

THE VIEQUES  
CONSERVATION  
& HISTORICAL  
TRUST



FIDEICOMISO  
DE CONSERVACIÓN  
E HISTORIA  
DE VIEQUES

7/17/2014

# Proyecto de Conteo de Dinoflagelados a Corto Plazo- Informe final Acuerdo Núm. 2014-000087

Mark P. Martin Bras

VIEQUES CONSERVATION & HISTORICAL TRUST

# Proyecto de Cuento de Dinoflagelados a Corto Plazo

## Acuerdo Núm. 2014-000087

### Informe Final

#### Trasfondo:

El 15 de enero de 2014 el Fideicomiso de Conservación e Historia de Vieques (FCHV) fue informado por varias fuentes de una dramática disminución en la luminosidad de la Bahía Bioluminiscente Puerto Mosquito de Vieques. El FCHV, a su vez, le remite la información al DRNA y a nuestros asesores y determina recoger datos de calidad de agua en la bahía en puntos adicionales al lugar que hemos estado muestreando desde 2012. EL personal del FCHV observa visualmente la disminución de bioluminiscencia por primera vez el **24 de enero del 2014**. A partir de esta fecha los conteos de dinoflagelados demuestran una disminución en las concentraciones de los dinoflagelados bioluminiscentes *P. bahamense* en comparación a estudios pasados. EL FCHV lleva desde el 2012 tomando datos de calidad de agua en colaboración con el USGS en una estación fija en la costa sur de Puerto Mosquito. Adicionalmente, se determinó continuar tomando datos y muestras de fitoplancton en puntos adicionales de la bahía para tener información que se pudiera analizar y utilizar para futuras comparaciones.

Este muestreo de parámetros de calidad de agua y muestreo de agua para conteo de fitoplancton fueron hechas por el FCHV antes de que se estableciera un plan de conteo de fitoplancton y no se hicieron utilizando la misma metodología que se ha utilizado para el estudio financiado por este convenio, en términos de puntos de muestreo y frecuencia de colección de datos. No obstante, constituye la única información disponible sobre las condiciones en la bahía durante el comienzo del evento de disminución de luminiscencia, ya que no se estaba llevando a cabo por investigador alguno ningún conteo de los dinoflagelados bioluminiscentes o el fitoplancton en general.

En el pasado se han reportado varios eventos en esta y otras bahías bioluminiscentes donde se observa una disminución en la bioluminiscencia por periodos cortos de tiempo. En esta ocasión, al no observarse una mejoría en la bioluminiscencia se recomendó reunir a investigadores y agencias que pudieran aunar recursos para estudiar el evento y se determinó la necesidad de establecer planes de estudios a corto y largo plazo. Como parte de este esfuerzo, el FCHV recomendó que se llevaran a cabo una serie de estudios.

En aras de tener información en el plazo más breve posible, se determinó llevar a cabo un conteo de dinoflagelado de forma acelerada en un trabajo conjunto entre la Universidad de

Puerto Rico, Recinto de Humacao (UPRH) y el FCHV. Las muestras serían tomadas por el FCHV y el Dr. Miguel Sastre, de la UPRH llevaría a cabo el conteo en el laboratorio de la universidad y sometería el análisis de los datos. El Dr. Sastre también se ofreció a contar y analizar todas las muestras tomadas por el Fideicomiso al inicio del evento de disminución de luminiscencia y previo a la firma de este convenio.

Adicionalmente, se destaca el hecho de que agencias como el USGS y la JCA llevaron a cabo estudios de perfiles de calidad de agua y nutrientes; se recomendó y asignó al manejador de la Reserva a llevar a cabo inspecciones oculares en la bahía; se estableció que varios representantes del DRNA y asesores del FCHV visitaran la bahía de noche para observar la bioluminiscencia, y se reunieron en el DRNA investigadores de la UPRH y el Recinto de Mayagüez de la Universidad de Puerto Rico (UPRM) para determinar si se debían tomar acciones adicionales. También, la UPRM, asistidos por el manejador de la reserva y el FCHV visitarían la bahía para coleccionar muestras, medir la bioluminiscencia y contar los organismos.

Se analizaron todas las muestras tomadas durante el periodo de investigación y fueron incluidas en este estudio.

### **Aprobación del proyecto**

La propuesta para el conteo de fitoplancton a corto plazo se aprobó el 2 de mayo de 2014 y tuvo un término de dos meses para su conclusión.

### **Preparación**

El personal del Fideicomiso hizo las preparaciones de laboratorio necesarias para llevar a cabo el estudio. Nos reunimos con el oficial de manejo, Biólogo Edgardo Belardo y los vigilantes asignados a la Reserva para coordinar las visitas y apoyo. Se llevaron a cabo inspecciones de campo para visualmente verificar si había cambios perceptibles o indicadores visibles de daño o impactos al sistema.

### **Compra de equipo**

Se compró equipo necesario para el laboratorio y equipo necesario para la toma de muestras desde la embarcación:

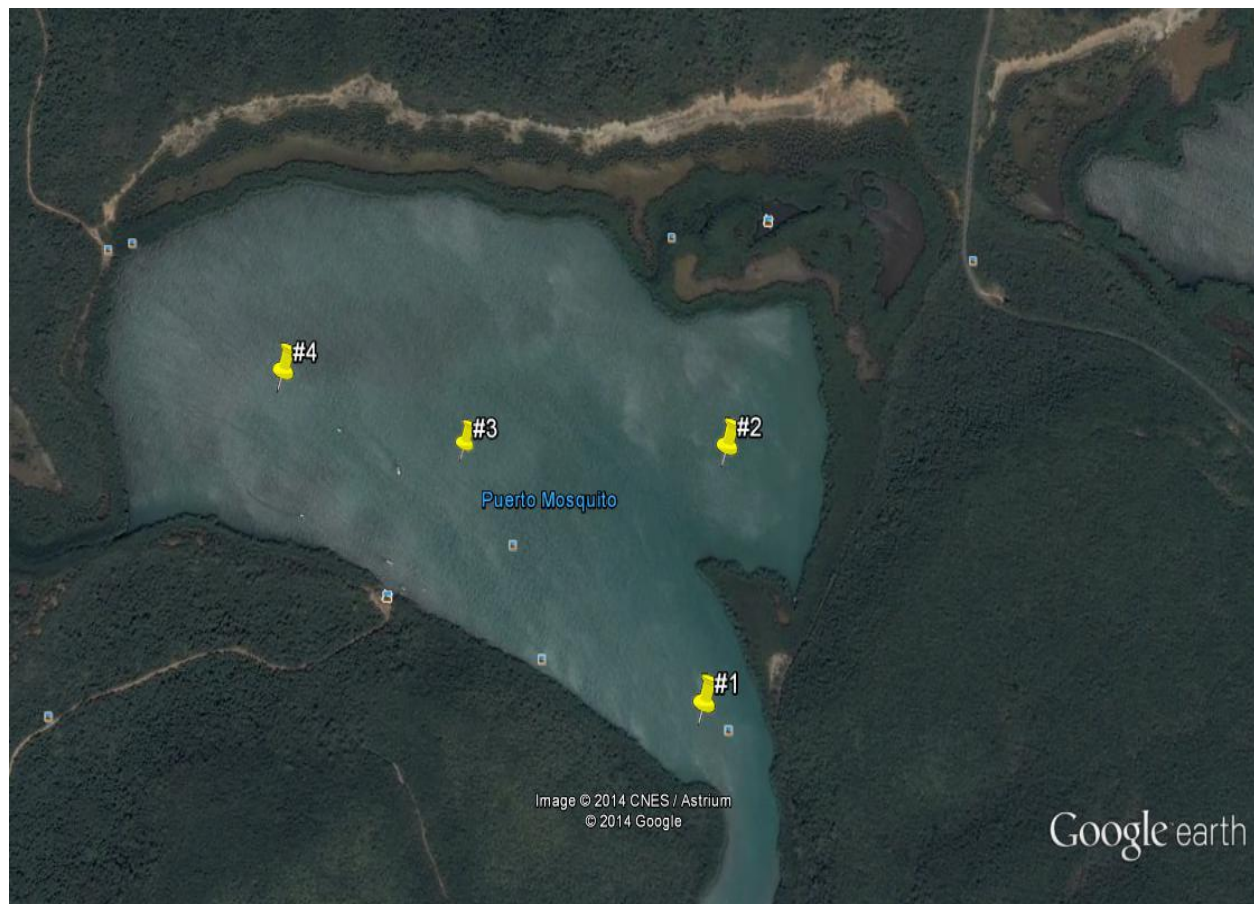
- Equipo para reparación del instrumento de colección de agua a profundidad
- Botellas para colección de agua para el muestreo
- Equipo para colección de muestras en la noche para embarcación e investigador
- Materiales de oficina y laboratorio (misceláneos)

## Inicio del proyecto

Previo a la firma del convenio llevamos a cabo reuniones con el Dr. Sastre para discutir protocolos y metodologías de colección. Se visitó el laboratorio de la universidad para establecer los métodos de colección y preservación de las muestras. También iniciamos conversaciones sobre la posibilidad de capacitar personal del FCHV para hacer conteos. Previo a la firma del convenio también se hicieron ajustes de puntos de muestreo: En visita de campo de verificación para establecer los puntos finales se determinó un cambio en uno de los puntos de muestreo porque no era lo suficientemente profundo. Otro de los puntos se cambió para incluir el área este de la bahía en el área reportada como de mayor bioluminiscencia desde que la reducción en el fenómeno fuera reportado.

Las coordenadas de los puntos escogidos se marcaron con GPS.

Estación	Latitud	Longitud
#1	18°05'56.3	65°26'27.77
#2	18°06'07.58	65°26'28.43
#3	18°06'05.32	65°26'43.06
#4	18°06'06.62	65°26'54.01



## Metodología

### Muestreo -

Muestras tomadas previo al Acuerdo- El Fideicomiso tomó muestras el 24, 27 y 28 de enero, el 3 de febrero, el 9, 19 y el 31 de marzo, el 2, 11, 13 17 y el 29 de abril y el 4 de mayo de 2014, desde el inicio del evento de disminución de luminiscencia, hasta previo a la firma del convenio sin que éstas formaran parte de este acuerdo. Las diferencias entre estas muestras previas y las tomadas como parte del estudio llevado a cabo bajo este Acuerdo de Colaboración son las siguientes:

- (a) los puntos de muestreo no incluyen sub- muestras y
- (b) no hay muestras tomadas a 2 metros de profundidad.

El volumen de la muestra y el método de preservación de la muestra son idénticos a los del Acuerdo. Estas muestras previas se entregaron al laboratorio del Dr. Sastre en la UPRH en las siguientes fechas: 30 de enero, 4 de abril y el 2 de mayo.

Muestras tomadas bajo el Acuerdo- Las muestras se tomaron directamente a seis (6) pulgadas y a dos (2) metros de profundidad y colocadas en envases de 1 litro con 25ml de una solución de formalina. En la estación #1 y #4 la muestra tomada a profundidad se tomó a de aproximadamente (1.25) metros bajo el nivel de la superficie, por limitaciones en la profundidad de la bahía en esos lugares. Se tomaron la muestra principal y un duplicado. Las muestras se coleccionaron por personal autorizado del FCHV en embarcaciones autorizadas por el DRNA y debidamente equipadas. Todas las visitas fueron notificadas al Manejador de la Reserva el biólogo Edgardo Belardo y en dos ocasiones estuvo presente la Sgto. Omaira Pereira y otros vigilantes del DRNA.

Las muestras de agua fueron tomadas durante la noche y en una ocasión de día desde la embarcación utilizando cilindros graduados y vertidas en las botellas según especificaciones del Dr. Sastre. Se tomaron muestras de superficie y profundidad utilizando un colector de agua VanDorn de la compañía Wildco. Se tomaron datos de calidad de agua simultáneamente utilizando el multímetro YSI 6920

Toma de Muestras	Entrega al laboratorio
9 de mayo, 2014	21 de mayo, 2014
16 de mayo, 2014	23 de mayo, 2014
23 de mayo, 2014	26 de mayo, 2014
30 de mayo, 2014 ( diurna* y nocturna)	2 de junio, 2014

\*Se explica a continuación

#### Calidad de agua -

El monitoreo de calidad de agua se ha estado llevando a cabo desde el 2012 como parte de un proyecto conjunto del *United States Geological Survey* (USGS) y el FCHV. Con el propósito de apoyar un proyecto de control de erosión y sedimentación que el FCHV ha iniciado con el apoyo y colaboración de la EPA y del DRNA, tenemos el análisis de los datos de calidad de agua para el primer semestre de 2012 de un punto de muestreo ubicado en la bahía.

Para propósitos de este Acuerdo, el personal del FCHV monitoreó la calidad de agua desde el inicio de la disminución hasta el presente, incluyendo las ocasiones en que se tomaron muestras de agua para el estudio de poblaciones de fitoplancton. Los parámetros monitoreados con el instrumento YSI sonda 6920 fueron los siguientes: pH, salinidad, conductividad, oxígeno disuelto en mg/l y %(óptico), turbidez (óptico) y temperatura.

#### Acciones adicionales:

- El 25 de mayo de 2014 se tomó una muestra de agua de la Bahía para conteo de fitoplancton que se llevará a cabo en el Instituto Scripps de Oceanografía de la Universidad de California, Recinto de San Diego.
- \*El 30 de mayo de 2014 se llevó a cabo un muestreo diurno conjunto entre la JCA (para medir nutrientes) y el USGS y el FCHV (para medir parámetros de calidad de agua y clorofila). Al momento de presentar este informe final el Fideicomiso no tiene resultados de estos muestreos, pues todavía están siendo analizados.
- 11 de junio de 2014 Muestreo con personal de la Universidad de Puerto Rico, Recinto de Mayagüez, Brenda Soler y personal asistente utilizaron varias metodologías para estudiar seis puntos en la Bahía. En uno de estos puntos se tomó una muestra bajo la metodología del UPRH y otra bajo la metodología utilizada por el Instituto Scripps de Oceanografía de la Universidad de California en San Diego. Este muestreo fue repetido el 11 de julio de 2014. En esta visita se pudo apreciar un incremento importante en la intensidad de bioluminiscencia. Los investigadores y personal del DRNA y el FCHV coincidieron en la opinión de que la intensidad

era significativamente mayor a la observada en la visita anterior. La intensidad era claramente visible aun cuando era un día previo a la fase de luna llena.

- 18 de junio de 2014 Muestreo de superficie en un punto de la bahía con metodología de UPRH e Instituto Scripps de Oceanografía de la Universidad de California en San Diego para obtener datos luego de la aparente recuperación.

NOTA: Consideramos necesario comparar los datos resultantes de los estudios llevados a cabo mediante diferentes metodologías.

### **Visitas de observación a la Bahía**

Se llevaron a cabo una serie de visitas a la Bahía para observar su aparente bioluminiscencia. En las mismas participaron personal del FCHV del DRNA y voluntarios que se ofrecieron a observar la bioluminiscencia por las noches. Se determinó que la bioluminiscencia era muy tenue o no se podía percibir en el periodo comprendido desde el final de enero a marzo. En el mes de abril se observó un aparente aumento en la bioluminiscencia. Sin embargo la misma parecía variar en diferentes localizaciones y entre visitas. En el mes de mayo se pudo percibir un leve aumento en la bioluminiscencia, especialmente en las últimas visitas del mes. En junio 13 se informó un gran aumento en la aparente bioluminiscencia. Este aparente aumento en intensidad de la bioluminiscencia es confirmado el 18 de junio por personal del FCHV. Se continúa observando este aumento en las fechas del 21, 23, 28 de Junio. El 11 de Julio se vuelve a observar un aumento que coincide con una visita para tomar muestras.

El FCHV continúa buscando opciones de diseño de una escala visual o asistida por tecnología para que diversos usuarios del recurso o personal adiestrado en la metodología escogida puedan someter informes periódicos de intensidad de luminiscencia basados en la observación. En un foro auspiciado por el FCHV se presentó la idea de una aplicación para teléfonos celulares y tabletas digitales.

El FCHV hasta ahora ha utilizado una escala subjetiva del 1 al 10 en orden ascendente según la apreciación del observador, siendo 10 la condición óptima. Durante este periodo de disminución de la concentración se determinó que cualquier escala a utilizarse debe incluir un adiestramiento al personal que la vaya a informar, debido al carácter subjetivo de este tipo de método.

Durante el estudio de conteo de dinoflagelado a corto plazo se informan los siguientes números, basados en la escala 1= no hay brillo; 10= brillo óptimo. Se basan en unos estimados de intensidad de los puntos que no incluye la entrada de la bahía.

Fecha	Intensidad de la luminiscencia observada
5/9/14	2
5/16/14	3
5/23/14	5
5/30/14	3

Incluimos para referencia unas observaciones recientes

Fecha	Intensidad de la luminiscencia observada
6/3/14	4
6/18/14	7
6/29/14	7
7/11/14	9

Consideramos necesario desarrollar una metodología más rigurosa para mejorar los datos de la apreciación humana, la cual varía grandemente.

#### Datos climáticos

Datos climáticos disponibles Estos datos fueron preparados por el FCHV, en algunos casos con la colaboración de otras agencias o instituciones educativas. No se consideran análisis finales. EL FCHV continúa trabajando con el USGS y se ha comunicado con las agencias que



trabajan en las estaciones localizadas en áreas cercanas a la bahía. En específico la estación RAWS localizada al este de Puerto Mosquito y la estación de la NOAA localizada al suroeste de Puerto Mosquito. Dado a que los datos de algunas estaciones están incompletos debido a problemas técnicos de las estaciones no toda la información está disponible.

La estación de la NOAA localizada en el muelle de la Esperanza es la estación de mareas más cercana a Puerto Mosquito

<http://tidesandcurrents.noaa.gov/NOAAtidepredictions/NOAATidesFacade.jsp?Stationid=9752695>

Esta estación estuvo fuera de servicio desde septiembre 2013 hasta abril del 2014.

La estación meteorológica del USGS está localizada en el área de Sun Bay en la reserva.

[http://waterdata.usgs.gov/pr/nwis/uv/?site\\_no=180559065280501&PARAMeter\\_cd=72019](http://waterdata.usgs.gov/pr/nwis/uv/?site_no=180559065280501&PARAMeter_cd=72019)

Esta estación no mide mareas y estuvo fuera de servicio por mantenimiento durante parte de este estudio.

La estación conocida como RAWS se encuentra en los terrenos del Servicio de Pesca y Vida Silvestre al este de la reserva.

<http://www.raws.dri.edu/cgi-bin/rawMAIN.pl?txPVIE>

La instalación de una estación permanente, aprobada y en proceso de permisos, en la bahía que incluye mareas, calidad de agua y otros parámetros facilitará este proceso en el futuro.

El FCHV preparó un análisis de viento en comparación con años anteriores basado en los datos disponibles. Existen una serie de estudios y observaciones que mencionan el efecto de los vientos en términos de intensidad y dirección como factores que pueden afectar las concentraciones de dinoflagelados bioluminiscentes en las bahías. En Puerto Mosquito se considera que los vientos prevalecientes son del este y que estos ayudan a mantener la alta concentración de organismos bioluminiscentes dentro de la bahía. En ocasiones se ha propuesto la hipótesis de que vientos prevalecientes del norte por un periodo prolongado podrían contribuir a una disminución en la concentración de organismos en Puerto Mosquito.

En este análisis se concluye que los vientos no varían significativamente en los últimos años, en términos de dirección. No obstante, se identifica una variación en los vientos del norte en el mes de marzo 2014. Debido a que el evento de disminución de luminiscencia se inició en enero esta variación sólo podría ser un factor que pudo contribuir a prolongar o agravar el mismo.

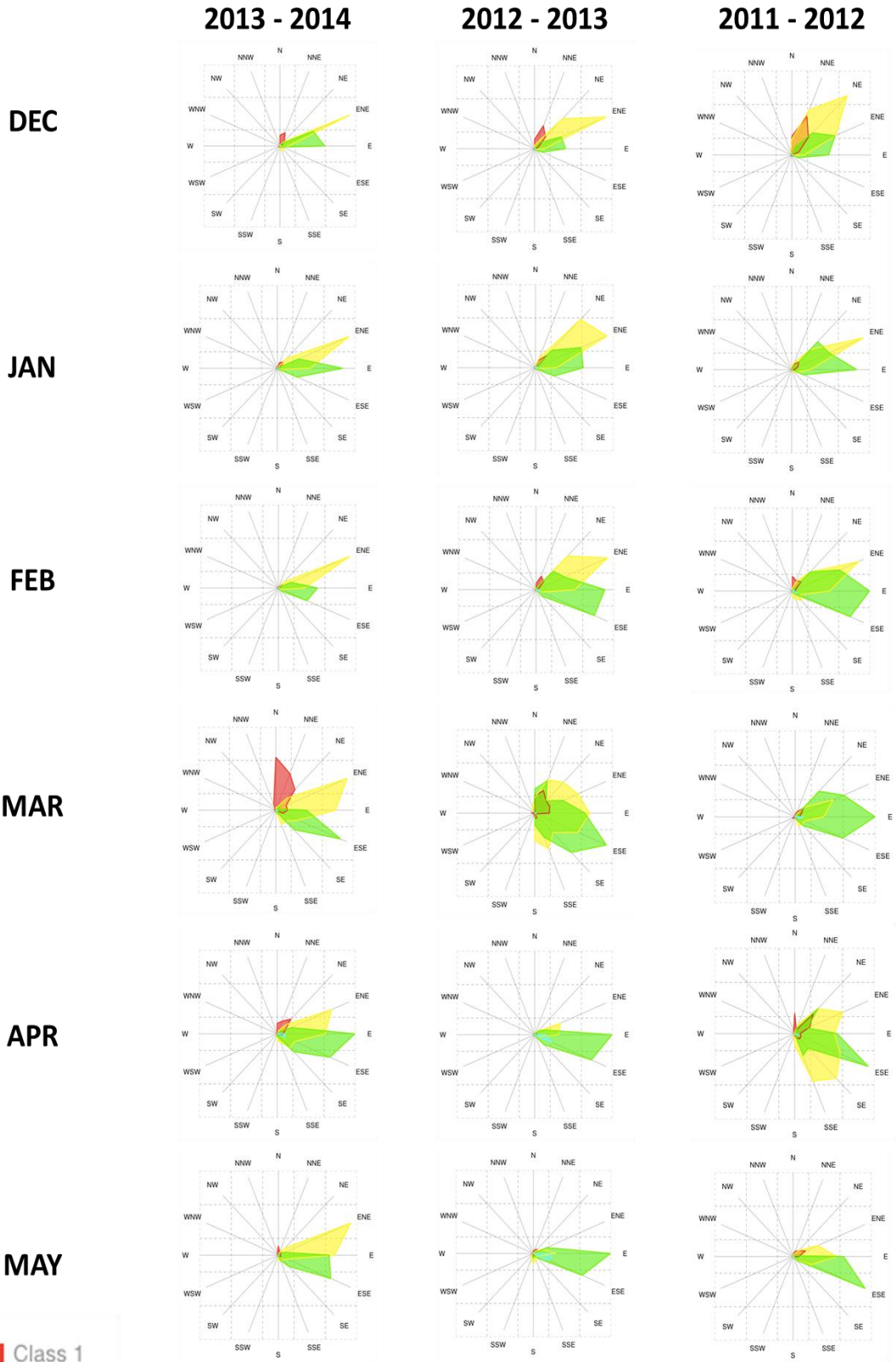


Figure 1. Wind speed and direction distributions over two years from December to May. Wind roses show the frequency of wind class events by direction over each given month, where Class 1 = 0.3 - 1.5 m/s; Class 2 = 1.6 - 3.3 m/s; Class 3 = 3.4 - 5.4 m/s, Class 4 = 5.5 - 7.9 m/s; and Class 5 = 8.0 - 10.7 m/s.

