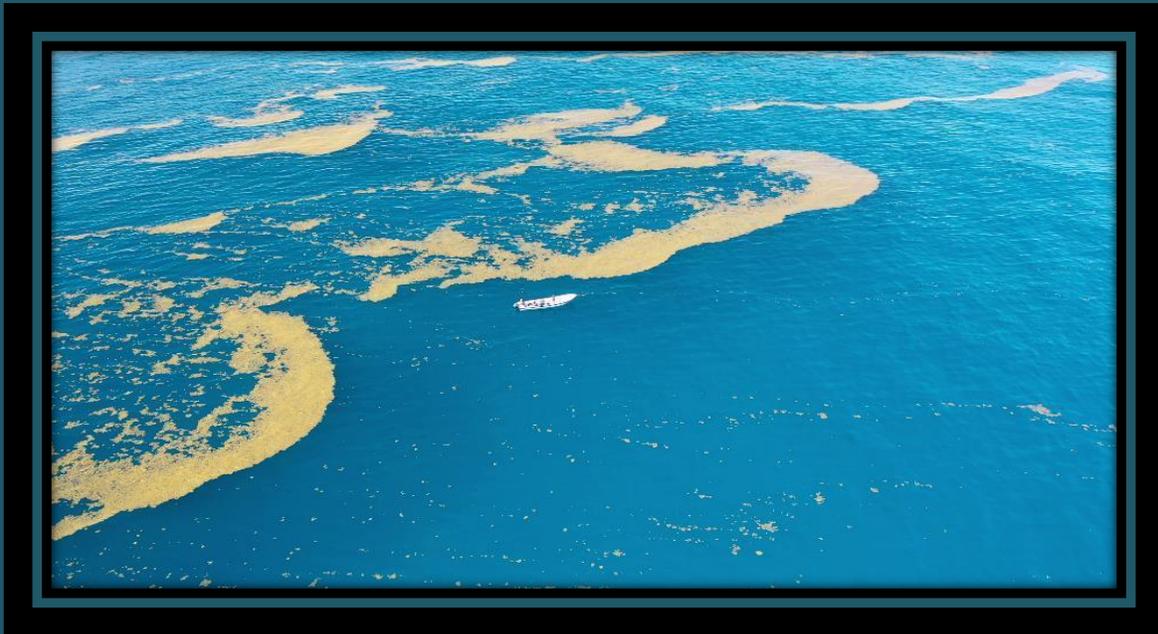


# INVASAR

Establecimiento de un protocolo de detección temprana y diagnóstico de  
especies exóticas invasoras asociadas al sargazo pelágico en zonas marino-costeras  
del Caribe mexicano

## PROTOCOLOS

2022



Al servicio  
de las personas  
y las naciones



## **Créditos y Agradecimientos**

### **Autores contribuyentes:**

Van Tussenbroek, B. I., Monroy Velázquez, L.V., Rodríguez Vargas, D.C., Suescún-Bolívar, Thomé, P. E., Cerqueda-García, D., García-Maldonado, J.Q, Martínez-López, I.G., Gómez Reali, M.A., Escalante Mancera J. E., López Portillo J.A., Vera Vázquez E., Barba Santos, M.G. (UNAM-ICML)

### **Apoyo financiero:**

Proyecto GEF-Invasoras 00089333 “Aumentar las Capacidades Nacionales para el Manejo de las Especies Exóticas Invasoras (EEI) a través de la Implementación de la Estrategia Nacional de EEL”, en estrecha coordinación entre la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y con financiamiento del Fondo para el Medio Ambiente Mundial (GEF, por sus siglas en inglés), a través del Programa de Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD).

### **Citar como:**

*PNUD México (programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo). 2022. Establecimiento de un protocolo de detección temprana y diagnóstico de especies exóticas invasoras asociadas al sargazo pelágico en zonas marino-costeras del Caribe mexicano (InvaSAR). Protocolos del proyecto WG014 entregado a la CONABIO y al PNUD en el marco del Proyecto GEF 00089333 “Aumentar las Capacidades Nacionales para el Manejo de las Especies Exóticas Invasoras (EEI) a través de la Implementación de la Estrategia Nacional de EEL”, CDMX, México. 125pp.*

### **Fotografías cortesía de:**

Van Tussenbroek, B. I., Monroy Velázquez, L.V., Rodríguez Vargas, D.C., Suescún-Bolívar, Gómez Reali, M.A., Escalante Mancera J. E., López Portillo J.A.

### **Descargo de responsabilidad:**

Los derechos de esta obra corresponden a PNUD/CONABIO/UNAM. Las opiniones, análisis y recomendaciones de política incluidas en esta obra no reflejan necesariamente el punto de vista del Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo, como tampoco de su junta ejecutiva ni de sus estados miembros.

Establecimiento de un protocolo de detección temprana y diagnóstico de especies exóticas  
invasoras asociadas al sargazo pelágico en zonas marino-costeras del Caribe mexicano  
(InvaSAR)

**Introducción General**

Van Tussenbroek, B. I., Monroy Velázquez, L.V., Rodríguez Vargas, D.C., Suescún-Bolívar,  
Thomé, P. E., Cerqueda-García, D., García-Maldonado, J.Q, Martínez-López, I.G., Gómez  
Reali, M.A., Escalante Mancera J. E., López Portillo J.A., Vera Vázquez E.

Barba Santos, M.G.

El sargazo es una macroalga parda marina pelágica del género *Sargassum*, que habita permanentemente en la superficie del mar. Históricamente el sargazo se origina en el Mar de los Sargazos, en el Atlántico Norte subtropical. Desde 2011, se ha formado una nueva zona de concentración en una región del Océano Atlántico Norte cercana al ecuador entre África y Brasil, denominada NERR por sus siglas en inglés (North Equatorial Recirculation Region; Gower et al. 2013, Wang et al. 2019). Wang et al. (2019) nombraron a esta nueva zona de concentración de sargazo “El Gran Cinturón Atlántico del Sargazo” (The Great Atlantic Sargassum Belt, Fig. 1). Desde entonces, las costas de países de África y el Caribe han recibido, de manera recurrente, recales masivos de sargazo, y desde finales de 2014, cantidades inusuales empezaron a llegar a las costas del Caribe mexicano.

El sargazo comprende las únicas dos especies holopelágicas (que pasan toda su vida flotando en la superficie del mar) del género *Sargassum*: *Sargassum fluitans* y *Sargassum natans*. Parr (1939) registró distintos tipos morfológicos de estas especies, y en el Caribe dominan *S. fluitans* III, *S. natans* I, y *S. natans* VIII (Schell et al. 2015; García Sánchez et al.,

2020). Las afluencias de sargazo han variado mucho en el tiempo. Aunque las variaciones estacionales son predecibles hasta cierto grado (García Sánchez et al., 2020; Rutten et al., 2021), hasta la fecha no se han revelado las causas de las grandes variaciones interanuales (Wang et al., 2019; Johns et al., 2020). En México, las arribazones de 2015 y 2018 fueron particularmente severas, afectando significativamente las costas del Caribe mexicano, en dónde radica la sección norte del Sistema Arrecifal Mesoamericano (SAM), el mayor arrecife de coral en el hemisferio occidental, que se extiende aproximadamente 1000 km a lo largo de la costa caribeña de México, Belice, Guatemala y Honduras.

La descomposición de grandes cantidades de biomasa recalada de sargazo, deriva en un cambio en la calidad del agua por sus lixiviados y materia orgánica particulada, que causa un cambio de su color azul turquesa a marrón, generando las llamadas mareas marrones de sargazo (Van Tussenbroek et al., 2017). Las mareas marrones de sargazo (Fig. 2) han provocado zonas muertas cercanas a las playas, y sus efectos sobre el equilibrio de los ecosistemas del sistema arrecifal aún se deben establecer (i.e., Chávez et al., 2020). Estas mareas marrones no sólo afectan al ecosistema marino-costero sino también a la salud humana (Resiere et al., 2018) y a la industria turística, especialmente el turismo de playa que es la principal industria del Caribe mexicano (Chávez et al., 2020).

En el Mar de los Sargazos, las masas pelágicas algales son consideradas como fundadoras de un ecosistema biodiverso y valioso (Trott et al, 2010), debido a que constituyen un hábitat esencial que brinda refugio contra la depredación o sitios de crianza a numerosos invertebrados (Abé et al., 2013; Coston-Clements et al., 1991; Dooley 1972), peces (Casazza y Ross, 2008; Coston-Clements et al., 1991; Dooley, 1972; Wells y Rooker, 2004), tortugas (Witherington et al., 2012) y aves marinas (Haney, 1986). Esta es la razón, además del color café claro de sargazo, que los mantos de sargazo también son conocidos como Mareas Doradas (Smetacek y Zingone, 2013). El sargazo a la deriva en la superficie del océano, al igual que

todas las masas u objetos pelágicos, sirve como hábitat y vehículo de dispersión para muchos organismos, que en conjunto forman un “sistema pasivo”, en donde gran parte de las asociaciones son facultativas (Thiel y Gutow 2005; Thiel y Haye, 2006; Martin-Smith, 1994). Estos sistemas a la deriva, impulsados por corrientes superficiales y vientos desde su ubicación original hacia otras áreas, permiten que los organismos asociados puedan colonizar nuevos hábitats, y son particularmente importantes para aquellos organismos que poseen capacidades de locomoción limitadas (Thiel y Gutow, 2005). Dependiendo de la tolerancia fisiológica y de los factores ambientales, este transporte de los sistemas a la deriva permite a estos organismos ampliar sus rangos de distribución, cuando son transportados y liberados a zonas fuera de su rango usual de distribución, en las cuales deben ser capaces de sobrevivir, establecerse y reproducirse (Herborg et al., 2007). Por ejemplo, algunas especies de crustáceos del Atlántico occidental en Europa (Yeatman, 1962; Blazewicz-Paszkowycz et al., 2012), probablemente fueron introducidas por mantos de sargazo, ya que estos organismos no están morfológicamente equipados para transportarse a través de grandes distancias (Yeatman, 1962). De forma similar, el sargazo puede ser un agente de dispersión e introducción de especies no-nativas a las costas del Caribe mexicano, cuya presencia podría generar efectos negativos en los ecosistemas.

Las especies no-nativas (también conocidas como especies exóticas) son aquellas introducidas en un ecosistema fuera de su área de distribución habitual. Especies no-nativas no son necesariamente invasivas; solamente si las especies no-nativas poseen atributos que les permitan desplazar a especies nativas son consideradas como invasoras (Verbrugge et al., 2016). Las especies invasoras podrán afectar la biodiversidad, alterar los ciclos biogeoquímicos y cambiar la distribución de los niveles tróficos. Estas especies pueden actuar como competidores, depredadores, parásitos o patógenos de especies nativas, influyendo en su supervivencia (Wallentinus y Nyberg, 2007). La detección oportuna de especies no-nativas,

potencialmente invasoras, permitirá actuar durante el inicio de la fase de establecimiento y proceder para su erradicación, o mitigación de su impacto.

Pocos han sido los estudios que demuestran los efectos de los arribazones masivos de sargazo en el ecosistema marino del Caribe mexicano. A ello se le suma el conocimiento insuficiente que existe de la flora y la fauna que pueden estar asociadas al sargazo pelágico que arriba a las costas del Caribe mexicano y si incluye o no especies exóticas invasoras que puedan estresar aún más el ecosistema marino y hacer más crítico el deterioro de la biodiversidad marina en dicha región.

Bajo este panorama, este proyecto pretende desarrollar un protocolo de detección temprana y diagnóstico de especies exóticas invasoras asociadas al sargazo pelágico en zonas marino-costeras del Caribe mexicano (InvaSAR), como un módulo específico integrado al sistema de información y análisis marino-costero (SIMAR). La CONABIO desarrolló el SIMAR con el propósito de responder a la necesidad de integrar información sobre el conocimiento del medio marino en sistemas operacionales que permitan una adecuada toma de decisiones en un contexto de cambio y variabilidad climática. SIMAR constituye una herramienta de información y análisis de la biodiversidad marina que permite estudiar los cambios en los ecosistemas marino-costeros mexicanos a corto y largo plazo, y se alimenta de tres sistemas de monitoreo oceánico y atmosférico: satelital, *in-situ* y modelos. Al integrar los estos sistemas de monitoreo, y a partir de algoritmos específicos, se derivan diversos sistemas operacionales de información, análisis, y de evaluación de ecosistemas, así como alertas tempranas para la toma de decisiones, que fungen como instrumentos para la conservación y uso sostenible de la biodiversidad.

Aunado a lo anterior, la CONABIO desarrolló un Sistema de información de especies exóticas invasoras (SIEI), en el que compila datos sobre la biología de las especies, origen, rutas de introducción, distribución natural y su estatus en otras regiones, entre otras, para evaluar su

invasividad y brindar la mejor información científica a tomadores de decisiones y al público en general. Con el fin de prevenir la introducción de especies exóticas invasoras (EEI) es necesario evaluar si las arribazones de sargazo son un vector de introducción importante y fortalecer los mecanismos de detección temprana para evitar la dispersión y por ende los daños que ocasionan al ecosistema marino (CONABIO, 2015). Por lo tanto, se propone integrar esta información al SIMAR para contar con herramientas de apoyo a los esfuerzos de conservación.

Por lo anterior, este proyecto contempla un estudio en el área protegida Parque Nacional Arrecife de Puerto Morelos, como un área piloto del Sistema Arrecifal Mesoamericano mexicano, para:

- (1) preparar un protocolo específico para monitorear la fauna, flora y microbiota asociada al sargazo, así como estudiar los movimientos de los mantos a la deriva y la calidad del agua. Este protocolo se integrará al Programa de monitoreo de biodiversidad marina del Caribe mexicano de largo período, preestablecido por la CONABIO y colaboradores;
- (2) caracterizar la composición taxonómica de especies de sargazo y de su fauna, flora y microbiota asociada, en múltiples mantos de sargazo pelágico, y en particular de posibles especies invasoras;
- (4) desarrollar boyas a la deriva de bajo costo para monitorear los movimientos de los mantos de sargazo;
- (3) estudiar la calidad del agua en áreas afectadas por las mareas marrones de sargazo;
- (5) desarrollar las bases de datos que integren los datos recopilados.

**REFERENCIAS**

- Abé H, Komatsu T, Kokubu Y, Natheer A, Rothausler EA, Shishido H, Yoshizawa S, Ajisaka T (2013) Invertebrate fauna associated with floating *Sargassum horneri* (Fucales: Sargassaceae) in the East China Sea. *Species Diversity* 18: 75–85
- Blazewicz-Paszkowycz M, Bamber R, Anderson G (2012) Diversity of Tanaidacea (Crustacea: Peracarida) in the World's Oceans – How Far Have We Come? *PLoS ONE* 7(4): e33068
- Casazza T, Ross SW (2008) Fishes associated with pelagic *Sargassum* and open water lacking *Sargassum* in the Gulf Stream off North Carolina. *Fishery Bulletin* 106: 348-363
- Chávez V, Uribe-Martínez A, Cuevas E, Rodríguez-Martínez RE, van Tussenbroek BI, Francisco V, Estévez M, Celis LB, Monroy-Velázquez LV, Leal-Bautista R, Álvarez-Filip L, García-Sánchez M, Masia L, Silva R (2020) Massive Influx of Pelagic *Sargassum* spp. on the Coasts of the Mexican Caribbean 2014–2020: Challenges and Opportunities, *Water* 12: 2908
- CONABIO (2015) Método de Evaluación Rápida de Invasividad (MERI) para especies exóticas en México. México DF
- Coston-Clements L, Settle LR, Hoss DE, Cross FA (1991) Utilization of the *Sargassum* habitat by marine invertebrates and vertebrates. A review. NOAA Technical Memorandum. NMFS SEFSC 296. 30 pp
- Dooley JK (1972) Fishes associated with the pelagic *Sargassum* complex, with a discussion of the *Sargassum* community. *Marine Science* 16: 1-32
- García-Sánchez M, Graham C, Vera E, Escalante-Mancera E, Álvarez-Filip L, van Tussenbroek BI (2020). Temporal changes in the composition and biomass of beached pelagic *Sargassum* species in the Mexican Caribbean. *Aquatic Botany*: 167-

- Gower J, Young E, King S (2013) Satellite images suggest a new *Sargassum* source region in 2011. *Remote Sensing Letters*, 4: 764-773
- Haney JC (1986) Seabird Patchiness in Tropical Oceanic Waters: The Influence of *Sargassum* “Reefs” *The Auk* 103: 141-151
- Herborg LM, Jerde CL, Lodge DM, Rui GM, MacIsaac HJ (2007) Predicting invasion risk using measures of introduction effort and environmental niche models. *Ecological Applications* 17: 663–674
- Johns EM, Lumpkin R, Putman NF, Smith RH, Muller-Karger FE, Rueda-Roa DT, Werner FE (2020) The establishment of a pelagic *Sargassum* population in the tropical Atlantic: biological consequences of a basin-scale long distance dispersal event. *Progress in Oceanography* 182: 102269
- Martin-Smith KM (1994) The role of epifaunal crustaceans on *Sargassum* spp. at Magnetic Island, Great Barrier Reef, Australia. PhD thesis, James Cook University.
- Parr A (1939) Quantitative observations on the pelagic *Sargassum* vegetation of the western North Atlantic with preliminary discussion of morphology and relationships. *Bulletin of the Bingham Oceanographic Collection* 7: Art. 7.
- Resiere D, Valentino R, Nevière R, Banydeen R, Gueye P, Florentin J, Mehdaoui H (2018) *Sargassum* seaweed on Caribbean islands: an international public health concern. *The Lancet* 392: 2691
- Rutten J, Arriaga JA, Montoya LD, Mariño-Tapia IJ, Escalante-Mancera E, Mendoza ET, van Tussenbroek BI, Appendini CM (2021) Beaching and Natural Removal Dynamics of Pelagic *Sargassum* in a Fringing-Reef Lagoon. *Journal of Geophysical Research: Oceans*: e2021JC017636

- Schell JM, Goodwin DS, Siuda AN (2015) Recent Sargassum inundation events in the Caribbean: Shipboard observations reveal dominance of a previously rare form. *Oceanography* 28: 8-11
- Smetacek V, Zingone A (2013) Green and golden seaweed tides on the rise. *Nature* 504: 84-88
- Thiel M, Gutow L (2005) The ecology of rafting in the marine environment. II. The rafting organisms and community. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review* 43: 279–418
- Thiel M, Haye PA (2006) The ecology of rafting in the marine environment. III. Biogeographical and evolutionary consequences. *Oceanography and Marine Biology* 44: 323–429
- Trott TM, McKenna SA, Pitt JM, Hemphill A, Ming FW, Rouja P, Gjerde KM, Causey B, Earle SA (2010) Efforts to enhance protection of the Sargasso Sea. Proceedings of the 63rd Gulf and Caribbean Fisheries Institute. Nov 1–5, San Juan, Puerto Rico, pp 282–286
- Van Tussenbroek BI, Arana HAH, Rodríguez-Martínez RE, Espinoza-Avalos J, Canizales-Flores HM, González-Godoy CE, Barba-Santos MG, Vega-Zepeda A, Collado-Vides L (2017) Severe impacts of brown tides caused by *Sargassum* spp. on near-shore Caribbean seagrass communities. *Marine Pollution Bulletin* 122: 272-281
- Verbrugge LN, Leuven R S, Zwart HA (2016) Metaphors in invasion biology: implications for risk assessment and management of non-native species. *Ethics, Policy & Environment* 19: 273-284
- Wallentinus I, Nyberg CD (2007) Introduced marine organisms as habitat modifiers. *Marine Pollution Bulletin* 55: 323-332

Wang M, Hu C, Barnes BB, Mitchum G, Lapointe B, Montoya JP (2019) The great Atlantic Sargassum belt. *Science* 365: 83-87

Wells DRJ, Rooker IR (2004) Spatial and temporal patterns of habitat use by fishes associated with *Sargassum* mats in the northwestern Gulf of Mexico. *Bulletin of Marine Science* 74: 81-99

Witherington B, Hirama S, Hardy R (2012) Young sea turtles of the pelagic *Sargassum*-dominated drift community: habitat use, population density, and threats. *Marine Ecology Progress Series* 463: 1-22.

Yeatman HC (1962) The problem of dispersal of marine littoral copepods in the Atlantic Ocean, including some redescriptions of species. *Crustaceana* 4: 253–272

## FIGURAS

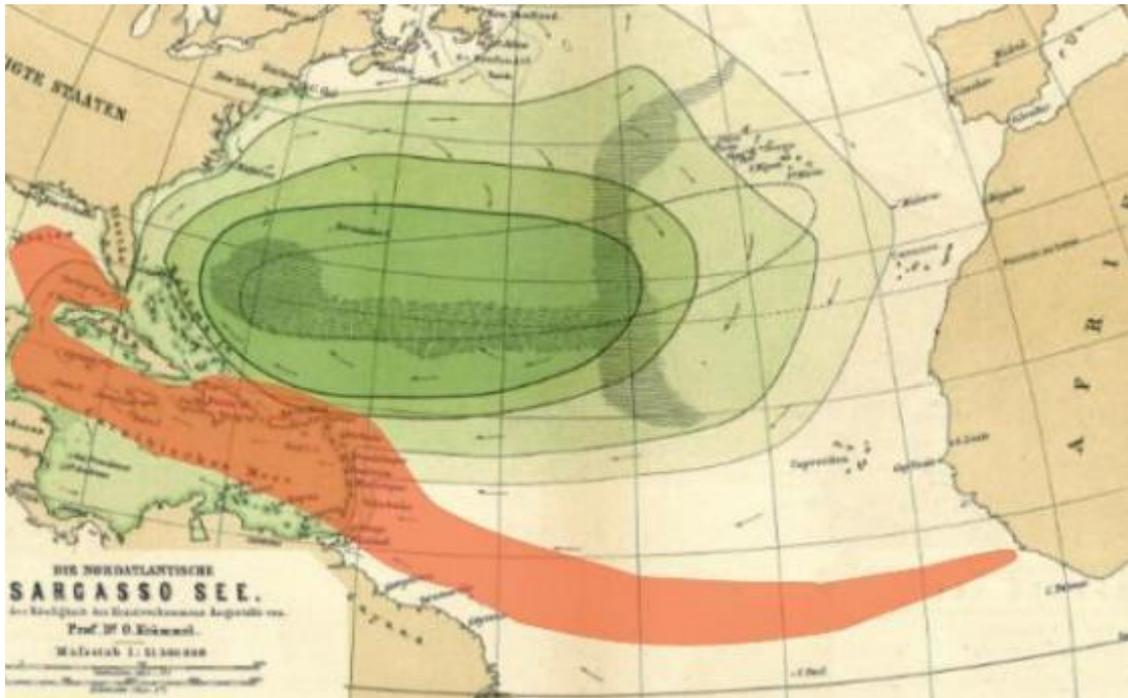


Fig. 1. Imagen de Mar de Sargazo histórico (en tono verde del mapa antiguo), con circunferencia aproximada del Gran Cinturón Atlántico de Sargazo (en naranja)

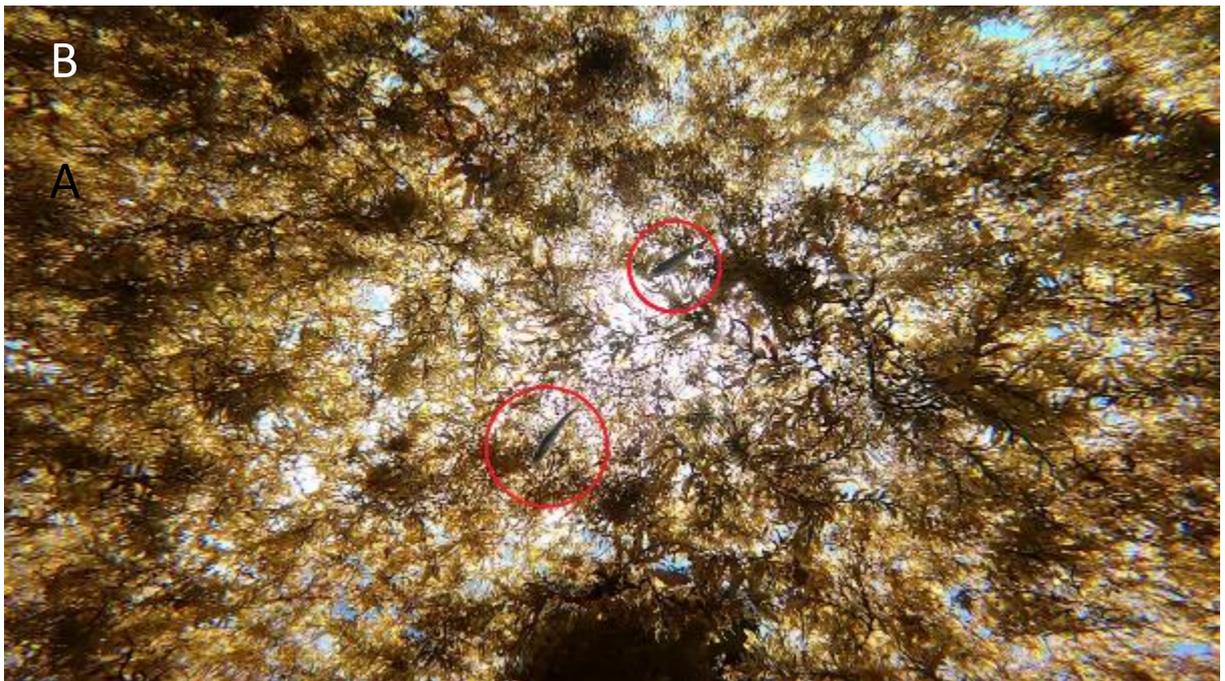


Figura 2. Marea Dorada. (A) En el mar abierto, los mantos de sargazo son verdaderos ecosistemas ambulantes. (B) Peces asociados a los mantos (círculos rojos).



