



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR**

TESIS DE DOCTOR EN BIOLOGÍA

**Dinámica planctónica y transferencia de biotoxinas  
marinas a la Ballena Franca Austral (*Eubalaena australis*)  
a través de su alimentación en los golfos Nuevo y San  
José, Península Valdés, Chubut**

**Valeria C. D'Agostino**

BAHIA BLANCA

ARGENTINA

(Año 2016)

## **PREFACIO**

Esta Tesis se presenta como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Doctor en Biología, de la Universidad Nacional del Sur y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en ésta u otra universidad. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en el ámbito del Centro para el Estudio de Sistemas Marinos CESIMAR-CCT-CENPAT y el Instituto Argentino de Oceanografía IADO - Centro Científico Tecnológico de Bahía Blanca (CCTBB) - UNS, ambos dependientes del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) durante el período comprendido entre el 20 de mayo de 2014 y el 29 de noviembre de 2016, bajo la dirección de la Doctora Mónica Hoffmeyer (IADO – CONICET) y la codirección de la Doctora Mariana Degradi (CESIMAR-CONICET).

Lic. Valeria C. D'Agostino



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR  
Secretaría General de Posgrado y Educación Continua

La presente tesis ha sido aprobada el .... / .... / ..... , mereciendo la calificación de .....(.....)

*A mi máma María del Carmen y mi papá  
Miguel, a mis hermanos Romina y José  
y especialmente a Maxi.*

## **Agradecimientos**

Considero que ésta es una de las secciones más complicadas de escribir, no me quiero olvidar de nadie y a la vez es difícil expresar con palabras la gratitud que tengo hacia cada una de las personas que colaboraron en la realización de esta tesis. Así, quiero expresar mi más sincero agradecimiento:

A mis directoras Mónica Hoffmeyer y Mariana Degradi, por confiar en mí para llevar a cabo este trabajo y por acompañarme en esta etapa de aprendizaje. Muchas gracias Mónica por compartir conmigo tus conocimientos, por acortar la distancia con tu constante asistencia y por permitirme formar parte de tu grupo de trabajo. Muchas gracias Mariana por tu guía cotidiana y tu asistencia tanto en esta etapa de redacción, como durante los trabajos de campo.

A Silvana Dans, mi codirectora ante CONICET, por sus valiosas sugerencias durante el desarrollo de esta tesis doctoral y por las escapaditas, más de una vez, al campo.

Al Laboratorio de Zooplancton del Instituto Argentino de Oceanografía-IADO (CCTBB-CONICET). Y a los chicos de Bahía: Sofi, Ani, Maxi, Román, Euge, Ceci, Javi, Dani; Uds. no se dan una idea lo importante que fue su ayuda en muchos momentos. Asimismo muchas gracias a Florencia Biancalana, Melisa Fernández Serverini y Diana Villagran Wagner por brindarme su ayuda cuando la necesité.

Al Laboratorio de Mamíferos Marinos del Centro para el Estudios de Sistemas Marinos CCT CENPAT-CONICET. Principalmente al Dr. Enrique Crespo y a cada uno de los que me brindó su ayuda o compartimos un mate, gracias: Néstor, Ailén, Nico, Kily, Silvi, Damián, Rocío, Mariano, Agustín, Debi y Ailin. Especialmente a las chicas de la ofi: Gaby y Flor por escucharme y bancarme siempre.

A Viviana Sastre y Norma Santinelli por los análisis de las muestras de organismos fitoplanctónicos y por responder a cada una de mis preguntas. Gracias por compartir conmigo sus conocimientos.

A Graciela Casas y Paula Raffo por hacerme un lugar para guardar las muestras de plancton.

Al Instituto de Conservación de Ballenas por la muestra fecal del individuo juvenil varado muerto en Playa Kaisser, Golfo Nuevo. Principalmente a Mariano Sironi,

Marcela Uhart, Matías Di Martino, Lucas Beltramino, Miriam Pollicelli, Santiago Fernandez y Lucía Alzugaray por su buena predisposición siempre. Asimismo, muchas gracias Cari Marón por prestarnos la red de zooplancton utilizada durante la realización de esta tesis.

Al Laboratorio de Oceanografía Química – Contaminación de Aguas del CENPAT, principalmente a Miriam Solis y Mónica Gil por brindarme su ayuda durante los primeros procesamientos de las muestras para los análisis de toxicidad.

A Marta Commendatore, Fernando Dellatorre y Valeria Solana, por su buena predisposición cuando necesité adelantar mi turno en el liofilizador o incluso prestarme parte del suyo. También a Julieta Sturla y Mariela Marani por el asesoramiento durante la utilización de este aparatito.

A Bernd Krock por recibirme en su laboratorio del Alfred Wegener Institute for Polar and Marine Research (AWI), Bremerhaven, Alemania, por supervisarme y guiarme durante la extracción de toxinas en los diferentes tipos de muestras, como así también en la interpretación y análisis de los resultados de toxicidad. Asimismo, muchas gracias a Wolfgang Drebing, Annegret Müller y Torben Krohn por su valiosísima ayuda durante el trabajo de laboratorio y a todo el grupo del laboratorio de Química Ecológica que hizo que mi estadía sea realmente muy agradable.

A Fernando Martínez y Germán Cheli por su imprescindible ayuda con los análisis multivariados. Por asesorarme, explicarme y donarme muy amablemente esos hermosos y prolijos Script de R y corregirme los propios. Si ya lo sé... no fue una donación, les debo el asado y LOS vinos...

Al personal de náutica y automotores del CENPAT: Ricardo “Bebo” Vera, Facundo Irigoyen, Néstor Ortíz, Fabián Quiroga, Waldemar Olier y Julio “Bocha” Rua por su gran ayuda durante las campañas, el préstamo de equipamiento y por tantas risas y buenos momentos compartidos.

A los dueños de las empresas de avistajes: Whales Argentina, Southern Spirit, Hydrosport, Bottazzi y Peke Sosa por permitirme embarcar cada vez que lo necesité, especialmente a Pinino Orri. A los capitanes, guías balleneros y fotógrafos que trabajan con pasión y siempre están dispuestos a colaborar, como se pueda...y desde donde se pueda, principalmente a: Pablo Fioramonti, Claudio Nicollini, Fernando Varsky, Alexis Fioramonti, Ernesto Ricci, Diego Moreno, Cristian Campos, Miguel Bottazzi, Lucía Alzugaray y Daniel Casielles por la recolección de las muestras fecales de ballenas. A

Alexis y Pablo Fioramonti, Mónica Torres, Kata Marchesi, Claudia Martitsch, Lucía Epherra, Diego Moreno, Ángel Veléz, Lucas Beltramino, Santiago Fernández, Raúl Passarotti, Jorge “Chochi” Owen, Marisa Berzano y Matías Arenas por las fotos, vídeos y el aviso de ballenas filtrando. Además, gracias Alexis, Pablo, Diego y Raúl por las muestras de zooplankton recolectadas con los baldes que tienen a mano. Asimismo no puedo dejar de agradecer a Rodrigo “el Colo” Picco por los lindos momentos compartidos y por ofrecerme su ayuda continuamente y a Alejandra “Mimi” Ovejero por siempre hacerme un lugar a pesar de los fines de semanas largos... TODOS Uds. me hicieron vivir momentos únicos que los voy a guardar por siempre en mí. Ah! y también gracias por el aguante los días que el viento soplaba de más para mi gusto.