## Precipitación



La precipitación durante el primer semestre de 2014 fue confirmada como menor que la que ocurriría en los años anteriores. La tabla representa información de la estación RAWS al este de la reserva. Las estaciones de la NOAA y USGS tienen periodos donde no se registran datos de precipitación en fechas relacionadas al evento de la disminución en la bioluminiscencia. Ambas estaciones han sido reparadas y están registrando datos. Existe una hipótesis sobre el efecto de la ausencia de precipitación sobre las poblaciones de *P. bahamense* en Puerto Mosquito. Esta hipótesis se basa en que la disminución de esta especie se debe a una falta de nutrientes por un periodo de tiempo extendido. A su vez, esta falta de nutrientes ocurre por la falta de escorrentías, que es el medio a través del cual llegan los mismos a la bahía. Brenda Soler de la UPR Recinto de Mayagüez ha llevado a cabo unos estudios con fines de comprobar esta hipótesis en la Bahía Fosforescente de la Parguera, Puerto Rico.

**Mareas-** La estación de mareas de la NOAA en Esperanza, estación más cercana a la Bahía, estuvo fuera de servicio durante el período del comienzo del evento. Actualmente está funcionando y se están tomando datos de mareas para hacer comparaciones y determinaciones de flujo de agua. El investigador del USGS Luis Soler está estudiando patrones basados en análisis de estaciones de mareas históricamente compatibles con la estación de la Esperanza en Vieques. Unos patrones de mareas donde el nivel del agua se mantiene por encima del nivel del mar (Mean Sea Level) por un periodo de varios días consecutivos (4 a 5) está siendo considerado en el análisis de factores que pueden haber contribuido o sido un factor en la reducción de la concentración de dinoflagelados bioluminiscentes. No hay determinación sobre

este factor al momento del informe, pero se conoce que el Sr. Soler va a emitir un informe relacionado ese análisis.

**Parámetros adicionales-** Se considera importante analizar factores atmosféricos generales en adición a los que tradicionalmente se relacionan a los sistemas bioluminiscentes y que estén disponibles en las estaciones meteorológicas. Entre ellos temperatura, radiación solar, presión barométrica, etc. El DRNA le ha informado al FCHV que le ha hecho un pedido de análisis meteorológicos a diversas agencias.

**Desperdicios sólidos-** Durante el periodo del estudio en el mes de mayo, 2014 se encontró una cantidad de desperdicios sólidos en el camino y área de desembarque principal. Se realizaron 3 limpiezas del área con el grupo de estudiantes de MANTA donde se recogieron el equivalente a 6 bolsas grandes de basura.

Los desperdicios incluían latas, botellas, correas de amarre, luces desechables, bolsas plásticas, colillas de cigarrillos, envolturas de dulces, mapas comerciales, zapatos, sandalias, tapas de botellas, vasos plásticos, y pedazos de plástico y metal. Una bolsa de basura cuelga del rotulo interpretativo. No se conoce quien la provee o con cuanta frecuencia es removida. La estación de desecho de hilo de pescar es usada para todo tipo de basura.

**Embarcaciones-** se observaron varias embarcaciones en el área de la bahía.

Velero no identificado con equipo de flotación amarrado para mantenerla a flote. Removido del área para la fecha del informe final

Barco de pesca comercial flotando cerca del medio de la bahía. Removido del área para la fecha del reporte final

Barco comercial de pesca encallado en la parte oeste de la bahía.

Embarcación Luminosa II- Se mantiene en el área de desembarque flotando. En ocasiones mantenía botes de pedal flotando en su alrededor.

Kayaks (2) con instalaciones de tubos de metal flotando en el área de desembarque, luego en la orilla en el área de los mangles. Removidos para la fecha del informe final.

**Visitantes-** Se estimó un número de personas presentes en la bahía durante el estudio de la cantidad de personas observada durante nuestras visitas. Se determina que la recopilación de datos del personal presente del DRNA es más preciso debido al poco tiempo que el personal del FCHV está en la bahía. Los conteos superficiales incluyen observaciones en el agua si determinado que el grupo no es el mismo observado en el desembarque.

Fecha	# personas
5/09/14	16
5/16/14	23
5/23/14	40
5/30/14	24

**Contaminación lumínica-** Se consideró tratar de obtener un fotómetro para el análisis de la contaminación lumínica. Lamentablemente no se pudo adquirir este instrumento para el estudio. Si se identificó un efecto directo en la manera que se puede apreciar la bioluminiscencia por el impacto de las luces. Este impacto aparenta haber aumentado sustancialmente desde el 2009. Se recomienda tomar medidas frecuentes y continuas mediante fotómetro de varios puntos de la bahía a diferentes horas y con documentación fotográfica que ayude a identificar fuentes. El FCHV es parte del comité asesor sobre contaminación lumínica de la Junta de Calidad Ambiental y continuará buscando alternativas e impulsando las iniciativas para la reducción y el control de los impactos de las luces artificiales. Varias áreas a atender:

- Cubiertas para las luminarias de los parques de pelota
- Establecimiento de zonas de baja iluminación
- Cubiertas para luminarias LED instaladas recientemente (área de Luján)
- Censo de luces artificiales con controles o alternativas de iluminación que sean cónsonas con las necesidades reales de la comunidad
- Participación en la planificación y diseño de nuevas instalaciones

## **Mareas**

No existen datos de mareas referentes al comienzo de la disminución de *P. bahamense* en Puerto Mosquito. Esto dado que la estación de la NOAA en Esperanza estaba fuera de servicio. Se llevaron a cabo unos análisis utilizando la estación de la NOAA en Yabucoa, la cual fue establecida por Jorge Fernández Porto, asesor del FCHV y Luis Soler del USGS, como la estación más cercana a las horas de los extremos mareales en comparación con La Esperanza. Este análisis se realizó basado en datos históricos de varias estaciones en comparación a la estación de mareas de la Esperanza, la cual está activa actualmente, pero no durante parte del periodo del estudio. Es la opinión de los investigadores que los datos de la estación de Yabucoa no presentan una relación obvia con la disminución de *P. bahamense* en Puerto Mosquito. La estación que se instalará próximamente dentro de la Bahía Puerto Mosquito incluirá medidas de mareas.

## **Participación en estudios adicionales**

**Regla de medición de marea-** Se instaló una regla de medida de la cantidad de agua que intercambia la bahía en un cambio de marea. Con la ayuda de vigilantes del DRNA y los asesores Luis Soler del USGS y Jorge Fernández Porto del comité de asesores del FCHV. Los resultados presentaron información que se está analizando. Se recomendó una batimetría que provea información necesaria para precisar los datos recogidos por ese estudio de intercambio de agua.

**Parámetros y muestreos adicionales-** Se considera importante analizar factores atmosféricos generales en adición a los que tradicionalmente se relacionan a los sistemas bioluminiscentes y que estén disponibles en las estaciones meteorológicas. Entre ellos temperatura, radiación solar, presión barométrica, etc.

**Cambios climáticos-** el investigador no ha obtenido suficiente data para determinar si existe una relación del evento con algún efecto de cambios climáticos o tendencias que hayan cambiado sustancialmente en los últimos años.

## Conclusiones

Se pueden notar unas concentraciones muy bajas de *P. bahamense* en las muestras en relación a lo que se espera comúnmente en Puerto Mosquito. En ocasiones se registran números más altos de otras especies de fitoplancton, particularmente *C. furca*, en la misma. También los datos de calidad de agua presentan la oportunidad de análisis adicional al recibir las muestras de la aparente mejoría de la concentración de organismos en Puerto Mosquito. Este informe final incluye anejado el documento sometido por el Dr. Sastre con sus conclusiones sobre el análisis de fitoplancton e información sobre localización, patrones y correlaciones que se llevaron a cabo en combinación con el FCHV. Se coordina con la UPRH y el Dr. Sastre un muestreo adicional para este periodo de aparente mejoría en la bioluminiscencia.

A juicio del Dr. Sastre, se debe plantear como posible causa de la evidente reducción de la población de *P. bahamense* en Puerto Mosquito una reducción en la cantidad de nutrientes disponibles. Plantea el Dr. Sastre que el aumento de la población de *C. furca* puede ser indicador de esto, ya que esta especie es mixotrófica, es decir, que además de obtener energía mediante la fotosíntesis, también depreda organismos ciliares para obtener energía, actividad que no es compartida por *P. bahamense*. En otras palabras, en un medio caracterizado por pobreza de nutrientes, *C. furca* tiene una ventaja sobre *P. bahamense* al tener un mecanismo alterno de obtener nutrientes.

Se anejan también información de mareas, condiciones climáticas y calidad de agua durante el estudio a corto plazo para futuras conclusiones. Faltan por analizar varias muestras coleccionadas fuera del muestreo financiado por este Acuerdo de Colaboración (corto tiempo), recientemente durante la aparente mejoría sustancial (11 de Junio, 2014, 18 de junio, 2014, 11 de julio, 2014).

Es la conclusión del FCHV de que no se ha determinado una causa directa de la disminución de dinoflagelados en el periodo de enero a junio del 2014 al momento de someter este informe final. Esperamos analizar los resultados de las muestras tomadas en la aparente mejoría en Puerto Mosquito. Entendemos imprescindible establecer un estudio completo de más alcance y a largo plazo del sistema bioluminiscente de Puerto Mosquito que incluya como mínimo; conteo de fitoplancton, condiciones de calidad de agua, batimetría, mareas y flujo de agua, condiciones meteorológicas, impactos antropogénicos y sus efectos. Al igual determinamos que para poder establecer condiciones normales e identificar cambios se debe investigar el ecosistema de Puerto Mosquito con sus ecosistemas relacionados (arrecifes, manglares, lagunas, etc.), su funcionamiento y condiciones actuales en su totalidad. El fideicomiso recomienda un resumen de los estudios realizados en años previos en las bahías bioluminiscentes.

## **Relaciones y comparaciones al evento de disminución en la concentración de dinoflagelados bioluminiscentes en Laguna Grande.**

Se determina importante estudiar las condiciones biológicas, químicas, atmosféricas e información adicional disponible que documente los eventos de disminución de *P.bahamense* en ambos sistemas bioluminiscentes.

Se determina como indispensable el seguimiento en el conteo de dinoflagelados como tarea continua. Es de vital importancia conocer la distribución y abundancia de los distintos dinoflagelados presentes en la bahía a través del proceso de recuperación que aparenta estar ocurriendo, así como conocer el tiempo que toma llegar a equilibrios poblacionales de este táxon.

Otras teorías presentadas como posibilidades no han sido estudiadas o carecen de información necesaria para llevar a cabo análisis o determinaciones éstas incluyen pero no se limitan a:

- Falta de nutrientes en la bahía por falta de lluvia y otros factores.
- Relación de la luna y su proximidad a la tierra en términos de efectos de mareas.
- Efectos antropogénicos de desarrollos en las áreas de la cuenca hidrológica de la bahía.
- Efectos de humanos y su uso de la bahía.
- Cambios en la profundidad de la bahía o la entrada de la bahía.
- Introducción de algún tipo de químico o sustancia nociva al sistema.
- Contaminantes de fuentes cerca de la costa de Puerto Mosquito.
- Análisis de combinación de factores.
- Resumen de data existente sobre las condiciones de Puerto Mosquito.

## **Reuniones con asesores**

Se han celebrado reuniones con los asesores del FCHV y el DRNA en relación a las posibles causas y el análisis de la información disponible. También se han llevado a cabo visitas para tomar información de calidad de agua y observar el sistema en las que participaron en diferentes ocasiones el Dr. Michael Latz y Melissa Carter de la Universidad de California en San Diego, el Dr. John Wise de la Universidad del Sur de Maine y otros asesores.



## **Agradecimientos**

Agradecemos la colaboración y esfuerzos del Dr. Miguel Sastre y Francés Rivera en los conteos de fitoplancton y análisis y asesoramiento científico de parte de la UPR recinto de Humacao. . Los asesores, voluntarios e internos del FCHV también proveyeron su tiempo voluntario a este proyecto en varias formas en específico destaco la ayuda de Jorge Fernández Porto, Dr. John Wise, Dr. Michael Latz, Melissa Carter y la Directora Ejecutiva Lirio Márquez D'Acunti y Helena McMonagle. Agradecemos la ayuda de Jorge Morales como grumete y asistente de campo. La ayuda de Island Adventures y su embarcación "Luminosa II" fue imprescindible para realizar las visitas adicionales para muestreos con la UPR-M, USGS y JCA. Varios de los productos no contemplados para esta propuesta serán entregados a las personas que investigan el evento y surgen a base de su amable cooperación y de las colaboraciones con los investigadores Luis Soler del USGS, Brenda Soler, Luis Rodríguez y Aurea Rodríguez de la UPR-Mayaguez. El biólogo manejador de la reserva Edgardo Belardo estuvo presente en varias de las visitas y sirvió como apoyo durante todo el estudio. El Sr. Belardo participo en las visitas de la UPR-M y capitaneo la embarcación "Peje Blanco" en 4 visitas de observación. De recibir algún resultado o conclusión adicional se le enviara copia al DRNA de PR.

Seguimos llevando a cabo visitas de campo y coordinando con investigadores en la búsqueda de recursos y apoyo científico que nos ayude en las áreas de muestreo, análisis, desarrollo de metodologías y estrategias de investigación que ayuden a facilitar y proveer información más completa y constante en Puerto Mosquito. Actualmente se están llevando a cabo una serie de pruebas y conteos de práctica en el FCHV para determinar metodologías y programas de muestreo que se puedan realizar a nivel local y con la participación de la comunidad. El FCHV ha identificado fondos para la compra de equipo de microscopio y continúa en la búsqueda de recursos que permitan el conteo desde el laboratorio Elizabeth Langhorne en las instalaciones del FHCV en Esperanza.

### **Anejado a este reporte final incluimos**

- Anejo 1-Resultados de análisis de datos- Dr. Miguel Sastre y Frances Rivera de la UPR recinto Humacao
- Anejo 2-Graficas de calidad de agua y posibles correlaciones con fitoplancton- Helena McMonagle, Mark Martin Bras.
- Anejo 3-Datos de condiciones climáticas para los días de muestreo.
- Anejo 4-Datos de marea al momento del muestreo
- Anejo 5-Datos de la fase de la luna

Estamos disponibles para proveer información adicional o atender dudas referentes a la información incluida en este informe

Atentamente



Mark P. Martin Bras  
Director de Relaciones con la Comunidad  
Y de investigaciones de Campo

## **Anejo 1**

**Short-term monitoring study of *Pyrodinium bahamense*, *Ceratium furca* and other planktonic populations at Puerto Mosquito, Vieques, Puerto Rico; after a *P. bahamense* population crash.**

**Prepared by**

**Miguel P. Sastre, Ph. D. and Frances Rivera, B.S.  
Department of Biology  
University of Puerto Rico at Humacao**

**This is the second part of “Proyecto de Conteo de Dinoflagelados a Corto Plazo, Acuerdo Núm. 2014-000087, Informe Final” – prepared by the Vieques Conservation and Historical Trust, Vieques, Puerto Rico. Document submitted to the Puerto Rico Department of Natural Resources on July, 2014.**

### **Objective**

The objective of this part of the project was to monitor *Pyrodinium bahamense* populations (as well as other relevant phytoplankton taxa) in Puerto Mosquito, Vieques, Puerto Rico, at selected locations. This report is a response of an effort of the Puerto Rico Department of Natural Resources, to perform a short-term monitoring study of *P. bahamense* populations, after the population crash of this species on January 2014.

### **Methods**

Sampling procedures

All sampling procedures were performed by the Vieques Conservation and Historical Trust (VCHT). Sampling procedures are described in greater detail in the first section of this document (“Proyecto de Conteo de Dinoflagelados a Corto Plazo, Acuerdo Núm. 2014-000087, Informe Final”). Briefly, one-liter water samples were collected using plastic sampling bottles and preserved with a 2.5 % formalin solution. Water samples were collected at approximately 15 cm below the surface and at 2 m depth (when applicable).

Sampling locations were selected by the VCHT from January 24 to May 4, 2014; and by both the University of Puerto Rico at Humacao and the VCHT, from May 9 - May 30, 2014. This work started out in a more casual manner (January 24 – May 4, 2014) after the *P. bahamense* population crash, sampling wherever it was possible at that time; and ended in a more formal fashion (after the approval of our proposal by the Department of Natural and Environmental Resources), with the selection of four continuous sampling stations, and sampling at two depths, with replicates. The idea of establishing four sampling locations at Puerto Mosquito was mainly to estimate the average population density of *P. bahamense* and other phytoplankton taxa in the entire bay rather than examining possible differences between the locations.

Laboratory procedures

Preserved 1 L water samples were transported in a plastic cooler from Vieques to Puerto Rico to our laboratory at the University of Puerto Rico at Humacao. Preserved samples were allowed to settle for 3 days (Wetzel and Likens, 2000). Each sample was concentrated by carefully removing the supernatant with an automatic pipette to < 50 mL. The supernatant was gravity filtered through a 20  $\mu$  Nitex© nylon bolt cloth to remove, if any, phytoplankton cells that did not settle. The concentrated sample, and the cells retained in the Nitex© bolt cloth were carefully washed and transferred to a 50 mL Falcon© centrifuge tube. The centrifuge tube was filled with 2.5% formalin solution to a volume of 50 mL.

After carefully mixing each 50 mL concentrated plankton sample, one mL subsample was obtained, with an automatic volumetric pipette, and transferred to a Sedwick-Rafter (S-R) counting cell. The S-R counting cell was covered with a cover glass and all identifiable plankton taxa was counted through a Leica CME or Nikon Eclipse microscope at 100x or 200x magnification.

### Results and Discussion

Figure 1 shows *Pyrodinium bahamense* and *Ceratium furca* population density variations over time in Location 3, which was sampled for the longest time period. During our initial sampling phase (January 24 – May 4, 2014) only a single sample could be collected in this station most of the time (except on Jan 17 and April 11, where  $n = 2$ ). During the final sampling phase (May 9 – May 30, 2014) four samples were collected at each date (two from the surface and two at 2 m depth). The population density of *P. bahamense* ranged from zero to 200 organisms/L during the initial phase, and from 100 to 425 organisms/L during the final phase (note that since the Y axis of the graph is in logarithmic scale, actual zeros are represented as one in the graph since population data was transformed with  $x+1$ ). *C. furca* population density ranged during this period from 650 (January 24) to 6,600 (May 30) organisms/L. Both species seem to have a tendency to increase during the sampling period. The average population density of *P. bahamense* during this period was 118.4 organisms/ L versus 2,476.6 organisms/L for *C. furca*. The density of *C. furca* was more than 20 times greater than that of *P. bahamense*.

*P. bahamense* population densities had a tendency to fluctuate in a similar manner along time, among sampling locations, from May 9 to May 30, 2014 (Figure 2). Population densities ranged from 88 organisms/L (Location 3) to 750 organism/L (Location 2). From May 9 to May 16 densities in all locations decreased, and from May 16 to May 30 densities in most locations had a tendency to increase. The average density among locations was: 275 organisms/L (Location 4), 334 organisms/L (Location 3), 394 organisms/L (Location 2) and 406 organisms/L (Location 1). Even though significant correlations were not detected between any of the sampling locations ( $p > .05$  in all comparisons), population densities of Locations 1, 2 and 4 fluctuated more similar thru time (all correlation coefficients between Locations 1, 2 and 4, were greater than 0.8988) than population densities between Location 3 and any of the other locations (all correlations coefficients between Location 3 and all other locations, were smaller than 0.5286).

The average population density of *P. bahamense* (grand average of all stations and depths) had a tendency to decrease from May 9 to May 16 (more noticeable in Figure 2 since the Y axis is

not log-transformed), and slightly increased afterwards (Figures 2 and 3). *C. furca* population density had a tendency to increase over time; on May 16 the population density reached 3,475 organisms/L and on May 30 the density reached 6,113 organisms/L. From May 9 to May 30 the average density of *C. furca* was 3,201.8 organisms/L, while that of *P. bahamense* was 352.3 organisms/L. The density of *C. furca* was approximately nine times higher than that of *P. bahamense*.

