2$  method: A history of the productivity problem. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 11: 359-385.
- Pomeroy, L.R. (1974). The ocean's food web, a changing paradigm. *Bioscience*, 24: 499.
- Pomeroy, L.R., Sheldon, J.E. and Sheldon, W.M. Jr. (1994). Changes in bacterial numbers and leucine assimilation during estimations of microbial respiratory rates in seawater by precision Winkler method. *Appl. Environ. Microbiol.*, 60(1): 328-332.
- Pritchard, D.W., de la Paz-Vela, R., Cabrera-Muro, H., Ferreras-Sanz, S. y Morales, E. (1978). Hidrografía física del Estero de Punta Banda. Parte I: Análisis de datos. *Ciencias Marinas*, 5(2): 1-23.
- Ryther, J.H. and Vaccaro, R.F. (1954). A comparison of the oxygen and  $^{14}\text{C}$  methods of

- measuring marine photosynthesis. *J. Cons. Int. Expl. Mer.*, 20: 25-37.
- Santoyo, H. (1994). Fitoplancton y productividad. En: G. Lanza-Espino y C. Cáceres-Martínez (eds.), *Lagunas Costeras y el Litoral Mexicano*. Universidad Autónoma de Baja California Sur, México, 525 pp.
- Sosa-Ávalos, R. (1994). Estimación de la productividad primaria por el método del carbono catorce y oxígeno en el Estero de Punta Banda. Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada, BC, México, 73 pp.
- Strickland, J.D.H. and Parsons, T.R. (1972). *A practical handbook of seawater analysis*. Fish. Res. Board Canada, Bull. 167: 310 pp.
- Turley, C.M. and Hughes, D.J. (1992). Effects of storage on direct estimates of bacterial numbers of preserved seawater samples. *Deep-Sea Res.*, 39(3/4): 375-394.
- Williams, P.J. LeB., Raine, R.C.T. and Bryan, J.R. (1979). Agreement between the  $^{14}\text{C}$  and oxygen methods of measuring phytoplankton production: Reassessment of the photosynthetic quotient. *Oceanologica Acta*, 2(4): 411-416.
- Williams, P.J. LeB., Heinemann, K.R., Marra, J. and Purdie, D.A. (1983). Comparison of  $^{14}\text{C}$  and  $\text{O}_2$  measurements of phytoplankton production in oligotrophic waters. *Nature*, 305: 49-50.
- Wright, R.T., Coffin, R.B. and Lebo, M.E. (1987). Dynamics of planktonic bacteria and heterotrophic microflagellates in the Parker Estuary, northern Massachusetts. *Cont. Shelf Res.*, 7:1383-1397.