A Lucas Beltramino por las hermosas imágenes que llevan las portadas de los capítulos 3 y 4 de esta tesis.

A Miriam Pollicelli, Giannina Voglino, Julia Deías, Gabriela Novacovsky, Nicolás Sueyro, Romina D’Agostino y Maximiliano Roig por su ayuda en las campañas.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por otorgarme una beca para el desarrollo de esta tesis. Al Centro Nacional Patagónico (CENPAT), por brindarme un lugar de trabajo y facilitarme las herramientas técnicas y logísticas para realizar las campañas.

A Lucas Figueroa del DBByF de la UNS por su buena predisposición para contestar a cada una de mis consultas y hacer las cosas más fáciles.

También debo agradecer por su apoyo financiero a la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (PICT-2014-3091: “Dinámica planctónica y vectorización de ficotoxinas hacia consumidores de niveles superiores en tramas tróficas pelágicas de la región de Golfos Norpatagónicos y El Rincón”) y a la empresa ALUAR. Asimismo a la Dirección de Flora y Fauna Silvestre de la Provincia de Chubut dependiente del Ministerio de la Producción y a la Subsecretaría de Conservación y Áreas Protegidas dependiente del Ministerio de Turismo por otorgarnos los permisos para el trabajo de campo.

Y el agradecimiento más especial es para:

Mi mamá, quien está siempre acompañándome y amándome incondicionalmente. Gracias por tanto y por todo. Por enseñarme a trabajar con pasión y a amar lo que se hace. Nadie podría haberlo hecho mejor que vos. Te amo Vieji!

Mi papá, la estrella más brillante en el cielo. Este también era tu anhelo, viejo...  
Acá lo tenes. Gracias por tanto y por todo. Te amo y amaré eternamente.

Mi hermana, gracias infinitas por estar siempre. Por amarme, escucharme, aconsejarme y por la hermosa y pura amistad que tenemos. Te amo!

Mi hermano, gracias por escucharme, ayudarme y tratar de entender todo el tiempo de que se trata esto...sos muy importante para mí. Te amo!

Mi compañero y el amor de mi vida. Gracias Gordi por tu amor y compañía. Por tus palabras justas y el apoyo constante. Por respetar mis tiempos y entender mis ausencias. Agradezco cada día a Dios que seas vos. Te amo!

María del Valle Christiansen, por brindarme su amistad. También su casa y compañía cada vez que necesité hospedaje en Bahía Blanca.

Mis amigos y compinches, aquellos que la respuesta que más escucharon durante este último tiempo fue: “No puedo”, sin embargo siempre estuvieron ahí. Gracias: Gaby, Magda, Estefa, Juli, Caro, Sofi, Pauli, Rami, Vani, Lala, Gianni, Rocío, Mirna y también a los de Bahía: Sofi, Ani y Maxi. Cada uno de Uds. es muy importante para mí...Gracias por el aguante.

Daniel Udrizar por estar cada vez que necesité una mano, por los mates y las charlas.

El hermoso grupo de inglés. Gracias Ceci, Lu, Magda y Gaby por aguantar que las últimas clases sean tan monotemáticas.

Por último, y no por eso menos importante, gracias a Dios. Por su ayuda, fortaleza y por este hermoso camino que me permite transitar, con el cual siempre soñé.

Una vez alguien me dijo: *Nunca dejes de creer...*

Y hoy estoy más convencida que nunca que:

*Al que cree todo le es posible.*

## **Dinámica planctónica y transferencia de biotoxinas marinas a la Ballena Franca Austral (*Eubalaena australis*) a través de su alimentación en los golfos Nuevo y San José, Península Valdés, Chubut**

La comunidad fitoplanctónica en los golfos Nuevo (GN) y San José (GSJ) está dominada por diatomeas y dinoflagelados. Especies potencialmente productoras de ácido domoico (AD) del género *Pseudo-nitzschia* son componentes frecuentes del fitoplancton de estos golfos. Mientras que el dinoflagelado *Alexandrium tamarense*, productor de toxinas paralizantes de moluscos (PSP), ha sido identificado recurrentemente en la misma área, tendiendo a producir *blooms* durante la primavera. Dentro de la comunidad mesozooplanctónica tanto del GN como del GSJ los copépodos son el grupo más abundante. Sus máximas densidades ocurren durante la primavera luego del *bloom* primaveral del fitoplancton. Estudios recientes demostraron que la ballena franca austral (*Eubalaena australis*) se alimenta durante su estadía en el GN y el GSJ. Sin embargo, alimentarse en estos golfos podría ser un riesgo para las ballenas, debido a los recurrentes *blooms* de fitoplancton tóxico que ocurren durante la primavera en el área. El efecto de las toxinas sobre la salud de estas ballenas se postula actualmente, como una de las explicaciones a la mortalidad de crías observada durante los últimos años en Península Valdés. Este trabajo tiene como objetivos generales estudiar la variación estacional del alimento disponible en términos cuali- y cuantitativos para los individuos de *E. australis*. A su vez analizar la transferencia de biotoxinas desde las especies productoras del fitoplancton a los vectores en el mesozooplancton y desde ellos a estas ballenas. Durante el ciclo anual estudiado (diciembre de 2014-diciembre de 2015 en el GN y enero de 2015-enero2016 en el GSJ) tanto en el GN como en el GSJ el fitoplancton estuvo dominado por diatomeas y dinoflagelados. Las especies tóxicas de microalgas fueron más frecuentes durante la primavera, registrándose, incluso, un *bloom* de *Pseudo-nitzschia australis* en el mes de octubre en el GN. Dentro de la comunidad mesozooplanctónica del GN los copépodos y los cladóceros dominaron el mesozooplancton, mientras que los copépodos constituyeron el grupo dominante en el GSJ. En ambos golfos los copépodos se asociaron a los feopigmentos y la salinidad, mientras que los cladóceros se correlacionaron positivamente con la temperatura. La abundancia y biomasa mesozooplanctónica en general fueron bajas durante la temporada de ballenas (invierno y primavera). Sin embargo, hacia fines del invierno en el GN el mesozooplancton presentó una biomasa destacable, registrándose entre 17-20 ballenas filtrando en

superficie. Las principales presas de *E. australis* fueron los copépodos calanoideos, larvas zoeas de *Munida gregaria*, larvas caliptopis y furciliias de *Euphausia lucens* como así también individuos juveniles y adultos de esta última especie y varios organismos del ictioplancton. Asimismo, durante el período estudiado, se detectó AD en la columna de agua, las muestras de plancton y en el material fecal de ejemplares vivos de *E. australis*. Este estudio demuestra, por primera vez, que la ballena franca austral está expuesta al AD a través de su alimentación en Península Valdés y la principal ruta de esta neurotoxina serían los copépodos. En tanto que no se pudo comprobar la transferencia de toxinas PSP a través de la trama trófica y que ésta esté afectando a las ballenas.