During this study the mean population density of *P. bahamense* was much lower than what has been reported previously in Puerto Mosquito (Figure 4). In the study performed by Walker (1997) the mean density was approximately (visual estimation from graph) 70,636 organisms/L, in the study performed by Soler (2006) the mean density was approximately 286,411 organisms/L, and in the study performed by Latz (2011) the mean density was approximately 11,982 organisms/L. In this study, the mean density, from May 9 to May 30, 2014, was 352.3 organisms/L (Figure 4); and from January 17 to May 4, 2014, the mean density (in Location 3) was 118.4 organisms/L. In the study performed by Soler (2006) the population density of *P. bahamense* was more than 2,000 times higher than what was observed in this study (in Location 3).

The mean population density of *C. furca* observed in this study was 3,202 organisms/L; Walker (1997), observed approximately 1,886 organisms/L; Soler (2006), approximately 11,172 organisms/L; and Latz (2011), approximately 1,800 organisms/L. Thus, the population density of *C. furca* has been sometimes lower and sometimes higher than what was observed in this study. In this study, the mean population density of *P. bahamense* was lower than that of *C. furca*, while in all other studies mentioned above the mean population density of *P. bahamense* was higher. Even though we do not know of any phytoplankton population density data of Puerto Mosquito just before the January 2014 population crash, the data suggests that *P. bahamense* was affected more than *C. furca*. An indirect support of this is that the density of *C. furca* was much higher than that of *P. bahamense* as early as late January and early February 2014 (Figure 1).

To our knowledge, there is no evidence of any tide-induced (strong tidal fluctuations can lead to a “dilution” of planktonic organisms in the bay due to the mixing effect of water in the bay with water from outside of the bay) or wind-induced (strong winds coming from the north can cause relatively strong water currents that can “flush” planktonic organisms from the bay to outside of the bay) factors that could have caused the observed population decline of *P. bahamense* in Puerto Mosquito. In Laguna Grande, Fajardo, we believe the population decline of *P. bahamense* during November, 2013, was caused by several strong and consecutive tidal fluctuations and/or by a drastic increase of turbulence in the water. In Laguna Grande, both *P. bahamense* and *C. furca* population densities decreased drastically (M. Sastre, in progress research with the Conservation Trust of Puerto Rico), while in Puerto Mosquito it seems that *P. bahamense* was much more affected than *C. furca*. Therefore, the rapid population decline (or “crash”) in Puerto Mosquito might have been caused by a low nutrient related issue since *C.*

*furca* was not affected much, but this species is mixotrophic (Smalley and Coats, 2002), it can photosynthesize and also has the ability to prey on small ciliates (can survive better in low nutrient conditions). During the sampling period of this study (January 24 to May 30, 2014) the population density of *P. bahamense* in Laguna Grande, Fajardo, was recovering very nicely from the population crash of November, 2013; it reached an average of 46,693.8 organisms/L during May 16, 2014 and later declined to 23,637.5 organisms/L during May 29, 2014.

In our opinion, according to our results, the *P. bahamense* population in Puerto Mosquito is still at very low levels and, possibly, under recovery. However, Mr. Mark Martin (personal conversation), indicates that, visually, the bioluminescence levels are much better now.

In Laguna Grande, Fajardo, the population density of *P. bahamense* recovered to “normal” levels in approximately three months after a population crash during December, 2003 (Sastre et al, 2013), and in approximately four months after a population crash in November, 2013 (Sastre et al., final report to be submitted to the Conservation Trust of Puerto Rico). It is interesting of note that after the population crash of November in Laguna Grande we detected a bloom in Chaetoceridae diatoms but this was not detected in Puerto Mosquito, instead we detected an increase of *Coscinodiscus* diatoms of 1,425 organisms/L on February 3, 2014.

We recommend to monitor *P. bahamense*, population densities, as well as the densities of other planktonic species and/or bioluminescence levels in Puerto Mosquito in order to have accountability of, hopefully, the population recovery of this species. It is important to know in how much time the population recovers and how is distributed the composition of different taxons during the recovery period. At least in Puerto Mosquito, bioluminescence levels are well correlated with *P. bahamense* population densities (Latz, 2011) and could be used as an index of the population density of this species. The population densities of other bioluminescent planktonic species (such as *Protoperidinium* spp.) are usually very low and should not interfere much with these measurements.

It is also important to understand better, in relation to the planktonic populations, the dynamics of Puerto Mosquito and its watershed in terms of physical-chemical parameters (e.g. precise and accurate temperature measurements, rainfall, nutrients, etc.), drainage, currents and land use. The possible effect of global warming is a factor that could be considered and could be affecting the planktonic populations. In order to conserve the bioluminescent bays it's important to maintain unpolluted water quality parameters, within the bay, hydrological basin and adjacent waters; preserve mangrove communities within the bay and adjacent waters and establish sound management plans, which include, among other factors the effect of tourism in the bay. Bioluminescent bays in Puerto Rico, and elsewhere, are a unique and rare resource that should be conserved for future generations.

#### **Literature Cited**

Latz, M. I. (2011). Establishment of a bioluminescence observatory at Mosquito Bay, Vieques, Puerto Rico. Report submitted to the Vieques Conservation and Historical Trust, Vieques, Puerto Rico. 29 pp.

Smalley, G. W. & Coats, D. W. (2002). Ecology of the red tide dinoflagellate *Ceratium furca*: distribution, mixotrophy and grazing impact on ciliate populations of Chesapeake Bay. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 49(1), 63-73.

Soler-Figueroa, B. M. (2006). Comparación temporal y espacial de factores bióticos y abióticos en la Bahía Bioluminiscente en La Parguera y en Puerto Mosquito en Vieques. (Master's thesis, University of Puerto Rico, Mayagüez, Puerto Rico).

Walker, L. A. (1997) Population dynamics of dinoflagellates in two bioluminescent bays: Bahía Fosforescente and Puerto Mosquito, Vieques. (Master's thesis, University of Puerto Rico, Mayagüez, Puerto Rico).

Wetzel, R. G. & Likens, G. E. (2000). *Limnological analyses*. Heidelberg, Germany: Springer Verlag.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'MPS', with a long horizontal stroke extending to the right.

Miguel P. Sastre, Ph. D.  
Department of Biology  
University of Puerto Rico at Humacao

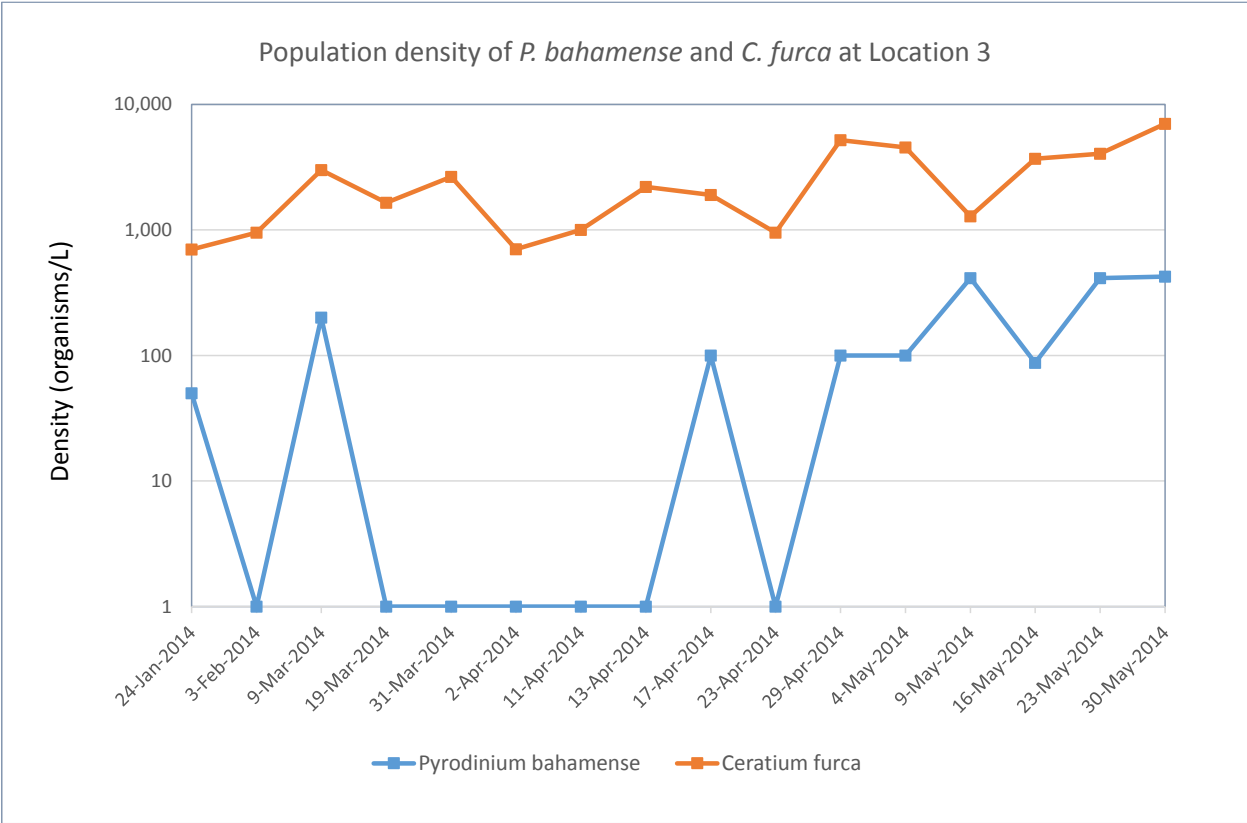


Figure 1. Population density of *Pyrodinium bahamense* and *Ceratium furca* at Location 3. Y axis in logarithmic scale, base 10 ( $\log(x+1)$  transformed).



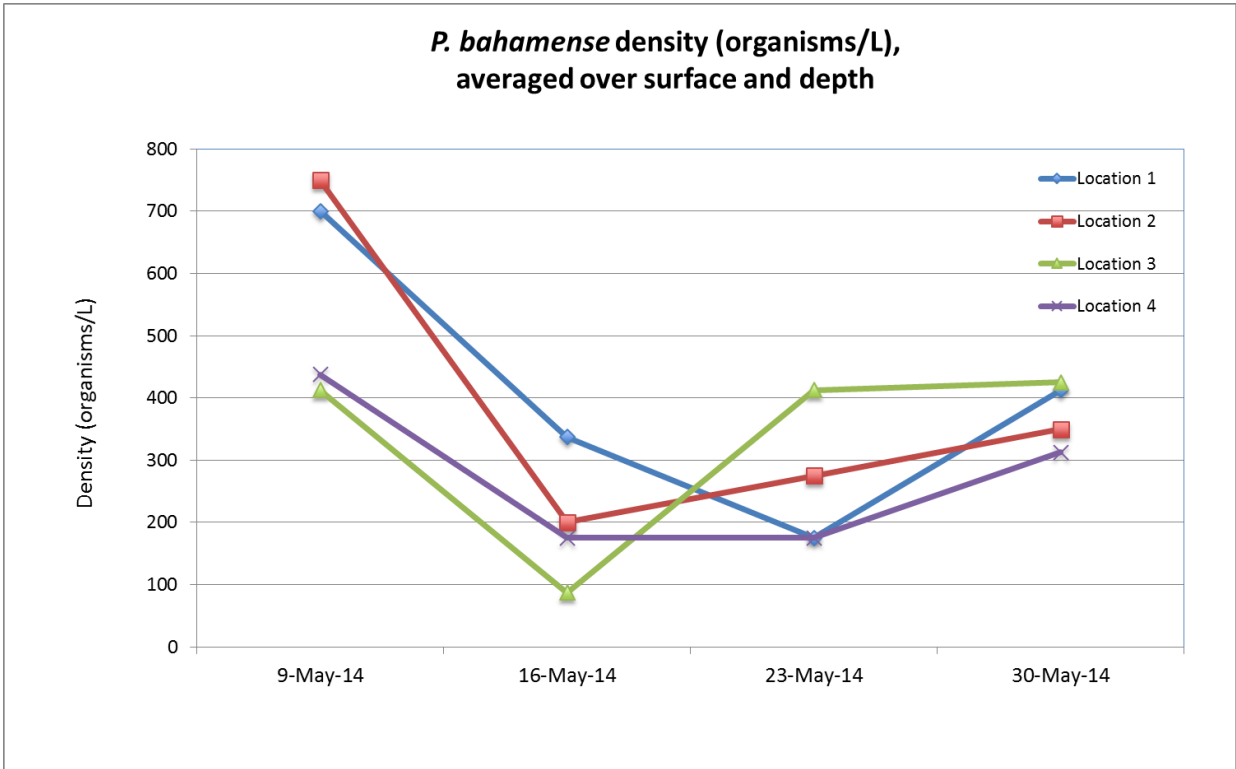


Figure 2. Population density of *Pyrodinium bahamense* and *Ceratium furca* at Locations 1, 2, 3 and 4, averaged over surface and depth.

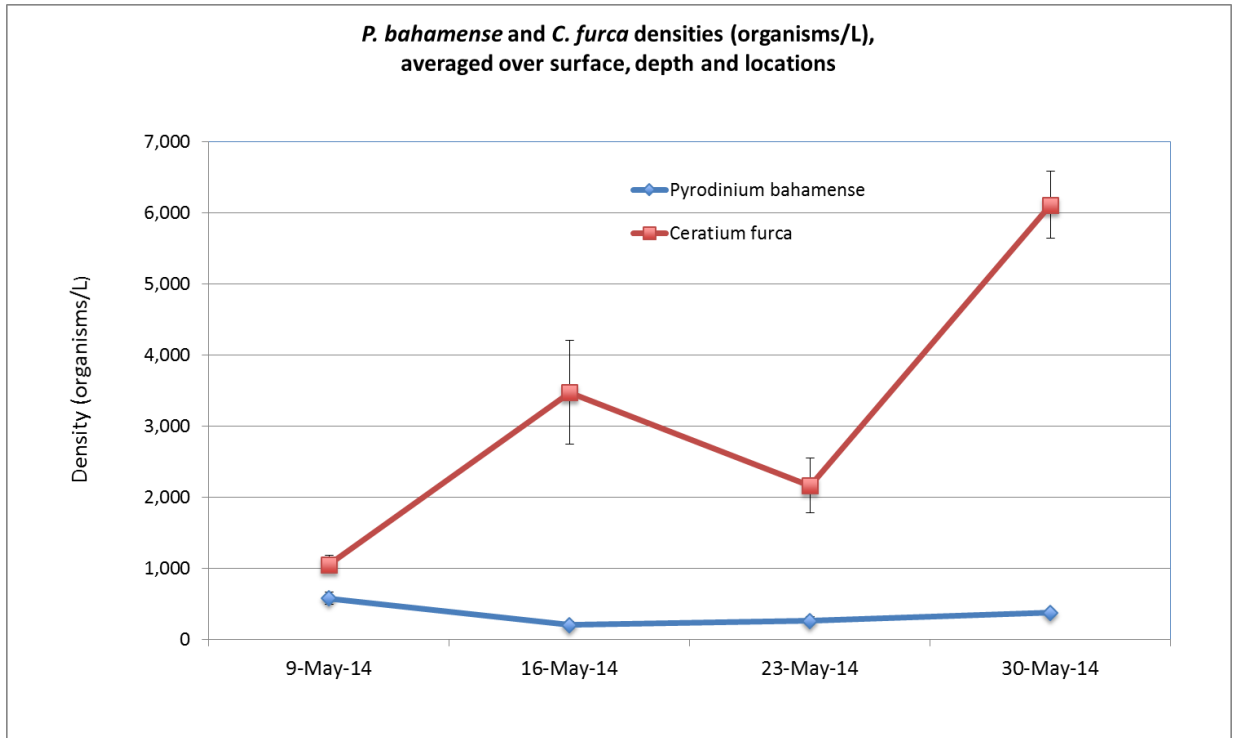


Figure 3. Population density of *Pyrodinium bahamense* and *Ceratium furca* ( $\pm 1$  standard error), averaged over surface, depth and locations.

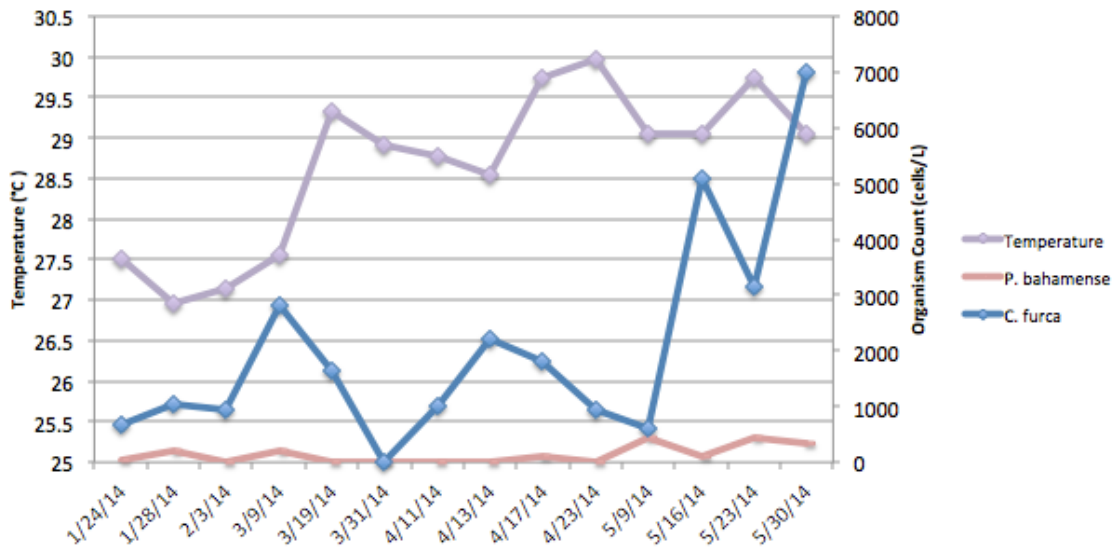
**Anejo 2 Chart: Water Quality Data and Dinoflagellate**  
 Location: Middle  
 Dates: 1/24/14 to 5/30/14

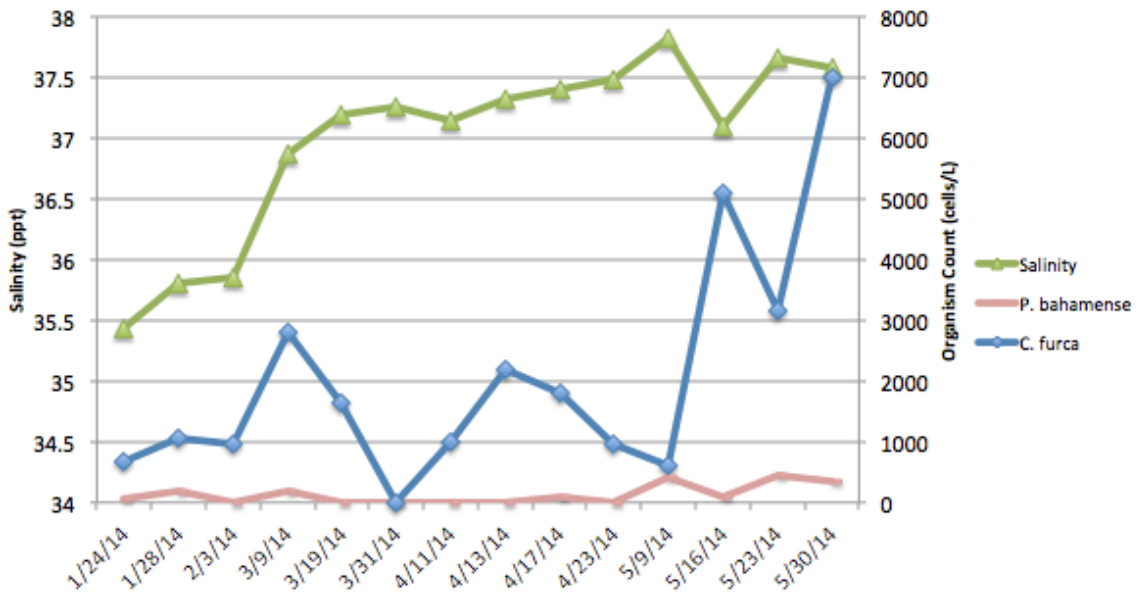
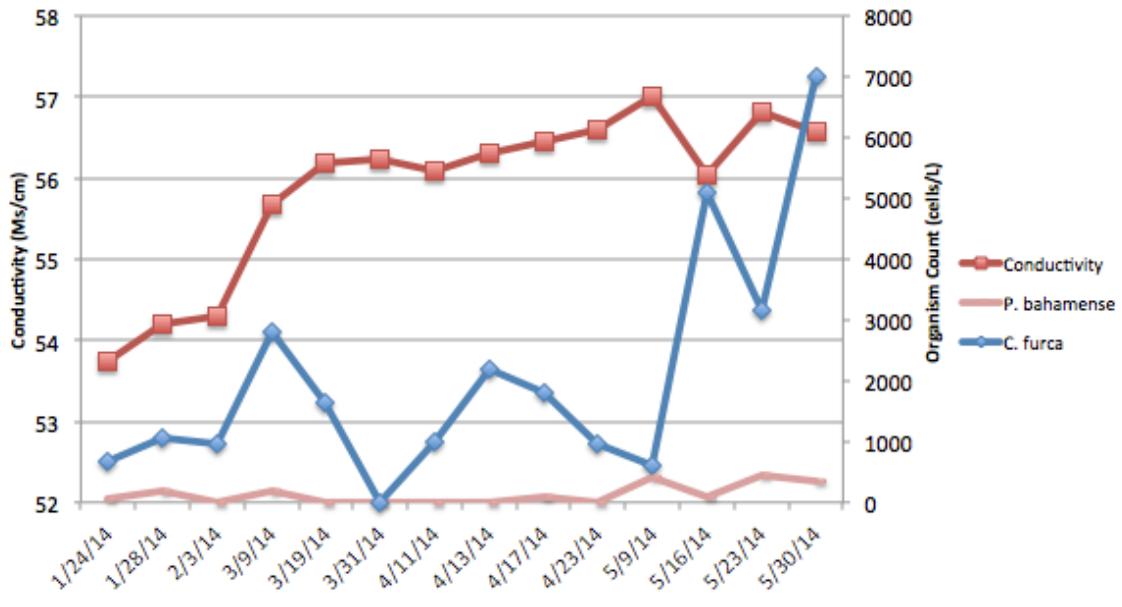