Figura 3. Las mareas marrones de sargazo afectan al ecosistema marino-costero, a la salud humana y a la industria turística. (A) Foto de dron de una sección de playa en Puerto Morelos; (B) Sargazo en playa y mar, con el mar de color marrón.

Establecimiento de un protocolo de detección temprana y diagnóstico de especies exóticas invasoras asociadas al sargazo en zonas marino-costeras del Caribe mexicano (InvaSAR)

## Capítulo 1

### Fauna móvil

Monroy Velázquez, L.V., van Tussenbroek, B. I.

#### I. INTRODUCCIÓN

Las masas flotantes y a la deriva de sargazo en el océano son verdaderos ecosistemas ambulantes que incluyen gran cantidad de especies (ver Introducción). Sin embargo, la riqueza específica y abundancia de fauna asociada es altamente variable, probablemente dependiendo de su historia, trayectoria, la biomasa o volumen de macroalgas flotantes, localidad geográfica, estación del año (Stoner y Greening 1984; Abé *et al.* 2013; Monroy Velázquez *et al.*, 2019) y posiblemente también de la composición específica del manto algal de sargazo (Martin *et al.*, 2021).

En México, se conoce poco sobre la fauna móvil asociada al sargazo pelágico. El primer estudio, realizado por Muñoz (2013) en Parque Nacional del Sistema Arrecifal Veracruzano, identificó 33 especies de fauna móvil pertenecientes a seis fila. Posteriormente, Monroy Velázquez *et al.* (2019) reportaron 33 taxa de fauna móvil (la mayoría crustáceos), asociada al sargazo que arribó durante 2018 al Parque Nacional Arrecifes Puerto Morelos (PNAPM). Identificaron seis especies asociadas al sargazo (tres especies de peces y tres de invertebrados) que no se habían registrado anteriormente en el Caribe mexicano (Monroy-Velázquez *et al.*, 2019). Cabe mencionar que Monroy -Velázquez y colaboradores incluyeron erróneamente al pez *Stephanolepis hispidus*, como nuevo registro; sin embargo, este pez ya fue registrado con su

sinónimo *Monacanthus hispidus* en la lista de fauna del parque de manejo del PNAPM (INE, 2000). Monroy-Velázquez *et al.* (2019) no encontraron diferencias significativas en la riqueza específica de macrofauna móvil en sargazo en el intermareal o de 50 a 500 m de la costa, excepto que el número de individuos fue menor en la zona intermareal.

El objetivo del presente es desarrollar un protocolo para la detección temprana de especies de macrofauna móvil y epibiontes asociadas al sargazo en zonas marino-costeras del Caribe mexicano. Se pondrá una especial atención a las especies no-nativas (exóticas), y de estas especies se buscará en la literatura sus características, para evaluar su capacidad invasora.

## **II. METODOS**

### **II.1 Trabajo en el mar**

#### *II.1.1. Selección de los sitios y tiempos de muestreo*

Se recomienda realizar recolectas en diferentes ocasiones a lo largo de la temporada de arribazones, debido a la alta variabilidad temporal registrada en estudios anteriores. La recolecta de sargazo con biota asociada en el mar cercano a la costa se podrá realizar en embarcaciones menores; el tamaño y tipo de embarcación varía según las condiciones locales de cada localidad. Considerando que la biota asociada podrá cambiar conforme se acerca a la costa, se recomienda realizar las colectas a diferentes distancias a la costa. Por ejemplo, en el caso del sistema arrecifal de Puerto Morelos, se decidió realizar recolectas afuera de la barrera arrecifal (entre 2.5 y 4 km de la costa), y en la laguna arrecifal a una distancia entre 0.1 y 2.0 km de la costa. Los criterios de elegir zonas de recolecta varían entre las localidades.

Considerando que también podrá haber una alta variabilidad en biota asociada entre masas pelágicas, es recomendable realizar colectas en al menos tres masas pelágicas (o mantos)

independientes por zona, con una distancia de >100m entre uno y otro, de tamaño razonable ( $\geq 20 \text{ m}^2$ ). Se registran las coordenadas GPS del manto de sargazo, la fecha y hora, las condiciones meteorológicas, el tamaño estimado del manto, y se menciona algunas características del manto, tales como el tipo de aglomeración (hilera, grupos pequeños, o parche grande), su densidad (manto denso y continuo y grueso cuando menos en el centro, o disperso cuando a veces el superficie del mar dentro el manto es visible), y el estado de sargazo (fresco o en cierto estado de deterioro; Hoja 1).

En el caso de realizar el muestreo desde la playa sin embarcación, se recomienda tomar muestras en aglomeraciones de sargazo fresco; tomando tres replicas con una distancia de cuando menos 100m (idealmente 200m) entre ellas.

### *II.1.2. Las especies y morfotipos de sargazo*

En la Fig. 1 se muestra las especies pelágicas de *Sargassum*, y sus morfotipos dominantes en el Caribe mexicano, con sus características típicas. Si los ejemplares de *Sargassum* spp. no cumplen con estas características, es posible que sean secciones de talo de especies bentónicas desprendidas, y se anota como tal. Existen otras formas de sargazo pelágico, pero son escasas; se sugiere consultar Parr (1939) en caso que exista la posibilidad que el ejemplar sea de un morfotipo distinto.

### *II.1.3. Muestreo de macrofauna móvil*

Para la macrofauna móvil es recomendable utilizar una red de inmersión o cuchara de  $\approx 0.25 \text{ m}^2$  de abertura de boca y luz de malla de  $500 \mu\text{m}$  (Fig. 2). Si es de interés de incluir mesofauna en la colecta, se recomienda emplear una red con malla entre  $250$  y  $300 \mu\text{m}$ . El contenido de la red se depositará en bolsas de polietileno rotuladas previamente llenadas con agua del mar para evitar la desecación de la muestra (Fig. 3). Es necesario tener las muestras a la sombra o con preferencia

en una hielera para mantenerlas frescas mientras se transportan lo más pronto posible al laboratorio para su procesamiento.

## **II.2 Trabajo de laboratorio**

### *II.2.1. Procesamiento del material fresco*

#### II.2.1.1. Separación de la fauna móvil

Las muestras de sargazo con la fauna asociada se colocan en una palangana con agua dulce, la cual induce un shock osmótico, provocando que los organismos móviles abandonen las frondas (Granados-Barba et al. 2003). Adicionalmente, se sacuden de forma vigorosa para desprender la fauna móvil que quede retenida en las frondas (Fig. 4a). Se recomienda inspeccionar los talos ya que en ocasiones pueden quedar algunos organismos entre las frondas, particularmente los gusanos poliquetos. El contenido de la palangana se decanta a través de una malla de 0.5 mm (Fig. 4b), y la fauna móvil se fija en frascos (50 ml, Fig. 5; o si incluyen muchos organismos grandes de 250 ml) con alcohol al 70% para su posterior identificación. Los frascos deben estar debidamente rotulados, de preferencia usar dos etiquetas, una dentro (papel albanene escrito con lápiz) y otra en el exterior del frasco. Se recomienda separar la fauna móvil del sargazo lo más pronto posible después de la colecta, ya que los decápodos, en particular los camarones entran en proceso de rápida descomposición, que muchas veces resulta en desprendimiento del abdomen.

#### II.2.1.2. Identificación de especies y morfotipos de sargazo y su cuantificación

Para cada muestra, después de remover la fauna móvil, se separan las especies/morfotipos de sargazo para su cuantificación, según los criterios en la Fig. 1. Se colocan sobre papel absorbente para eliminar el exceso de humedad, y se pesan en una balanza de precisión de 0.1g (Fig. 6). Si es de interés particular determinar el peso seco, se puede secar posteriormente en un horno a

60°C por un periodo de aprox. 48h hasta que las muestras queden completamente secas. La información generada se registra en la Hoja 2.

### **II.3 Identificación y registros de fauna móvil**

Con un microscopio estereoscópico (Fig. 7), se identifican todos los grupos al nivel taxonómico más bajo posible mediante claves y guías especializadas. Se recomiendan las siguientes guías, pero hay otras. Para peces se recomienda Froese y Pauly (2011), para poliquetos De León González et al. (2002), para moluscos Castillo-Rodríguez (2014), para crustáceos decápodos Chace (1972) y Williams (1984), para anfípodos Winfield et al. (2007) y para isópodos Kensley y Schotte (1989). Se anexa al presente, fotografías de las especies (taxa) más frecuentes en las muestras del sistema arrecifal de Puerto Morelos (Anexo 1-Galería de fauna móvil). Se cuantificará el número de individuos por taxón para obtener datos de abundancia estandarizada por kg de peso húmedo de sargazo. En caso que el taxón es un nuevo registro, se anota en las observaciones. Se anota el número de individuos por taxón en una hoja de registro usando el formato de Hoja 3. Se junta todos los individuos por especies/taxón en cada muestra, se quita cuidadosamente el exceso de líquido para determinar su peso húmedo en una balanza analítica. En el caso de no contar con una balanza analítica, se podrá determinar el volumen, en vez de peso húmedo, por medio de desplazamiento en una probeta graduada (5-20ml). Se anota el peso húmedo o volumen por especie/taxón en la Hoja 3.

### III. INDICES

#### *III.1. Sargazo*

De hojas 1 y 2 se obtiene los siguientes **índices del sargazo por muestreo** (i.e., todas las muestras tomadas en la misma fecha en las diferentes zonas); aunque, se podrán analizar también por zona, por temporada, etc.

##### A. Masa flotante de sargazo

1. La superficie estimada de los mantos (promedio, indicando N y SD)
2. El peso relativo (% del peso total) de las especies/morfotipos de sargazo (promedio, indicando N y SD)

#### *III.2. Fauna Móvil*

Del listado de las especies y su abundancia en cada muestra (hojas 2 y 3), se determinará los siguientes **índices de la fauna móvil por muestreo** (i.e., todas las muestras tomadas en la misma fecha en las diferentes zonas); aunque se podrán analizar también por zona, por temporada, etc.

##### Por muestreo:

1. Número de especies/taxa (S): sumando las especies/taxones en todas las muestras)
2. Número de registros nuevos; i.e., especies/taxones de nuevo registro para la localidad (o su área biogeográfica)
  - a. De estos, se indica su potencial de ser invasivo utilizando el Método de Evaluación Rápida de Invasividad para especies exóticas en México (CONABIO 2015)

Por taxón:

3. Frecuencia (F): Número de muestras en que se registró la especie o taxón
4. Densidad (D): Número de organismos por kg húmedo de sargasso (promedio y SD) por especie (taxón)
5. Biomasa (B): Peso húmedo (o volumen) por kg húmedo de sargasso (promedio y SD) por especie (taxón)
6. Dominancia (Dom): Peso húmedo (o volumen) por kg húmedo de sargasso, SOLO considerando las muestras en las cuales la especie/taxón está presente
7. Índice de Valor de Importancia (IVI) por especie (o taxón):

$$IVI = \text{Densidad Relativa} + \text{Frecuencia Relativa} + \text{Dominancia Relativa}$$

La Frecuencia Relativa, Densidad Relativa y Dominancia Relativa (en porcentajes) se calcula dividiendo el valor de este variable para la especie (o taxón) por la suma de valores de este variable de todas las especies/taxones, multiplicando por 100:

$$\text{i.e., Frecuencia Relativa} = [\text{Frecuencia Taxón A} / \text{Suma Frecuencias de Taxa A a X}] * 100.$$

El valor máximo de cada variable relativo es igual a 100. Por lo tanto, el valor máximo de IVI, o la suma de IVI de todos los taxones en una muestra, es igual a 300.

Para fines comparativos entre muestreos, se podrá preparar una lista las especies (o taxones) en orden de valor de IVI; de las más alto a bajo.

#### **IV. Materiales y equipos necesarios para el monitoreo de la fauna asociada al sargazo**

##### *Para trabajo de campo*

- Embarcación equipada con suficiente gasolina
- GPS
- Cámara fotográfica
- Red
- Bolsas para muestras
- Hielera
- Tablas de acrílico /formatos de campo
- Lápiz

##### *Para la cuantificación de sargazo*

- Palangana
- Escurridor
- Refrigerador
- Charolas para pesar y si se aplica secar el sargazo
- Balanza (precisión mínima de 0.1 g)
- Horno para secar (opcional; si se requiere de determinar peso seco de sargazo)

##### *Para la separación, preservación y clasificación de la fauna móvil*

- Palangana
- Escurridor
- Tela de  $\approx 30 \times 30$  cm con malla de 0.5 mm
- Etiquetas de papel albenene (distintos tamaños)
- Frascos de 50 y 100 ml (por muestreo: 6 para la fauna móvil)
- Alcohol 70%

- Formol (diluido al 4% en agua de mar)
- Guías de identificación de especies
- Microscopio estereoscópico
- Microscopio óptico (opcional, pero podrá ser útil en la identificación de organismos)
- Balanza de alta precisión para determinar peso húmedo de los grupos/especies de fauna móvil

**V. REFERENCIAS**

- Abé H, Komatsu T, Kokubu Y, Natheer A, Rothausler EA, Shishido H, Yoshizawa S, Ajisaka T (2013) Invertebrate fauna associated with floating *Sargassum horneri* (Fucales: Sargassaceae) in the East China Sea. *Species Diversity* 18: 75–85
- Castillo-Rodríguez ZG (2014) Biodiversidad de moluscos marinos en México Biodiversity of marine mollusks in Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 85 (Supplement 1): 419-430
- Chace FA Jr (1972) The shrimps of the Smithsonian-Bredin Caribbean expeditions with a summary of the West Indian shallow-water species (Crustacea: Decapoda: Natantia). *Smithsonian Contributions to Zoology*. 179 pp
- CONABIO. 2015. Método de Evaluación Rápida de Invasividad (MERI) para especies exóticas en México. México DF  
[https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/221685/Obelia\\_dichotoma.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/221685/Obelia_dichotoma.pdf)
- De León González JA (2002) Poliquetos litorales de la región norte y centro del estado de Veracruz. Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Biológicas. Informe final SNIB-CONABIO proyecto No. S035. México DF
- Frose R, Pauly D (2011). Fish base. World Wide Web electronic publication.  
<http://www.fishbase.org>
- Granados-Barba, A., Solís-Weiss, V., Tovar-Hernández, M.A. 2003. Distribution and diversity of the Syllidae (Annelida: Polychaeta) from Mexican Gulf of Mexico and Caribbean. *Hydrobiologia* 496: 337-345
- INE (Instituto Nacional de Ecología y la comunidad de Puerto Morelos) (2000) Programa de manejo del Parque Nacional Arrecife de Puerto Morelos, México. SEMARNAT, México. 224pp

- Kensley B, Schotte M (1989) Guide to the Marine Isopod Crustaceans of the Caribbean. Smithsonian Institution Press, Washington, DC. 308p
- Martin LM, Taylor M, Huston G, Goodwin GS, Schell JM, Siuda ANS (2021) Pelagic *Sargassum* morphotypes support different rafting motile epifauna communities. *Marine Biology* 168: 115
- Monroy-Velázquez LV, Rodríguez-Martínez RE, van Tussenbroek BI, Aguiar T, Solís-Weiss V, Briones-Fourzan P (2019). Motile macrofauna associated with pelagic *Sargassum* in a Mexican reef lagoon. *Journal of Environmental Management* 252: 109650.
- Muñoz BN (2013) Composición y abundancia de la macrofauna asociada a *Sargassum* (Phaeophyceae: Fucales) flotante en el Sistema arrecifal Veracruzano, suroeste del Golfo de México. Universidad Veracruzana. Tesis de maestría. 54 pp
- Stoner AW, Greening HS (1984) Geographic variation in the macrofaunal associates of pelagic *Sargassum* and some biogeographic implications. *Marine Ecology Progress Series* 20: 185-192
- Williams AB (1984) Shrimps, lobsters, and crabs of the Atlantic coast of the Eastern United States, Maine to Florida. Smithsonian Institution Press, Washington, DC. 550 pp
- Winfield I, Escobar-Briones E, Álvarez F (2007) Clave para la identificación de los anfípodos bentónicos del Golfo de México y el sector norte del Mar Caribe. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM – CONABIO, México, ISBN 970-32-4345-2. 197 pp

## FIGURAS

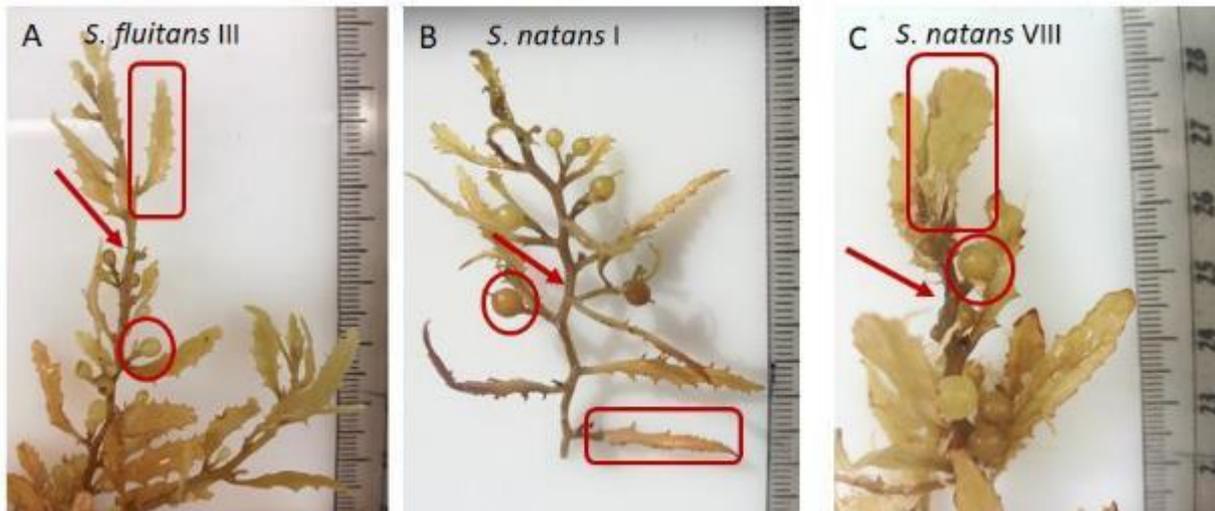


Figura 1. Características distintivas de *S. fluitans* III, *S. natans* I y *S. natans* VIII, con detalle del estipe (flechas), neumatocisto (círculos) y láminas (rectángulos). (A) *S. fluitans* III con espina en el estipe, neumatocisto ovalado y lámina de amplitud intermedia; (B) *S. natans* I con estipe liso, neumatocisto redondo con una espina y lámina angosta; (C) *S. natans* VIII con estipe liso, neumatocisto redondeado y lámina ancha. Fotos cortesía de Marta García Sánchez

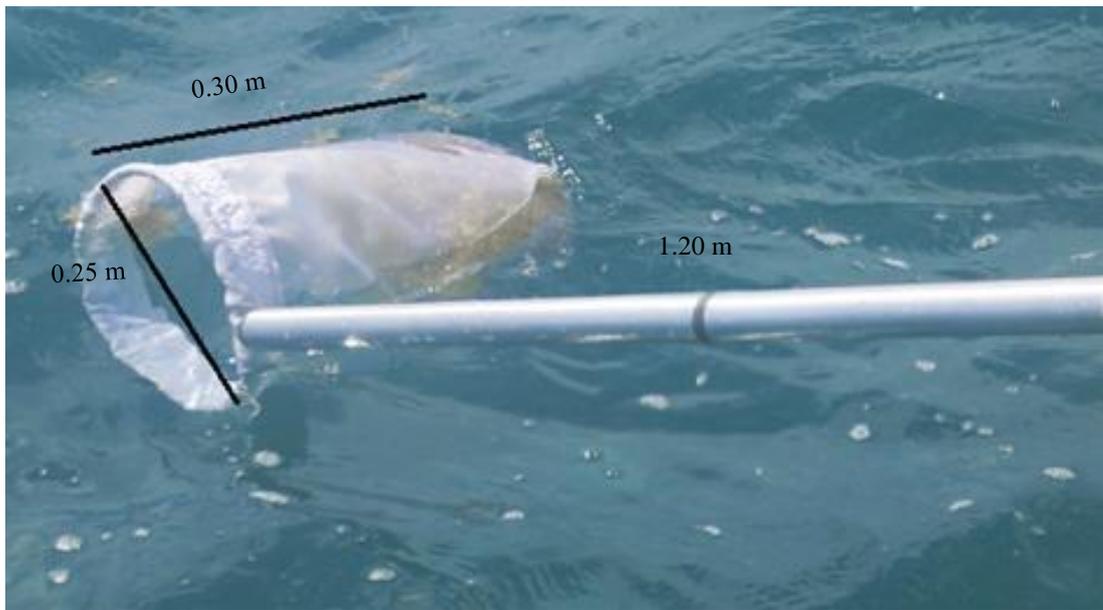


Fig. 2. Red de cuchara con mango de aluminio

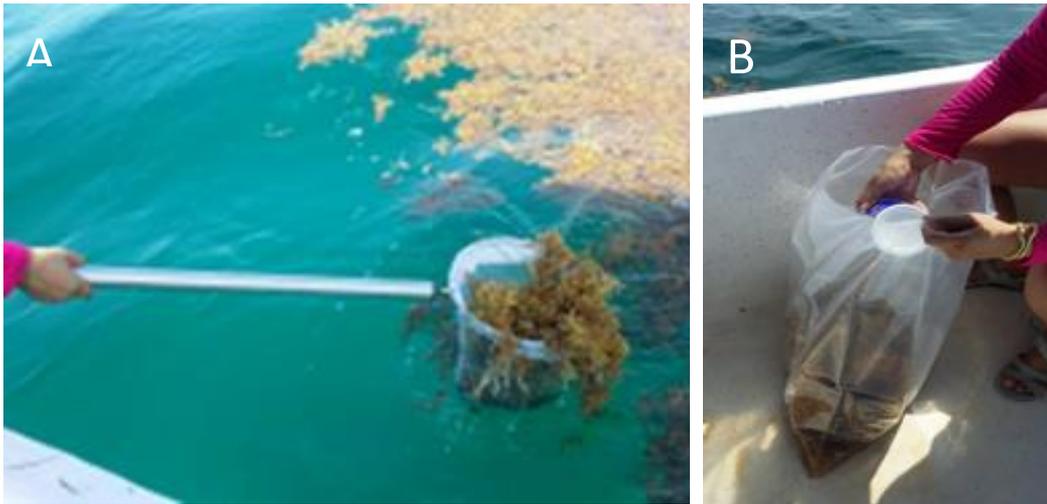


Fig. 3. Colecta de sargazo y biota asociada. (A) La red de cuchara con sargazo; (B) Bolsas de polietileno rotulada previamente llenada con agua del mar