**Plankton dynamics and marine biotoxin transfer to the southern right whale  
*Eubalaena australis* through feeding in Nuevo and San José Gulfs, Península  
Valdés, Chubut, Argentina**

Phytoplankton community in Nuevo (GN) and San José (GSJ) Gulfs is dominated by diatoms and dinoflagellates. Species that are potential producers of domoic acid (DA) of the genus *Pseudo-nitzschia* are frequent components of phytoplankton in these gulfs. The dinoflagellate *Alexandrium tamarense*, a producer of paralytic shellfish poisoning (PSP) toxins, has been found in this area showing a tendency to produce blooms in spring. Copepods are the most abundant group in the mesozooplankton community both in GN and GSJ, its maximum densities occurring during spring after the spring phytoplankton bloom. Recent studies have demonstrated that the southern right whale *Eubalaena australis* feeds during its stay in GN and GSJ. Still, feeding in these gulfs could be dangerous for the whales due to the recurrent toxic phytoplankton blooms in this area during spring. The effect of toxins on whales' health has been postulated to be one of the causes of the calves' mortality observed in Península Valdés in the last years. The aims of this Ph. D. Thesis were i) to study seasonal variations in food availability in qualitative and quantitative terms for individuals of *E. australis*, and ii) to analyze biotoxin transfer from phytoplankton-producing species to vectors in mesozooplankton and from them to whales. During the annual cycle studied (December 2014-December 2015 in GN and January 2015-January 2016 in GSJ) phytoplankton in GN as well as in GSJ was dominated by diatoms and dinoflagellates. Toxic microalgae species were more frequent during spring, including a bloom of *P. australis* in October in GN. Mesozooplankton in GN was dominated by copepods and cladocerans while in GSJ it was dominated by copepods. In both gulfs copepods were associated to phaeopigments and salinity whereas cladocerans were positively correlated to temperature. Mesozooplankton abundance and biomass were in general low during the season of whales (winter and spring). Interestingly, a remarkable mesozooplankton biomass was observed towards the end of winter in GN, a total of ~17-20 whales being recorded filtrating seawater. The main preys for *E. australis* were calanoid copepods, *Munida gregaria* zoea larvae, *Euphausia lucens* calyptopis, furcilia, juveniles and adults as well as several ichthyoplankton organisms. DA was also detected in the water column, in the plankton samples and in faecal material from live specimens of *E. australis*. This study demonstrates for the first time that the southern right whale is exposed to DA through feeding in Península Valdés and that copepods could be the principal vector of this

toxin. It was nonetheless not possible to verify the transfer of PSP toxins through the food web nor was it possible to show that this transfer could affect whales.

## **Capítulo 1: Introducción general**

1.1	Introducción.....	2
1.1.1	La importancia del plancton en los ecosistemas marinos.....	2
1.1.2	Dinámica del fitoplancton y el zooplancton en los mares templados.....	5
1.1.3	La ballena franca austral ( <i>Eubalaena australis</i> ).....	7
1.1.3.1	Características generales .....	7
1.1.3.2	Distribución geográfica .....	9
1.1.3.3	Biología y ecología .....	10
1.1.3.4	Alimentación .....	11
1.1.4	La ballena franca austral ( <i>Eubalaena australis</i> ) en los golfos Norpatagónicos	13
1.2	Objetivos generales.....	13
1.3	Hipótesis de trabajo .....	13
1.4	Área de estudio .....	14

## **Capítulo 2: Dinámica plantónica y alimentación de la ballena franca austral (*Eubalaena australis*) en los golfos Nuevo y San José**

2.1	Introducción.....	18
2.1.1	Fitoplancton en los golfos Nuevo y San José.....	18
2.1.2	Mesozooplancton en los golfos Nuevo y San José.....	19
2.1.3	Alimentación de la ballena franca austral ( <i>Eubalaena australis</i> ) en los golfos Nuevo y San José.....	20
2.2	Objetivos.....	21
2.3	Materiales y Métodos .....	21
2.3.1	Actividades de muestreo.....	21
2.3.2	Actividades de laboratorio .....	26
2.3.2.1	Clorofila- <i>a</i> y feopigmentos .....	26

2.3.2.2	Análisis de las muestras de fitoplancton y mesozooplancton .....	27
2.3.3	Análisis de los datos .....	28
2.4	Resultados.....	29
2.4.1	VARIABLES AMBIENTALES.....	29
2.4.1.1	Temperatura .....	29
2.4.1.2	Profundidad del disco de Secchi (PS) .....	30
2.4.1.3	Clorofila- <i>a</i> .....	30
2.4.1.4	Feopigmentos .....	31
2.4.2	Composición y abundancia de los organismos fitoplanctónicos .....	33
2.4.2.1	Golfo Nuevo.....	33
2.4.2.2	Golfo San José .....	41
2.4.3	Composición y abundancia del mesozooplancton.....	49
2.4.3.1	Golfo Nuevo.....	49
2.4.3.2	Golfo San José .....	55
2.4.4	Relación entre la abundancia y composición del plancton y las variables ambientales en los golfos Nuevo y San José .....	61
2.4.4.1	Fitoplancton .....	61
2.4.4.2	Mesozooplancton .....	62
2.4.5	Alimentación de <i>E. australis</i> en Golfo Nuevo: Comportamiento, composición y abundancia del mesozooplancton .....	64
2.4.5.1	Comportamiento de alimentación .....	64
2.4.5.2	Composición y abundancia del mesozooplancton .....	68
2.5	Discusión .....	73
2.5.1	Dinámica de las variables ambientales en los golfos Nuevo y San José.....	73
2.5.2	Composición y abundancia de los organismos fitoplanctónicos .....	76
2.5.2.1	Golfo Nuevo.....	76
2.5.2.2	Golfo San José .....	79
2.5.3	Composición y abundancia del mesozooplancton.....	83

2.5.3.1 Golfo Nuevo.....	83
2.5.3.2 Golfo San José .....	86
2.5.4 Relación entre la abundancia y composición del plancton y las variables ambientales en los golfos Nuevo y San José .....	89
2.5.4.1 Fitoplancton .....	89
2.5.4.2 Mesozooplancton .....	90
2.5.5 Alimentación de <i>E. australis</i> en el Golfo Nuevo: Comportamiento, composición y abundancia del mesozooplancton .....	91
2.5.5.1 Comportamiento de alimentación .....	91
2.5.5.2 Composición y abundancia del mesozooplancton .....	92
 <b>Capítulo 3: Biotoxinas marinas en la columna de agua, en el plancton y en muestras fecales de <i>Eubalaena australis</i></b>	
3.1 Introducción.....	97
3.1.1 Toxinas de organismos fitoplanctónicos .....	97
3.1.1.1 Toxinas paralizantes de moluscos (PSP) .....	97
3.1.1.2 Toxinas amnésicas de moluscos (ASP).....	99
3.1.2 El zooplancton como un potencial vector de toxinas PSP y AD.....	100
3.1.3 Toxinas PSP y AD en los golfos Nuevo y San José.....	101
3.1.4 Biotoxinas fitoplanctónicas y mamíferos marinos .....	102
3.1.5 Biotoxinas fitoplanctónicas y la ballena franca austral .....	105
3.2 Objetivos.....	106
3.3 Materiales y métodos.....	106
3.3.1 Biotoxinas disueltas en la columna de agua. Muestreos mediante Solid Phase Adsorption Toxin Tracking (SPATT) .....	107
3.3.1.1 Actividades de muestreo .....	107
3.3.1.2 Actividades de laboratorio .....	109
3.3.2 Biotoxinas producidas por el fitoplancton.....	113