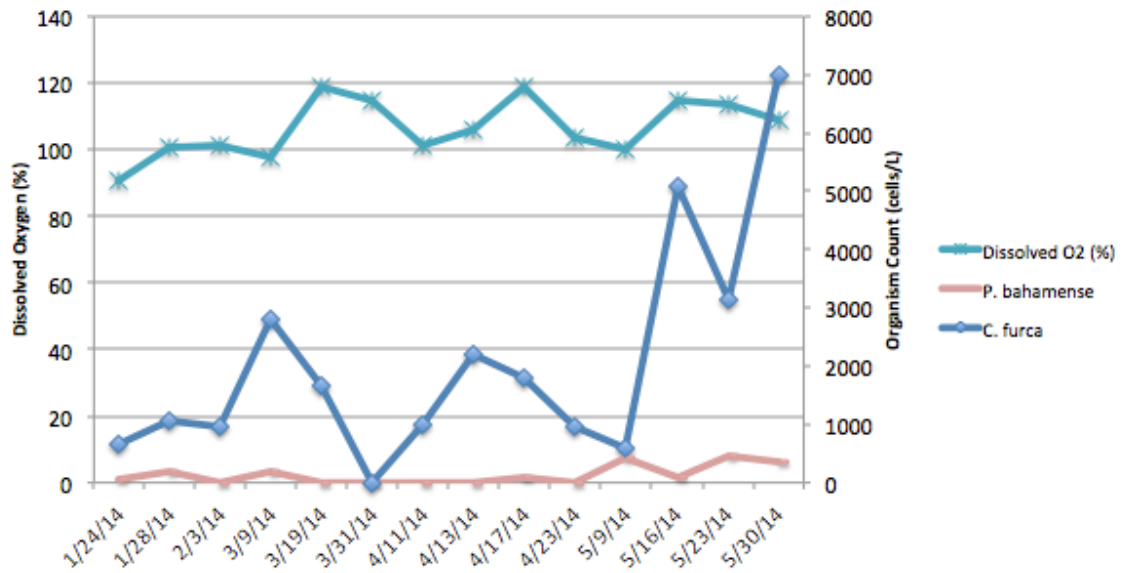
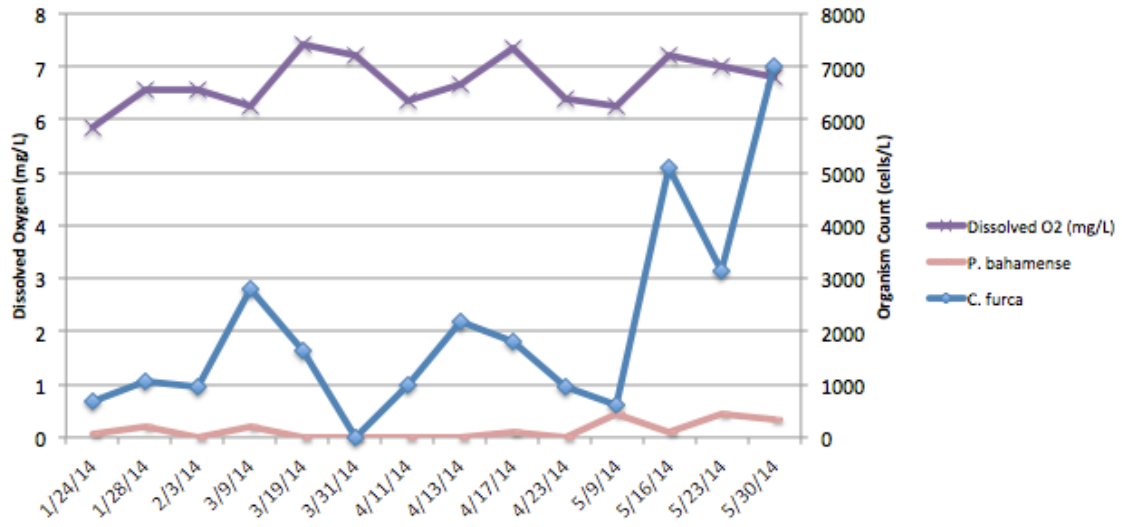
Date	1/24/14	1/28/14	2/3/14	3/9/14	3/19/14	3/31/14	4/11/14	4/13/14	4/17/14	4/23/14	5/9/14	5/16/14	5/23/14	5/30/14
Time	21:42	20:08	21:44:01	n/a	20:39	20:16	20:02	21:16:41	20:23:29	20:09:30	21:51:01	21:43:50	21:12:25	n/a
Temperature (°C)	27.51	26.96	27.15	27.55	29.32	28.91	28.78	28.55	29.75	29.98	29.05	29.04	29.75	29.06
SC (Ms/cm)	53.73	54.21	54.29	55.67	56.19	56.24	56.09	56.31	56.46	56.59	57	56.04	56.82	56.58
Salinity (ppt)	35.43	35.8	35.85	36.87	37.19	37.26	37.15	37.32	37.4	37.48	37.82	37.1	37.67	37.58
Dissolved Oxygen (mg/L)	5.86	6.58	6.57	6.26	7.43	7.2	6.37	6.66	7.35	6.39	6.25	7.2	7.01	6.79
Dissolved Oxygen %	90.5	100.9	101.1	97.7	119	114.9	101.4	105.7	118.9	103.9	100.3	115	113.6	108.7
pH	8.01	8.04	8.05	8.13	8.19	8.2	8.13	8.15	8.29	8.15	8	8.02	8.01	8.04
Turbidity NTU	5.2	8.5	5.3	2.6	3.8	2.3	5.7	4.4	4.9	3.1	3.8	1.8	2.4	2.5
Glow, on a scale from 1-10	2 to 3					3 to 4					1 to 2	4	4 to 5	3 to 4
<i>P. bahamense</i> (average)	50	200	0	200	0	0	0	0	100	0	425	100	450	350
<i>C. furca</i> (average)	675	1050	950	2800	1650	0	1000	2200	1800	950	600	5100	3150	7000
Copepods and Nauplius (average)	350	100	300	750	600	0	475	700	450	1050	575	800	725	175

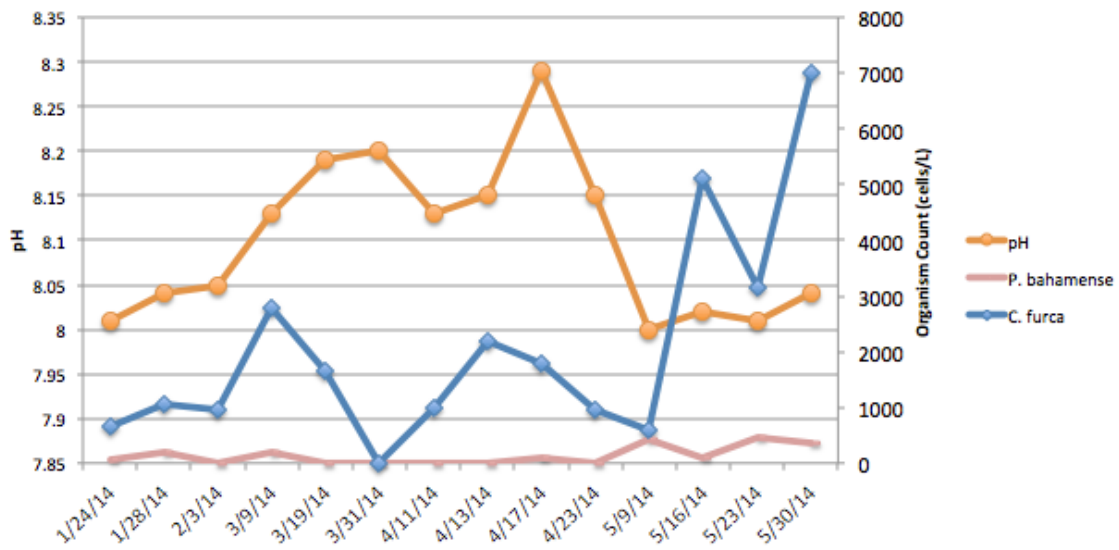
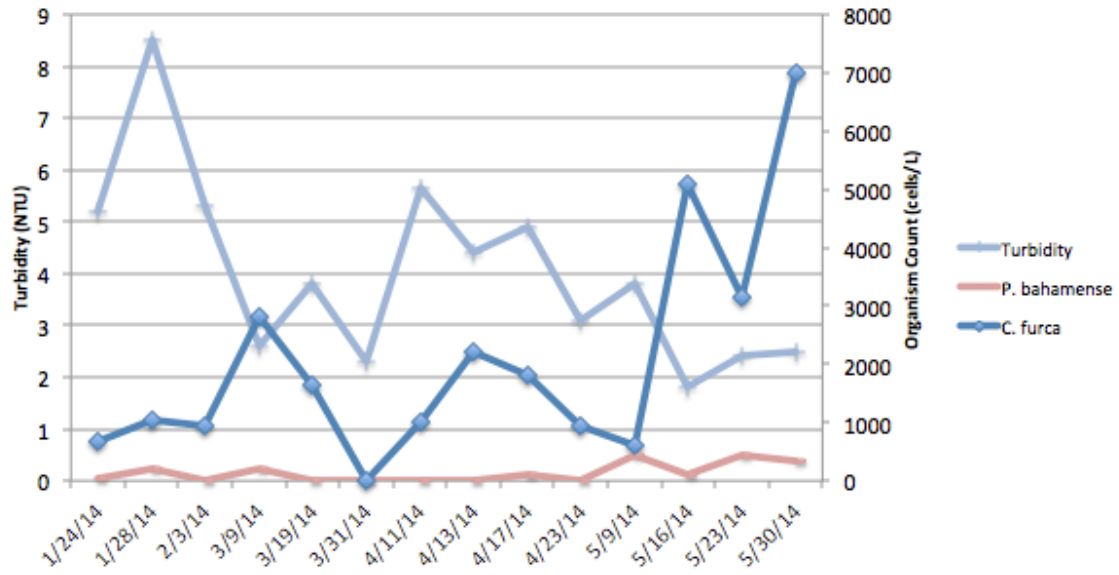
Comments: If only one dinoflagellate count, the "average" is simply that one count available (rather than an average of two counts).  
 Turbidity on 1/28/14: turbidity was fluctuating between 7 and 10. Above, average of 7 and 10 has been entered for graphing purposes.  
 Turbidity on 4/11/14: turbidity was fluctuating between 5.1 and 6.2. Above, average of 5.1 and 6.2 has been entered for graphing purposes.

**Water quality, *P. bahamense* count, and *C. furca* count over time, by single water quality parameter**

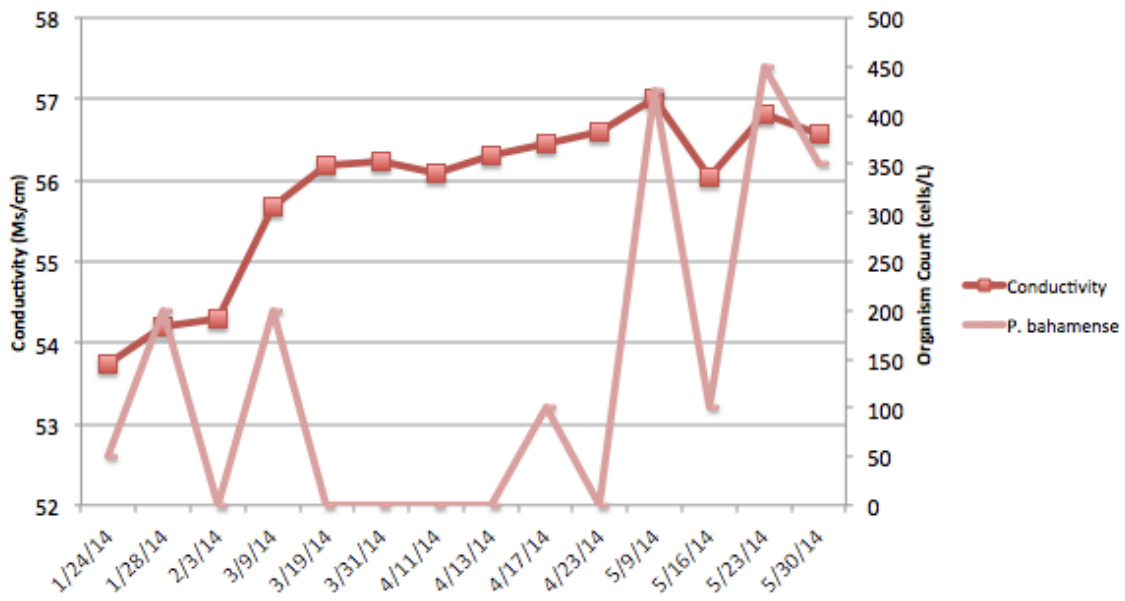
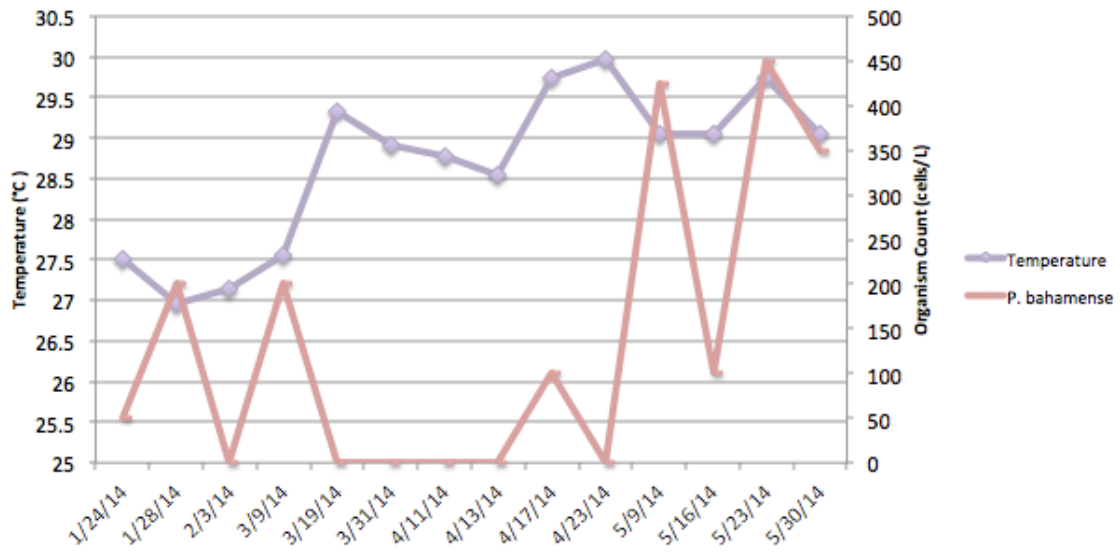


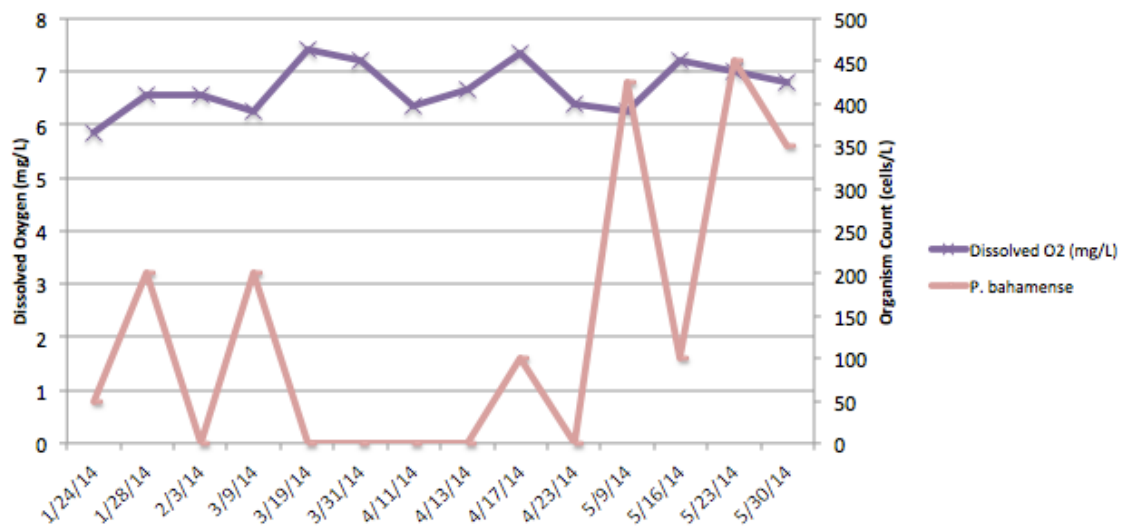
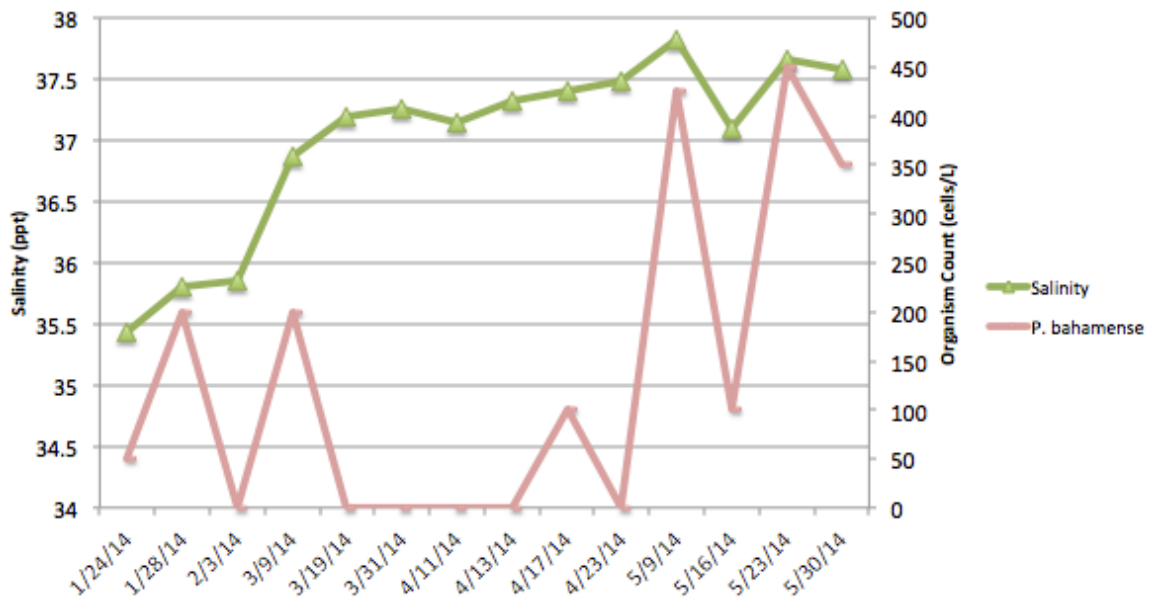




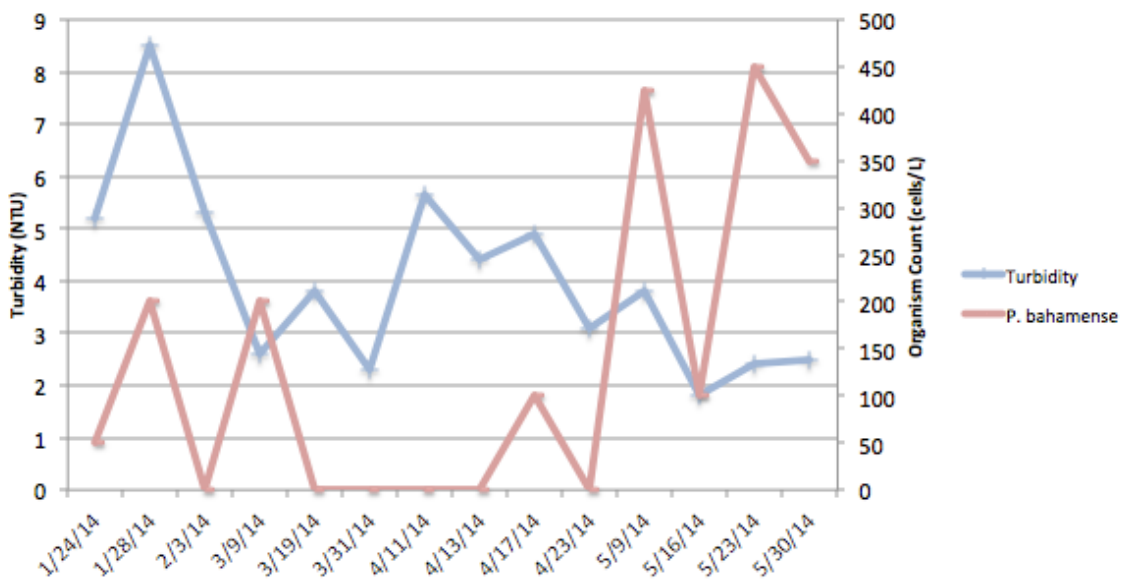
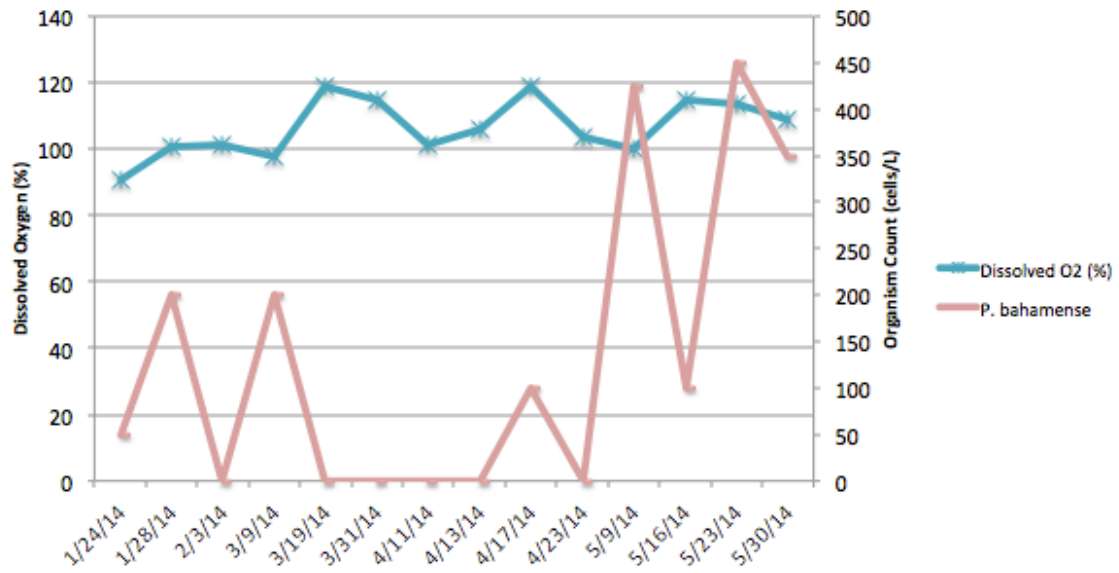