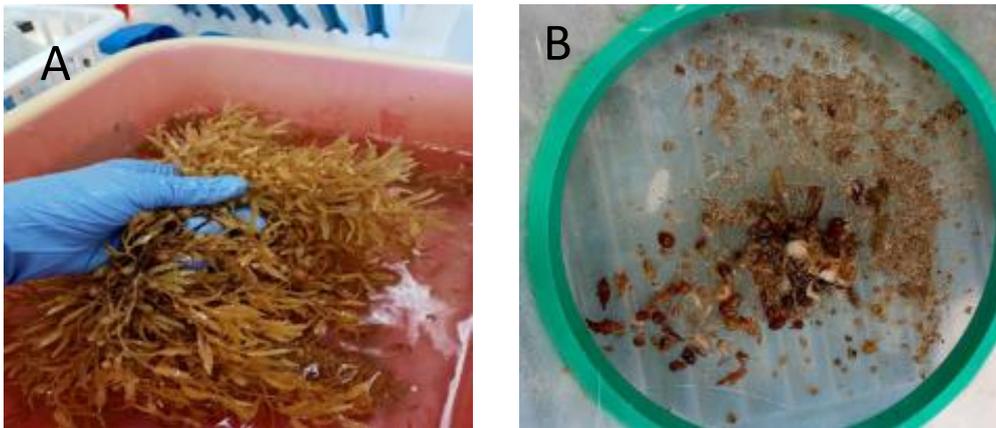


Fig. 4. Separación de fauna móvil de sargazo. (A) Extracción de la fauna móvil mediante agitación manual; (B) Malla de 0.5 mm para decantar el contenido de la palangana



Fig. 5. Muestra de fauna móvil fijadas en 70% alcohol para su posterior inspección; todavía no se han colocadas las etiquetas

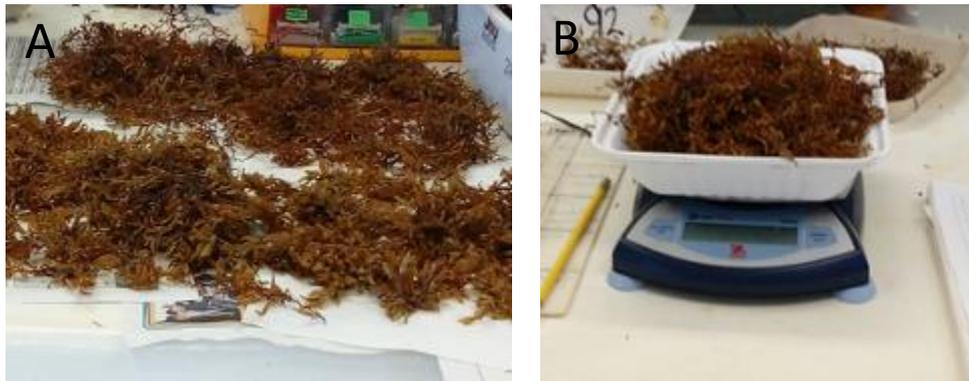


Fig. 6. Determinación del peso de sargazo. (A) Eliminando exceso de agua a talos de sargazo una vez separados por especies/morfotipos; (B) Determinando el peso húmedo

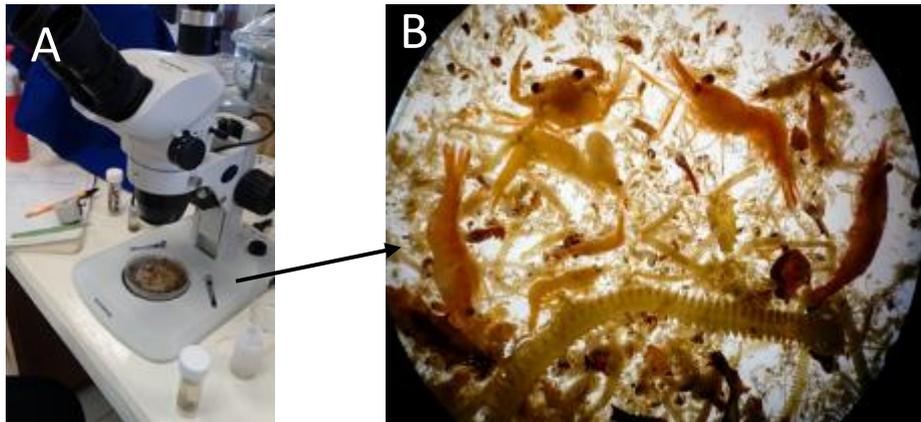


Fig. 7. (A) Microscopio estereoscópico para separar, cuantificar, e identificar la fauna asociada al sargazo; (B) Muestra de fauna móvil

Hoja 1. Formato de registro de datos de campo para la colecta de sargazo pelágico en el mar

Localidad				Colector				
Fecha				Tipo de red				
Condiciones de tiempo				Tamaño boca de la red				
<b>Tipo aglomeración</b>				<b>(hilera, grupos pequeños, parche grande)</b>				
<b>Densidad</b>				<b>(manto denso/disperso)</b>				
<b>Estado</b>				<b>(fresco o senescente)</b>				
Zona	Replica (no)	GPS Long	Lat	Hora	Área Estim. (m <sup>2</sup> )	Forma del manto	Densidad sargazo	Estado sargazo

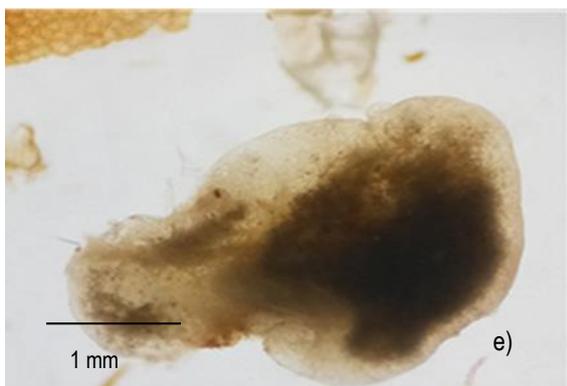
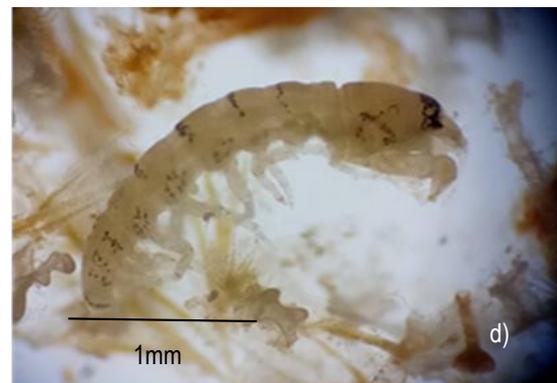
Hoja 2 Formato para el registro del peso de las especies y morfotipos de sargazo

Localidad		Procesó			
Fecha					
<b>Sargazo</b>	<i>S. fluitans</i>	<i>S. natans I</i>	<i>S. natans VIII</i>	<i>S. bentónico</i>	
<b>Otro</b>	otros macrofitos (especificar, si es posible)				
<b>Zona</b>	<b>Replica (no)</b>	<b>Especie/Morfo sargazo</b>	<b>Peso húmedo (g)</b>	<b>Peso seco (g)</b>	<b>Observaciones</b>

Hoja 3. Formato de registro de los especímenes de fauna móvil, identificado nivel taxonómico más bajo posible (taxón), registrando etapa de madurez (si se considera relevante), y el número de individuos por taxón (se llena un formato por muestra)

Localidad					
Fecha					
Zona					
Peso húmedo de sargazo (g)					
<b>N (Número de individuos)</b>					
<b>Especie / Taxon No.</b>	<b>Filo</b>	<b>Taxón</b>	<b>N</b>	<b>Peso (mg húm.)</b>	<b>Observaciones</b>

Anexo 1. Nuevos registros de fauna móvil asociada a sargazo en el Parque Nacional Arrecife de Puerto Morelos (Galería)



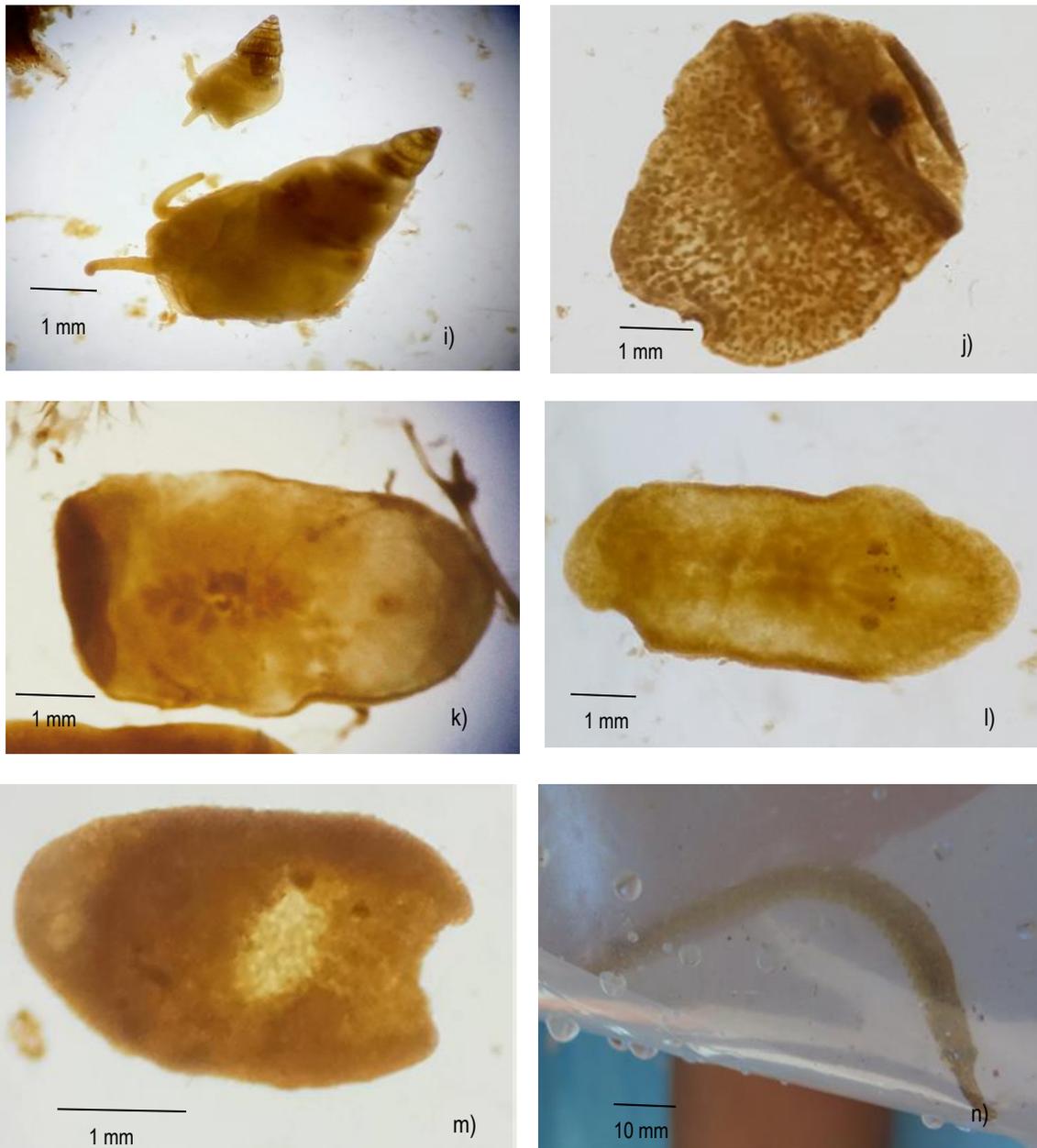


Fig. 1 a) *Carpías minutus*; b) *Idotea metallica* ; c) *Sunamphitoe pelagica*; d) *Zeuxo exsargasso*; e) *Corambe oscura*; f) *Doto pygmaea*; g) *Scyllaea pelagica*; h) *Spurilla sargassicola*; i) *Litiopa melanostoma*; j) *Acerotisa notunata*; k) *Chatziplana grubei*; l) *Gnesioceros sargassicola*; m) *Heterochaerus sargassissi*; n) *Sygnathus pelagicus*

Establecimiento de un protocolo de detección temprana y diagnóstico de especies exóticas invasoras asociadas al sargazo pelágico en zonas marino-costeras del Caribe mexicano

(InvaSAR)

## Capítulo 2

### Epibiontes

Monroy Velázquez, L.V., Rodríguez Vargas, D.C., van Tussenbroek, B.I.

#### I. INTRODUCCIÓN

Las macroalgas pardas pelágicas *Sargassum fluitans* y *S. natans* poseen talos (plural de talo: nombre del cuerpo del alga) altamente ramificados con numerosos neumatocistos (estructuras de flotación), resultando en una arquitectura tridimensional (Hacker y Madin, 1991; Jobe y Brooks, 2009), que brinda la complejidad de hábitat necesario para refugiar una biota abundante y diversa (e.g., López et al. 2020). Los talos de todas las especies de *Sargassum*, sean bentónicas o pelágicas, ofrecen sustrato para los epibiontes, incluyendo invertebrados sésiles (Govindarajan *et al.*, 2019; Kim *et al.*, 2019) y algas epífitas (Phlips y Zeman, 1990) y su presencia incrementa la complejidad estructural de las masas algales a la deriva (Jacobi y Langevin, 1996). Entre los principales componentes de epibiontes, se encuentran filamentos de varios filos algales, incluyendo a las cianobacterias, también hidrozoarios, briozoarios y anélidos espirórbidos, entre otros.

La presencia de las especies epibiontes, a su vez, influyen en los ensamblajes de invertebrados móviles a través del aprovisionamiento de recursos y/o modificación del hábitat a nivel de microescala, incrementando su abundancia y diversidad (Gee y Warwick, 1994;

Christie *et al.*, 2009) e incluso influir en la selección de hábitat (Gee y Warwick, 1994; Chemello y Milazzo, 2004; Gestoso, *et al.*, 2012). Entre estos epibiontes pueden encontrarse especies con potencial invasora, que pueden ser co-introducidos en sus sustratos tales como sargazo.

El antecedente más reciente sobre la fauna de hidrozoarios en sargazo pelágico corresponde al de Mendoza-Becerril *et al.* (2020), en el que identificaron 14 especies de hidrozoarios epibiontes en talos de sargazo pelágico colectado en el Caribe mexicano en 2018 y 2019. Estos autores encontraron variabilidad temporal en la composición específica y la riqueza de especies de hidrozoarios, siendo más alta en los meses de febrero hasta abril. Entre estos hidrozoarios, se encontró a *Obelia dichotoma*, y de acuerdo con el Método de Evaluación Rápida de Invasividad para especies exóticas en México (CONABIO 2015), esta especie posee características adecuadas para establecerse en los ecosistemas costeros del Caribe mexicano.

La composición de especies de algas epífitas sobre sus especies anfitrionas es afectada por innumerables factores incluyendo los factores físicos como la desecación y el movimiento del agua (Longtin *et al.*, 2009), afectando la condición de los hospederos y por lo tanto las presiones para el asentamiento y desarrollo de las epífitas (Benzing, 1987). El epifitismo también se ve afectado por la intensidad del pastoreo de varios invertebrados o peces presentes en el ensamble (Lubchenco y Gaines, 1981). En México existen numerosos trabajos que incluyen especies algales epífitas en ambientes marinos (Ramírez-Rodríguez *et al.*, 2011), la mayoría son listados que incluyen a toda la flora y solo destacan la condición epífita en referencia al sustrato (Mendoza-González *et al.*, 2011) sin una valoración comunitaria ni de los efectos que las epífitas pueden causar sobre las algas anfitrionas. Cabe destacar que las algas epífitas pueden ser de todos los filos, Chlorophyta, Rhodophyta, Ochrophyta (Phaeophyceae, Bacillariophyceae) y Cyanobacteria (Ramírez-Rodríguez *et al.*, 2011, Mendoza-González *et al.*,

2011, Quiroz-González *et al.*, 2018), registrándose gran número de especies, principalmente de algas rojas y cianobacterias.

El objetivo del presente es desarrollar un protocolo para la detección de los ensamblajes de los epibiontes invertebrados y algales, asociadas al sargazo en zonas marino-costeras del Caribe mexicano, con especial atención a las especies no-nativas (exóticas), de las cuales se buscará en la literatura sus características, para evaluar su potencial como especie invasora.

## **II. METODOS**

### **II.1 Trabajo de campo**

Una vez seleccionados los sitios de colecta, ya sea en el mar (ver Capítulo 1) o en la playa, se emplea una red de cuchara o se realiza la recolectas de manera manual (Fig. 1). Los datos de campo se registran en la hoja de campo (Capítulo 1 - Hoja 1). Se selecciona tres frondas grandes de sargazo de cada especie/morfotipo presente en la réplica (manto) de muestreo. Estos se depositan muy cuidadosamente (evitando desprendimiento de los epibiontes) en bolsas de polietileno rotuladas previamente llenadas con agua de mar, que debe cubrir en su totalidad de las frondas (talos). Las bolsas se transportan rápidamente al laboratorio para su procesamiento. Se identifican las especies y morfotipos del sargazo colectado según el protocolo descrito en Capítulo 1 (Capítulo 1 - Hoja 2). Si se requiere caracterizar la composición específica del manto, ver Capítulo 1.

## II.2 Trabajo de laboratorio

### II.2.1. Procesamiento del material fresco

El sargazo colectado se deposita en palanganas con agua para evitar la deshidratación, usando guantes por cada especie y morfotipo de sargazo.

De cada fronda (talo) grande de sargazo (hay 3 frondas por especies/morfotipo por réplica de muestreo), se separan cinco cm de la sección apical (nuevo crecimiento), y 5 cm de su sección basal (eliminando posibles ramificaciones jóvenes, solamente quedando el estipe viejo y oscuro con sus láminas y neumatocistos correspondientes). Estas secciones se preservan en frascos de 50ml con formol al 4% neutralizado con borato de sodio para su posterior identificación (Fig. 2). Los frascos deben estar debidamente rotulados, de preferencia usar dos etiquetas, una dentro (papel albanene escrito con lápiz) y otra en el exterior del frasco.

## II.3 Identificación y registros de epibiontes

### II.3.1. Epifauna

Se inspeccionan cinco talos de cada especie/morfotipo de sargazo preservado y se registran las secciones ocupadas por los epibiontes (estipes, neumatocistos y láminas). Los taxones que regularmente ocupan los talos de sargazo son: hidrozoarios, anélidos sésiles (espirórbidos) y briozoarios. Para cada taxón se registra su cobertura según una escala adaptada de Braun Blanquet (r = escaso & <5%; + = pocos individuos & < 5%, 1 = bastantes individuos & < 5%; 2 = 5-25%; 3 = 25-50%; 4 = 50-75%; 5 = 100%; Hoja 1). Se anexa al presente, fotografías representativas de los grupos de fauna epibionte más frecuente en muestras de sargazo (Anexo 1).

En el caso de interés por estudiar los hidrozoarios (u otro grupo de epibiontes) con más detalle, se puede determinar su cobertura sobre las láminas. Se seleccionan 10 láminas con cobertura alta, siguiendo los criterios de Cunha y Jacobucci (2010). Se emplean dos placas de acrílico transparente, con una cuadrícula de 1 cm<sup>2</sup> (Fig. 3). Entre estas placas, se colocan las láminas de sargazo y se cuenta el número de cuadros ocupados éstas (A) y el número de cuadros ocupados por especie de hidrozoarios (B) en ambos lados de las placas. La relación entre B/A corresponde a la cobertura (Hoja 2).

### *II.3.2. Algas epifitas*

Con ayuda de un estereomicroscopio se procede al análisis de los talos de sargazo para ubicar a las algas epifitas, hacer una determinación taxonómica preliminar a género y hacer la valoración de su abundancia (por cobertura o por densidad según aplica). Con un microscopio óptico se analiza cada sección de talo para la determinación taxonómica de las algas epifitas al nivel más bajo posible usando la bibliografía clásica y las siguientes claves para la región: Taylor (1960), Littler et al. (1989), Littler y Littler (2000), De la Garza (2003) y Peruzzi et al. (2009). Además, se consultan obras sobre la región para obtener datos importantes de caracteres morfológicos de apoyo a la determinación taxonómica como Ramírez (1995), Mendoza-González y Mateo-Cid (1996), Guimarães et al. (2004), Castro-Nunes (2007), Fernández (2008), Ardito y García (2009), Morón y Ardito (2010), Solé y Pardo (2010), Solé y Suárez (2010) y Won et al. (2011) entre otros. Algae Base (Guiry & Guiry, 2021) es la base de datos utilizada para actualizar la nomenclatura y la ubicación taxonómica supraespecífica. Los datos para cada (grupo) de alga epifita se anota en la Hoja 1. Se anexa al presente, fotografías representativas de los grupos de algas epifitas más frecuentes en muestras de sargazo (Anexo 1).

### III. INDICES

Del listado de las especies y su cobertura en cada muestra (Hoja 1), se determinan los siguientes índices **de las especies epibiontes por muestreo**.