3.3.2.1 Actividades de muestreo .....	113
3.3.2.2 Actividades de laboratorio .....	113
3.3.3 Biotoxinas acumuladas por el mesozooplancton.....	114
3.3.3.1 Actividades de muestreo .....	114
3.3.3.2 Actividades de laboratorio .....	115
3.3.4 Biotoxinas contenidas en las muestras fecales de ballenas .....	117
3.3.4.1 Actividades de muestreo .....	117
3.3.4.2 Actividades de laboratorio .....	118
3.3.5 Transferencia de biotoxinas marinas a través de la trama trófica.....	124
3.4 Resultados.....	125
3.4.1 Biotoxinas disueltas en la columna de agua. Muestreos mediante SPATTs ...	125
3.4.2 Biotoxinas producidas por el fitoplancton.....	126
3.4.3 Biotoxinas acumuladas por el mesozooplancton.....	131
3.4.4 Biotoxinas contenidas en las muestras fecales de ballenas .....	134
3.4.5 Biotoxinas transferidas a través de la trama trófica.....	135
3.5 Discusión .....	139
3.5.1 Toxinas PSP y AD disueltos en la columna de agua.....	139
3.5.2 Biotoxinas producidas por el fitoplancton.....	141
3.5.3 Biotoxinas acumuladas por el mesozooplancton.....	144
3.5.4 Biotoxinas marinas y la ballena franca austral .....	149
3.5.5 Transferencia de biotoxinas marinas a través de la trama trófica.....	152
 <b>Capítulo 4: Análisis global de las biotoxinas en el plancton y la exposición a las mismas de la ballena franca austral en Península Valdés</b>	
4.1 Introducción.....	158
4.2 Materiales y Métodos .....	159

4.3 Resultados y discusión .....	160
4.3.1 SPATTs .....	160
4.3.2 Biotoxinas en el fitoplancton y potenciales vectores mesozooplanctónicos ...	163
<b>Conclusiones generales</b> .....	172
<b>Bibliografía Citada</b> .....	175

# Capítulo 1: Introducción general



## 1.1 Introducción

### 1.1.1 La importancia del plancton en los ecosistemas marinos

El plancton (del griego planktos: errante, que deriva) comprende a aquellos organismos cuya capacidad de movimientos es baja o nula, de manera tal que su distribución horizontal de mayor escala está determinada por los desplazamientos de las aguas donde habitan, y no por su propia movilidad (Boltovskoy, 1981). Es un término sumamente amplio; que incluye a organismos vegetales (fitoplancton) y animales (zooplancton) (Boltovskoy, 1981). El zooplancton comprende a ciertos organismos cuyos ciclos de vida transcurren enteramente en el medio pelágico y son denominados holoplanctónicos, como así también a otros que cumplen sólo una parte de sus ciclos de vida en este medio, denominados meroplanctónicos.

El fitoplancton está compuesto por microalgas que habitan las capas superficiales e iluminadas de todos los cuerpos de aguas, que en general son transportadas en forma pasiva por el movimiento de las masas de agua. Estas algas utilizan la luz solar como fuente de energía y nutrientes inorgánicos solubles (amonio, nitrato, nitrito, fosfato y silicato) para transformar el CO<sub>2</sub> en la materia orgánica que necesitan para su crecimiento y multiplicación. Son organismos autótrofos.

La sucesión estacional del fitoplancton ocurre a lo largo de cada ciclo anual en todas las regiones marinas, aunque especialmente, en aquéllas que se desarrollan sobre las plataformas submarinas de los continentes. En latitudes intermedias, las estaciones climáticas son marcadas y entonces se observa también una fuerte variabilidad estacional de la comunidad fitoplanctónica con un incremento o disminución de biomasa por efecto de ciertos factores ambientales (nutrientes, temperatura y consumo por parte del zooplancton herbívoro).

La importancia del fitoplancton marino radica en que es el responsable de más del 45% de la producción primaria neta del planeta (Falkowsky et al., 2004). Asimismo, representa la base de las tramas alimentarias y la mayoría de los animales acuáticos dependen de estas microalgas, directa o indirectamente, para su subsistencia. Por su abundancia, los grupos de algas más importantes que componen la comunidad fitoplanctónica son las diatomeas, los flagelados y los dinoflagelados (Carreto, 1989).

Las diatomeas tienen una gran importancia en el medio marino, ya que generan hasta un 25% de la productividad primaria neta (Dawes, 1991).

El fitoplancton se clasifica de acuerdo a su tamaño en 1- picofitoplancton (0,2 - 2  $\mu\text{m}$ ), 2- nanofitoplancton (2 - 20  $\mu\text{m}$ ), 3- microfitoplancton (20 - 200  $\mu\text{m}$ ), 4- mesofitoplancton (0,2 - 2 mm) y 5- macrofitoplancton (> 2mm) (Sieburth et al., 1978). Las microalgas que constituyen el fitoplancton pueden dividirse en nocivas y no nocivas. Dentro del grupo de las microalgas nocivas se encuentran las toxígenas, que bajo ciertas condiciones son productoras de potentes toxinas (hemolíticas o neurotóxicas) que provocan mortandades de organismos marinos y ponen en riesgo la salud humana, como así también las generadoras de altas concentraciones con gran biomasa, que pueden causar anoxia y mortandad de fauna acuática (Reguera, 2002).

En la actualidad, los grupos de toxinas producidas por organismos fitoplanctónicos, más conocidos son: 1- las toxinas paralizantes de moluscos, causantes de la intoxicación paralítica por consumo de moluscos (paralytic shellfish poisoning, PSP, por sus siglas en inglés) producidas por dinoflagelados pertenecientes a los géneros *Alexandrium*, *Pyrodinium* y *Gymnodinium* y algunas especies de cianobacterias; 2- las toxinas diarreicas de moluscos, causantes de intoxicación diarreica por consumo de moluscos (diarrheic shellfish poisoning, DSP) producidas por dinoflagelados de los géneros *Dinophysis* y *Prorocentrum*; 3- las toxinas amnésicas de moluscos, causantes de intoxicación amnésica por consumo de moluscos (amnesic shellfish poisoning, ASP) producidas por diatomeas pertenecientes a los géneros *Nitzschia* y *Pseudo-nitzschia* y la macroalga roja *Chondria armata*; 4- las toxinas neurotóxicas de moluscos, causantes de intoxicación neurotóxica por consumo de moluscos (neurotoxic shellfish poisoning, NSP) producidas por el dinoflagelado *Karenia brevis* (= *Gymnodinium breve*, *Ptychodiscus brevis*); 5- las toxinas azaspirácidas de moluscos, causantes de intoxicación azaspirácida por consumo de moluscos (azaspiracid poisoning, AZP) producidas por especies de dinoflagelados del género *Azadinium* (Hallegraeff et al., 1995; Lindahl, 1998) y 6- ciguatera, responsables de la intoxicación ciguatérica por consumo de pescado (ciguateric fish poisoning, CFP) producida por dinoflagelados del género *Gambierdiscus* (Cortés et al., 1998; Dawson y Holmes, 1999).

El zooplancton marino comprende a una gran variedad de organismos animales (heterótrofos) que viven suspendidos en la columna de agua, con una capacidad

natatoria débil y cuya distribución espacial está afectada por las corrientes marinas (Mackas y Beaugrand, 2010). El zooplancton es un componente clave en las redes tróficas pelágicas debido a su importante papel en la transferencia de materia y energía desde los productores, a los niveles tróficos superiores (Kiørboe, 1993; Lenz, 2000). Los organismos zooplanctónicos se clasifican de acuerdo a su tamaño en las siguientes categorías según Sieburth et al. (1978): 1- picozooplancton (0,2 - 2  $\mu\text{m}$ ), 2- nanozooplancton (2 - 20  $\mu\text{m}$ ), 3- microzooplancton (20 - 200  $\mu\text{m}$ ), 4- mesozooplancton (0,2 - 20 mm), 5- macrozooplancton (2 - 20 cm) y 6- megazooplancton (20 cm - 2 m). En esta tesis se hará referencia a la fracción mesozooplanctónica, la cual incluye el mayor porcentaje de crustáceos planctónicos (por ejemplo copépodos), hidromedusas, ctenóforos, quetognatos, apendicularias, doliólidos, huevos y larvas de peces, y las larvas de mayor talla del meroplancton.