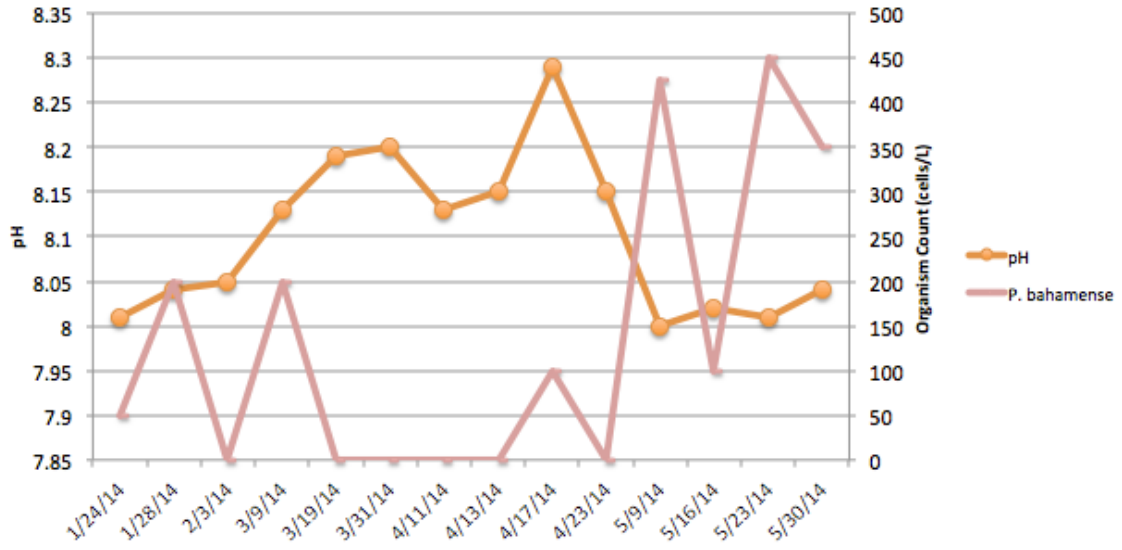
Water quality and *P. bahamense* count over time, by single water quality parameter









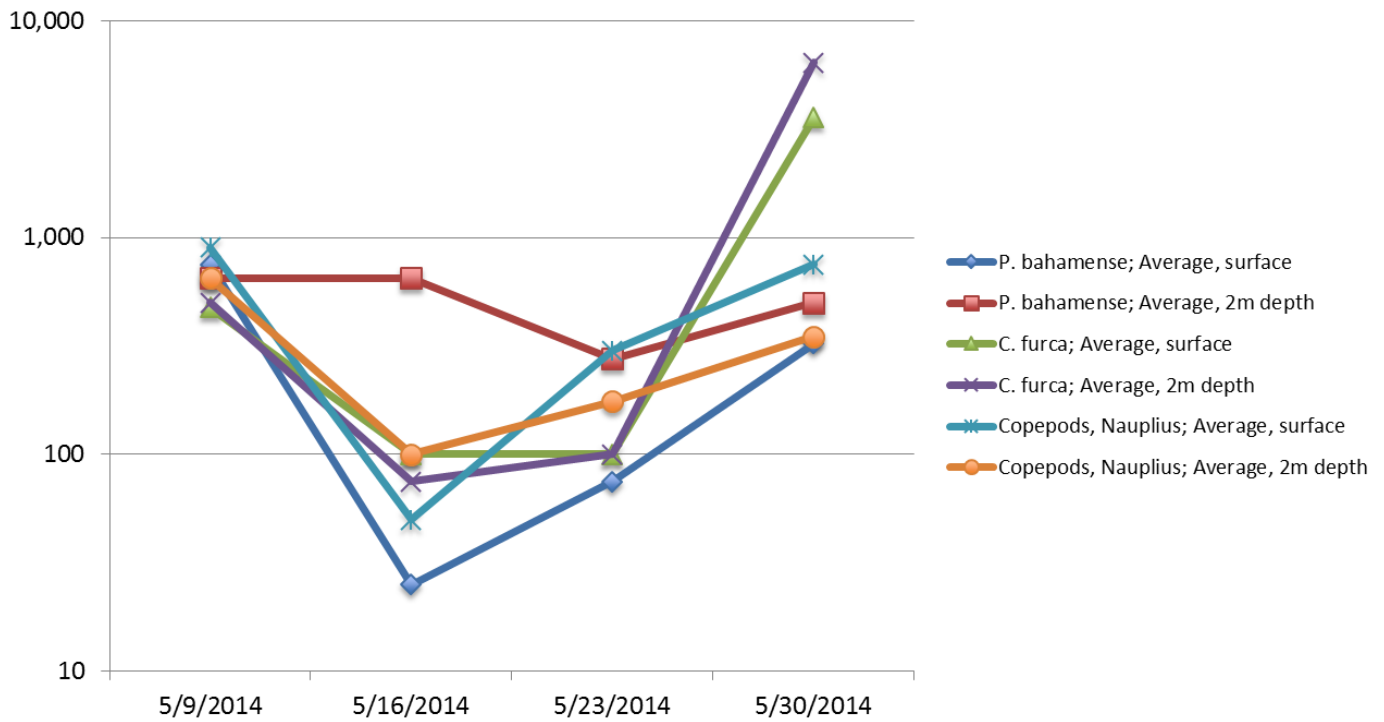


## Additional phytoplankton Graphs

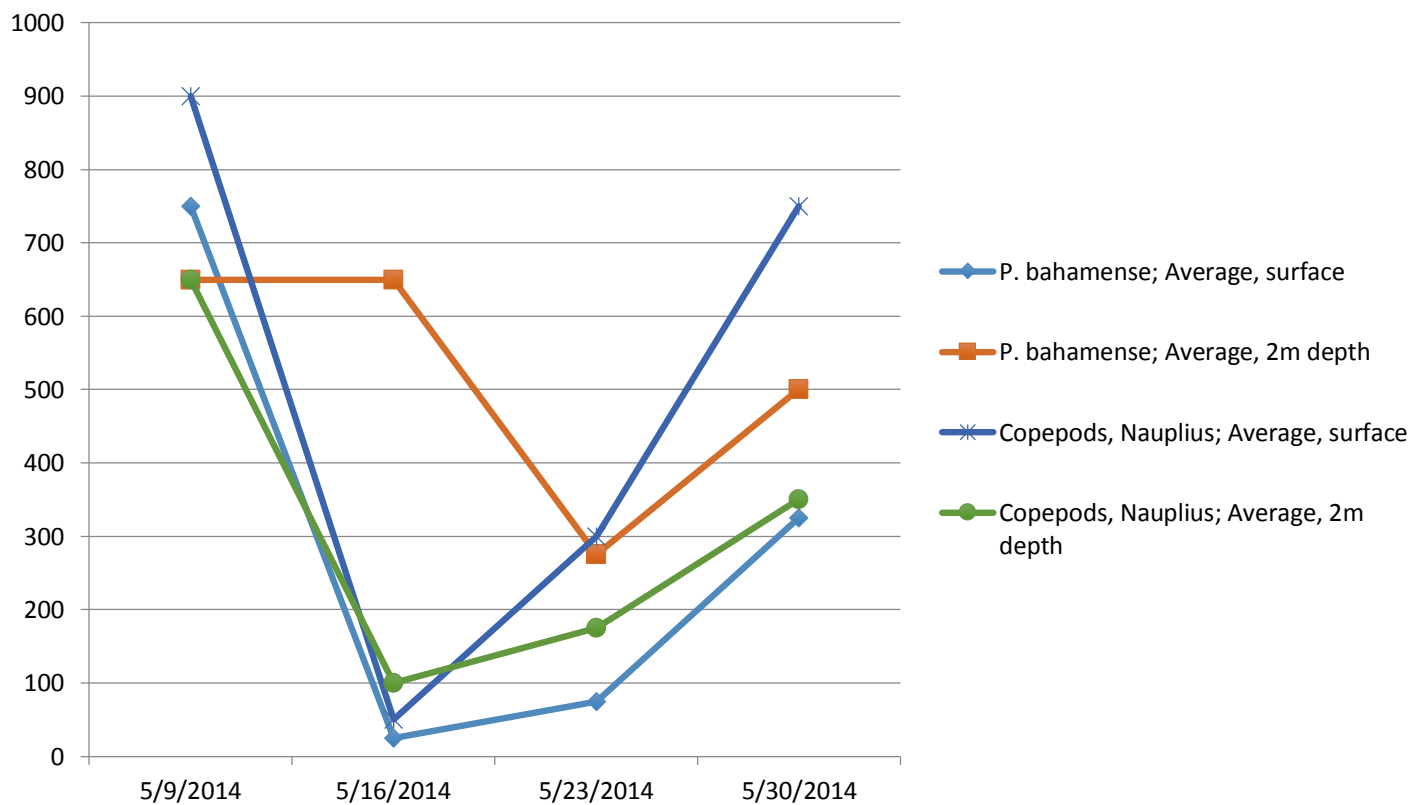
### Location 1

		5/9/2014	5/16/2014	5/23/2014	5/30/2014
Surface	Pyrodinium bahamense, replicate 1	800	50	50	100
	Pyrodinium bahamense, replicate 2	700	0	100	550
	<b>P. bahamense; Average, surface</b>	750	25	75	325
Depth	Pyrodinium bahamense, replicate 1	650	100	400	500
	Pyrodinium bahamense, replicate 2	650	1200	150	n/a
	<b>P. bahamense; Average, 2m depth</b>	650	650	275	500
Surface	Ceratium furca, replicate 1	550	50	50	2000
	Ceratium furca, replicate 2	400	150	150	5150
	<b>C. furca; Average, surface</b>	475	100	100	3575
Depth	Ceratium furca, replicate 1	650	50	100	6400
	Ceratium furca, replicate 2	350	100	100	n/a
	<b>C. furca; Average, 2m depth</b>	500	75	100	6400
Surface	Copepods and Nauplius, replicate 1	1100	50	150	650
	Copepods and Nauplius, replicate 2	700	50	450	850
	<b>Copepods, Nauplius; Average, surface</b>	900	50	300	750
Depth	Copepods and Nauplius, replicate 1	600	100	250	350
	Copepods and Nauplius, replicate 2	700	100	100	n/a
	<b>Copepods, Nauplius; Average, 2m depth</b>	650	100	175	350

### Population density (organisms/L) comparison, Location 1



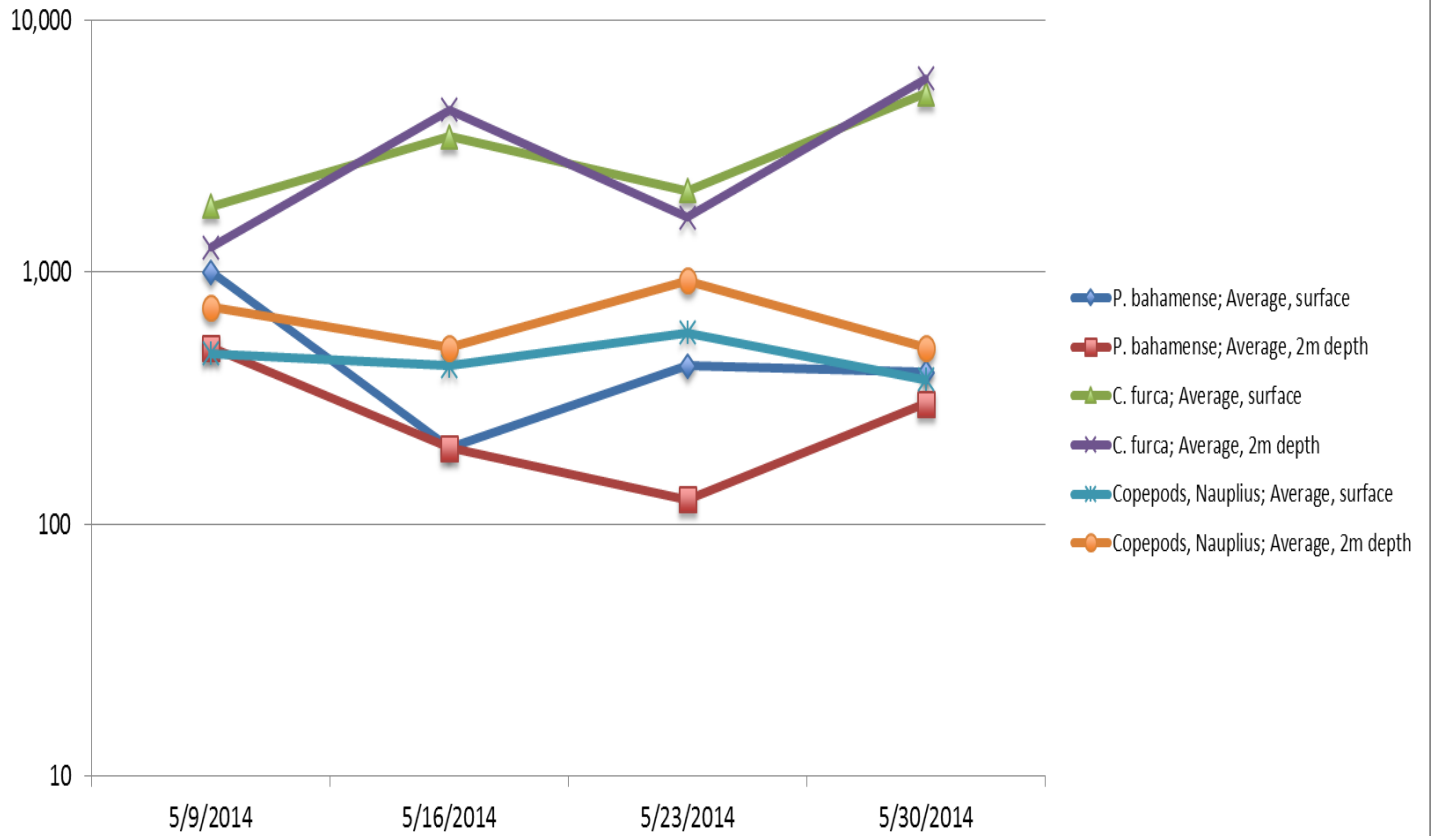
### Organism Comparison, Cf Omitted, Location 1



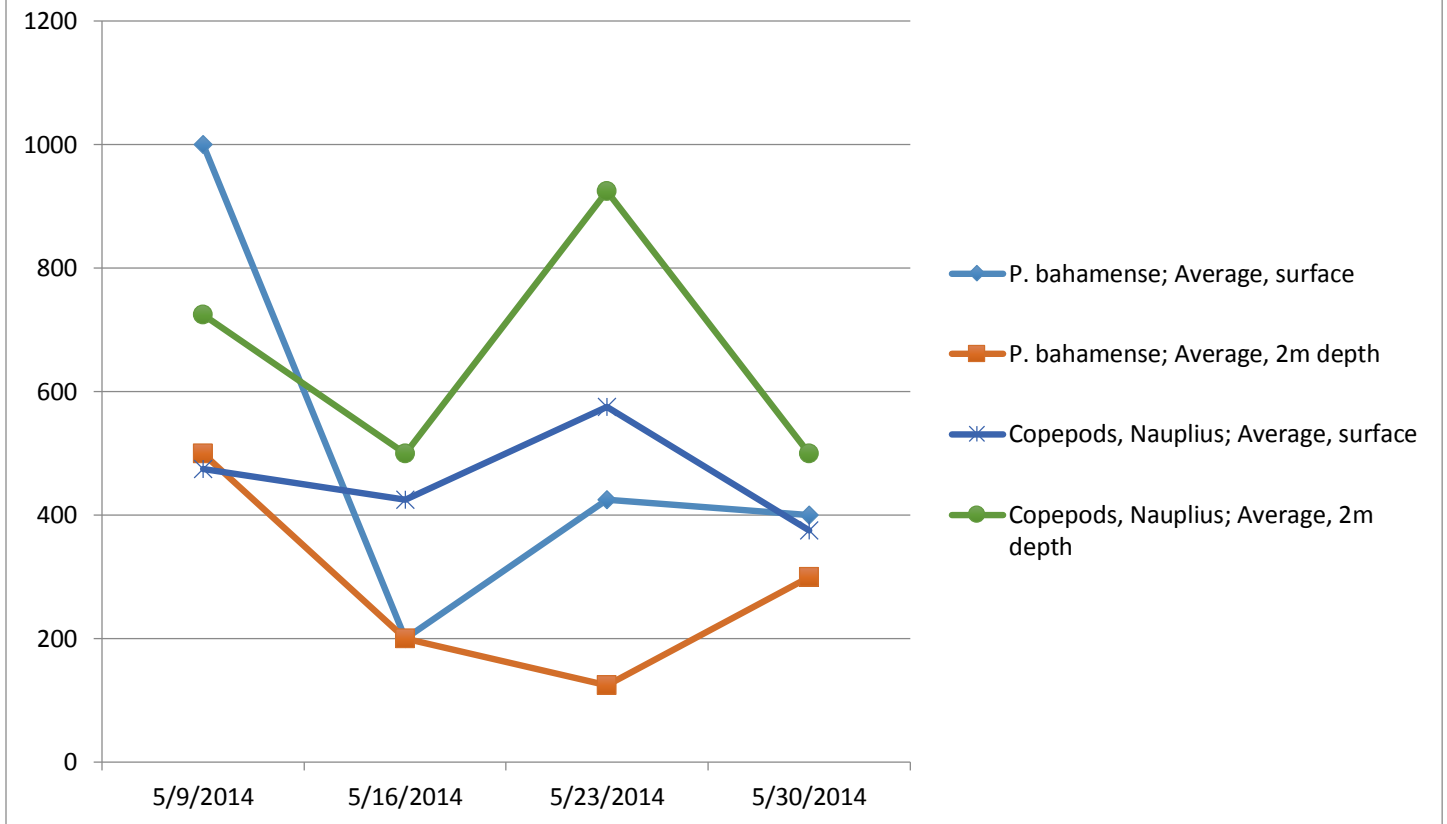
Location 2

		5/9/2014	5/16/2014	5/23/2014	5/30/2014
Surface	Pyrodinium bahamense, replicate 1	950	300	550	300
	Pyrodinium bahamense, replicate 2	1050	100	300	500
	<b>P. bahamense; Average, surface</b>	1000	200	425	400
Depth	Pyrodinium bahamense, replicate 1	550	200	50	400
	Pyrodinium bahamense, replicate 2	450	200	200	200
	<b>P. bahamense; Average, 2m depth</b>	500	200	125	300
Surface	Ceratium furca, replicate 1	1850	3800	2800	4550
	Ceratium furca, replicate 2	1800	3100	1400	5650
	<b>C. furca; Average, surface</b>	1825	3450	2100	5100
Depth	Ceratium furca, replicate 1	1250	3500	1800	4700
	Ceratium furca, replicate 2	1250	5300	1500	7000
	<b>C. furca; Average, 2m depth</b>	1250	4400	1650	5850
Surface	Copepods and Nauplius, replicate 1	500	150	400	350
	Copepods and Nauplius, replicate 2	450	700	750	400
	<b>Copepods, Nauplius; Average, surface</b>	475	425	575	375
Depth	Copepods and Nauplius, replicate 1	700	500	950	600
	Copepods and Nauplius, replicate 2	750	500	900	400
	<b>Copepods, Nauplius; Average, 2m depth</b>	725	500	925	500