1. Número total de especies (riqueza específica S)
2. Número de registros nuevos (especies de nuevo registro para la localidad, o su área biogeográfica)
  - a. De estos se indica su potencial de ser invasivo utilizando el Método de Evaluación Rápida de Invasividad para especies exóticas en México (CONABIO 2015)
3. Promedio (SD, N) de la cobertura (o abundancia) total de epibiontes en las secciones de los talos por especie/morfotipo, utilizando las coberturas correspondientes a cada clase de escala de Braun Blanquet (Tabla 1)
4. Dominancia de las especies (Índice de Valor Biológico de Sanders IVB) para su cálculo se requiere asignar un valor a cada especie en relación a su número de individuos por muestra, este índice es expresado a manera de puntajes, se ordena jerárquicamente cada una de las especies de cada muestra respecto a su abundancia, de esta forma la especie más abundante en la muestra ocupa el primer lugar (rango=1), la segunda más abundante el segundo lugar (rango=2) y así sucesivamente (Loya Salinas y Escofet 1990).
5. De esta forma, si una especie ocupa el primer lugar en rango en 6 muestras, tendrá un valor de 60, o sea el máximo valor posible (Loya Salinas y Escofet 1990). Se realiza este análisis por separado para cada especie/morfotipo de sargazo

Tabla 1. La escala de Braun-Blanquet, y valor de la media de cobertura para análisis

<b>Símbolo</b>	<b>Rango de cobertura</b>	<b>Cobertura media</b>
<b>r</b>	Escaso (1-2 ind.) & < 5%	0.01
<b>+</b>	Pocos ind. & < 5%	1
<b>1</b>	Bastantes ind. & < 5%	5
<b>2</b>	5 - 25%	15
<b>3</b>	25 – 50%	37
<b>4</b>	50 – 75%	62
<b>5</b>	100%	100

#### **IV. Materiales y equipos necesarios para el monitoreo de la epibiontes asociados al sargazo**

- Cámara fotográfica
- Guantes
- Bolsas para muestras
- Lápiz
- Palangana
- Etiquetas de papel albenene (distintos tamaños)
- Frascos de 50 ml (por muestreo: 6-18 para fauna sésil, y otros 6-18 para las algas epifitas, dependiendo del número de especies/morfotipos de sargazo, 18 para las algas epifitas)
- Cajas de Petri de 6, 9 y 14 cm de diámetro
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Pinzas de relojero
- Aguas de disección
- Gelatina glicerinada
- Formol (diluido al 4% en agua de mar)
- Refrigerador
- Dos placas de acrílico transparente de 30x30 cm, con una cuadrícula de 1 cm<sup>2</sup>
- Microscopio estereoscópico
- Microscopio óptico (opcional, pero podrá ser útil en la identificación de organismos)

## V. REFERENCIAS

- Ardito S, García M (2009) Estudio ficológico de las localidades de Puerto Francés y San Francisquito, Estado Miranda, Venezuela. *Acta Botanica Venezuelica* 32: 113-143
- Arrontes J (1990) Composition, distribution on host and seasonality of epiphytes on three intertidal algae. *Botanica Marina* 33: 205–211
- Benzing DH (1987) Vascular epiphytism: taxonomic participation and adaptive diversity. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 74: 183–204
- Calder DR (1988) Shallow-water hydroids of Bermuda: the Athecatae. *Royal Ontario Museum Life Sciences Contributions* 148: 1–110
- Calder DR, Kirkendale L (2005) Hydroids (Cnidaria, Hydrozoa) from shallow water environments along the Caribbean Coast of Panama. *Caribbean Journal of Science* 41: 476–49
- Castro-Nunes J (2007) Duas espécies de *Rhodymenia* (Rhodophyta, Rhodymeniaceae) no Estado da Bahia, Brasil. *Acta Botanica Malacitana* 32: 228-232
- Chemello R, Milazzo M (2002) Effect of algal architecture on associated fauna: some evidence from phytal molluscs. *Marine Biology* 140: 981–990
- Christie H, Norderhaug KM, Fredriksen S (2009) Macrophytes as habitat for fauna. *Marine Ecology Progress Series* 396: 221-233
- CONABIO (2015) Método de Evaluación Rápida de Invasividad (MERI) para especies exóticas en México. México DF
- [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/221685/Obelia\\_dichotoma.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/221685/Obelia_dichotoma.pdf)

- Cunha AF, Jacobucci GB (2010) Seasonal variation of epiphytic hydroids (Cnidaria: Hydrozoa) associated to a subtropical *Sargassum cymosum* (Phaeophyta: Fucales) bed. *Zoologia* 27: 945–955
- De la Garza A (2003) Clave genérica de las algas rojas marinas macroscópicas y comunes de las costas de Veracruz, México. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., México. 74 pp
- Fernández C (2008) Flora marina del Parque Nacional Isla del Coco, Costa Rica, Pacífico Tropical Oriental. *Revista de Biología Tropical* 56(suppl. 2): 57-69
- Gee JM, Warwick RM (1994) Metazoan community structure in relation to the fractal dimensions of marine macroalgae. *Marine Ecology Progress Series* 103:141-150
- Gestoso I, Olabarria C, Troncoso JS (2012) Effects of macroalgal identity on epifaunal assemblages: native species versus the invasive species *Sargassum muticum*. *Helgoland Marine Research* 66:159–166
- Govindarajan AF, Cooney L, Whittaker K, Bloch D, Burdorf RM, Canning S, Carter C, Cellan SM, Eriksson FAA, Freyer H, Huston G, Hutchinson S, McKeegan K, Malpani M, Merkle-Raymond A, Ouellette K, Petersen-Rockney R, Schultz M, Siuda ANS (2019) The distribution and mitochondrial genotype of the hydroid *Aglaophenia latecarinata* is correlated with its pelagic *Sargassum* substrate type in the tropical and subtropical western Atlantic Ocean. *PeerJ* 7: e7814
- Guimarães S, Fujii M, Pupo D, Yokoya NS (2004) Reavaliação das características morfológicas e suas implicações taxonômicas no gênero *Polysiphonia* sensu lato (Ceramiales, Rhodophyta) do litoral dos Estados de São Paulo e Espírito Santo, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 27: 163-183

- Guiry M, Guiry G (2021) AlgaeBase. World-wide electronic publication. National University of Ireland. Galway, Irlanda. <http://www.algaebase.org>
- Hacker, SD, Madin LP (1991) Why habitat architecture and color are important to shrimps living in pelagic *Sargassum*: use of camouflage and plant-part mimicry. Marine Ecology Progress Series 70: 143–155
- Jacobi CM, Langevin R (1996) Habitat geometry of benthic substrata: effects on arrival and settlement of mobile epifauna. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 206: 39-54
- Jobe CF, Brooks WR (2009) Habitat selection and host location by symbiotic shrimps associated with *Sargassum* communities: The role of chemical and visual cues. Symbiosis 49:77–85
- Kim HM, Jo J, Park C, Choi BJ, Lee HG, Kim KY (2019) Epibionts associated with floating *Sargassum horneri* in the Korea Strait. Algae 34:303-313
- Littler DS, Littler MM (2000) Caribbean reef plants: an identification guide to the reef plants of the Caribbean, Bahamas, Florida and Gulf of Mexico. Offshore Graphics. Washington, D.C., USA. 542 pp
- Littler D, Littler M, Bucher K, Norris J (1989) Marine plants of the Caribbean, a field guide from Florida to Brazil. Smithsonian Institution Press. Washington, D.C., USA. 263 pp
- Longtin, C, Scrosati R, Whalen G, Garbary D (2009) Distribution of algal epiphytes across environmental gradients at different scales: intertidal elevation, host canopies, and host fronds. Journal of Phycology 45: 820–827

- Lopez PJ, Hervé V, Lambourdière J, René-Trouillefou M, Devault D (2020) From the sea to the land: Dynamic of the *Sargassum* tide holobiont in the Caribbean islands. Pre-print Research Square, posted 9th June 2020
- Loya-Salinas D, Escofet A (1990) Contribution to the calculation of the Biological Value Index (Sanders, 1960). *Ciencias Marinas*, 16: 97–115
- Lubchenco J, Gaines SD (1981) A unified approach to marine plant-herbivore interactions I. Populations and communities. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 12: 405–437
- Maples RS (1984) The epiphytic diatom flora of two *Sargassum* species. *Gulf Research Reports* 7: 373-375
- Mateo-Cid L, Mendoza-González C, Ávila-Ortiz A, Díaz-Martínez S (2013) Algas marinas bentónicas del litoral de Campeche, México. *Acta Botanica Mexicana* 104: 53-92
- Mendoza-Becerril MA, Serviere-Zaragoza E, Mazariegos-Villarreal A, Rivera-Perez C, Calder DR, Vázquez-Delfín EF, Freile-Pelegri Y, Agüero J, Robledo D (2020) Epibiont hydroids on beachcast *Sargassum* in the Mexican Caribbean. *PeerJ* 8: e9795
- Mendoza-González AC, Mateo-Cid LE, Acosta-Calderon JA, Vázquez-Rodríguez A, Hernández-Casas CM, Garduño-Acosta GA (2016) Marine seaweeds of the Yucatán Peninsula: diversity, economic importance and conservation. *Marine benthos: biology, ecosystem functions and environmental impact*. Hauppauge. New York, USA, 39-81
- Morón M, Ardito S (2010) Estudio ficológico del litoral rocoso de Isla Larga, Parque Nacional San Esteban, estado Carabobo, Venezuela. *Acta Botanica Venezuelica* 33: 167-185

- Paraguay-Delgado F, Carreño-Gallardo C, Estrada-Guel I, Zabala-Arceo A, Martínez-Rodríguez HA, Lardizábal-Gutierrez D (2020) Pelagic *Sargassum* spp. capture CO<sub>2</sub> and produce calcite. *Environmental Science and Pollution Research* 27: 25794-25800
- Peruzzi V, Rezende D, Marcello N, Yoneshigue Y, Clapis R (2009) Four new additions to the marine flora of Fernando de Noronha Archipelago, Tropical western South Atlantic Ocean. *CheckList* 5: 210-215
- Phlips E, Zeman C (1990) Photosynthesis, growth and nitrogen fixation by epiphytic forms of filamentous cyanobacteria from pelagic *Sargassum*. *Bulletin of Marine Science* 47: 613-621
- Quiroz-González, N, León-Álvarez D., Rivas-Acuña M (2018) Biodiversidad de algas rojas marinas (Rhodophyta) en Tabasco, México. *Acta Botánica Mexicana* 123: 103-120
- Ramírez-Rodríguez A, Pérez R, Okolodkov Y (2011) Diversidad de especies de algas epífitas marinas, Veracruz. 71 pp

FIGURAS

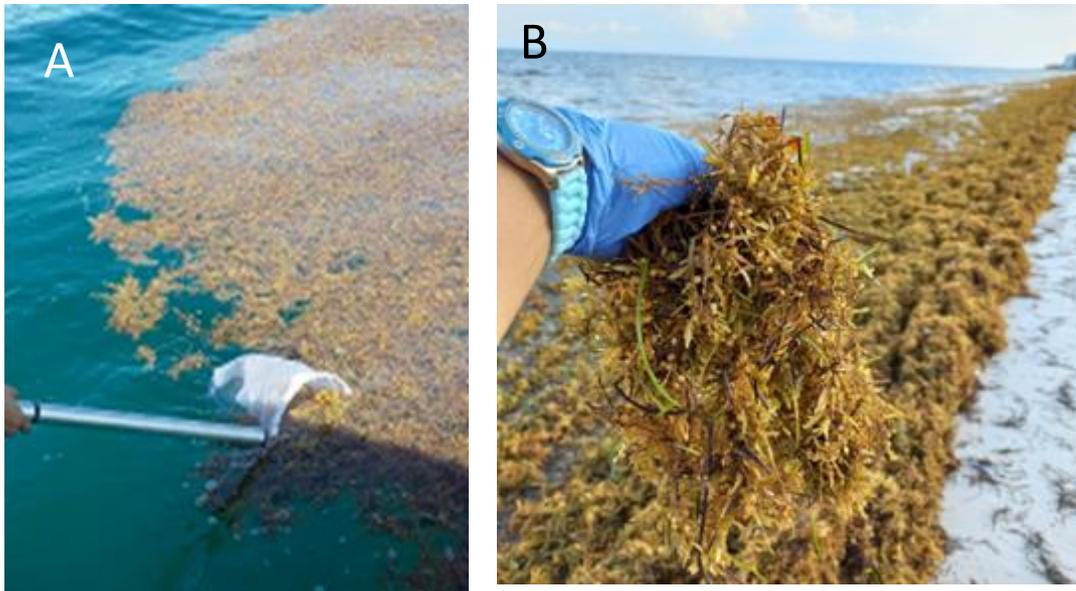


Fig. 1. Colecta de sargazo y sus epibiontes. (A) Red de cuchara; (B) colecta de sargazo fresco en la playa

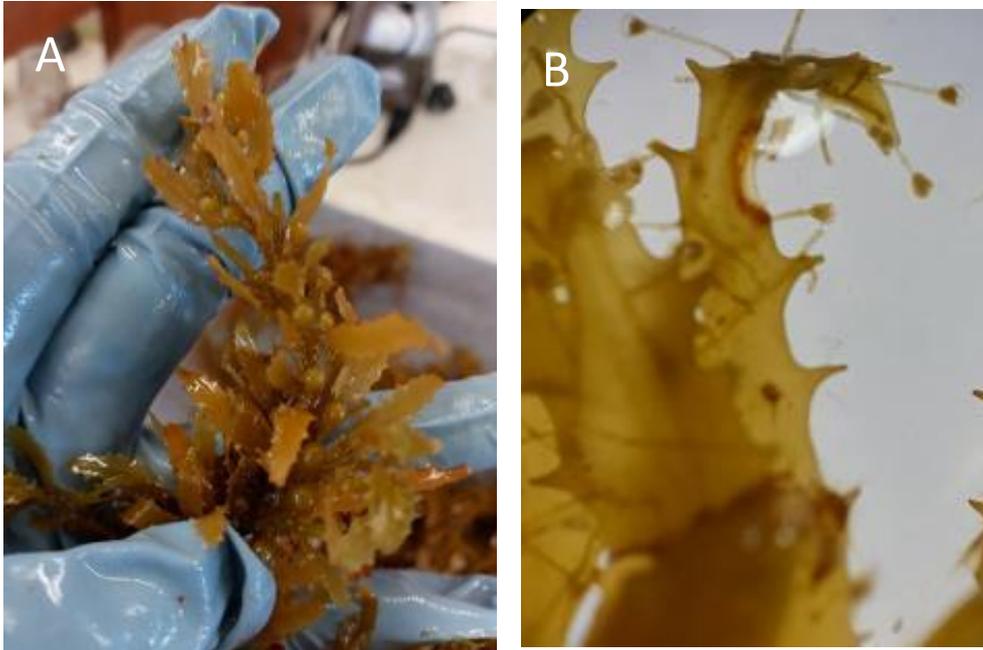


Fig. 2. (A) Inspección de los talos para detectar la presencia de hidrozoarios y otros epibiontes de sargazo; (B) Acercamiento de una lámina de *Sargassum fluitans* III con presencia de hidrozoarios (*Clytia noliiformis*)



Fig. 3. Preservación de los talos con presencia de hidrozoarios y otros epibiontes asociados al sargazo

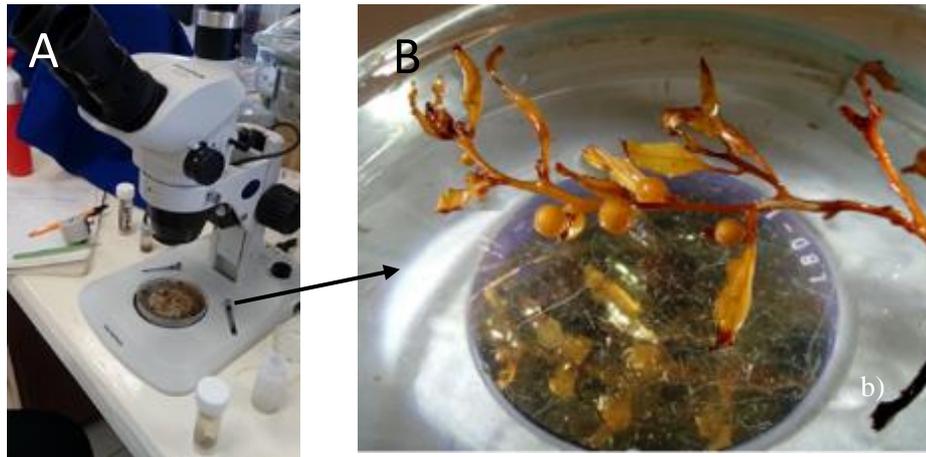


Fig. 4. Identificación de epibiontes. (A) Microscopio estereoscópico para inspeccionar presencia de epibiontes; (B) Identificando especies



Fig. 5. Placa de acrílico transparente con cuadrícula de 1x1 cm para estimar cobertura de hidrozoarios en un talo de *Sargassum natans* VIII

Hoja 1. Registro de epibiontes (invertebrados o algas epifitas) sobre sargazo (formato por muestra)

Localidad						
Fecha		Procesó				
Zona		Manto no.				
<b>Sargassum sp/morfotipo</b>		<b>Sf</b> ( <i>S. fluitans</i> III), <b>Sn1</b> ( <i>S. natans</i> I), <b>Sn8</b> ( <i>S. natans</i> VIII)				
<b>Parte(s) de talo ocupado(s)</b>		<b>Lam</b> (lámina), <b>Neum</b> (neumatocisto), <b>Est</b> (estipe), <b>Nodo</b> (nodo de estipe)				
<b>Cobertura (escala BB)</b>		<b>r</b> (escaso-1 o 2 ind.), + (pocos ind. & <5%), <b>1</b> (bastantes ind & <5%); <b>2</b> (5 - 25%), <b>3</b> (25-50%); <b>4</b> (50-75%), <b>5</b> (100%)				
<i>Sargassum</i> Sp./morfo	Fronda no.	Parte (apical/basal)	Epibiontes (Taxón)	Cobertura (escala BB)	Parte(s) de talo ocupado(s)	Observaciones

Hoja 2. Hidrozoarios (u otro grupo) de interés especial

Localidad				
Fecha				
Zona				
Procesó				
Replica				
<i>Sargassum</i> sp/morfo	No. lámina (1-10)	No. total de cuadrantes	Taxon / Especie	N cuadrantes ocupados

**Anexo 1**

**Epibiontes más frecuentes asociados al sargazo**

**EPIFAUNA**

**Phylum Cnidaria**

**Clase Hydrozoa**

**Orden Leptothecatha**

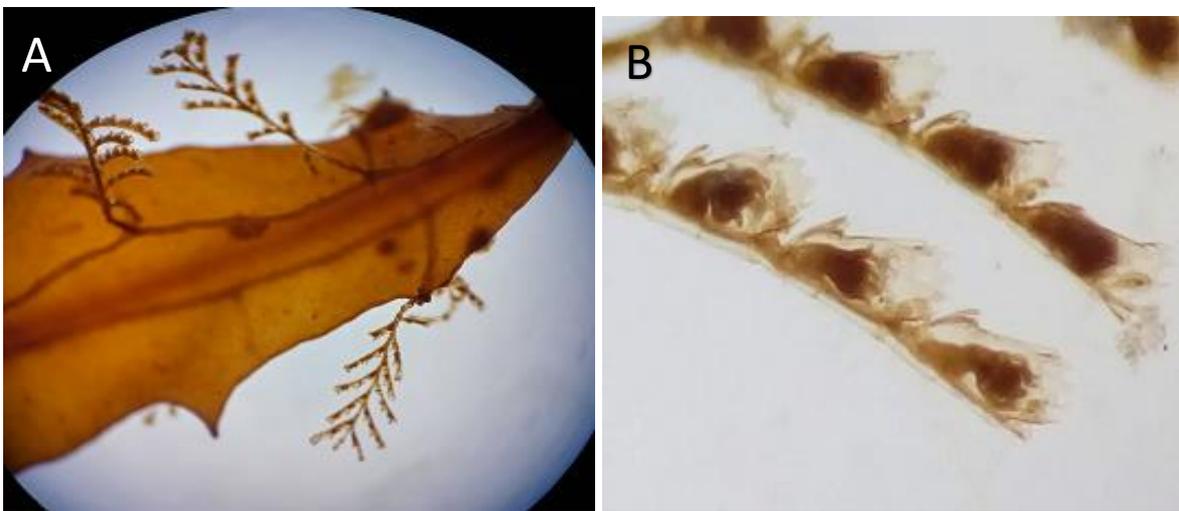


Fig. 1 Hidrozoarios (A) *Aglaophenia latecarinata* en lámina de *Sargassum natans* VIII; (B) Acercamiento del hidrozoario *A. latecarinata*

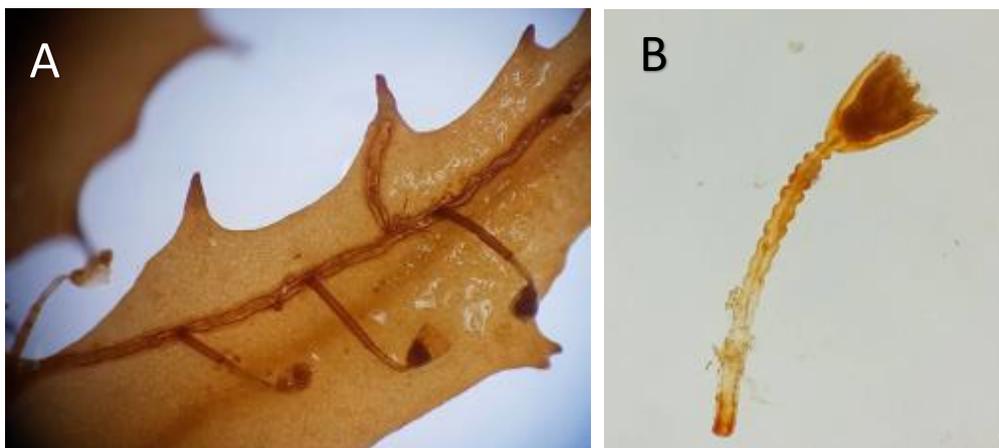


Fig. 2 Hidrozoarios (A) *Clytia noliformis* en lámina de *Sargassum fluitans* III; (B) Acercamiento del hidrozoario *C. noliformis*

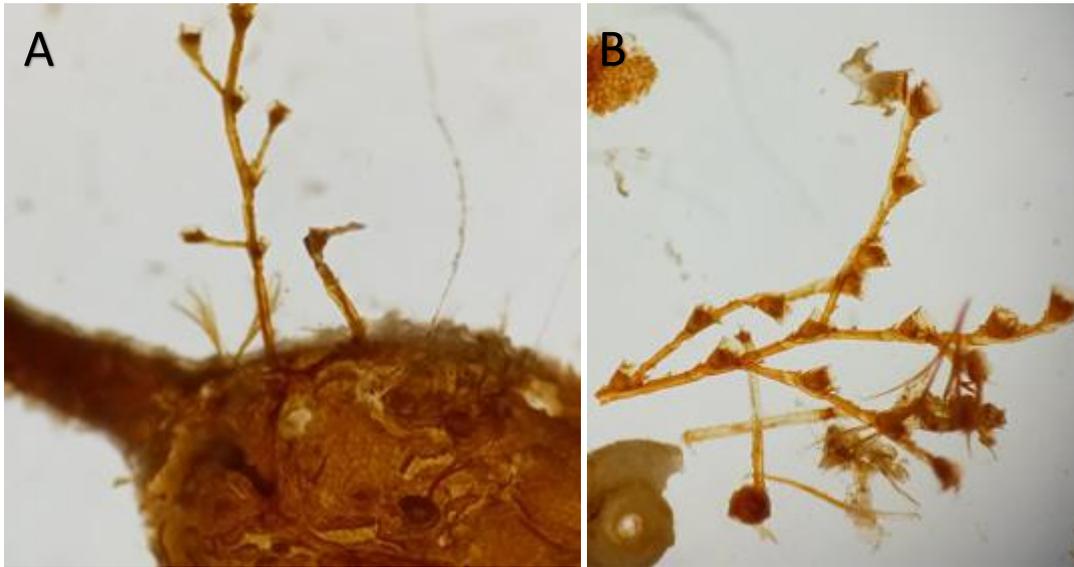


Fig. 3 Hidrozoarios. (A) *Halopteris diaphana* en el neumatóforo de *Sargassum natans* VIII; (B) Acercamiento de la colonia de *H. diaphana*

### Orden Anthoathecata



Fig. 4. El antomedusa *Zanclea alba* generalmente se le encuentra desprendida en la muestra

**Phyllum Bryozoa**  
**Orden Cheilostomatida**

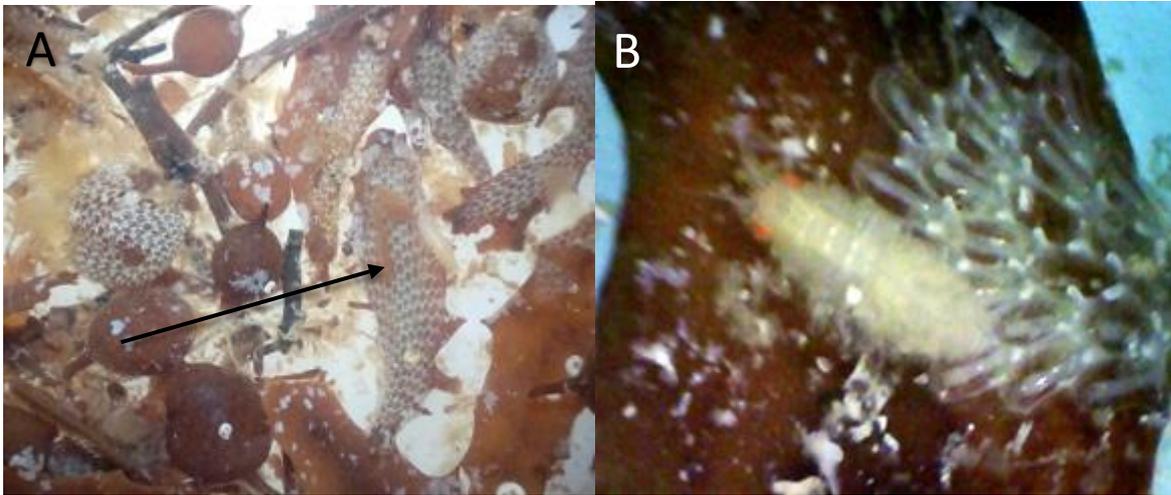


Fig. 5. Briozoarios. (A) *Jellyella tuberculata* (flecha) sobre láminas y neumatóforos de sargazo; (B) Detalles del briozoario (deracha), junto a un pequeño crustáceo (izquierda)