La estructura y composición de las comunidades zooplanctónicas son el resultado de la interacción de diversos factores físicos, químicos y biológicos (picnoclinas, frentes, procesos reproductivos, etc.) (Parsons et al., 1984; Mullin, 1993; Boltovskoy, 1999; Folt y Burns, 1999). Asimismo, otros factores tales como el patrón de circulación del agua, la competencia, la depredación y la disponibilidad de recursos también pueden afectar la abundancia y la distribución espacial del zooplancton (Miquel, 1991; Ichii et al., 1998; Atkinson et al., 1999; Ward et al., 2005).

En muchos ecosistemas marinos, dentro de la comunidad zooplanctónica, los copépodos son el grupo más abundante (Raymont, 1983; Kiørboe, 1993; Mauchline, 1998; Bradford-Grieve et al., 1999; Lenz, 2000). Este grupo se alimenta principalmente de organismos fitoplanctónicos, también de pequeños organismos heterótrofos e inclusive de detrito. Los copépodos son una importante fuente de alimento de numerosas larvas y adultos de peces planctófagos, como así también de otros organismos zooplanctónicos de mayor tamaño e inclusive mamíferos marinos (Mauchline, 1998; Lenz, 2000). Los copépodos adultos y copepoditos constituyen el componente más abundante del mesozooplancton y contribuyen con hasta el 97% de su biomasa total (Bradford-Grieve et al., 1999; Lenz, 2000).

Los copépodos calanoideos acumulan principalmente dos tipos de lípidos en sacos de almacenamiento: triacilgliceroles y ésteres de cera (Michaud y Taggart, 2007), que les proporcionan energía para: la reproducción, su supervivencia en períodos de baja disponibilidad de alimento, la obtención de alimento, el escape de los depredadores y la

migración vertical diurna. Muchas especies de copépodos del género *Calanus*, por ejemplo, se caracterizan por poseer grandes sacos de lípidos que ocupan más del 50% de su cavidad corporal (McLaren et al., 1989; Hirche, 1997; Lee et al. 2006; Pepin y Head, 2009) y por lo tanto representan un recurso de reserva de gran cantidad y alta calidad.

### **1.1.2 Dinámica del fitoplancton y el zooplancton en los mares templados**

En los mares templados los cambios estacionales son intensos, por ende, la dinámica planctónica está fuertemente regulada por la estacionalidad climática (Carreto, 1989) (Figura 1.1). Durante el invierno, el viento provoca una fuerte mezcla vertical por lo que el fitoplancton dispone de nutrientes, pero la baja radiación lumínica limita su crecimiento. En la primavera, se incrementa la radiación lumínica y disminuye la intensidad de los vientos, esto produce un paulatino calentamiento de la capa superficial y la mezcla vertical comienza a disminuir. En estas condiciones, el fitoplancton puede permanecer en la capa luminosa, todavía rica en nutrientes, situación que conduce a un crecimiento exponencial del número de células. Este incremento se denomina florecimiento o floración primaveral y lo inician las diatomeas, las cuales poseen una más alta tasa de división celular. Luego del mismo, se produce el consecuente incremento en número de los organismos del zooplancton herbívoro, el cual se alimenta óptimamente, crece individualmente y se reproduce rápidamente utilizando la gran biomasa disponible de microalgas. Este proceso de consumo y crecimiento de las poblaciones zooplanctónicas da lugar a un pico de abundancia y biomasa del mesozooplancton. Paralelamente, se produce un rápido descenso del fitoplancton, producto de: 1- la alta presión de depredación por parte del mesozooplancton (principalmente copépodos) y 2- la reducción de los nutrientes que conlleva a una disminución de la velocidad de división celular.

A medida que van disminuyendo los nutrientes y se incrementa la estabilidad vertical, las grandes diatomeas son reemplazadas por diatomeas de menor tamaño, luego éstas últimas son sustituidas por flagelados y pequeños dinoflagelados y, en los meses del verano, dominan los grandes dinoflagelados capaces de alimentarse de pequeñas diatomeas, bacterias y pequeños dinoflagelados. Asimismo, las comunidades

planctónicas también presentan máximos secundarios de menor intensidad en otoño y otros menores en verano (Figura 1.1).

La combinación de diversos factores, tales como abundancia de nutrientes, elevada estabilidad vertical, altas intensidades lumínicas, estratificación térmica, salinidad elevada y una mayor concentración de CO<sub>2</sub> pueden dar origen a florecimientos masivos, no necesariamente primaverales, llamados “mareas rojas” o *blooms* (en inglés). Las mareas rojas son eventos naturales caracterizados por una escasa diversidad de la población fitoplanctónica y elevadas concentraciones celulares (Carreto, 1989). Estos florecimientos pueden causar daños en el ecosistema marino y en la salud humana cuando son producidos por microalgas nocivas denominándose floraciones algales nocivas (FANs). Asimismo algunas especies (por ejemplo dinoflagelados del género *Dinophysis*) pueden ser nocivas incluso a bajas densidades, es decir, sin llegar a formar *blooms* o provocar cambios de coloración aparente en las masas de agua (Reguera et al., 1993; Blanco et al., 1998; Reguera, 2002).

En las últimas décadas, se ha registrado un aparente incremento en la incidencia de las FANs a nivel mundial (Reguera, 2002). Los impactos de estos fenómenos incluyen: mortalidad masiva de organismos cultivados y silvestres (como por ejemplo aves y mamíferos marinos, peces, entre otros) (Anderson y White, 1992; De la Riva et al., 2009; Nuñez-Vázquez et al., 2004), como así también daños en la salud humana que van desde una leve intoxicación hasta la muerte por la ingesta de alimentos contaminados (Shumway, 1990; Lincoln et al., 2001). También se incluyen dentro de las FANs aquellos eventos no toxígenos pero que son capaces de producir graves daños en el ecosistema, como por ejemplo obstrucción de las branquias de los peces, consumo total del oxígeno en la columna de agua provocando la muerte de organismos por anoxia, entre otros efectos perjudiciales (Carreto et al., 1981).