## Population density (organisms/L) comparison, Location 2



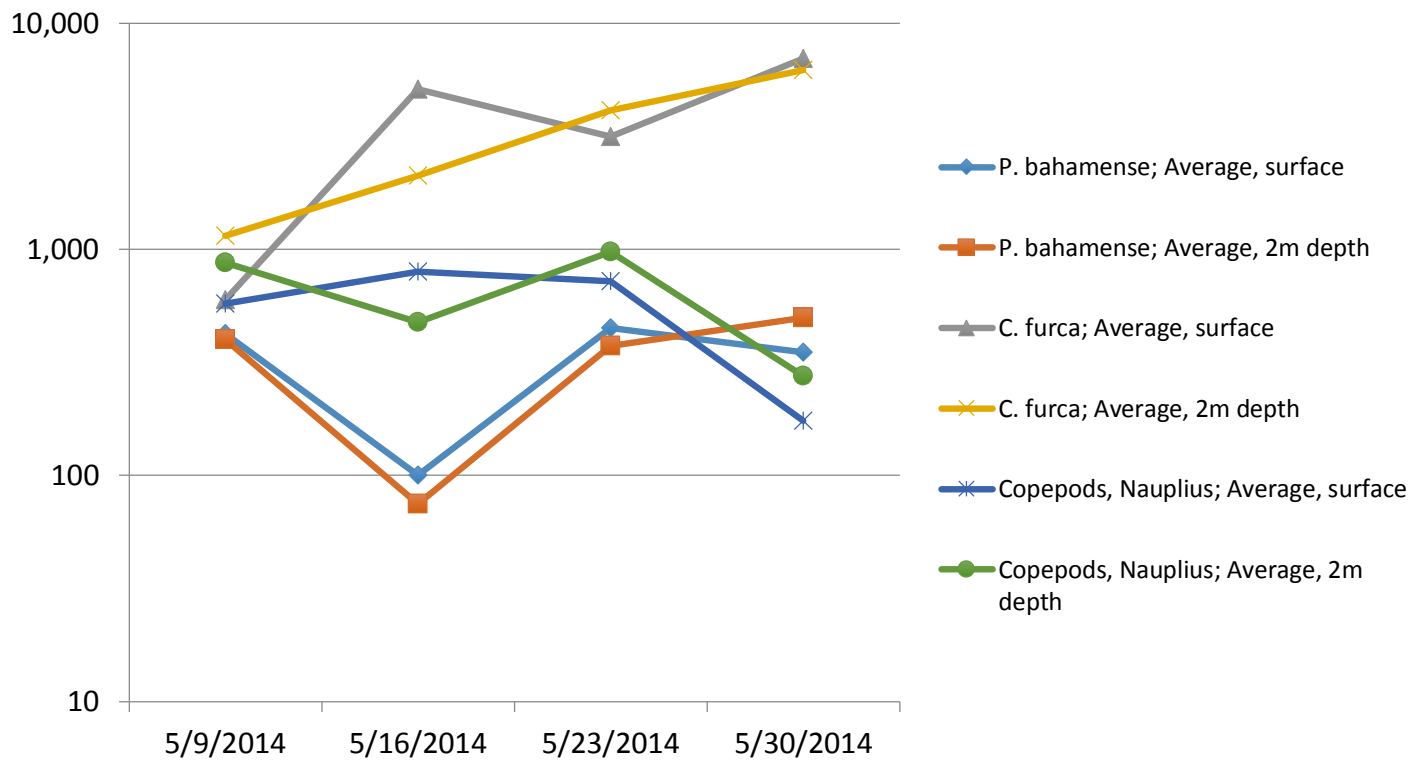
## Organism Comparison, Cf Omitted, Location 2



### Location 3

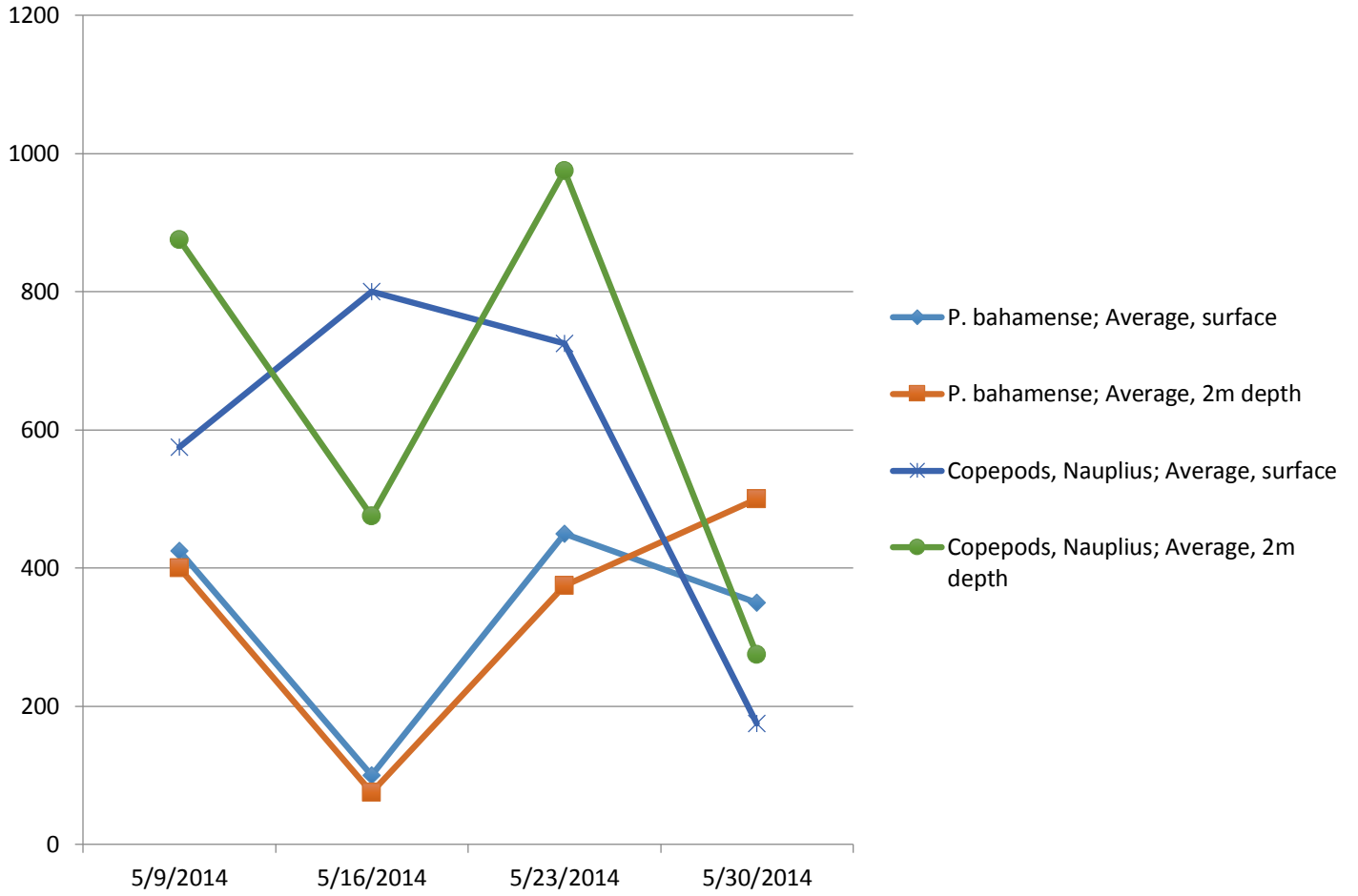
		5/9/2014	5/16/2014	5/23/2014	5/30/2014
Surface	Pyrodinium bahamense, replicate 1	350	150	550	250
	Pyrodinium bahamense, replicate 2	500	50	350	450
	<b>P. bahamense; Average, surface</b>	425	100	450	350
Depth	Pyrodinium bahamense, replicate 1	300	50	450	300
	Pyrodinium bahamense, replicate 2	500	100	300	700
	<b>P. bahamense; Average, 2m depth</b>	400	75	375	500
Surface	Ceratium furca, replicate 1	650	3900	2900	5900
	Ceratium furca, replicate 2	550	6300	3400	8100
	<b>C. furca; Average, surface</b>	600	5100	3150	7000
Depth	Ceratium furca, replicate 1	1350	2750	5300	5350
	Ceratium furca, replicate 2	950	1500	2950	7050
	<b>C. furca; Average, 2m depth</b>	1150	2125	4125	6200
Surface	Copepods and Nauplius, replicate 1	450	900	750	150
	Copepods and Nauplius, replicate 2	700	700	700	200
	<b>Copepods, Nauplius; Average, surface</b>	575	800	725	175
Depth	Copepods and Nauplius, replicate 1	1150	400	800	350
	Copepods and Nauplius, replicate 2	600	550	1150	200
	<b>Copepods, Nauplius; Average, 2m depth</b>	875	475	975	275

### Population density (organisms/L) comparison, Location 3





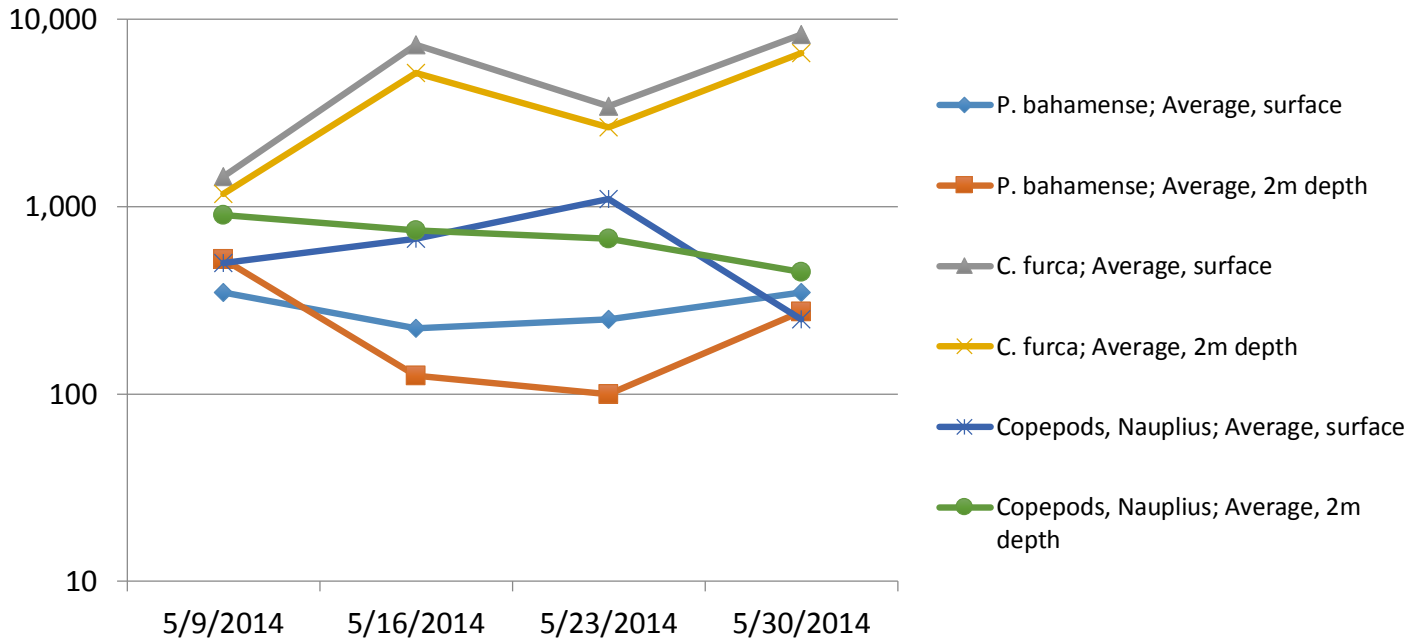
# Organism Comparison, Cf Omitted, Location 3



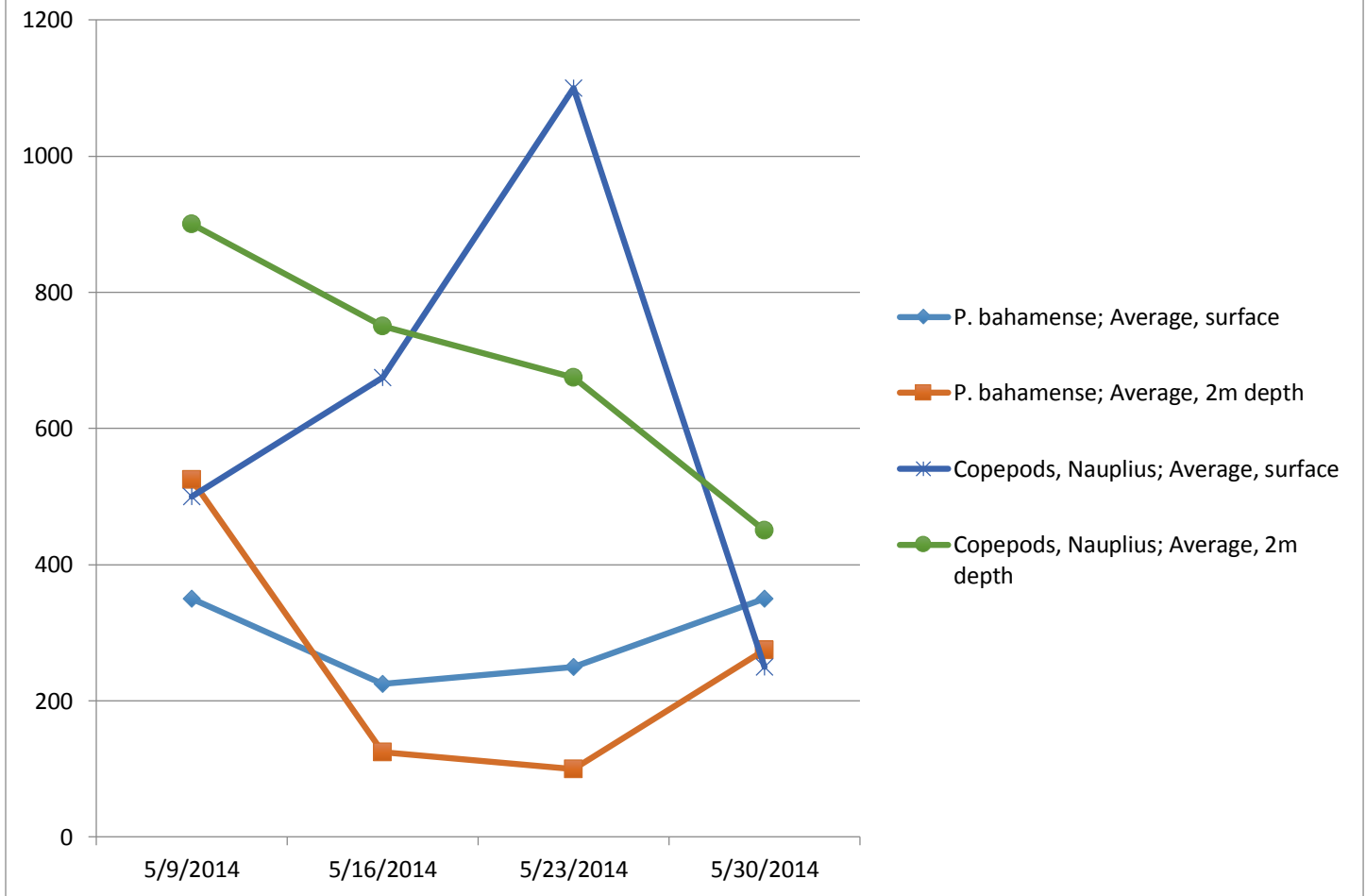
Location 4

		5/9/2014	5/16/2014	5/23/2014	5/30/2014
Surface	Pyrodinium bahamense, replicate 1	300	350	500	500
	Pyrodinium bahamense, replicate 2	400	100	0	200
	<b>P. bahamense; Average, surface</b>	350	225	250	350
Depth	Pyrodinium bahamense, replicate 1	600	50	50	450
	Pyrodinium bahamense, replicate 2	450	200	150	100
	<b>P. bahamense; Average, 2m depth</b>	525	125	100	275
Surface	Ceratium furca, replicate 1	1800	7500	3850	10250
	Ceratium furca, replicate 2	1100	7200	3050	6350
	<b>C. furca; Average, surface</b>	1450	7350	3450	8300
Depth	Ceratium furca, replicate 1	1300	1350	2600	6350
	Ceratium furca, replicate 2	1050	9050	2700	6900
	<b>C. furca; Average, 2m depth</b>	1175	5200	2650	6625
Surface	Copepods and Nauplius, replicate 1	400	650	800	200
	Copepods and Nauplius, replicate 2	600	700	1400	300
	<b>Copepods, Nauplius; Average, surface</b>	500	675	1100	250
Depth	Copepods and Nauplius, replicate 1	1000	350	400	550
	Copepods and Nauplius, replicate 2	800	1150	950	350
	<b>Copepods, Nauplius; Average, 2m depth</b>	900	750	675	450

# Population density (organisms/L) comparison, Location 4



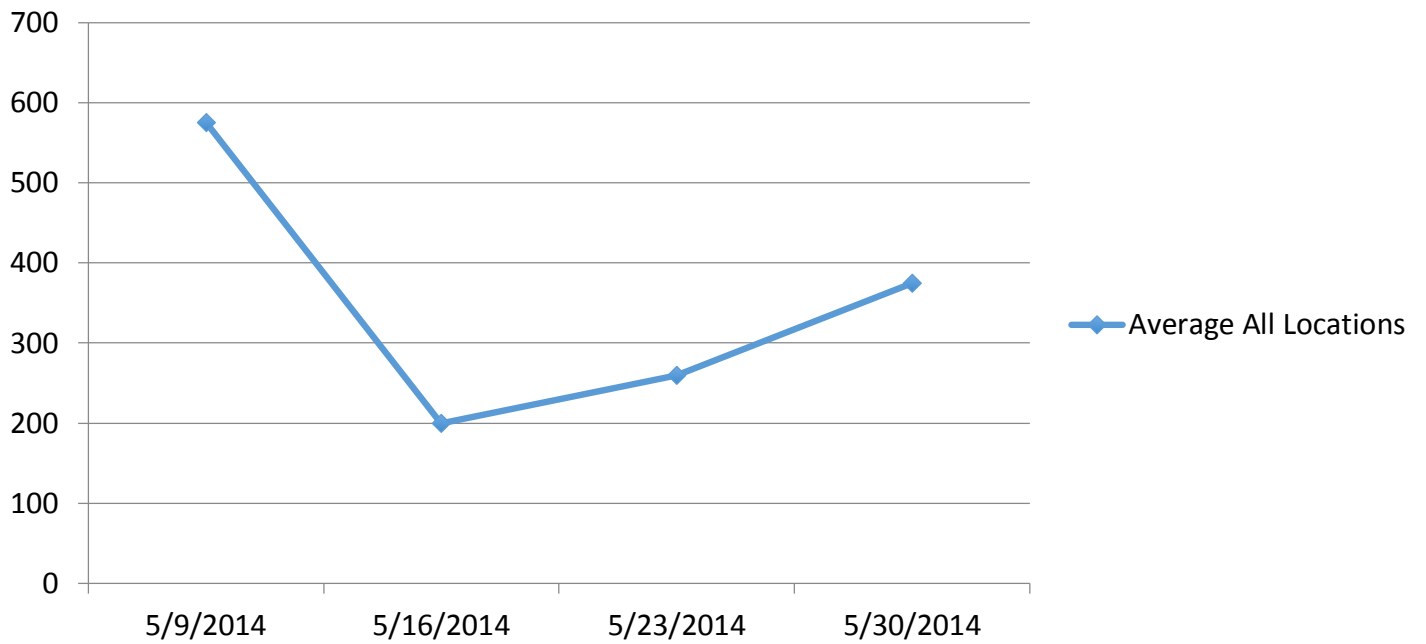
## Organism Comparison, Cf Omitted, Location 4



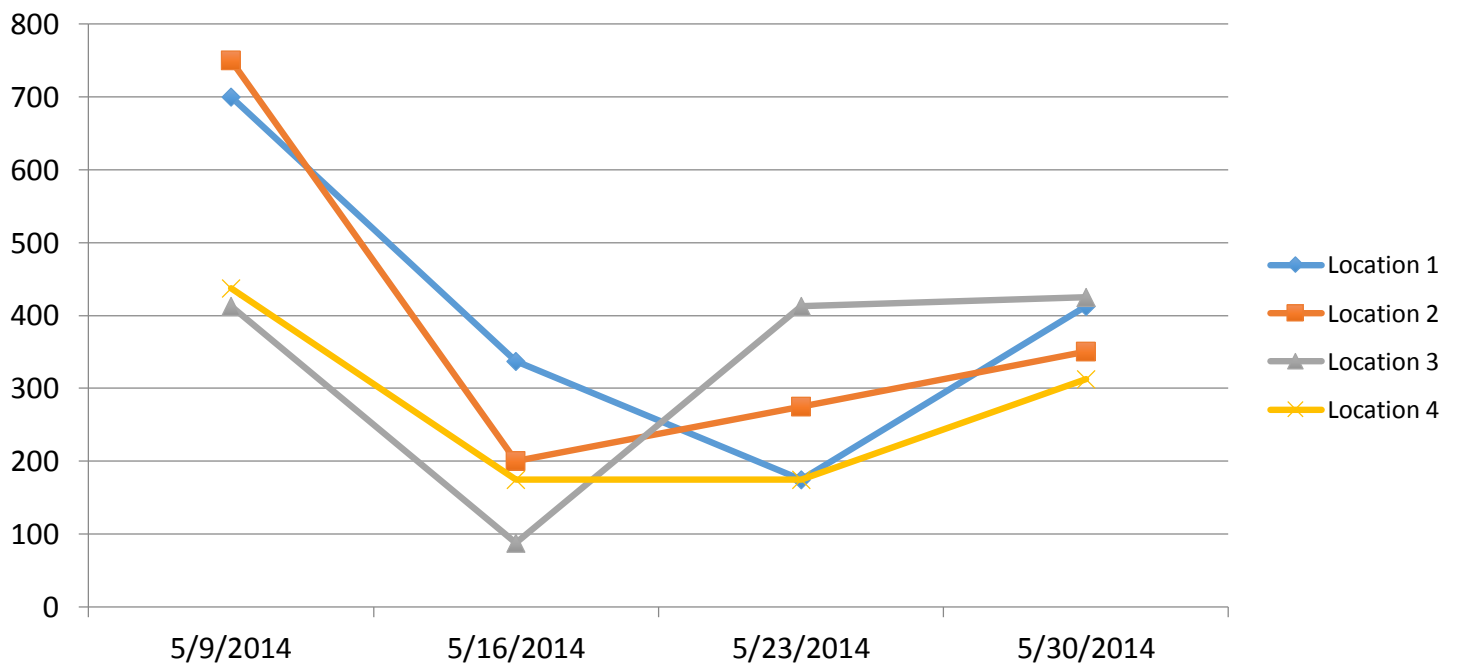
### Pb Averaged Over Surface and Depth, Per Location Over Time