**Phyllum Annelida**  
**Orden Sabellida**

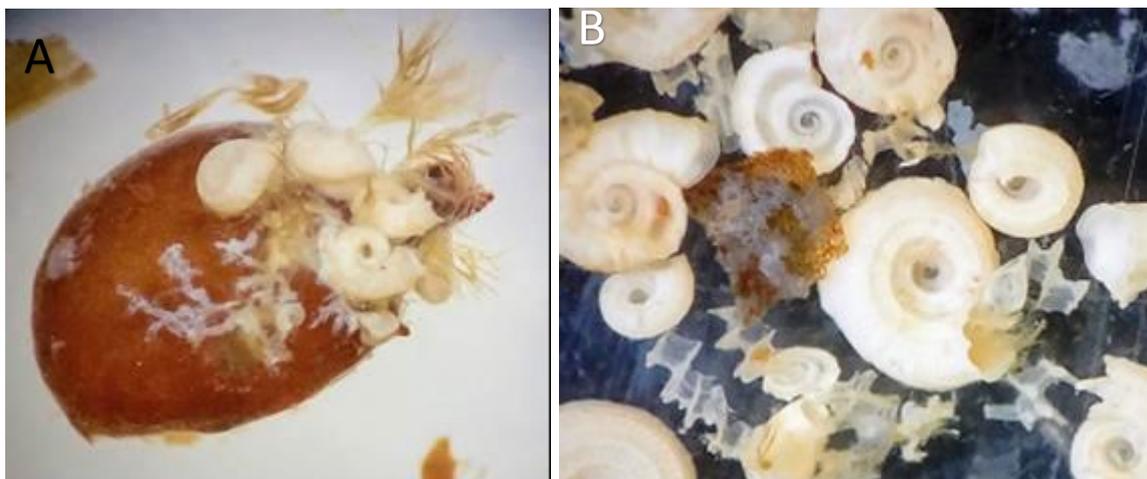


Fig. 6. Espirórbidos. (A) *Neodexiospira formosa* sobre un neumatóforo de sargazo; (B) Tubos calcáreos de los espirórbidos

**ALGAS EPÍFITAS**  
**Phylum Cyanobacteria**  
**Clase Cyanophyceae**



Fig. 7. Cianofita sobre una lámina de sargazo

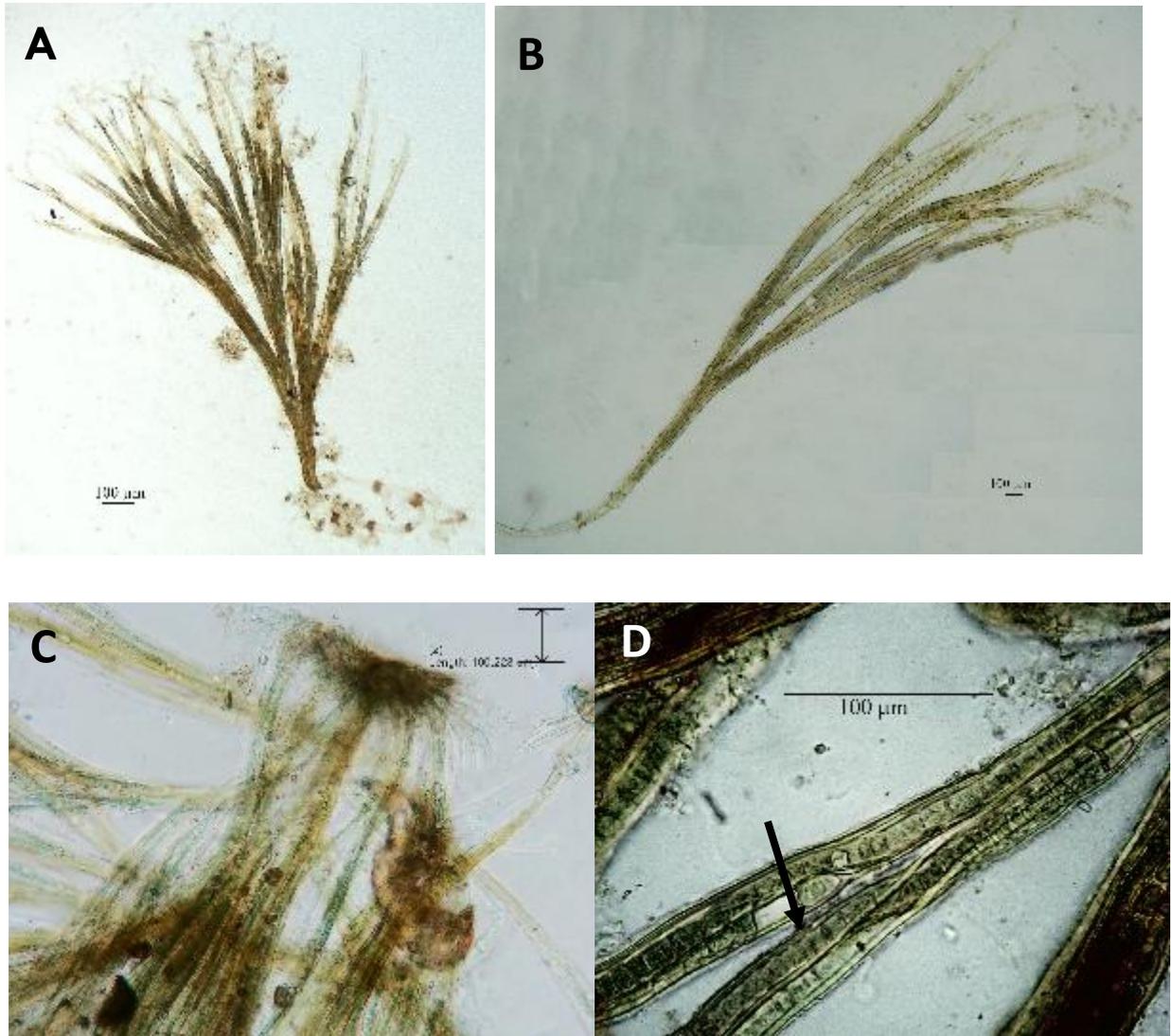


Fig. 8. *Dichothrix penicillata*. (A, B) Hábito; (C) Porción basal; (D) Heterocisto en forma de cono (flecha)

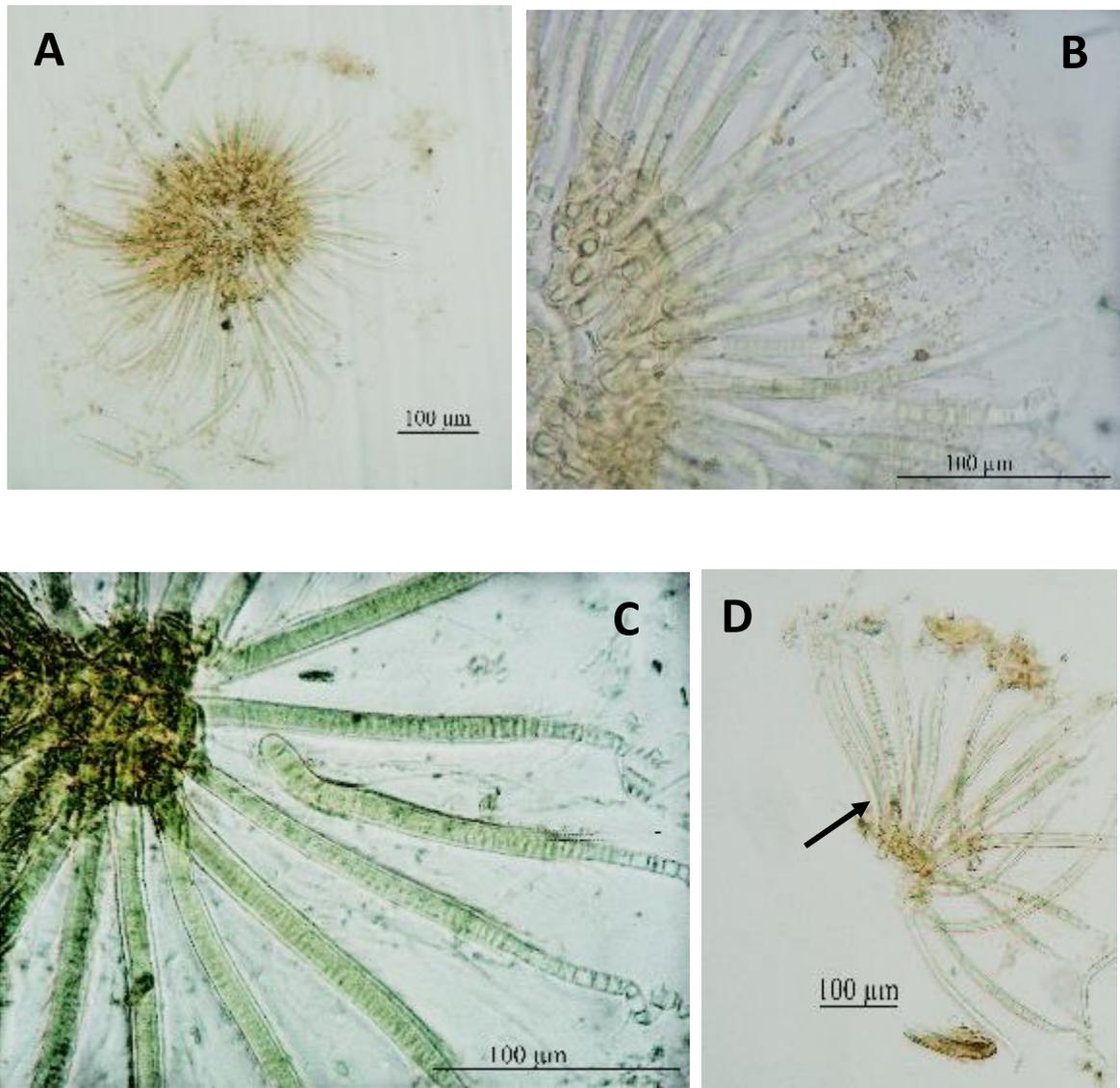


Fig. 9. *Rivularia aff. Polyotis*. (A) Hábito; (B, C) Heterocitos basales en varias hileras; (D) Celúlas más anchas que largas (flecha)

Establecimiento de un protocolo de detección temprana y diagnóstico de especies exóticas invasoras asociadas al sargazo pelágico en zonas marino-costeras del Caribe mexicano  
(InvaSAR)

### Capítulo 3

#### Bacterioplancton y microbioma

Suescún-Bolívar, L.P., Thomé, P. E.

#### I. INTRODUCCIÓN

La afluencia atípica y cada vez más frecuente de grandes masas de sargazo al Mar Caribe, se ha convertido en una de las principales amenazas ambientales a gran escala, incluyendo las costas de México (Rodríguez-Martínez et al., 2020; van Tussenbroek et al., 2017; Rodríguez-Martínez et al., 2016; Gavio et al., 2015; Smetacek y Zingone, 2013; Gower et al., 2013). Esta afluencia genera una gran acumulación de materia orgánica en la superficie del agua del mar y un incremento de nutrientes, que llevan a la producción de ambientes anóxicos, poniendo en peligro el ecosistema marino y costero, así como a la población humana del área (Rodríguez-Martínez et al., 2016). Además, el alto contenido de metales pesados en la biomasa del sargazo, exacerba la problemática de los posibles tratamientos y disposición de residuos generados por esta macroalga (Rodríguez-Martínez et al., 2020).

La masa flotante de sargazo no solo transporta metales pesados y su propia biomasa, también puede actuar como un transporte transoceánico que moviliza una gran variedad de organismos y microorganismos (Ezenwa et al., 2012; Turnbaugh et al., 2007, 2009; Shoemaker y Moisander, 2015; Lederberg 2000), los cuales podrían ser especies exóticas invasoras con potencial para competir por los recursos del ecosistema local. Del mismo modo,

el transporte y acumulación de microorganismos es un hecho latente, que puede acarrear enfermedades que afecten tanto a la fauna silvestre como a la población humana de la región.

En la actualidad, se puede estudiar la comunidad de microorganismos a través de la secuenciación masiva (Parada et al., 2016). Estudios han revelado que el sargazo podría albergar y transportar, bajo ciertas condiciones ambientales, bacterias de importancia para la salud pública y el ecosistema (Michotey et al., 2020). Por tal motivo, es indispensable el estudio del bacterioplancton asociado al sargazo, para lo cuál se desarrollaron protocolos de obtención y análisis de muestras, que faciliten su monitoreo en el tiempo. En este sentido, se caracterizó un protocolo para la obtención, purificación de ADN y caracterización de microorganismos asociados al sargazo.

## **II. MÉTODOS.**

### **II.1 Trabajo en el mar.**

#### *II.1.1 Selección de sitios y tiempos de muestreo.*

Ver Capítulo 1.

#### *II.1.2 Obtención de muestras de bacterioplancton y microbioma.*

En cada sitio de muestreo (ver Capítulo 1), se colectan aproximadamente 50 g (peso húmedo) de sargazo con una red de inmersión de 0.25 m<sup>2</sup> de abertura de boca y luz de malla de 500 µm (Fig. 1; Tanaka y Leite, 1988; Monroy-Velázquez *et al.* 2019). Las muestras de sargazo se preservan en bolsas herméticas y se etiquetan para su traslado al laboratorio en una hielera. Además, se toma una muestra adyacente de agua de mar, sin biomasa de sargazo, a unos 50 o 100 cm de profundidad por medio de una botella van Dohrn (Fig. 1) para obtener una referencia de cambios en la comunidad del bacterioplancton tanto en el agua como en la macroalga. Las

muestras de agua se transfieren a botellas estériles de 4.8 L y se transportan en hielera al laboratorio.

## II.2 Trabajo de Laboratorio

### 11.2.1. Obtención de la microbiota epífita

Una vez en el laboratorio, las muestras de sargazo se procesan siguiendo el método de Burke et al. (2003), con algunas modificaciones. Se recomienda colocar mínimo 10 g de sargazo (peso húmedo) en tubos estériles de 50 mL, al menos por triplicado. El sargazo se enjuaga 3 veces con agua de mar estéril y se deja lavando con buffer CMFSW (0.45 M NaCl, 10 mM KCl, 7 mM Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, y 0.5 mM NaHCO<sub>3</sub>) con 150 rpm de agitación durante 2 h a temperatura ambiente (Fig. 2). Enseguida, se retira el sargazo y el sobrenadante se filtra por filtros de 0.22 µm (Fig. 2). Los filtros se almacenan en microtubos (un filtro por tubo) a -20 °C hasta su procesamiento posterior. Las muestras de agua se deben filtrar directamente por filtros de 0.22 µm (Fig. 2), que se guardan en microtubos y se mantienen en un congelador a -20°C para su procesamiento posterior.

### 11.2.2 Extracción de ADN

Se extrae el ADN de los filtros utilizando el kit PowerWater (Qiagen) siguiendo el método desarrollado por el proveedor. Se determina la concentración y calidad del ADN por medio de espectrometría a 260/280 nm (Hoja 1), y de manera cualitativa, por medio de electroforesis en gel de agarosa (Fig. 3). Estas muestras deben ser marcadas con un número de lote que puede estar construido de la siguiente manera: dos últimas cifras del año- número de mes - número de día- inicial de la muestra de agua (A) o sargazo (S)- inicial del sitio de muestreo- replica. Por ejemplo, muestras de agua tomadas el 30 de enero del 2020 en la zona 1 en el arrecife frontal (F) tendría como lote el número 200130AF1.

### II.2.3. Amplificación del rADN 16S

Se recomienda que los PCRs se realicen con 1  $\mu$ L de ADN de cada una de las muestras (Fig. 3). Para amplificar la región V3-V4 del rADN 16 S se puede utilizar como control positivo una muestra conocida de ADN de bacterioplancton de agua o de sargazo. Utilizar los cebadores con los adaptadores de Illumina (MiSeq adapter) + Forward Primer = 5' – TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCAG – 3', y el (MiSeq adapter) + Reverse Primer = 5' – GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGGTATCTAATC – 3' (Klindworth et al., 2013). Las condiciones de PCR son las siguientes: 3 min a 95 °C, 25 ciclos de 30 s a 95 °C, a 52 °C y 72 °C, y una extensión final de 5 min a 72 °C.

### II.2.4. Preparación de bibliotecas 16S rADN Illumina MiSeq

Para la preparación de las bibliotecas 16S rADN (Fig. 3C) los amplicones obtenidos en el PCR anterior, se purifican siguiendo el protocolo recomendado por illumina (16S Metagenomic Sequencing Library Preparation [15044223 B, [https://support.illumina.com/downloads/16s\\_metagenomic\\_sequencing\\_library\\_preparation.html](https://support.illumina.com/downloads/16s_metagenomic_sequencing_library_preparation.html)]). Una vez obtenidos los amplicones libres de cebadores, se marcan por medio de índices duales y adaptadores mediante la siguiente reacción de PCR. Tomar 5  $\mu$ l de los amplicones purificados anteriormente y realizar una segunda amplificación con los adaptadores Nextera XT Index Primer 1 (N7xx) y Primer 2 (S5xx), bajo las siguientes condiciones: desnaturalización inicial de 3 minutos a 95 °C, seguido de 8 ciclos de: 95 °C (30 s), 55 °C (30 s) y 72 °C (30 s), y una extensión final de 5 min a 72 °C. Los productos de amplificación se deben separar en un gel de agarosa al 4%. Se realiza una segunda purificación de los amplicones para obtener la biblioteca final. Después, se cuantifican y se analiza su tamaño por medio del Bioanalyzer DNA 1000. El amplicón esperado para la biblioteca final es de 630 pb.

Se cuantifica cada producto de PCR por medio de fluorometría y se determina la concentración de ADN en nmoles teniendo en cuenta el tamaño del amplicón (16S Metagenomic Sequencing Library Preparation (15044223 B), [https://support.illumina.com/downloads/16s\\_metagenomic\\_sequencing\\_library\\_preparation.html](https://support.illumina.com/downloads/16s_metagenomic_sequencing_library_preparation.html)). La concentración final de la biblioteca se diluye a 4 nM utilizando Tris pH 8,5. Las bibliotecas se agrupan con un índice único a la misma concentración equimolar (4 nM). Para la secuenciación de cada una de las mezclas de bibliotecas con un índice único, primero se desnaturalizan con 0.2 N de NaOH, seguido de una dilución con solución tampón de hibridación y una segunda desnaturalización con calor, y se incluye 5 % de PhiX como control interno.

## II.3 Análisis taxonómico de la diversidad bacteriana

### II.3.1 Procesamiento y análisis de secuencias

Se procesan las lecturas 2 X 250 de extremos emparejados por medio de QIIME 2 (Caporaso et al., 2010) y se realiza una inspección manual, eliminando las bases ambiguas en la posición 40 de la hebra 5' de ambas lecturas. Se utiliza el complemento DADA2 (Callahan et al., 2016) para eliminar el ruido, corregir errores y remover quimeras, a fin de resolver los ASVs (por sus siglas en inglés Amplicon Sequences Variants). Los ASVs representan OTUs (por sus siglas en inglés, Operational Taxonomic Units) al 99% y éstos, a su vez, se definen como organismos con genes 16S rRNA similares en  $\geq 97\%$ .

La asignación taxonómica de las secuencias representativas de los ASVs se realiza con el complemento de clasificación-consenso-vsearch (Rognes *et al.*, 2016), utilizando SILVA 132 como base de datos de referencia. Las secuencias representativas se alinean y se enmascaran con MAFFT (Kato y Standley, 2013), y se construye un árbol filogenético con

FastTree 2 (Price *et al.*, 2010). Los datos se importan a la plataforma R (McMurdie y Holmes, 2013) y se analizan mediante las bibliotecas Phyloseq, Vegan (Oksanen, 2009) y ggplot2 v3.1.0 (Wickham, 2016). Además, se deben eliminar todas las secuencias no bacterianas que correspondan a cloroplastos y mitocondrias. Se recomienda hacer rarefacción de las muestras a un esfuerzo de  $\geq 10000$  lecturas para los análisis.

### II.3.2 Cálculos de diversidad alfa y beta

Los análisis de diversidad alfa de la comunidad bacteriana se pueden realizar en la plataforma R con la librería phyloseq (McMurdie y Holmes, 2013). Los índices de diversidad más comunes utilizados en el análisis del bacterioma son: el índice de Shannon ( $H'$ ), índice de Simpson ( $D_s$ ), InvSimpson ( $1-D$ ) y ASVs observados. Para el análisis de diversidad beta se construye una matriz unifrac ponderada de distancias para calcular la variación en la composición de la comunidad bacteriana, y su similitud se realiza mediante el análisis de coordenadas principales (PCoA, en inglés), utilizando el paquete Vegan. Además, se puede realizar un análisis PERMANOVA por covariables (ubicación: muestreo) para calcular la similitud entre la composición de la comunidad por muestras grupales (arrecife frontal: posterior) mediante QIIME. Por último, se realiza un análisis de tamaño del efecto del análisis discriminante lineal (LEfSe) (Segata *et al.*, 2011) para identificar la abundancia diferencial de géneros entre los sitios de muestreo, utilizando un valor de LDA = 2 y un valor de  $p < 0.05$ .

## II.4. Sugerencia de análisis: Monitoreo de vibrios

Debido al enriquecimiento de *Vibrio* detectado en nuestras muestras de sargazo (Fig. 4), observado también en otros estudios del microbiota asociada a sargazo (Michotey *et al.*, 2020), y a que constituye un grupo de interés a monitorear (Reusch *et al.*, 2021), se incluye un método de cultivo en agar cromogénico para detectar vibrios (Hara-Kudo *et al.*, 2020), que es

---

más práctico y menos costoso que métodos independientes de cultivo como lo es la secuenciación masiva.

Este método permite identificar en agua marina tres principales subtipos de *Vibrio* spp: *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus/cholerae* y *V. alginolyticus* (Reusch et al., 2021) por medio del color de las colonias (Hara-Kudo et al., 2020).

Se toman alícuotas de 250 y 100  $\mu\text{L}$  agua de mar y bacterioplancton asociado a sargazo (ver sección II.1.2), sembrando por triplicado en agar selectivo para *Vibrio* (CHROMagar\_vibrio™; Chromagar Ltd. París, Francia; Grupo JAFS, Sinaloa México; Hara-Kudo et al., 2001) y en Agar Marino, respectivamente. Se incuba a 25 °C por 4 días en medio CHROMagar, y a 30 °C en medio marino, y se cuentan las colonias para determinar las unidades formadoras de colonia (UFC \*  $\mu\text{L}^{-1}$ ; ver hoja 3). Las colonias crecidas sobre CHROMagar se pueden clasificar por su color como *V. parahaemolyticus* (violeta), *V. vulnificus/cholerae* (azul pálido), y *V. alginolyticus/hollisae* (blanco “leche”) (Hara-Kudo et al., 2001). Por último, se debe realizar un análisis de varianza para determinar el efecto de la presencia del sargazo sobre las abundancias de cada uno y el total de los subtipos de *Vibrio*.

### III. ÍNDICES

#### III.1. Índices de diversidad

Los índices de diversidad se determinan por muestreo (o por zona en un muestreo). Los índices de diversidad más comunes utilizados en el análisis del bacterioma son: índice de Shannon (H'), índice de Simpson (Ds), InvSimpson (1-D) y ASVs observados (Bordard et al., 2011). El primero muestra la estructura de la comunidad (valores de H' mayores 3 indican que el agua está "limpia"), el índice de Simpson refleja la dominancia, el InvSimpson la equidad, mientras que los ASVs son los taxa a un nivel de variación de secuencia. Además, se utilizan las abundancias relativas de los taxa (Fig. 4) a diferentes niveles taxonómicos, es decir, el cociente del número de taxa similares entre el total de taxa, por cien (Bordard et al., 2011).

#### III.2. Índice de perturbación del ecosistema por abundancia relativa del género *Vibrio*

La abundancia relativa de bacterias del género *Vibrio* se calcula utilizando las siguientes medidas, que en conjunto indican niveles de perturbación:

##### A. Unidades formadoras de colonia (UFC)

Determinar las UFC \*  $\mu\text{L}$  con el cociente de todas las colonias de la placa en medio de selección para *Vibrio* spp. y el volumen del inóculo. Esto se calcula para cada uno de los 3 subtipos de *Vibrio* evaluados (Hoja 3), para cada muestra de agua de mar y de sargazo (utilizando 100 y 250  $\mu\text{L}$  del sobrenadante en buffer CMFSW, ver sección II.2.1). Finalmente, se calcula un promedio por muestreo y se analiza mediante un ANOVA.