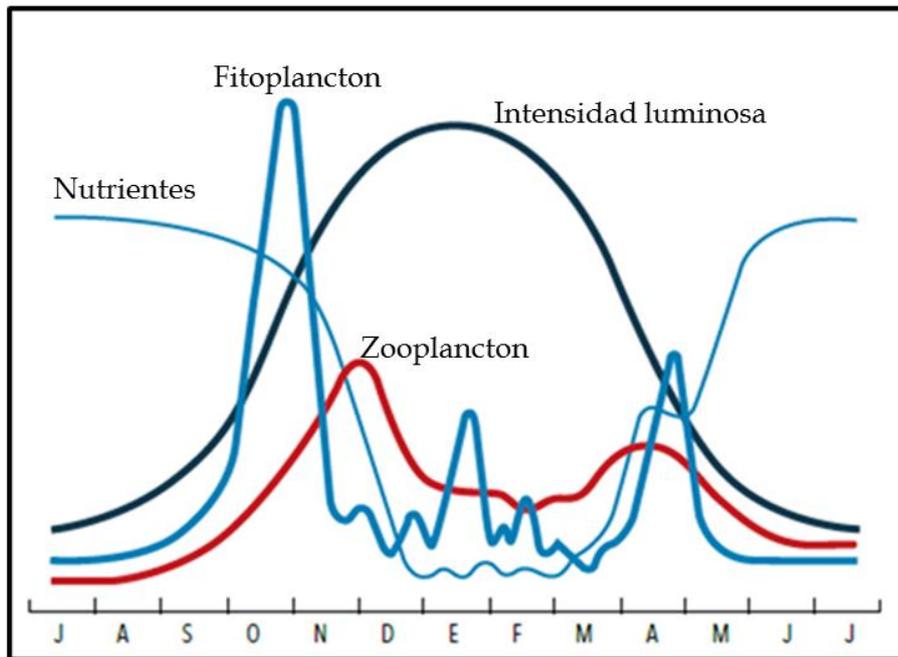


Figura 1.1: Dinámica del fitoplancton y zooplancton en mares templados correlacionado con la disponibilidad de nutrientes y de luz. Adaptado de Carreto (1989).

### 1.1.3 La ballena franca austral (*Eubalaena australis*)

#### 1.1.3.1 Características generales

El nombre genérico de la ballena franca austral deriva del griego *eu* (verdadero) y del latín *balaena* (ballena), mientras que *australis* también deriva del latín y hace referencia al origen geográfico del ejemplar tipo.

Estas ballenas carecen de aleta dorsal (Figura 1.2). La coloración general del cuerpo es oscura, normalmente de color negro, aunque algunos ejemplares presentan una coloración grisácea o parda. Una característica distintiva de esta especie es la presencia de manchas blancas de tamaños y formas variables principalmente en el vientre y ocasionalmente en el dorso.



**Figura 1.2: Vista dorsal de ejemplares de ballena franca austral (*Eubalaena australis*) donde se observa claramente que carecen de aleta dorsal.**

El orificio respiratorio o espiráculo, al igual que en el resto de las ballenas, es doble; en forma de V y está situado por detrás del extremo anterior de la cabeza. Esto hace que el soplido de esta especie de ballena visto por delante o por detrás, sea en forma de V.

Las hembras pueden alcanzar una talla máxima de 17 metros, mientras que los machos no suelen superar los 15,50 metros de largo. Estos animales pueden llegar a pesar entre 40 y 50 toneladas (Bastida y Rodríguez, 2009). Cuando nacen los cachorros miden entre 4 y 5,50 metros y pueden llegar a pesar entre 1 y 3 toneladas.

Poseen una gran cabeza que comprende alrededor de 1/3 del largo del cuerpo. En ella poseen numerosas callosidades, las cuales son engrosamientos de la piel con las cuales nacen los cachorros e inmediatamente son colonizadas por crustáceos anfípodos de la familia Cyamidae, provenientes de la madre. La presencia de estos organismos le otorga a las callosidades el típico color blancuzco o anaranjado (Figura 1.3). La forma,

el número y el tamaño de estas callosidades son diferentes entre individuos, lo cual permite identificar a los ejemplares a lo largo de toda su vida.



Figura 1.3: Vista de las callosidades en ejemplares de ballena franca austral (*Eubalaena australis*).

### 1.1.3.2 Distribución geográfica

La ballena franca austral tiene una distribución de tipo circumpolar, entre los 20° y 60° de latitud en los océanos Atlántico Sur, Indico Sur y parte del Pacífico Sur (Figura 1.4). Al igual que la mayoría de las especies de ballenas, la ballena franca austral es migratoria. En la primavera austral se las puede observar en las costas de Sudamérica, Sudáfrica, Australia, Nueva Zelanda y otras islas oceánicas vinculadas con actividades reproductivas (Bastida y Rodríguez, 2009). Las ballenas de la población de la costa atlántica de Sudamérica, al finalizar la primavera, se dirigen a las áreas típicas de alimentación, localizadas en latitudes medias y altas del Atlántico Sur y región Subantártica (Payne, 1986; Rowntree et al., 2008; Valenzuela et al., 2009). Sin embargo, también podrían existir áreas de alimentación próximas al borde de la plataforma continental (frente del talud) e incluso en zonas plenamente oceánicas

(Bastida y Rodríguez, 2009). En la costa argentina se las puede observar desde el norte de la provincia de Buenos Aires hasta Tierra del Fuego e Islas Malvinas, alcanzando su máxima concentración en invierno y primavera en la zona reproductiva de Península Valdés (Bastida y Rodríguez, 2009).

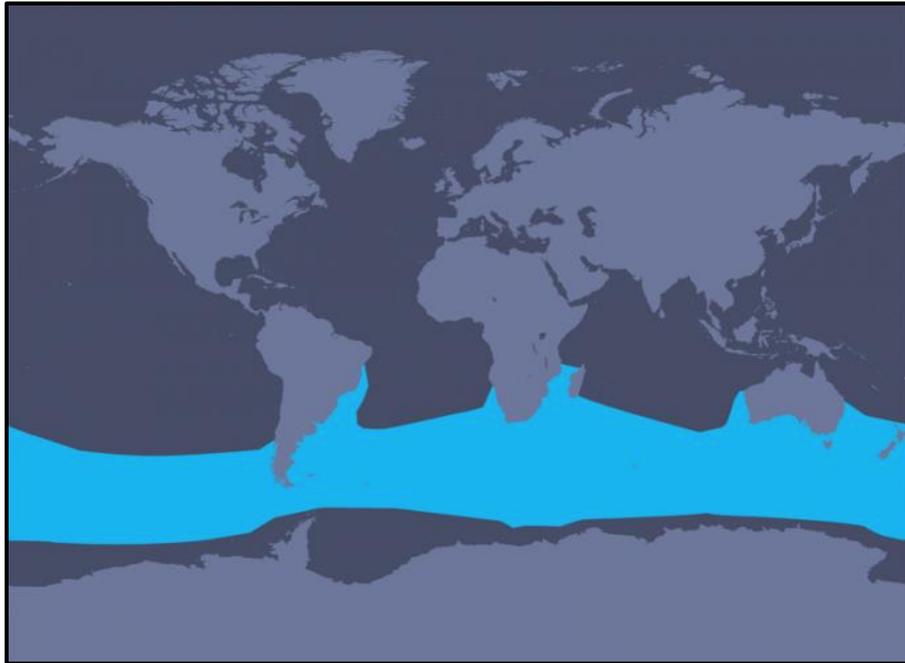


Figura 1.4: Mapa de distribución de la ballena franca austral (*Eubalaena australis*) (Fuente WDC: <http://ar.whales.org/guia-de-especies/ballena-franca-austral>).