	5/9/2014	5/16/2014	5/23/2014	5/30/2014
Location 1	700	337.5	175	412.5
Location 2	750	200	275	350
Location 3	412.5	87.5	412.5	425
Location 4	437.5	175	175	312.5
Average All Locations	575	200	259.375	375

***P. bahamense* density (organisms/L),  
averaged over surface, depth and locations**

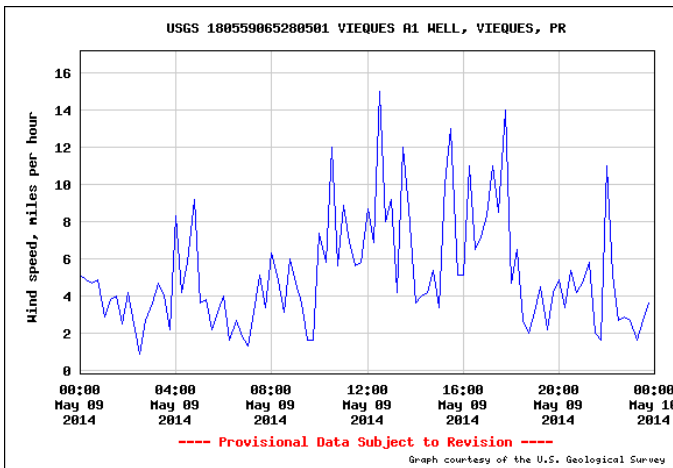
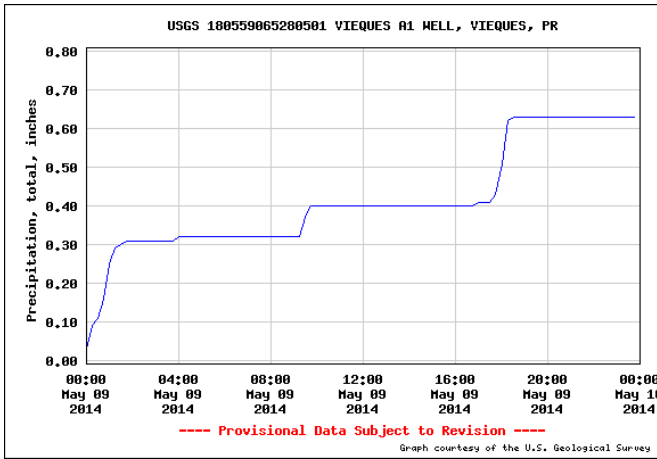
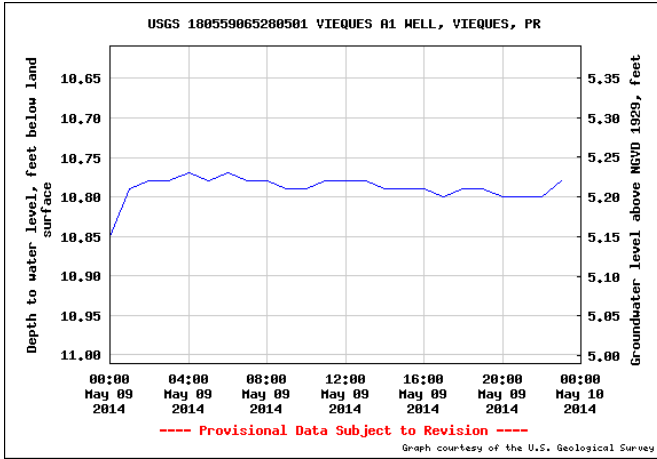


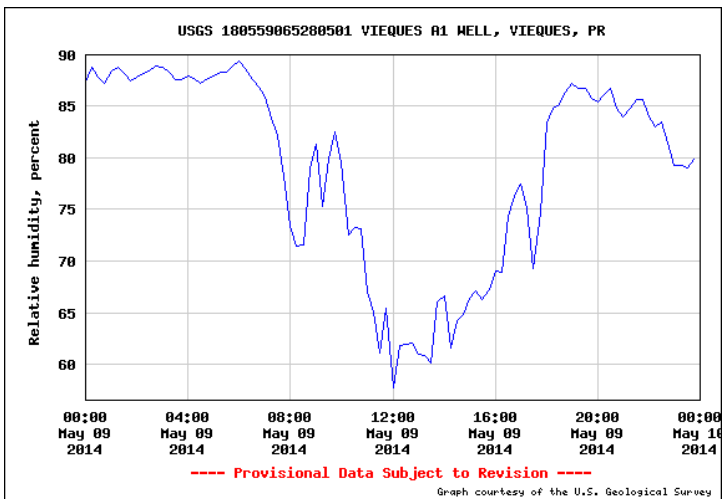
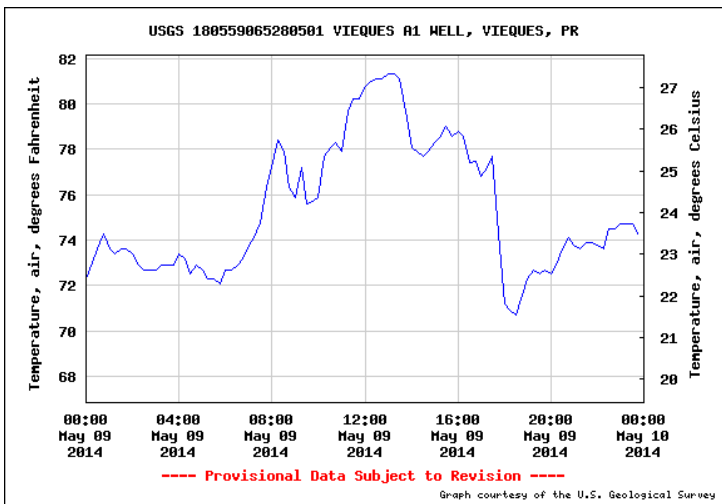
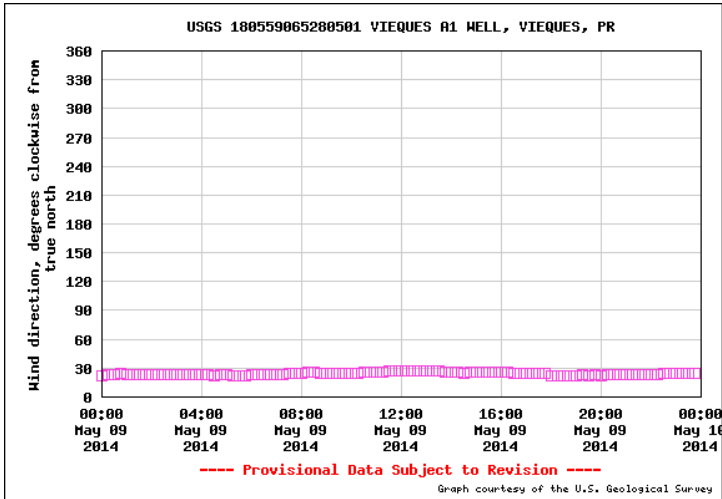
***P. bahamense* density (organisms/L),  
averaged over surface and depth**

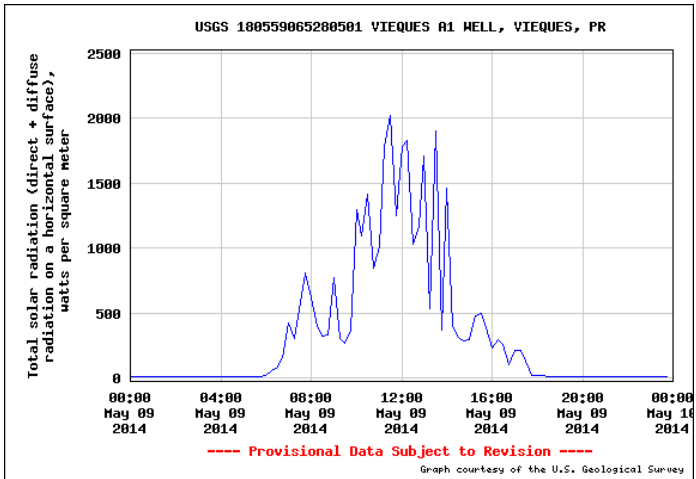
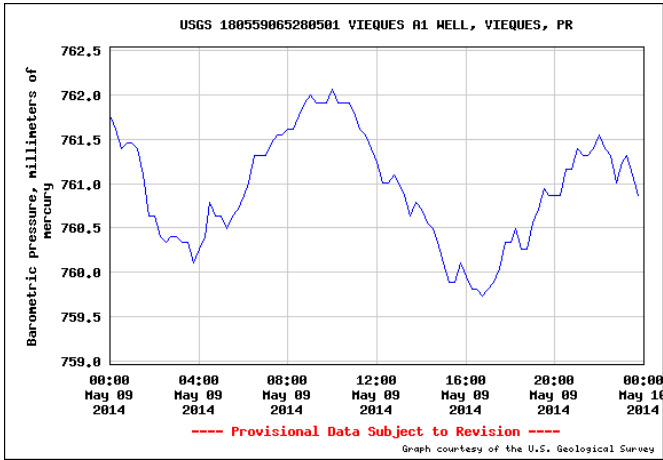


# Anejo 3 May Weather Data from USGS A1 Well, Vieques

May 9, 2014

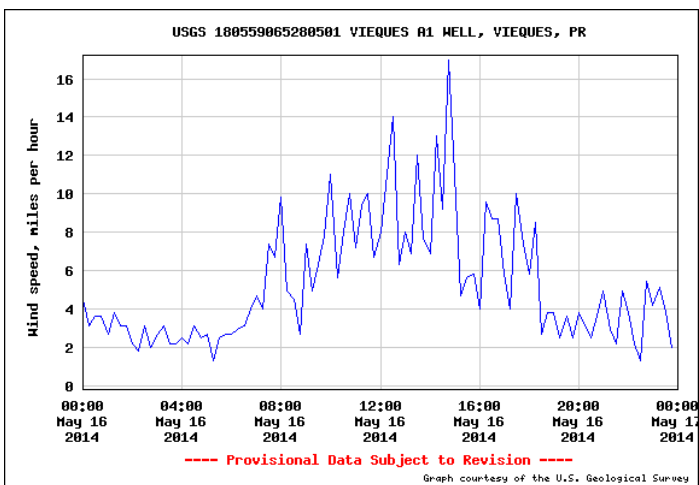
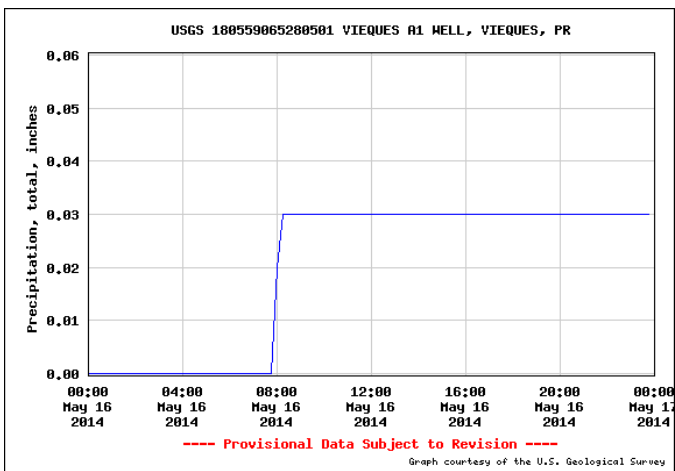
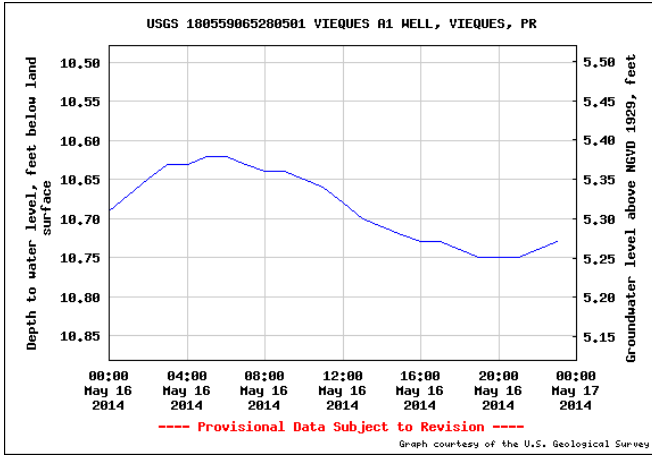


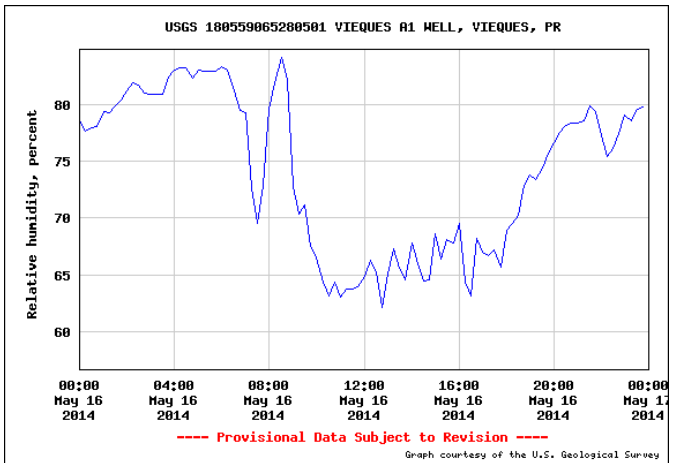
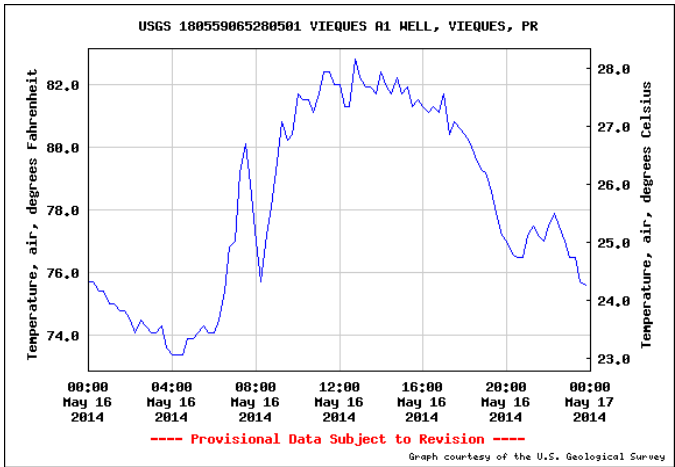
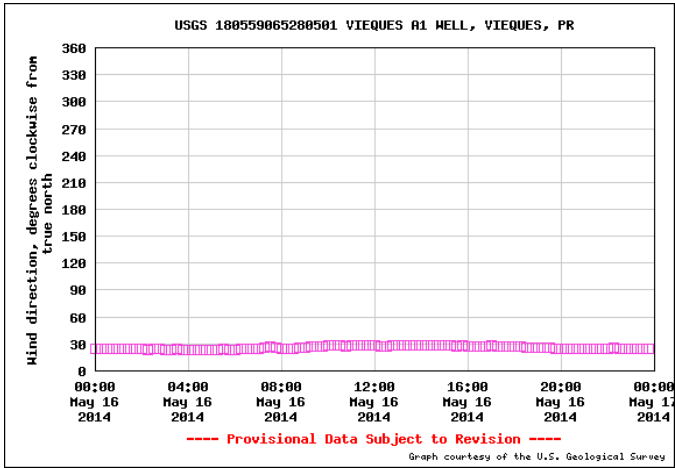


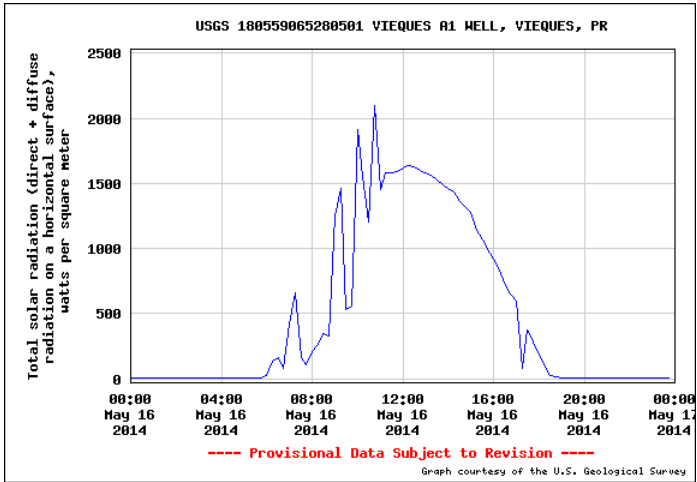
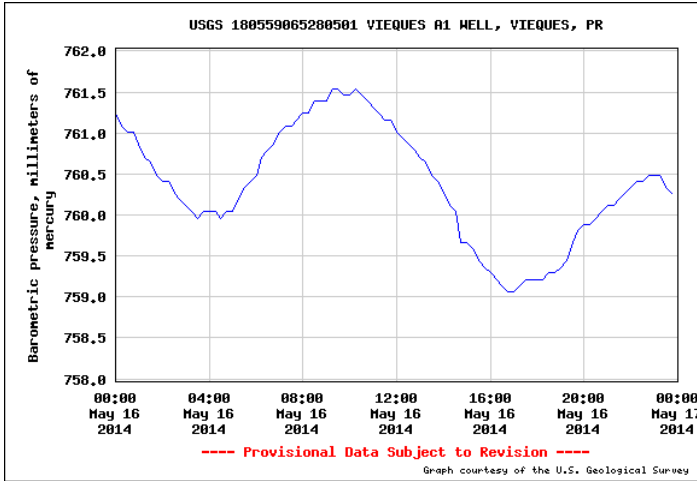




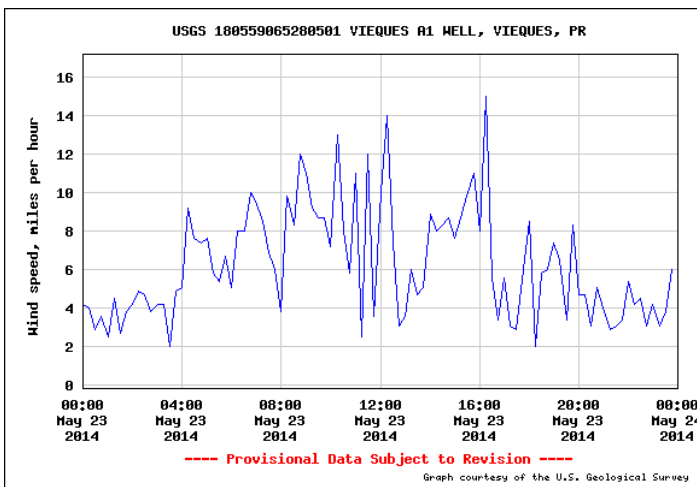
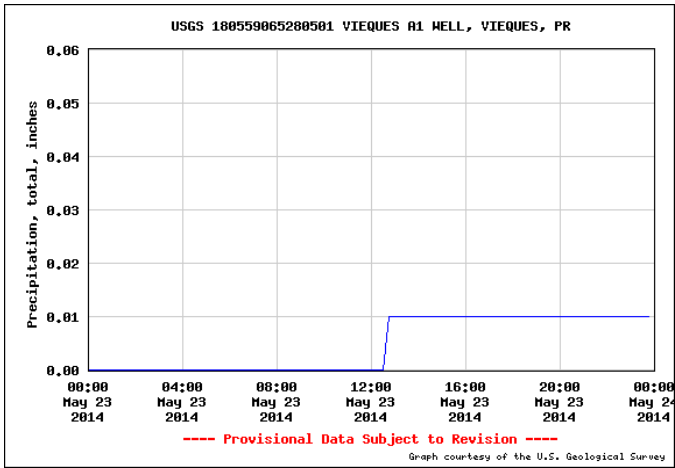
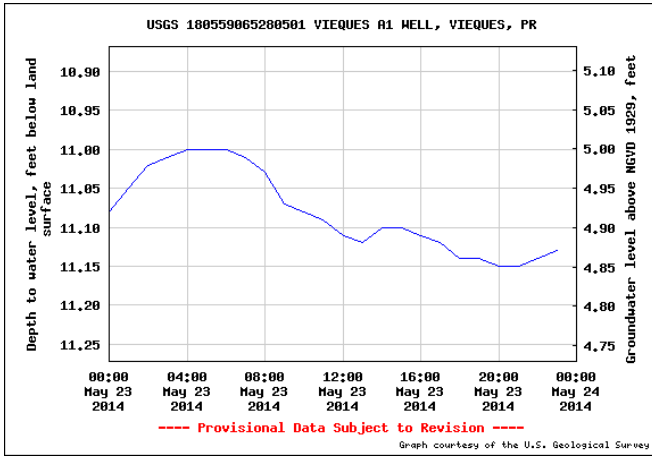
May 16, 2014