$\text{UFC por } \mu\text{L} = \text{total de colonias en placa selectiva} / \text{volumen del inóculo}.$

##### B. Abundancias relativas de *Vibrio* spp.

Con los datos de UFC se pueden hallar abundancias relativas de *Vibrio* spp. y de cada subtipo de *Vibrio* evaluado. En el primer caso se hace relativo al total de UFC encontrado en el agar marino, mediante el cociente de las UFC de *Vibrio* spp., y las UFC totales de bacterias crecidas tanto en el medio marino como en el de selección, por cien. Mientras que, para cada

subtipo, se podría hacer relativo al total de *Vibrio* spp. y/o total de UFC de *Vibrio* spp. más el total de UFC de bacterias crecidas en el medio marino, por cien.

Abundancia de Vibrios:

UFC en agar selectivo / UFC en agar marino X 100

Abundancia por subtipo de Vibrio:

UFC tipo 1, 2 o 3 (coloración) en agar selectivo / UFC totales en agar selectivo X 100.

#### IV. Materiales y equipos necesarios para el monitoreo del bacterioma asociado al sargazo

- Cámara fotográfica
- Red de cuchara
- Bolsas para muestras
- Hielera
- Botella van Dohrn,
- Botellas estériles para agua (4.8 L)
- Tablas de acrílico /formatos de campo
- Lápiz
- Palangana
- Escurridor
- Refrigerador
- Charolas para pesar el sargazo
- Balanza analítica
- Tijeras
- Equipo de filtración por vacío
- Kit de extracción de ADN
- Cebadores específicos para la región V3-V4 del rADN 16S (Klindworth et al., 2013)
- Termociclador
- Reactivos para PCR
- Reactivos para electroforesis horizontal de agarosa, cámara de electroforesis y fuente de poder
- Medios de cultivo: Agar Marino y CHROMagar
- Espectrofotómetro
- Filtros de café y filtros de 0.22  $\mu\text{m}$  (Durapore)
- Juego de micropipetas de 20, 200 y 100  $\mu\text{L}$

- Microtubos, tubos para PCR y puntas para micropipetas
- Incubadora y cajas de Petri
- Esterilizadora
- Agitador de perlas (Beadbeater)

---

**V. REFERENCIAS**

- Burke C, Kjelleberg S, Thomas T (2009) Selective Extraction of Bacterial DNA from the Surfaces of Macroalgae. *Applied and Environmental Microbiology* 75: 252–256
- Borcard D, Gillet F, Legendre P. (2011). *Numerical ecology with R*. (1ra ed) Springer, New York, NY.
- Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ, Han AW, Johnson AJ, Holmes SP (2016) DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nature Methods* 13: 581–583
- Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, Bittinger K, Bushman FD, Costello EK, Fierer N, Peña AG, Goodrich JK, Gordon JI, Huttley GA, Kelley ST, Knights D, Koenig JE, Ley RE, Lozupone CA, McDonald D, Muegge BD, Pirrung M, Reeder J, ... Knight R (2010) QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature Methods* 7: 335–336
- Ezenwa VO, Gerardo NM, Inouye DW, Medina M, Xavier JB (2012) Microbiology. Animal behavior and the microbiome. *Science* 338: 198-199
- Gavio B, Rincón-Díaz M, Santos-Martínez A (2015) Massive quantities of pelagic *Sargassum* on the shores of San Andres Island, Southwestern Caribbean. *Acta Biológica Colombiana* 20: 239-241
- Gower J, Young E, King S (2013) Satellite images suggest a new *Sargassum* source region in 2011. *Remote Sensing Letters* 4: 764–773
- Hara-Kudo Y, Nishina T, Nakagawa H, Konuma H, Hasegawa J, Kumagai S (2001) Improved method for detection of *Vibrio parahaemolyticus* in seafood. *Applied and Environmental Microbiology* 67: 5819–5823

- Katoh K, Standley DM (2013) MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution* 30:772–780
- Klindworth A, Pruesse E, Schweer T, Peplies J, Quast C, Horn M, Glöckner FO (2013) Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. *Nucleic Acids Research* 41: e1
- Lederberg J (2000) Infectious history. *Science* 288: 287–293
- McMurdie PJ, Holmes S (2013) phyloseq: an R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data. *PloS ONE* 8: e61217
- Michotey V, Blanfuné A, Chevalier C, Garel M, Diaz F, Berline L, Le Grand L, Armougom F, Guasco S, Ruitton S, Changeux T, Belloni B, Blanchot J, Ménard F, Thibaut T (2020) In situ observations and modeling revealed environmental factors favoring occurrence of *Vibrio* in microbiome of the pelagic *Sargassum* responsible for strandings. *The Science of the Total Environment* 748: 141216
- Monroy-Velazquez LV, Rodriguez-Martinez RE, van Tussenbroek BI, Aguiar T, Solis-Weiss V, Briones-Fourzan P (2019) Motile macrofauna associated with pelagic *Sargassum* in a Mexican reef lagoon. *Journal of Environmental Management* 252: 109650
- Oksanen (2009)  
[http://www.pelagicos.net/MARS6910\\_spring2015/manuals/R\\_vegan\\_ordination.pdf](http://www.pelagicos.net/MARS6910_spring2015/manuals/R_vegan_ordination.pdf)
- Parada AE, Needham DM, Fuhrman JA (2016) Every base matters: assessing small subunit rRNA primers for marine microbiomes with mock communities, time series and global field samples. *Environmental Microbiology* 18: 1403–1414
- Price MN, Dehal PS, Arkin AP (2010) FastTree 2-approximately maximum-likelihood trees for large alignments. *PloS ONE* 5: e9490

- Reusch TBH, Schubert PR, Marten SM *et al.* (2021) Lower *Vibrio* spp. abundances in *Zostera marina* leaf canopies suggest a novel ecosystem function for temperate seagrass beds. *Marine Biology* 168: 149
- Rodríguez-Martínez RE, Roy PD, Torrescano-Valle N, Cabanillas-Terán N Carrillo-Domínguez S, Ligia Collado-Vides L, García-Sánchez M, van Tussenbroek BI (2020) Element concentrations in pelagic Sargassum along the Mexican Caribbean coast in 2018-2019. *PeerJ* 8:e8667
- Rodríguez-Martínez RE, Van Tussenbroek B, Jordán-Dahlgren E (2016) Afluencia masiva de sargazo pelágico a la costa del Caribe mexicano (2014–2015). In: Mendoza E, Quijano-Scheggia SI, Olivos-Ortiz A, Núñez Vázquez EJ, eds. *Florecimientos Algales Nocivos en México*. Ensenada: CICESE, 352–365
- Rognes T, Flouri T, Nichols B, Quince C, Mahé F (2016) VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics. *PeerJ* 4: e2584
- Segata N, Izard J, Waldron L, Gevers D, Miropolsky L, Garrett WS, Huttenhower C (2011) Metagenomic biomarker discovery and explanation. *Genome Biology* 12: R60
- Shoemaker KM, Moisaner PH (2015) Microbial diversity associated with copepods in the North Atlantic subtropical gyre. *FEMS Microbiology Ecology* 7: fiv064
- Smetacek V, Zingone A (2013) Green and golden seaweed tides on the rise. *Nature* 504: 84–88
- Tanaka MO, Leite FPP (1998) The effect of sieve mesh size on the abundance and composition of macrophyte-associated macrofaunal assemblages. *Hydrobiologia* 389: 21–28
- Turnbaugh PJ, Hamady M, Yatsunencko T, Cantarel BL, Duncan A, Ley RE, Sogin ML, Jones WJ, Roe BA, Affourtit JP, et al. (2009) A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature* 457: 480–484

Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M, Fraser-Liggett CM, Knight R, Gordon JI (2007) The human microbiome project. *Nature* 449: 804–810

van Tussenbroek BI, Hernández-Arana HA, Rodríguez-Martínez RE, Espinoza-Avalos J, Canizales-Flores HM, González-Godoy CE, Barba-Santos MG, Vega-Zepeda A, Collado-Vides L (2017) Severe impacts of brown tides caused by *Sargassum* spp. on near-shore Caribbean seagrass communities. *Marine Pollution Bulletin* 122: 272–281

Wickham H (2016) *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York. ISBN 978-3-319-24277-4, <https://ggplot2.tidyverse.org>

### **Páginas web**

[https://support.illumina.com/downloads/16s\\_metagenomic\\_sequencing\\_library\\_preparation.html](https://support.illumina.com/downloads/16s_metagenomic_sequencing_library_preparation.html)

## FIGURAS



**Figura 1.** Muestreo de sargazo pelágico. (A) Se observa un manchón de sargazo aislado y abundante, idóneo para la colecta de muestra; (B) Obtención de la muestra de agua por medio de la botella Van-Dorn; (C) muestras de sargazo tomadas directamente por medio de una red de cuchara; (D) se deposita en bolsas ziploc manualmente conteniendo agua del sitio de muestreo



Figura 2. Tratamiento y obtención de muestra. (A-C) Se observa la cantidad de muestra utilizada por cada muestra de sargazo; (D y E) Muestras lavándose con buffer CMFSW para obtener microorganismos epibiontes; (F) Sistema de filtración para colección de microorganismos epibiontes del sobrenadante obtenido en D y E.

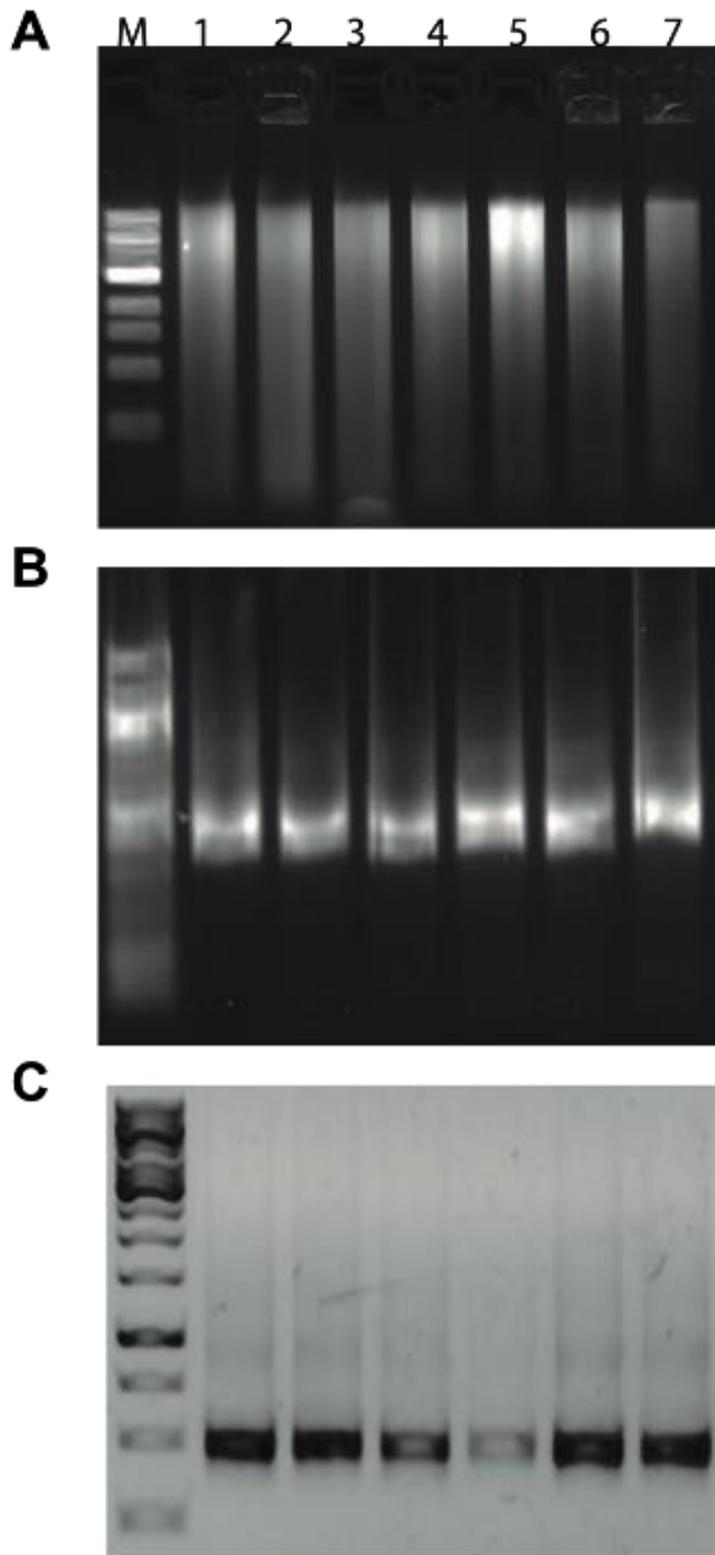


Figura 3. Imágenes representativas del ADN extraído y amplificado. (A) ADN genómico de muestras de agua y microbiota epibionte de sargazo; (B) amplicon de la región V3-V4 del rDNA 16 S de las muestras de ADN mostradas en A; (C) Biblioteca de los amplicones mostrados en B. M= marcador de peso molecular de 100 pb. Pozos 1-7 muestras de ADN extraído del agua y microbiota epibionte de sargazo. Electroforesis de gel en 1% agarosa corrida a 80 V.

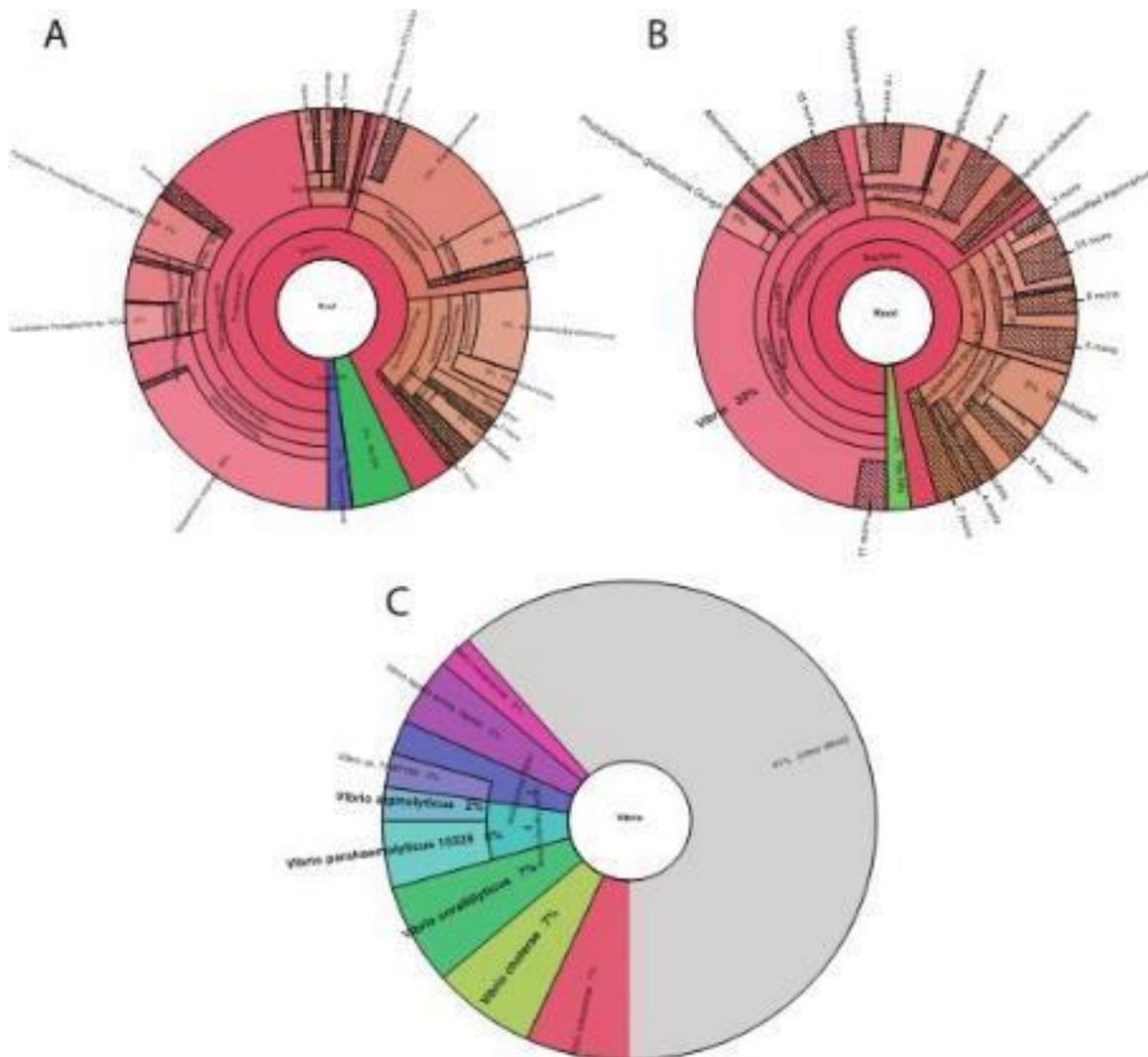


Figura 4. Diagrama representativo de las abundancias relativas de grupos taxonómicos asignados por secuencias de la región V y VI del gen rDNA16 S. (A) bacterioplancton de una muestra representativa de agua; (B) muestra representativa de la comunidad bacteriana asociada al sargazo pelágico. Se resalta el alto porcentaje del género *Vibrio* (33 %); (C) ampliación del género *Vibrio* en una muestra de agua de mar, se destaca la presencia de especies de vibrio de interés para la salud pública como *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, y de interés ambiental en sistemas arricifales como *V. coralliilyticus*.

Hoja 1. Formato para registro de concentración y calidad de ADN de muestras de sargazo pelágico y bentónico.

Procesó:			Espectrofotómetro	
Fecha:				
Macroalga:				
Muestra		Concentración de ADN [µg*mL <sup>-1</sup> ]	Índice de calidad (Abs260/280)	Índice de ADN: [ADN] / masa (g) de macroalga o volumen (L) de agua.
1	210421AF11			
2	210421AF12			
3	210421AF13			
4	210421AP11			
5	210421AP12			
6	210421AP13			
7	210421SF11			
8	210421SF12			
9	210421SF13			
10	210421SF21			
11	210421SF22			
12	210421SF23			
13	210421SF31			
14	210421SF32			
15	210421SF33			
16	210421SP11			
17	210421SP12			
18	210421SP13			
19	210421SP21			
20	210421SP22			
21	210421SP23			
22	210421SP31			
23	210421SP32			
24	210421SP33			

Hoja 2. Formato para electroforesis.

<b>Procesó:</b>				
<b>Fecha:</b>				
<b>Condiciones:</b>		<b>% de agarosa:</b>		<b>Voltaje:</b>
<b>Pozo</b>		<b>Muestra</b>	<b>Volume n</b>	<b>Concentración</b>
		<b>Observaciones</b>		
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				
13				
14				
15				
16				
17				
18				
19				
20				
21				
22				
23				
24				

Hoja 3. Registro de crecimiento de *Vibrio* spp.

<b>Procesó:</b>							<b>Observaciones:</b>					
<b>Fecha:</b>												
<b>Condiciones:</b>												
Muestra	Medio selectivo						Medio marino					
	Volumen sembrado	Tamaño de colonia	Color de la colonia	Subtipo de <i>Vibrio</i>	UFC	UFC * $\mu$ L	Volumen sembrado	Tamaño de colonia	Color de la colonia	Subtipo de <i>Vibrio</i>	UFC	UFC * $\mu$ L

Protocolo: Establecimiento de un protocolo de detección temprana y diagnóstico de especies exóticas invasoras asociadas al sargazo pelágico en zonas marino-costeras del Caribe mexicano (InvaSAR)

## Capítulo 4

### Ictiofauna

Martínez López, I.G., van Tussenbroek, B. I.

#### I. INTRODUCCIÓN

Las algas pardas pelágicas del género *Sargassum* (también conocido como sargazo) constituyen un hábitat flotante para una gran diversidad de organismos. Los mantos flotantes de sargazo son particularmente importantes para la supervivencia de varias especies de peces, muchos en su estadio temprano. Así constituyen sitios de crianza para más de 100 especies de peces, incluidos algunos de importancia comercial o recreativa tales como *Coryphaena hippurus* (dorado), *Caranx* spp. (jurel), *Seriola* spp. (coronado o pez limón), (Dooley, 1972; Bortone *et al.*, 1977; Moser *et al.*, 1998; Wells y Rooker, 2004). Los mantos de sargazo, además, pueden actuar como medio de transporte y dispersión para los peces típicamente asociados a estas algas (Dooley, 1972; Casazza y Ross, 2008).

Desde el año 2014, el Caribe Mexicano ha experimentado una llegada masiva de sargazo hacia sus costas (van Tussenbroek *et al.*, 2017); sin embargo, aún existe poca información sobre la comunidad de peces asociada al sargazo pelágico que recalca en estas costas. Monroy Velázquez *et al.* (2019) en su estudio de macrofauna asociada a sargazo que se llevó a cabo por medio de colecta con una red de cuchara durante 2018 en el Parque Nacional Arrecifes Puerto Morelos

(PNAPM) reportaron la colecta incidental de cinco especies, todas en estadio juvenil; una de ellas de nuevo registro (*Syngnathus pelagicus*), un pez pelágico típicamente asociado al sargazo. Las otras cuatro especies ya habían sido previamente reportadas en el Caribe mexicano (INE, 2000); dos de ellas, *Histrionotus histrio* y *Stephanolepis hispidus*, también son peces típicamente asociadas al sargazo, aunque la segunda también se encuentra en diferentes tipos de fondo marino. Las otras dos especies *Abudefduf saxatilis* y *Carangoides* (o *Caranx*) *bartholomaei* habitan en su etapa adulta los arrecifes coralinos o aguas más abiertas, respectivamente, lo cual sugiere que buscan su refugio de manera temporal en los mantos de sargazo.

El muestreo para determinar la estructura comunitaria de los peces asociados al sargazo resulta complejo y en muchas ocasiones se debe recurrir a diferentes métodos (Casazza y Ross, 2008). Por ejemplo, el empleo de redes de cuchara en el mar desde una embarcación tiene sus limitaciones, ya que los peces con más capacidad de locomoción huyen debido al ruido producido por la embarcación.

El objetivo del presente es desarrollar un protocolo para la detección de especies de ictiofauna asociadas al sargazo en zonas marino-costeras del Caribe mexicano. Se pondrá una especial atención a las especies no-nativas (exóticas), y de estas especies se buscará en la literatura sus características, para evaluar su invasividad.

## **II. MÉTODOS**

### **II.1 Trabajo de campo**

Se realizan monitoreos utilizando el método de dispositivos remotos de video (RUVS por sus siglas en inglés: Remote Underwater Video). Los RUVS se colocan adentro un manto de

sargazo y se desplazan conforme las direcciones de la corriente, oleaje y viento. Estos sistemas consisten en boyas superficiales con GPS (ver capítulo 5) y equipo de video. El sistema de video consiste en una cámara de video pequeño, p.e., Go-Pro. Se especifica el modelo de la cámara y los pixeles cuadros por segundo, y se recomienda reiniciar la toma de video cada 10-12 minutos. Los videos se almacenan en alta resolución (1080x 1920 y con 60 fotogramas por segundo). La cámara debe estar aproximadamente 30 cm abajo del manto, y su posición debe ser tal que el lente enfoca una porción de la columna de agua y otra porción del manto de sargazo (Fig. 1). Empleando una embarcación, una vez ubicado un manto de sargazo, se procede a colocar el dispositivo RUVS, se deja a la deriva en el manto de sargazo por un lapso mínimo de una hora, y se registran los datos en la hoja de campo (Hoja 1; para más información también consulta Capítulo 1). Como método complementario, se recomienda realizar grabaciones de video en esnórquel bajo el manto de sargazo para facilitar la identificación de peces. El recorrido en esnórquel se realiza antes o después de las grabaciones con la cámara en deriva, se apunta la posición del manto (coordenadas GPS) en el momento que se realizaron estas tomas en la hoja de campo (Hoja 1).