### 1.1.3.3 Biología y ecología

Los individuos de ballena franca austral alcanzan la madurez sexual aproximadamente a los 6 años de edad (Payne, 1986). El ciclo reproductivo en esta especie oscila entre 3 y 5 años comprendiendo un período de gestación de aproximadamente 12-13 meses, un período de lactancia que puede variar entre 8-17 meses; seguido de un período de anestro de aproximadamente 12 meses (Curry y Brownell, 2014). Para aparearse, generalmente forman grupos de cortejo y cópula, integrados por una hembra y varios machos. Los machos compiten entre sí, en ocasiones interactuando agresivamente usando sus callosidades, para lograr aparearse con la hembra (Payne y Dorsey, 1983). Sin embargo, la verdadera competencia se

produce dentro del cuerpo de la hembra entre los espermatozoides de varios machos, este tipo de competencia se conoce con el nombre de “competencia espermática”, en la cual el macho que produzca más cantidad de esperma tendrá más probabilidades de fecundar al único óvulo de la hembra (Gomendio y Roldán, 1991).

La UICN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza) considera a la ballena franca austral como una especie de Bajo Riesgo, dependiente de la conservación. En tanto que el CITES (Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres) la coloca en el apéndice 1, el cual incluye a todas las especies en peligro de extinción que son o pueden ser afectadas por el comercio.

#### **1.1.3.4 Alimentación**

La ballena franca austral es filtradora, posee una amplia cavidad bucal rodeada de 220 a 260 pares de placas rígidas de queratina denominadas barbas que cuelgan a cada lado del maxilar superior, dejando una abertura en el frente de la boca (Figura 1.5). Las barbas pueden medir más de dos metros de largo en un animal adulto. El borde externo de cada barba es liso mientras que el interno está cubierto de una gran cantidad de fibras duras, que se entrelazan entre sí formando una red o filtro donde queda retenido el alimento.

El comportamiento típico de alimentación consiste en nadar lentamente, con la boca abierta, tanto por la superficie como por debajo de ella. De esta forma, grandes volúmenes de agua junto con el alimento ingresan por la parte frontal de la boca. Luego de un período de filtrado, la ballena cierra su boca de modo que salga el agua y los organismos más pequeños entre los delgados espacios de las placas laterales, quedando el alimento retenido en los filamentos internos de las barbas. Las crías de uno o dos meses de vida imitan a sus madres en la filtración del alimento, por lo cual la dieta de los ballenatos podría convertirse en mixta (leche y zooplancton) siendo aún muy jóvenes (Bastida y Rodríguez, 2009). Su espectro trófico incluye adultos y estadios juveniles de eufáusidos como el krill (*Euphausia superba*), copépodos de talla grande y mediana, larvas y juveniles de peces y otros grupos del micronecton (Pauly et al., 1998; Leaper et al., 2006; Hoffmeyer et al., 2010; D’Agostino et al., 2016).

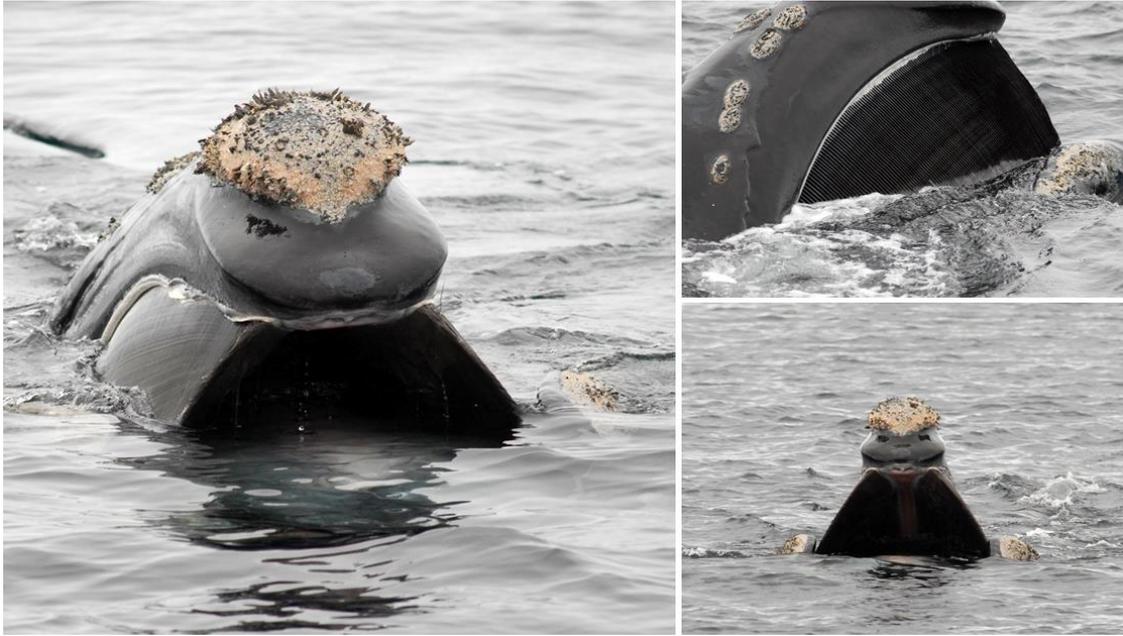


Figura 1.5: Ejemplar de ballena franca austral (*Eubalaena australis*) abriendo su boca y exhibiendo las barbas. Nótese el filtrado a través de sus barbas (arriba a la derecha). Fotos: Lucas Beltramino.

Registros obtenidos del contenido estomacal de individuos de *E. australis* cazados por balleneros soviéticos entre los años 1951/1952 y 1970/1971, muestran que la dieta de la ballena franca austral cambia con la latitud. Los estómagos de individuos cazados al sur de 50° S se encontraban colmados de eufáusidos (krill), los cazados al norte de 40° S contenían copépodos, mientras que los individuos cazados entre los 40° S y 50° S contenían una mezcla de copépodos, eufáusidos y pequeños crustáceos (Tormosov et al., 1998). Los cambios latitudinales en la dieta parecen estar relacionados con la distribución de densas concentraciones de krill. El krill antártico (*Euphausia superba*) se distribuye en latitudes altas entre el frente polar y la plataforma Antártica (Atkinson et al., 2004). Estas densidades son altas en verano y están correlacionadas positivamente con las mayores concentraciones de clorofila-*a*.

Estudios realizados con la ballena franca del norte, *Eubalaena glacialis*, demostraron que esta especie no selecciona sus presas o que si existiera selección, la misma sería una selección mecánica a través de sus barbas y estaría basada en el tamaño de la presa más que en la selección activa de especies particulares (Mayo et al., 2001). Los mismos autores establecieron luego de un estudio experimental que el 95% de contenido calórico que ingiere esta ballena estaría constituido por organismos que se pueden capturar con una malla de 335 µm de paso.

#### **1.1.4 La ballena franca austral (*Eubalaena australis*) en los golfos Norpatagónicos**

Los golfos Norpatagónicos, Golfo Nuevo (GN), Golfo San José (GSJ) y Golfo San Matías (GSM) (Figura 1.6), representan junto con la zona costera de Santa Catarina en Brasil, áreas de cría y reproducción de la mayor población de ballena franca austral del mundo: la población del Atlántico Sudoccidental (Payne, 1986; Payne et al., 1990; IWC, 1998; 2001; Groch et al., 2005).