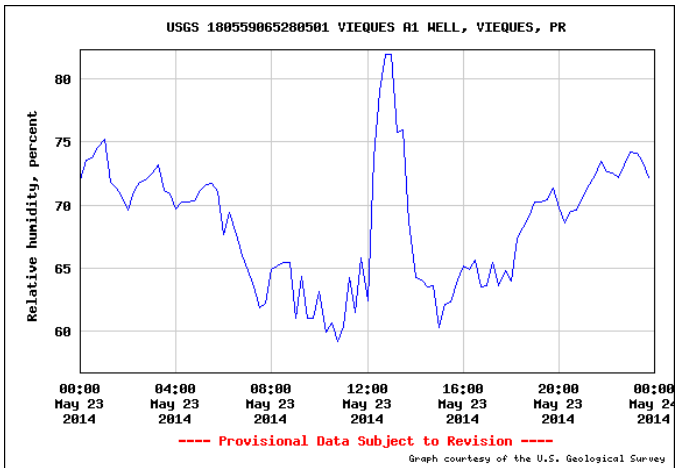
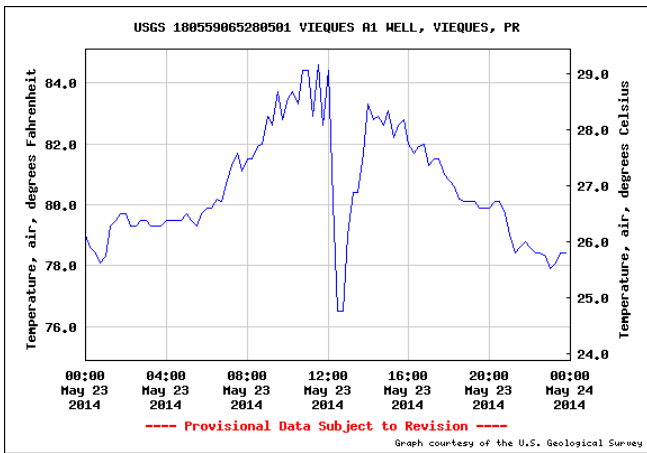
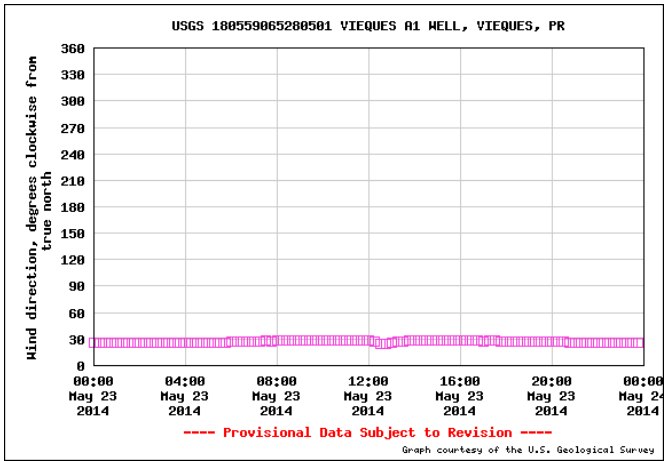


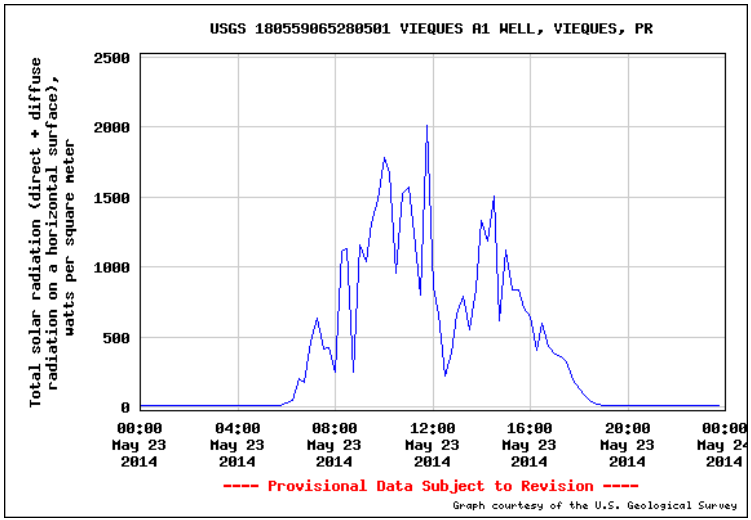
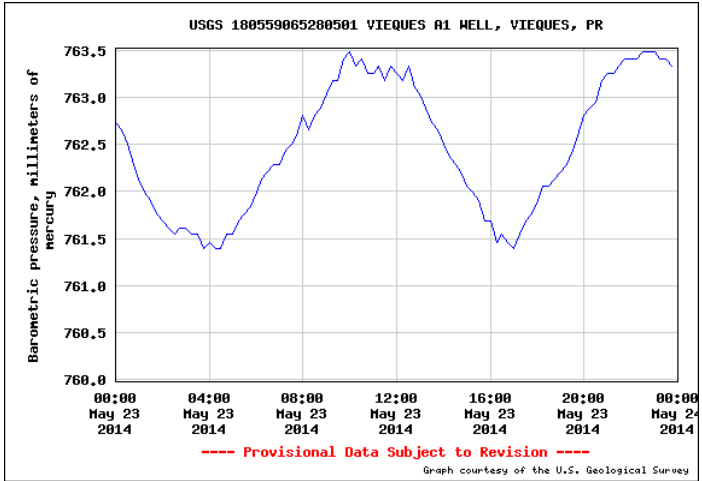




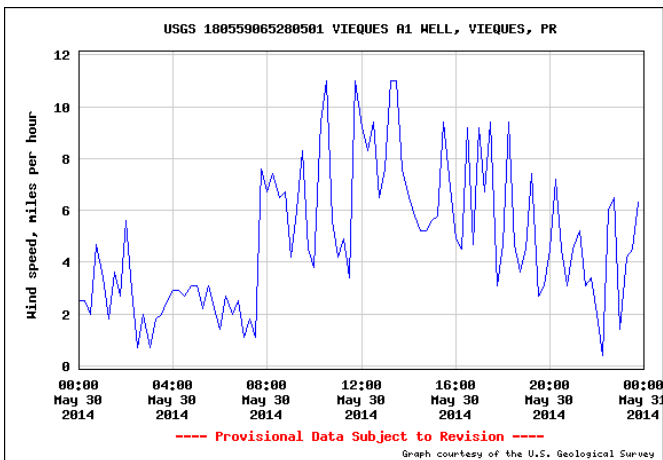
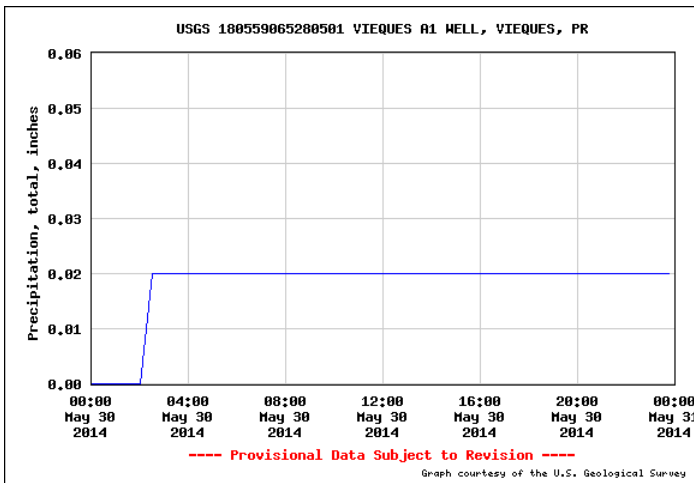
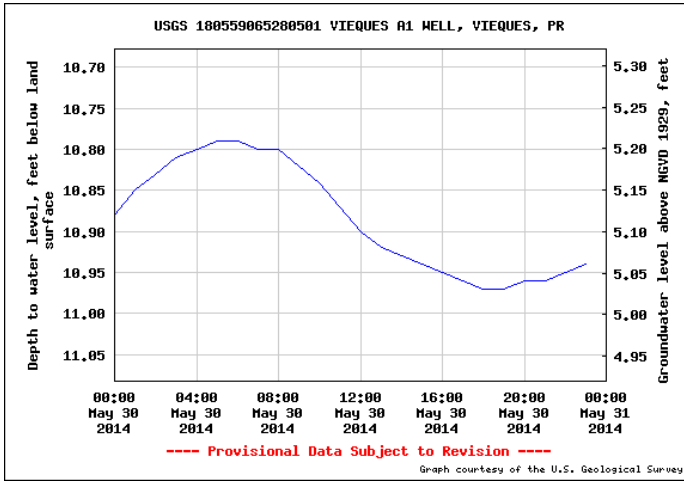
May 23, 2014

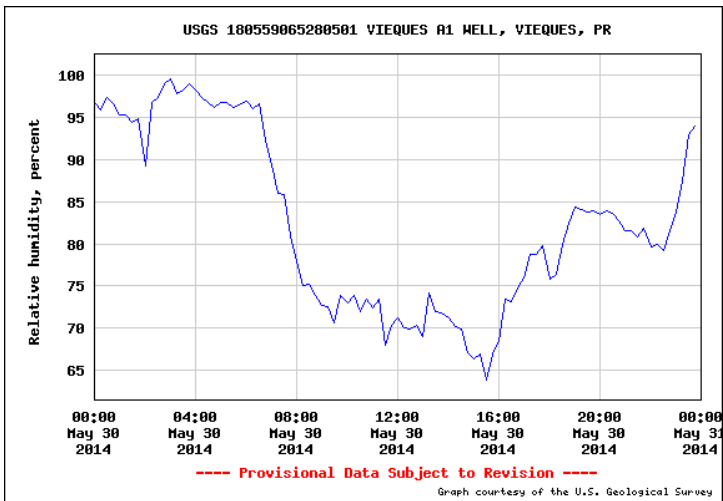
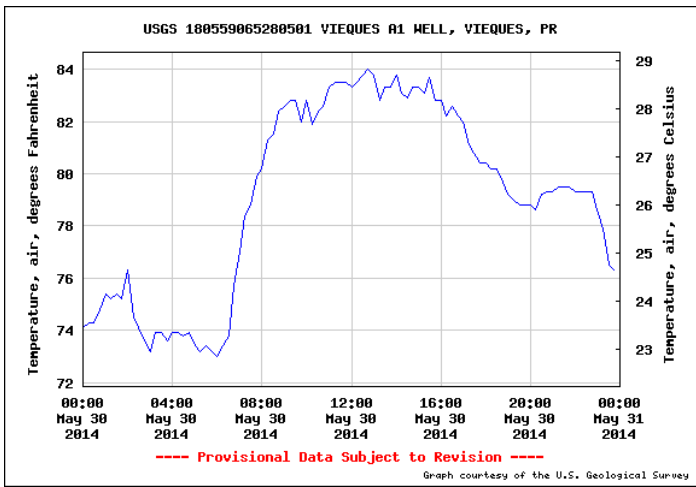
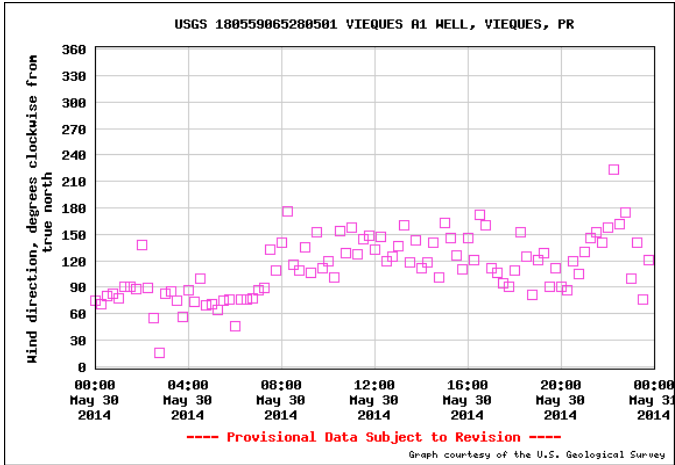




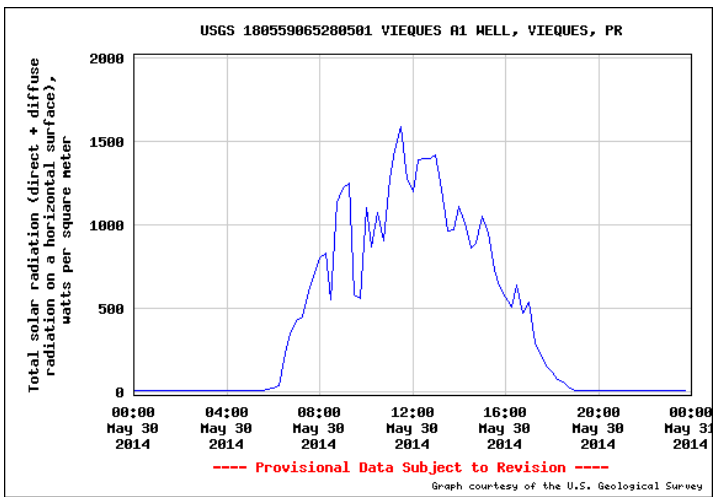
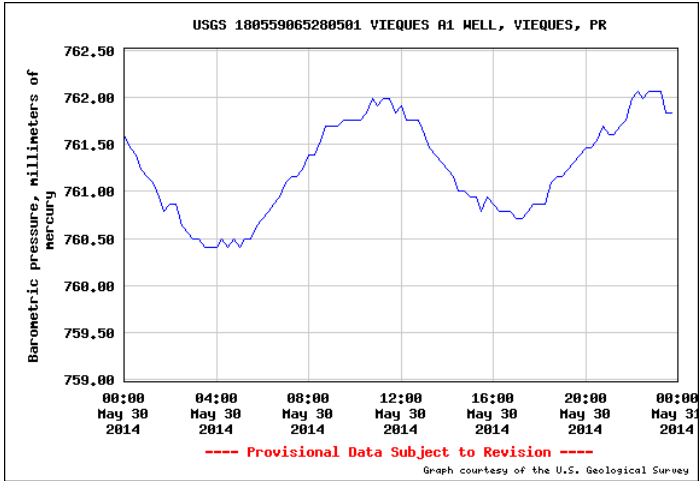


May 30, 2014









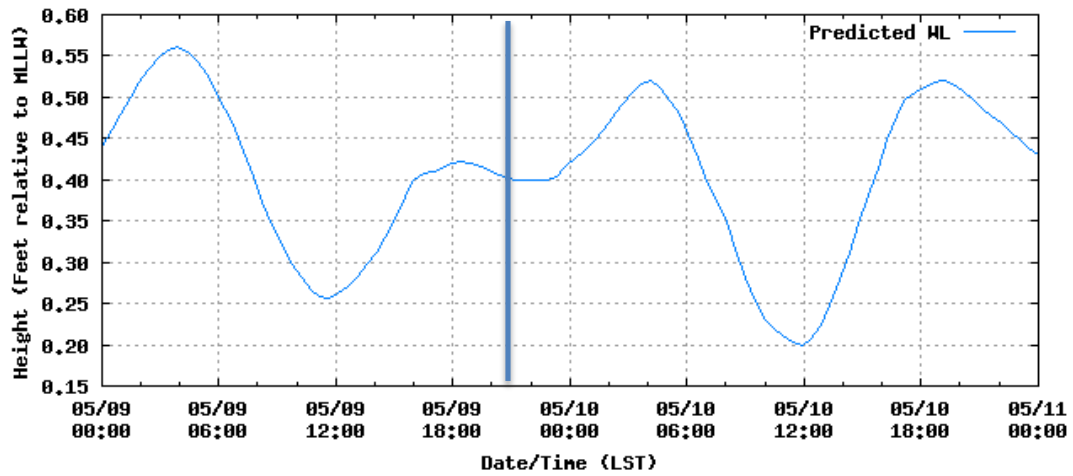
## Anejo 4

### Tide Data May 2014

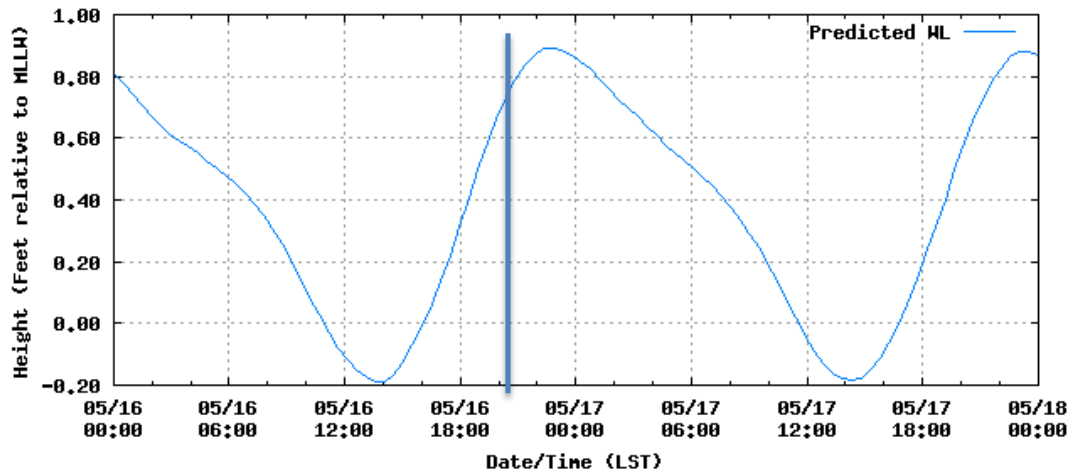
Source of Tide Data: NOAA Tide and Currents for Esperanza, Vieques

Blue line indicates approximate time of water quality data collection.

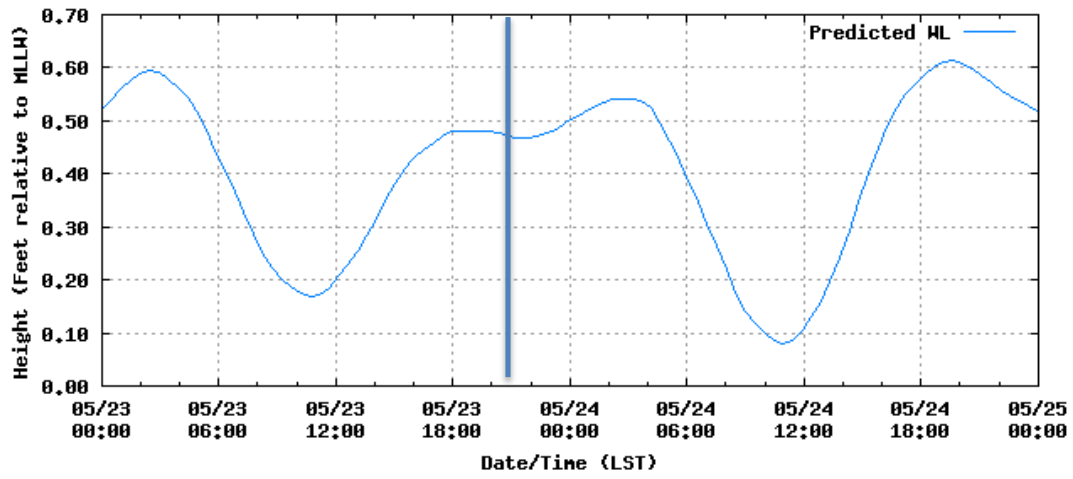
May 9, 2014



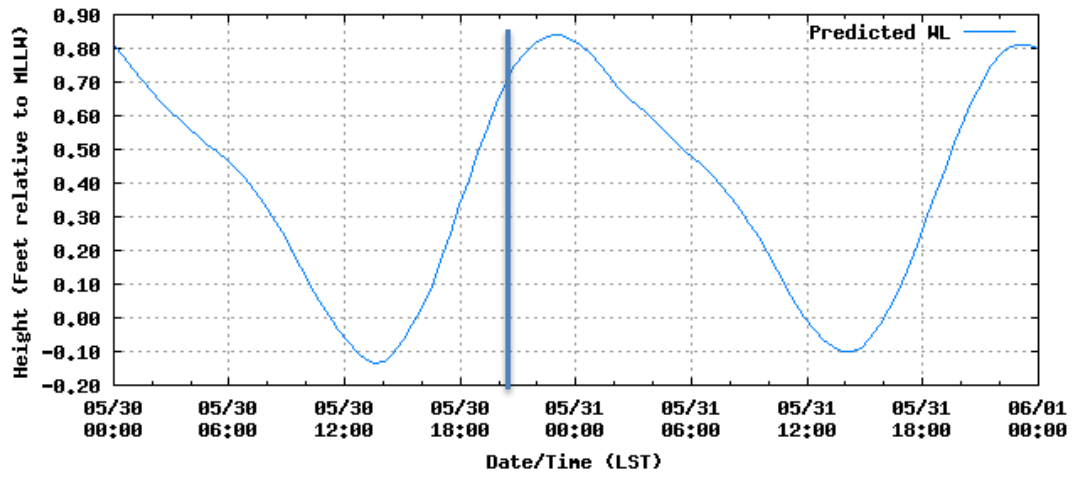
May 16, 2014



May 23, 2014



May 30 2014



## **Anejo 5**

### **Moon Phase Data, May 2014**

#### **Source**

[http://aa.usno.navy.mil/data/docs/RS\\_OneDay.php](http://aa.usno.navy.mil/data/docs/RS_OneDay.php)

#### **May 9, 2014**

Phase of the Moon on 9 May: waxing gibbous with 73% of the Moon's visible disk illuminated.

First quarter Moon on 6 May 2014 at 11:15 p.m. Atlantic Standard Time.

#### **May 16, 2014**

Phase of the Moon on 16 May: waning gibbous with 95% of the Moon's visible disk illuminated.

Full Moon on 14 May 2014 at 3:16 p.m. Atlantic Standard Time.

#### **May 23, 2014**

Phase of the Moon on 23 May: waning crescent with 27% of the Moon's visible disk illuminated.

Last quarter Moon on 21 May 2014 at 8:59 a.m. Atlantic Standard Time.

#### **May 30, 2014**

Phase of the Moon on 30 May: waxing crescent with 4% of the Moon's visible disk illuminated.

New Moon on 28 May 2014 at 2:40 p.m. Atlantic Standard Time.