## **II.2 Trabajo de laboratorio**

### *II.2.1. Identificación de ictiofauna*

En el laboratorio se revisan minuciosamente los videos para identificar las especies de peces y su asociación al manto de sargazo. Si es posible, se anota si los peces son pasantes o visitantes en las observaciones. Los pasantes o visitantes se consideran estos peces que se acercan a los mantos porque presenta una fuente de comida o refugio temporal; p.e., peces de arrecife que

suben al manto en su paso sobre de la barrera arrecifal y depues regresan a su refugio en el arrecife o baracudas que pasen debajo de los mantos en búsqueda de presas.

Se recomienda descartar las tomas del primer minuto del primer video y el último del último video para descartar la posible perturbación provocada al colocar y acercarse a retirar la cámara, respectivamente. Con fines de estandarización, en las tomas de Puerto Morelos, se descartaron los primeros y últimos minutos de todos los clips de 12 minutos, resultando en “muestras” de 10 minutos. Para la identificación de peces se recomienda Froese y Pauly (2011) y Humann y Deloach (2014). La identificación se realiza de ser posible a nivel de especie y si su estado es juvenil o adulto (Fig. 2). Ver anexo 2 (Galería de peces) para imágenes de los peces más comunes asociados al sargazo en Puerto Morelos. Para determinar la abundancia de cada especie de vez por clip de video, se calcula una métrica basada en el Índice MaxN que es el número máximo de individuos de una especie observados al mismo tiempo en un fotograma del video. Para ello primero se anotan por especie los minutos y segundos, así como los fotogramas donde se observa un (grupo de) peces en el video de acuerdo a las clases de abundancia definidas. Al finalizar el video se selecciona por especie el valor máximo de abundancia registrados en un fotograma (Hoja 2). Las clases de abundancia son: **solo** (un solo espécimen, valor 1), **pocos** (entre 2 a 10 individuos, valor 6), **muchos** (entre 11 a 100 individuos, valor 55) y **abundantes** (más de 100 individuos, valor 100).

### III. ÍNDICES

#### *III.1. Ictiofauna*

Los videos se dividen en clips de 10 minutos y cada clip de 10 minutos se considera una muestra. Del listado de las especies y su abundancia (Índice MaxN) en cada muestra (hoja 2),

se determinará los siguientes índices **de la ictiofauna por muestreo** (i.e., todas las tomas siguiendo el mismo manto), aunque se podrán analizar también por zona, por temporada, etc.

1. Número de especies (sumando las especies en todas las muestras/clips de videos)
2. Número de registros nuevos; i.e., especies de nuevo registro para la localidad (o su área biogeográfica)
  - a. De estos se indica su potencial de ser invasivo utilizando el Método de Evaluación Rápida de Invasividad para especies exóticas en México (CONABIO 2015)
3. Frecuencia (por especie o taxón): Número de muestras (clips) en que se registró la especie o taxón
4. Frecuencia relativa (por especies o taxón) =  $[\text{Frecuencia Taxón A} / \text{Suma Frecuencias de Taxa A a X}] * 100$ .
5. Abundancia (por especie/taxón): Media del valor asignada a cada clase de abundancia en todas muestras
6. Índice de Valor Biológico (IVB) de Sanders) se determina asignando rangos del 1 al 10 a las especies por orden de abundancia en una muestra, si el número de especies en el muestreo son alrededor de 10. Si generalmente hay menos especies presentes se puede fijar este número a 5, o si es mayor se podrá fijar en 20. En el caso de 10 especies, un rango de 1 equivale a un valor de 10 puntos, un rango de 2 corresponde a 9 puntos, y así sucesivamente hasta llegar al rango de 10 que equivale a 1 punto (si hay más de 10 especies, las demás especies/taxa reciben valor 0 para esta muestra). De esta forma, si una especie ocupa el primer lugar en rango en 6 muestras (i.e. 6 clips de video de 10 minutos cada uno), tendrá un valor de 60, o sea el máximo valor posible (Loya Salinas y Escofet 1990).

#### **IV. Materiales y equipos necesarios para el monitoreo de la ictiofauna asociada al sargazo**

##### *Para trabajo de campo*

- Embarcación equipada con suficiente gasolina
- GPS
- RUV
- Opcional, cámara de alta resolución para tomas adicionales
- Tablas de acrílico /formatos de campo
- Lápiz

##### *Para trabajo de escritorio*

- Computadora
- Software para edición de videos
- Guías de identificación de especies

## V. REFERENCIAS

- Bortone SA, Hastings PA, Collard SB (1977) The pelagic *Sargassum* ichthyofauna of the eastern Gulf of Mexico. *Northeast Gulf Science* 1: 60–67
- Casazza TL, Ross SW (2008) Fishes associated with pelagic *Sargassum* and open water lacking *Sargassum* in the Gulf Stream off North Carolina. *Fish Bulletin* 106: 348-363
- CONABIO (2015) Método de Evaluación Rápida de Invasividad (MERI) para especies exóticas en México. México DF  
[https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/221685/Obelia\\_dichotoma.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/221685/Obelia_dichotoma.pdf)
- Dooley JK (1972) Fishes associated with the pelagic *Sargassum* complex, with a discussion of the *Sargassum* community. *Contributions of Marine Sciences* 16: 1-32
- Froese R, Pauly D (2011) Fish base. World Wide Web electronic publication.  
<http://www.fishbase.org>
- Hulme PE, Bacher S, Kenis M, Klotz S, Kühn I, Minchin D, Nentwig W, Olenin S, Panov V, Pergl JP, Pyšek P, Roques A, Sol D, Solarz, W, Vilà, M (2008) Grasping at the routes of biological invasions: a framework for integrating pathways into policy. *Journal of Applied Ecology* 45: 403-414
- Humann P, Deloach N (2014) Reef fish Identification. Florida Caribbean Bahamas. New World Publications, Inc. USA.
- Loya-Salinas D, Escofet A (1990) Contribution to the calculation of the Biological Value Index (Sanders, 1960). *Ciencias Marinas*, 16(2): 97–115 <https://doi.org/10.7773/cm.v16i2.688>
- Instituto Nacional de Ecología (2000) Programa de manejo Parque Nacional Arrecife de Puerto Morelos: México. Instituto Nacional de Ecología, México

- Monroy-Velázquez LV, Rodríguez-Martínez RE, van Tussenbroek BI, Aguiar T, Solís-Weiss V, Briones-Fourzan P (2019) Motile macrofauna associated with pelagic *Sargassum* in a Mexican reef lagoon. *Journal of Environmental Management* 252: 109650
- Pyšek P, Hulme PE, Simberloff D, Bacher S, Blackburn TM, Carlton JT, Dawson W, Ess F, Foxcroft LC, Genovesi P, Jeschke JM, Kühn I, Liebhold AM, Mandrak NE, Meyerson LA, Pauchard A, Pergl J, Roy HE, Wingfield MJ, Richardson DM (2020) Scientists' warning on invasive alien species. *Biological Reviews* 95: 1511–1534
- Wells RJD, Rooker JR (2004) Spatial and temporal patterns of habitat use by fishes associated with *Sargassum* mats in the northwestern Gulf of Mexico. *Bulletin of Marine Science* 74: 81-99

FIGURAS

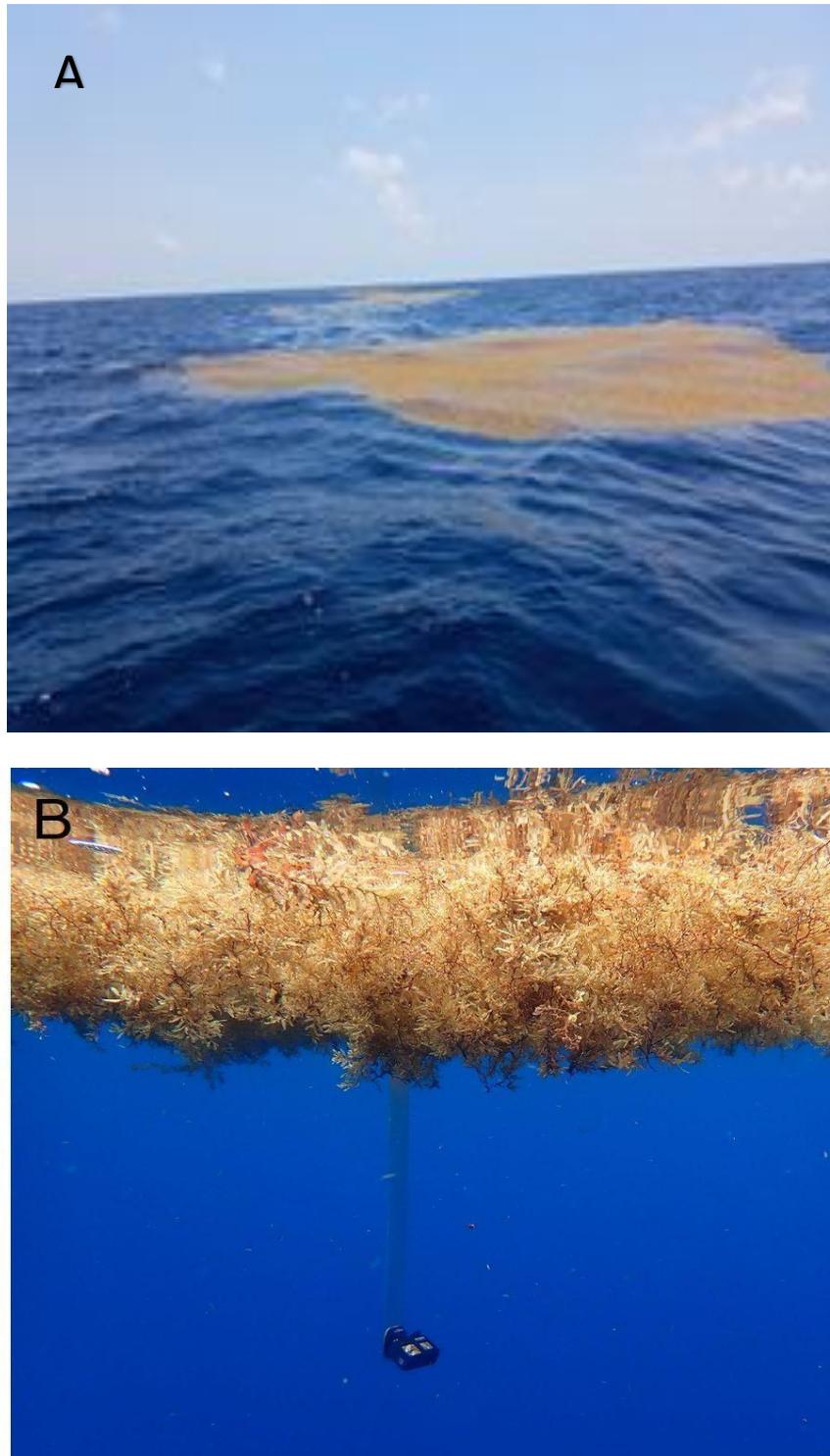


Figura 1. (A) Manto de sargazo donde se coloca el RUV (Remote Underwater Video); (B) Posición adecuada para mejor visibilidad del parche de sargazo de forma subacuática.



Figura 2. Ejemplos de fotogramas de los videos tomados con el RUV. (A) cardumen de *Caranx ruber* con *Ocyurus chrysurus* y *Abadefdus saxatilis* (en el sarazo); (B) Cardumen de *C. ruber*.

Hoja 1. Formato de registro de datos de campo para el monitoreo de peces en el mar

Localidad				Colector						
Fecha				Tipo de cámara						
Condiciones de tiempo				Settings de la camara						
<b>Tipo de manto</b>		<b>(hilera, grupos pequeños, parche grande)</b>								
<b>Densidad</b>		<b>(manto denso o disperso)</b>								
<b>Estado</b>		<b>(fresco o senescente)</b>								
Replica	Inicio/ Final	Zona	GPS		Hora	Área Estim. (m <sup>2</sup> )	Tipo de manto	Densidad sargazo	Estado sargazo	RUV/ Manual
			Long	Lat						



## Anexo 1

Peces más frecuentes asociadas a sargazo en los videos

### Phylum Chordata

#### (Pisces)



Fig. 1. Juveniles de *Ocyurus chrysurus* (rubia) y *Caranx* sp. (jurel) entre otros



Fig. 2. Adultos de *Caranx ruber* (jurel)



Fig. 3. Juvenil de *Seriola dumerili* (pez limón)



Fig. 4. Adultos de *Seriola dumerili* (pez limón)



Fig. 5 *Abadefduf saxatilis* (sargento) entre juveniles de jureles



Fig. 6. *Sphyraena barracuda* (barracuda) adulto es un cazador pasante de los mantos de sargazo

Establecimiento de un protocolo de detección temprana y diagnóstico de especies exóticas invasoras asociadas al sargazo pelágico en zonas marino-costeras del Caribe mexicano

(InvaSAR)

## Capítulo 5

### Boyas a la deriva de bajo costo

Gómez Reali, M.A., Escalante Mancera J. E., López Portillo H.J.A

#### I. INTRODUCCIÓN

Las corrientes marinas superficiales son generadas principalmente por el esfuerzo del viento sobre la capa somera del océano. Esta interacción entre la atmósfera y el océano se da en todas las escalas y genera una gran variedad de fenómenos como giros oceánicos de gran escala, afloramiento cerca de las costas, oleaje, y derivas superficiales de entre otros eventos.

Para poder observar directamente el fenómeno de las corrientes superficiales en el mar de forma simple sólo es necesario ver objetos flotantes que deriven con estas y así inferir su velocidad y dirección. Todos los objetos flotantes que no tengan la capacidad de gobernar su movimiento estarán guiados por dichas corrientes, y por ese motivo algunos organismos como el plancton y fitoplancton serán transportados en la superficie como resultado del viento y la corriente marina predominante en ese momento.

En la actualidad existen muchas maneras de ver, medir y seguir las corrientes marinas, como son sensores remotos que dan información a gran escala pero con intervalos de tiempo muy espaciados, mediciones *in situ* que permiten registrar las corrientes de forma continua pero sólo en un punto fijo, y las mediciones de deriva que registran de forma continua su posición (latitud,

longitud) con respecto al tiempo que transcurre conforme se mueve con la corriente permitiendo rastrear en todo momento los objetos flotantes que también son gobernados por el vector resultante del viento y la corriente.

En particular con la deriva del sargazo (Fig.1) se ha mostrado en trabajos recientes, que los regímenes de viento, además de las corrientes y oleaje, juegan un papel en la variabilidad temporal en los arribazones de la cantidad de sargazo (Johns et al., 2020). En Puerto Morelos, los vientos alisios del sureste transportan las masas de sargazo acumuladas en la corriente de Yucatán (paralela a la costa del Caribe mexicano) hacia tierra, mientras que los vientos del norte que dominan en otoño e invierno inhiben el transporte de sargazo a terrestre (García-Sánchez et al., 2020; Rutten et al., 2021).

De lo anterior, se puede decir que la mejor forma de seguir organismos del plancton y fitoplancton como algas y macroalgas en zonas costeras puede ser con un sistema de boyas de deriva, siendo una herramienta que ayudará para saber la trayectoria y así lograr la detección temprana, respuesta rápida y diagnóstico de especies exóticas invasoras como el sargazo pelágico y sus especies asociadas en zonas marino-costeras del Caribe mexicano (InvaSAR).

## II. MÉTODOS

### II.1 Trabajo en el mar

#### *II.1.1. Caracterización de la zona de muestreo y las condiciones para salir a campo*

Es necesario buscar las condiciones adecuadas para la navegación a mar abierto, buscando alejarse de la costa no más la distancia segura de cobertura de red celular (DSC), 10 km para el caso de Puerto Morelos. Si se requiere conocer la DSC para un sitio, es recomendable trasladarse perpendicular a la costa con la boya a bordo y realizar paradas cada kilómetro, solicitando datos de la boya para establecer el DSC, la calidad de la señal recibida deberá ser mayor a 5 (unidades), donde consideraremos una excelente señal a cualquiera que sea mayor a 20 (unidades).

Una vez que conocemos esta DSC de la zona de trabajo, que para efectos de este protocolo será menor a 10 km, se buscará la estación meteorológica con datos de dirección y velocidad de viento más cercana al sitio, preferentemente con datos certificados. Haciendo un análisis de la dirección de viento predominante podremos localizar el día adecuado para la salida. Recomendamos vientos no mayores a 8 m/s, con la dirección antes estudiada.

#### *II.1.2. Colocación de boya en parches de Sargassum pelágico*

Una vez que se encontró el día con las condiciones adecuadas y verificando que el puerto esté abierto a la navegación, se procede a dirigirse perpendicularmente de la costa hacia mar abierto, llevando todo lo necesario listado en el apartado IV materiales y habiendo realizado las preparaciones previamente descritas en el apartado “II.2.1. Preparación de la boya”. Al encontrarse en mar abierto la navegación será en 45° desde el ángulo antes marcado por no más de un kilómetro y otros 45° en sentido contrario durante el siguiente kilómetro, buscando en el horizonte algún parche de sargazo a la vista. Es importante cuidar que la distancia perpendicular

a la costa siga siendo menor a nuestra DCS, para poder tener señal de comunicación con la boya de deriva. Si se tiene acceso a vehículo aéreo no tripulado (VANT), es posible reducir el tiempo de búsqueda del parche de sargazo, ya que una vez que se encuentre la embarcación en mar abierto en un sitio fijo controlado por el capitán. Se puede proceder a pilotear el VANT y elevarlo de 50 metros en 50 metros a no más de 250 metros de altitud, dependiendo de la zona de vuelo, y dar un giro 360 grados por cada parada de 50 metros en perspectiva horizontal, una vez que se detecta algún parche (Fig. 4), se marcará el rumbo al capitán, y se baja el VANT, para navegar directamente al rumbo establecido.

Llegado al parche de sargazo se realiza una comparación visual de los parches encontrados para seleccionar el de mayor tamaño preferente mayores a 2 metros en la parte más larga del parche de sargazo (Fig.2). Una vez que se tenga conectada y cerrada la boya de deriva de acuerdo al punto “4.1 Sistema de carga de baterías” del manual de la boya, se recibirá un primer mensaje indicando el correcto encendido del equipo y que la DCS es la adecuada. En caso que añada una cámara a la boya para monitoreo de peces (Capítulo 4), ésta deberá ser encendida en el modo de grabación con los ajustes (“settings”) especificados en Capítulo 5. Se procederá a acercarse al parche lo mayor posible con la embarcación sin desintegrarlo, para poder documentar fotográficamente el parche tanto en superficie como subacuáticamente mediante buceo libre, si es de interés monitorear a las peces (Fig.3). Posteriormente se coloca la boya al centro del parche dejando expuesta la malla superficial de la boya y enlazada al parche de sargazo. Pudiendo alejarse para la colocación del siguiente punto trazador, recomendablemente a no más de 5 kilómetros paralelos a la costa para mantenerse en la misma zona de influencia de viento o en el caso de ser la última o única boya a colocar, es posible regresar a costa para seguir monitoreando su trayectoria.

### *II.1.3. Recuperación de boya en parches de sargazo*

Para recuperar los sistemas de boyas de deriva, es necesario levantar una por una cada boya, por lo que se puede solicitar a la estación base una ubicación aproximada del punto enviado directamente por la boya, el mensaje será enviado con un retraso no mayor a los 5 minutos, pasado este tiempo si no se recibió el mensaje de ubicación es necesario volver a solicitarlo. Una vez que contamos con los últimos puntos de recuperación de nuestra boya y los anotamos en un GPS de campo para navegar directamente a los puntos recibidos, se procederá con cautela al punto de interés ya que al continuar en movimiento junto al parche es posible encontrar la boya antes de llegar al punto marcado, una vez llegado el punto capturado de la estación base. Si no se encuentra a la vista el equipo se procederá a enviar desde cualquier dispositivo móvil un mensaje GSM a la estación base con el contenido “ &X ”, donde X, es el número de boya a recuperar descrito en el punto “5.2 Software estación base” del manual de operación de la boya. El mensaje será contestado por la estación base, una vez que recupere la posición en tiempo real de la boya. El mensaje de respuesta contendrá los datos de posición actual, mismos que hay que ingresar nuevamente al GPS a bordo para llegar lo más pronto posible a la localización actual de la boya, se debe repetir este procedimiento de enviar un mensaje hasta que sea localizada la boya. Las pruebas de campo han mostrado que es recuperable cada boya en las primeras dos solicitudes de ubicación.

Es recomendable de igual forma que al inicio del transecto, documentar fotográficamente el parche tanto en superficie como subacuático (Fig. 3).

Para llevar a cabo la maniobra de recuperación, se recomienda ir por la boya que se encuentre más lejano a la costa para evitar que pierda la red celular, y por último recuperar los sistemas que pudieran haber llegado a la costa.

Resumiendo será posible obtener nuevos puntos para cada boya con solo enviar el mensaje a la estación base “ &2 “ en este caso la boya 2, o el número que se desee recuperar, hasta llegar al sitio y visualizar el objetivo o repetir el mensaje.

#### *II.1.4. Salida de campo con boyas-cámara (RUV) para seguimiento de sargazo*

En caso que se requiere dar seguimiento a los peces a lo largo de una trayectoria que dura más de 1 a 2 horas (que es el tiempo máximo de filmación de una cámara promedio), se recomienda el uso de dos boyas con cámara o RUVs: (Remote Underwater Video; Fig. 2), las cuales serán instaladas de acuerdo al punto II.1.2. Buscando que una de las boyas sea colocada en el parche más alejado de la costa, pero dentro del área segura de cobertura celular que permita la deriva con mayor corriente. Para el caso de Puerto Morelos, se realizaron pruebas de campo encontrando el punto con mayor influencia por corriente a 5 km de la costa. El segundo punto se buscará un parche más cercano a la costa, en el caso de Puerto Morelos se colocó a menos de 2 km de la costa. Aunque las cámaras tienen una capacidad de grabación máximo de 2 horas por efectos de consumo de la batería, es posible continuar determinar la deriva con seguimiento por GPS y solicitud de datos por GSM por más de 24 horas. Se recomienda retirar las cámaras después de dos horas, y continuar siguiendo la deriva del parche de sargazo.

## **II.2 Trabajo de laboratorio**

### *II.2.1. Preparación de la boya*

Es necesario realizar la revisión de los puntos 1 al 5 del manual del equipo boyas de deriva, donde se describen las partes y software del sistema. Una vez definidas las posiciones y la cantidad de boyas a llevar a sitio, es necesario realizar los siguientes puntos:

- De acuerdo con el punto 5.2 del manual, iniciar el software de la estación base y dar de alta la cantidad de boyas y los números telefónicos de las respectivas boyas a utilizar.
- Preparar a carga completa dos baterías para cada uno de las boyas a utilizar, y la cámara a instalar, es recomendable cargar 2 horas previas a su uso.
- Preparar los chips celulares con saldo y activos, (se recomienda dar de alta como número gratuito al número celular de la base), instalar en las tarjetas GSM.
- Formatear las tarjetas micro SD e instalarlas en las boyas y las cámaras.
- Verificar que esté conectada adecuadamente la antena GPS.
- Montar las baterías en la caja estanca y posteriormente la placa de montaje sin aún conectar las baterías.
- Tener lista la maya de flotación o flotador, así como cinchos de seguridad
- Insertar la batería y memoria micro SD en la cámara, para ajustar a la base de la boya

### *II.2.2. Descarga de datos y procesamiento*

Terminada la campaña de campo es necesario enjuagar con agua dulce todo el equipo y dejar secar totalmente previo a abrir. Una vez que podamos extraer las memoria micro SD de la boya y de la cámara, serán guardados en la misma carpeta que se contenga el archivo GPRC.UTC.exe, esta carpeta también deberá contener el archivo de los datos de viento en el periodo que se realizó la campaña de campo, mismo que deberá contener en el orden: Fecha [yyyy-mm-dd], Hora [HH:MM:SS], Velocidad de viento [m/s], Dirección de viento [°]. Guardado en formato csv, separado por comas.

Contenidos los archivos de la boya y de la estación meteorológica, se ejecuta el GPRC.exe, programa que se ejecutara en una ventana MS-DOS, en la cual se nos preguntara por el nombre

---

del archivo de la boya, que contiene las líneas de datos \$GPRMC del GPS, posteriormente nos solicitara la diferencia de hora para llevar los datos a la hora local, igual que los datos de viento, ya que también será solicitado el archivo de Dirección y Velocidad de viento. El resultado del programa debe ser dos archivos uno llamado Deriva\_ seguido del nombre del archivo original, el cual contiene los datos de Fecha, Hora, Latitud y Longitud ya corregidos a la hora local. y por último genera un segundo archivo llamado Der\_Vien\_ y el nombre del archivo de deriva, el cual tendrá juntos los datos de viento asociados a esa fecha y hora que trazamos con la deriva.

De tal forma que la cámara contendrá los video transectos para su revisión , la cara los almacenará en forma de videos cortos de 12 minutos aproximadamente, los cuales tendrán que ser revisados con detenimiento por personal especializado en identificación de especies, para proceder a realizar el llenado de la tabla de identificación de especies (Capitulo 4), la cual se puede relacionar con la posición geográfica al obtener el minuto del video y localizar la hora del avistamiento en el archivo generado de nombre Deriva que ya se encuentra en horario local. También es posible relacionar los datos de las fotografías iniciales y finales del levantamiento (Fig.3). Las cuáles serán relacionadas en Latitud y Longitud con el inicio y final del transecto respectivamente.

### III. Materiales y equipos necesarios

- **Embarcación** equipada con suficiente gasolina
- **GPS de campo**
- **Caja estanca:** Es una caja que contiene una válvula de liberación de presión y sistema de sello para evitar la entrada de líquidos flotando superficialmente.
- **Flotador o Malla de flotación:** Es el sistema que permitirá la buena flotabilidad así como el mantenerse inmerso en las nubes de sargazo.
- **Placa de montaje:** Es una placa a medida de la caja y las tarjetas que permite mantener el contenido de la electrónica en su lugar sin movimientos o perturbaciones.
- **Módulo Arduino MKZ:** Es una tarjeta de control de la marca Arduino, la cual cuenta con los puertos seriales necesarios para comunicar los módulos GSM y GPS, así como realizar el guardado de la información recabada en una tarjeta SD
- **Módulo GSM:** Este módulo es el que permitirá mantener una comunicación con el equipo, ya sea constante y programada o únicamente para su recuperación y obtención del punto de posición, mediante mensajes GSM con tecnología celular, (este módulo ya cuenta con su antena incluida)
- **Módulo GPS:** Es el módulo encargado de obtener la posición GPS en coordenadas de Latitud y Longitud, para registrar el paso del equipo por su trayectoria de deriva.
- **Antena GPS:** Es la antena para la recepción de señal del módulo GPS.
- **Tarjeta MicroSD:** Es una tarjeta SD con capacidad de 4GB, que permitirá descargar la información recabada a post-proceso.
- **Tarjeta SIM Celular:** Es una tarjeta mini SIM común de celular, la cual puede ser de cualquier compañía, por cuestiones de alcance de la red celular se recomienda verificar la zona de cobertura.
- **Estación receptora:** Contiene una tarjeta arduino uno dentro de una carcasa adaptada con un modem celular para comunicarse mediante el software desarrollado para la base.
- **Cámara de la Boya.** Cámara sumergible con memoria suficiente para campaña de campo.

#### IV. REFERENCIAS

- García-Sánchez M, Graham C, Vera E, Escalante-Mancera E, Álvarez-Filip L, van Tussenbroek BI (2020). Temporal changes in the composition and biomass of beached pelagic *Sargassum* species in the Mexican Caribbean. *Aquatic Botany* 167: 103275
- Johns EM, Lumpkin R, Putman NF, Smith RH, Muller-Karger FE, Rueda-Roa DT, Werner FE (2020) The establishment of a pelagic *Sargassum* population in the tropical Atlantic: biological consequences of a basin-scale long distance dispersal event. *Progress in Oceanography* 182: 102269
- Rutten J, Arriaga JA, Montoya LD, Mariño-Tapia IJ, Escalante-Mancera E, Mendoza ET, van Tussenbroek BI, Appendini CM (2021) Beaching and natural removal dynamics of pelagic *Sargassum* in a fringing-reef lagoon. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, e2021JC017636.

## FIGURAS

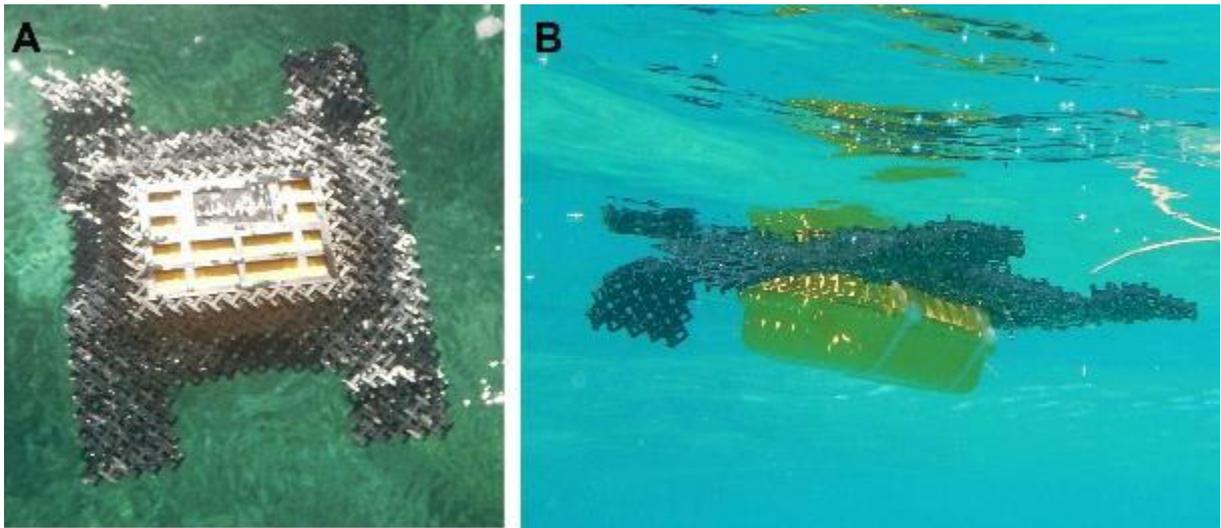


Figura 1. Ejemplo Boyas de deriva, con maya para sujeción de sargazo. (A) Vista superior de flotación de boya de deriva; (B) Perfil de flotación de boya superficial para seguimiento de sargazo.



Fig. 2. Boya en parche de Sargazo. (A) Inserción de boya de deriva con cámara en parche de sargazo; (B) Posición adecuada para mejor visibilidad del parche de sargazo de forma subacuática.



Fig. 3. Fotografías subacuáticas en buceo libre de observación de parches de sargazo. (A) Fotografías al recuperar la boya, para documentar la fauna cercana al parche de sargazo; (B) Fotografías del parche de sargazo al momento de insertar la boya para documentar la fauna inicial asociada al sargazo.



Fig. 4. Imágenes con VANT; vuelo de reconocimiento de parches de sargazo.

Establecimiento de un protocolo de detección temprana y diagnóstico de especies exóticas invasoras asociadas al sargazo pelágico en zonas marino-costeras del Caribe mexicano

(InvaSAR)

## Capítulo 6

### Calidad de Agua

van Tussenbroek, B.I., López-Portillo, J.A.,

Vera Vázquez, E., Barba Santos, M.G.,

#### I. INTRODUCCIÓN

El deterioro local del ambiente arrecifal por las actividades antropogénicas en el Caribe Mexicano ha sido notorio en las últimas cuatro décadas, con un desarrollo urbano exponencial del pueblo de Puerto Morelos en conjunto con el establecimiento de varios complejos hoteleros importantes (Carruthers *et al.*, 2005; Hernández-Terrones *et al.*, 2011). Las aguas costeras del Caribe mexicano son típicamente oligotróficas (Rodríguez-Martínez *et al.*, 2010); sin embargo, las aguas paulatinamente se están tornando mesotróficas (Hernández-Terrones *et al.*, 2011). Las fuentes potenciales de nutrientes en el mar son los hoteles (por ejemplo, el uso de fertilizantes para los campos de golf), granjas de puercos (entre otros) y las aguas subterráneas contaminadas por los basureros, fosas sépticas domésticas e infiltraciones de “deep well injection” al manto acuífero (Hernández-Terrones *et al.*, 2011). El sistema de arrecifes prospera en bajas concentraciones de nutrientes, pero el deterioro de calidad de agua (reflejado en decremento en transparencia, y/o incremento en la concentración de nutrientes) es probablemente uno de los factores causantes de cambios notorios en el arrecife, como lo son la reducción en la cobertura

de coral y su complejidad estructural (Álvarez-Filip *et al.*, 2009), así como en la vegetación de las praderas de los pastos marinos (van Tussenbroek, 2011; van Tussenbroek *et al.*, 2014; Hedley *et al.*, 2021).

Este deterioro ha sido agravado por las afluencias masivas de sargazo desde 2015 (Van Tussenbroek *et al.*, 2017), que han acelerado la pérdida de calidad de agua, desde entonces. La acumulación de las masas algales en las playas, generan mareas marrones de sargazo, que en tiempo pico de arribazones potencialmente aportarán aproximadamente entre 20 a 30 veces más nitrógeno y fósforo que las aguas subterráneas ya contaminadas, además de materia orgánica y otros compuestos (Van Tussenbroek *et al.*, 2017). Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue establecer un programa de monitoreo de calidad de agua, utilizando un protocolo sencillo, que permite continuidad del monitoreo a intervalos preferentemente mensuales. El monitoreo en Puerto Morelos fue realizado con apoyo del Parque Nacional Arrecife de Puerto Morelos y CEMIE-Océano.

## **II. METODOS**

### **II.1 Trabajo en el mar**

#### *III.1. Selección de los sitios y tiempos de muestreo*

Un criterio para la selección de los sitios para el monitoreo de la calidad de agua será buscar un gradiente desde una fuente de la contaminación hacia aguas más lejanas de esta fuente. En el caso de las mareas marrones de sargazo, esta correspondería con un transecto desde la costa hacia mar adentro. Es recomendable tener más de una réplica de tal gradiente; i.e. se establece varios transectos, dependiendo del esfuerzo y los recursos disponibles. La frecuencia del muestreo mínima recomendable es mensual.

En el caso del PNAPM, se seleccionaron 4 transectos en la laguna arrecifal, de la costa al arrecife, cada uno con tres estaciones de muestreo (costero, media laguna y cercana a la barrera arrecifal, Fig. 1). En estos transectos se determinó la calidad de agua a intervalos mensuales o bimestrales.

### *II.1.2. Monitoreo de calidad del agua*

Con una sonda multiparamétrica se determina la temperatura, la conductividad, salinidad, pH, turbidez y oxígeno disuelto. Considerando que la concentración de oxígeno en el agua tiende a bajar durante la noche por la ausencia de fotosíntesis de productores primarios, se recomienda medir el oxígeno durante las primeras horas de la mañana. También se recomienda un sensor de turbidez, o alternativamente que determine la extinción de luz en la columna de agua, midiendo la irradiación activa para la fotosíntesis (PAR, por sus siglas en inglés; i.e., Photosynthetic Active Radiation) a distintas profundidades predeterminadas.

En el caso de determinar la concentración de nutrientes en muestras de agua, se recomienda una muestra de agua superficial en cada estación, y el volumen y el número de muestras puede variar dependiendo de los requisitos del laboratorio donde se procesan las muestras. El agua de la mar colectada se colocará en frascos previamente lavados con jabón libre de fosfatos y HCl 10%, y enjuagados con agua desionizada. Antes de colocar las muestras en los frascos, se pasan por un filtro con poro de 0.22  $\mu\text{m}$  (Millipore) para eliminar partículas pequeñas en el agua, y una vez en el frasco, se añaden 2-3 gotas de cloroformo. Las muestras se colocan sobre hielo inmediatamente después de su colecta y se congelan a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su posterior análisis. Las muestras se mantienen congeladas hasta su análisis en un laboratorio especializado para determinar nutrientes. En la hoja de campo (Hoja 1) se registra la localidad, estación, fecha y hora de muestreo, números de los frascos con las muestras del

agua superficial y en observaciones se mencionan características generales tales como “agua marrón”, “lluvias fuertes”, “presencia de desagues dulce”, etc. y si se aplica, números de registro de los dataloggers, etc.

## II.2 Trabajo de laboratorio

Las técnicas para la determinación de las concentraciones de nutrientes en el agua dependen del laboratorio donde serán procesadas. Se recomienda que mínimo se determinen las concentraciones de amonio, nitritos, nitratos y fosfatos.

## II.3. Trabajo de gabinete

Se recomienda transferir los datos de las sondas directamente a la base de datos. Los datos de nutrientes se capturan para cada estación de muestreo. Se recomienda hacer una verificación preliminar de los datos, el cual consiste en eliminar los datos que se hayan registrado en estado de transición entre los puntos consecutivos de muestreo.

Con los datos de sensor 2PI de LICOR se puede calcular el coeficiente difuso de extinción de PAR ( $K_d$ ) de la siguiente manera:

$$K_d = -1/z \ln [\text{PAR}(z)/\text{PAR}(0)] \quad Z \text{ PAR}(0)$$

$Z$ = profundidad en metros (o diferencia en profundidad entre dos mediciones simultáneas)

$\text{PAR}(Z)$  = irradiancia a la profundidad  $z$

$\text{PAR}(0)$ =irradiancia al superficie del agua

### III. INDICES

Se presentan los valores determinados de los parámetros por estación por muestreo

### IV. Materiales y equipos necesarios para la calidad de agua

#### *Preparación antes de salir al campo*

- Frascos de 250 mL (o de otro volumen dependiendo de los requisitos del laboratorio donde se procesarán las muestras)
- Jabón libre de fosfatos para lavar los frascos
- Ácido clorhídrico al 10% para limpiar los frascos
- Agua deionizada para enjuagar los frascos
- Acciones: Programar el equipo de adquisición de datos e imprimir los formatos de campo
- *Para trabajo de campo*
- Embarcación equipada con suficiente gasolina
- GPS
- Cámara fotográfica (opcional)
- Sonda Multiparamétrica
- Frascos de 250 mL (volumen depende del laboratorio donde se procesarán las muestras) para muestras (24 frascos para el diseño en este protocolo)
- Cloroformo y aplicador de gotas
- Hielera con hielo
- Tablas de acrílico /formatos de campo
- Lápiz

- Congelador a  $-20^{\circ}\text{C}$  para preservar las muestras
- Refrigerador
- Filtros de  $0.22\mu\text{m}$
- Jeringa Milipore con dispositivo para filtrar las muestras

## V. REFERENCIAS

- Álvarez-Filip L, Dulvy NK, Gill JA, Côté IM, Watkinson AR (2009). Flattening of Caribbean coral reefs: region-wide declines in architectural complexity. *Proc. R. Soc. B* 276: 3019
- Carruthers TJB, van Tussenbroek BI, Dennison WC (2005). Influence of submarine springs and wastewater on nutrient dynamics of Caribbean seagrass meadows. *Estuarine Coastal and Shelf Science* 64: 191-199
- Hedley JD, Velázquez-Ochoa R, Enríquez S (2021) Seagrass Depth Distribution Mirrors Coastal Development in the Mexican Caribbean—An Automated Analysis of 800 Satellite Images. *Frontiers in Marine Science*: 1449.
- Hernández-Terrones L, Rebolledo-Vieyra M, Merino-Ibarra M, Soto M, Le-Cossec A, Monroy-Ríos E (2011) Groundwater pollution in a karstic region (NE Yucatan): Baseline nutrient content and flux to coastal ecosystems. *Water, Air & Soil Pollution* 218: 517-528
- Rodríguez-Martínez RE, Ruíz-Rentería F, van Tussenbroek BI, Barba-Santos G, Escalante-Mancera E, Jordán-Garza G, Jordán-Dahlgren E (2010) Environmental state and tendencies of the Puerto Morelos CARICOMP site, Mexico. *Revista Biología Tropical* 58: 23-43
- Van Tussenbroek BI (2011) Dynamics of seagrasses and associated algae in coral reef lagoons. *Hidrobiológica* 21: 293-310
- Van Tussenbroek BI, Cortés J, Collin R, Fonseca AC, Gayle PMH, Guzmán HM, Jácome GE, Juman R, Koltés KH, Oxenford HA, Rodríguez-Ramírez A, Samper-Villarreal J, Smith SR, Tschirky JJ, Weil E (2014) Caribbean-wide, long-term study of seagrass beds reveals local variations, shifts in community structure and occasional collapse. *PlosOne* 9: e90600

Van Tussenbroek, BI, Hernández Arana HA, Rodríguez-Martínez RE, Espinoza-Avalos J, Canizales-Flores HM, González-Godoy CE, Barba-Santos MG, Vega-Zepeda A, Collado-Vides L (2017) Severe impacts of brown tides caused by *Sargassum* spp. on near-shore Caribbean seagrass communities. *Marine Pollution Bulletin* 122: 272-281

## FIGURAS

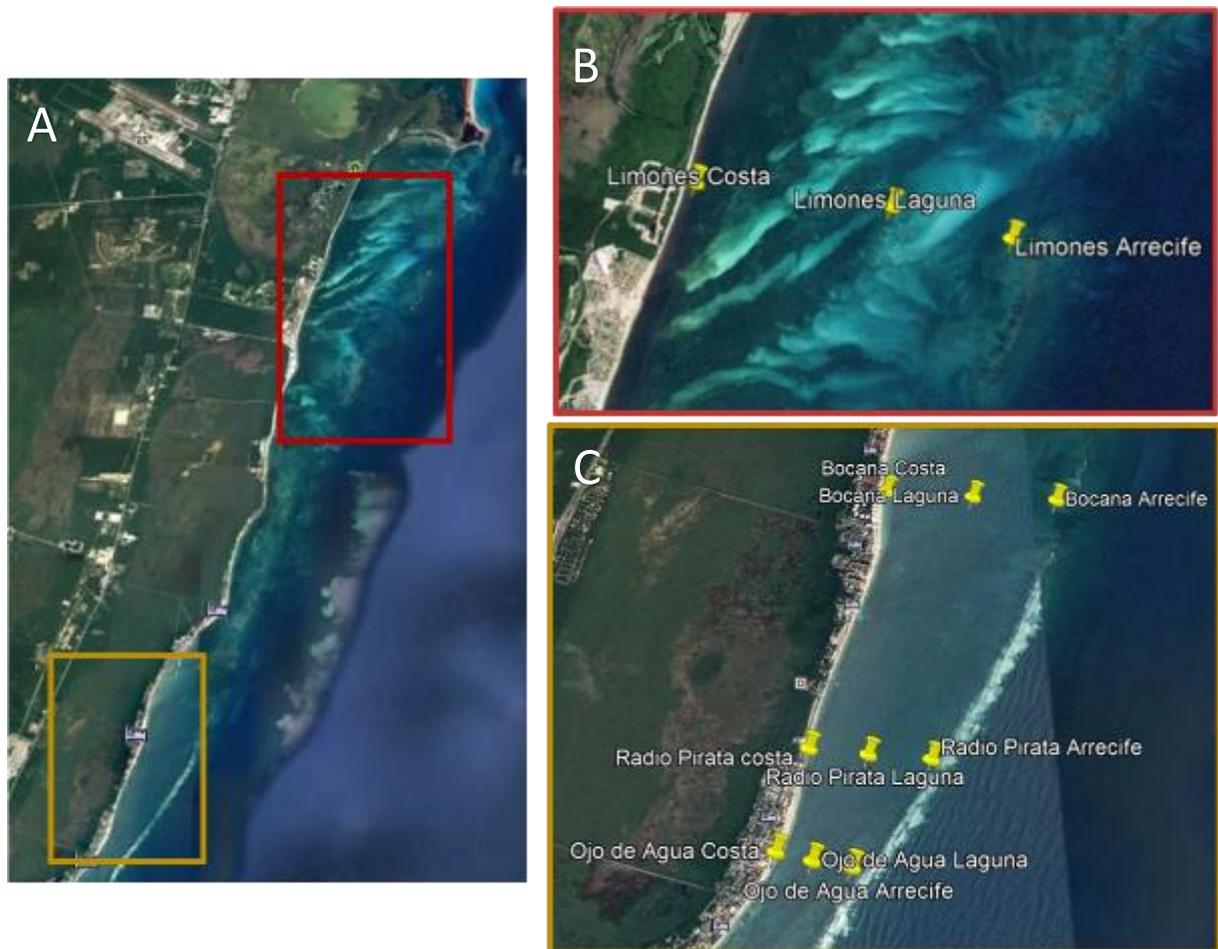


Fig. 1. (A) Mapa del área de estudio de Puerto Morelos; (B) sitios de monitoreo mensual de calidad de agua en la sección norte de la laguna arrecifal; (C) sitios de monitoreo mensual de calidad de agua en la sección sur de la laguna arrecifal. Los cinches amarillos indican los puntos en los transectos de costa hacia el arrecife

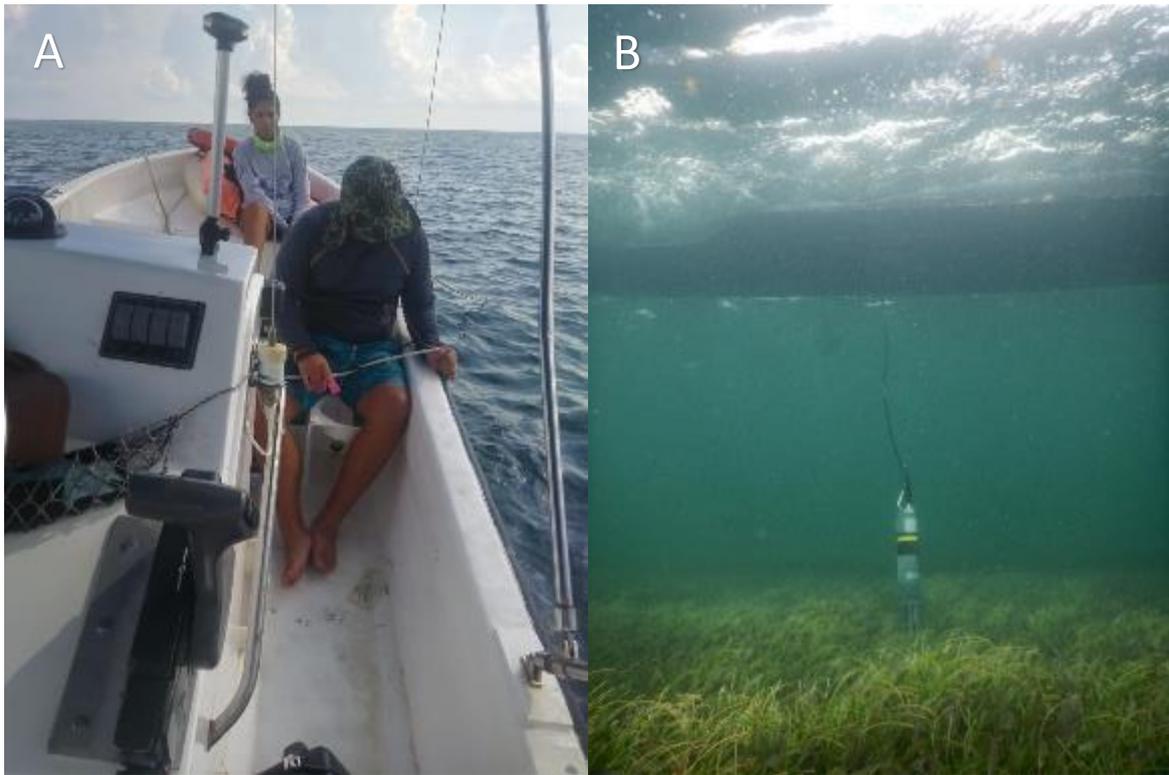


Fig. 2. Trabajo de campo. (A y B) midiendo la calidad de agua sobre el dosel de una pradera de pastos marinos somero con una sonda multiparamétrica

Hoja 1. Formato de registro de datos de campo para monitoreo de la calidad de agua

Localidad Fecha Condiciones de tiempo Observador						
Estación	GPS Long	Lat	Hora	Replica	frasco #	Observaciones

Hoja 2. Formato de captura de análisis de muestras de agua

Frasco	[amonia]	[nitritos]	[nitratos]	[fosfatos]	[otros]	