Los primeros individuos llegan a estas aguas a fines del otoño de cada año, permanecen en la zona durante todo el invierno y la primavera, alcanzándose el mayor número de animales entre los meses de agosto y septiembre (Crespo et al., 2014). La estructura grupal varía a lo largo de la época del año, dependiendo de la función que cumplen los individuos de acuerdo con el sexo y la edad (Bastida y Rodríguez, 2009). Los grupos de cópula en Península Valdés se presentan más frecuentemente durante la primera mitad de la temporada reproductiva y su máximo suele ocurrir alrededor de septiembre. Los primeros nacimientos tienen lugar generalmente en agosto y los últimos a fines de octubre (Bastida et al., 2007). Las hembras permanecen en el área de Valdés con sus crías entre dos y tres meses después del parto (Payne, 1986; Best y Rüther, 1992; Cooke et al., 2001). Los pares madre-cría permanecen en la zona por más tiempo que los otros grupos de ballenas y son los últimos en abandonarla (Rowntree et al., 2001).

### **1.2 Objetivos generales**

Estudiar la variación estacional del alimento disponible en términos cuali- y cuantitativos para la ballena franca austral (*Eubalaena australis*). A su vez analizar la transferencia de biotoxinas desde las especies productoras del fitoplancton a los vectores en el mesozooplancton y desde ellos a las ballenas.

### **1.3 Hipótesis de trabajo**

1. La oferta trófica planctónica para las ballenas, aumenta hacia mediados de la temporada de cría en la región de Península Valdés. De esta manera se espera encontrar una mayor disponibilidad de parches mesozooplanctónicos de alta biomasa (preferidos por la ballena franca austral) y constituidos por copépodos grandes, sus

copepoditos y juveniles de eufáusidos, a fines del invierno y durante de la primavera cuando es más común que las ballenas se alimenten.

2. Las ballenas están expuestas a las toxinas producidas por el fitoplancton tóxico a través de los componentes dominantes del mesozooplancton que actúan como vectores. A consecuencia de ello, se espera encontrar biotoxinas marinas en las muestras de organismos planctónicos (fito- y mesozooplancton) y en el material fecal de individuos de *E. australis* recolectado en la zona de Península Valdés.

## 1.4 Área de estudio

El área de estudio comprende a los golfos Nuevo y San José (Figura 1.6). Estos golfos rodean la Península Valdés que, en la década del 80, fue declarada Área Natural Protegida por la provincia del Chubut, en el año 1999 fue calificada como Patrimonio Natural de la Humanidad por la UNESCO y recientemente, en el año 2014, fue declarada Reserva de Biósfera también por la UNESCO. Este ecosistema está caracterizado por una importante biodiversidad, con presencia de mamíferos marinos (Harris y García, 1990; Crespo y Pedraza, 1991), aves marinas (Yorio et al., 1998), peces (Elías, 1998) y praderas de algas (Boraso y Kreibohm, 1984).

El GN se extiende desde los 42° 30' hasta los 42° 56' de latitud sur y desde los 65° 02' hasta los 64° 08' de longitud oeste. Está comunicado con el océano por medio de una boca de 16 km de ancho. En la zona central alcanza profundidades máximas de hasta 170 m. La temperatura del agua en superficie presenta valores medios anuales cercanos a 13° C, con máximos en verano de 18° a 20° C y mínimos en invierno de 8° a 9° C. La salinidad del golfo es bastante estable alcanzando valores medios de 33,8 con poca variación vertical y horizontal. No obstante se ha reportado que la salinidad dentro del golfo es más alta que en el océano durante todo el año (Rivas y Ripa, 1989).

El GN es un área donde se realizan avistajes comerciales tanto de ballenas francas durante el invierno y la primavera como de delfines oscuros (*Lagenorhynchus obscurus*) y lobos marinos (*Otaria flavescens*) en el verano. Esta área es una importante zona de alimentación del delfín oscuro como así también del gaviotín sudamericano (*Sterna hirundinacea*) (Gatto, 2009), siendo la anchoíta (*Engraulis anchoita*) la principal presa de estas especies.

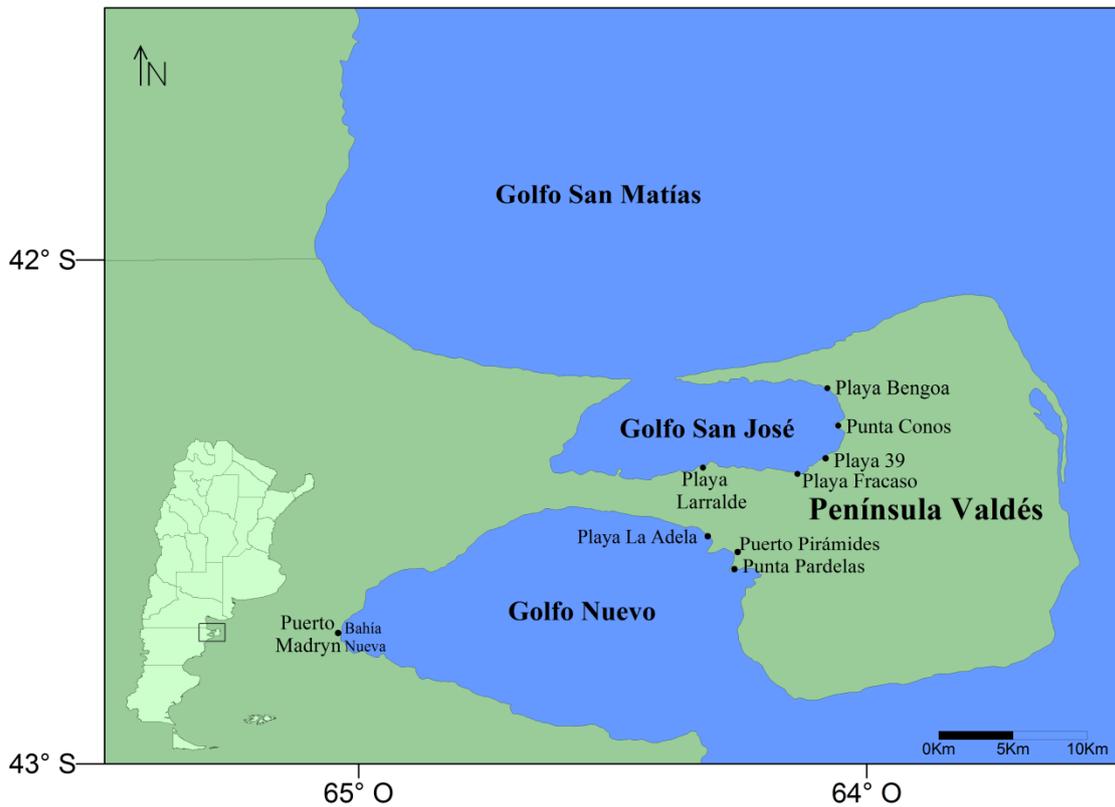


Figura 1.6: Área de estudio en el Golfo Nuevo (GN) y el Golfo San José (GSJ), Chubut, Argentina.

El GSJ, está ubicado entre los  $42^{\circ} 10'$  y  $42^{\circ} 12'$  S y los  $64^{\circ} 03'$  y  $64^{\circ} 37'$  O, es de forma elíptica y mide unos 42 km de este a oeste por 19 km de norte a sur, su profundidad media es de unos 30 m, con profundidades máximas del orden de los 80 m. Su boca de acceso tiene 6,9 km de ancho (Rivas, 1990a) y es el menor en cuanto a superficie y profundidad de los tres golfos Norpatagónicos (Amoroso y Gagliardini, 2010). La entrada de masas de agua ricas en nutrientes de las áreas adyacentes son las responsables de los altos niveles de nutrientes y productividad primaria que posee este golfo, los cuales pueden ser comparados con zonas de surgencia o “*upwelling*” (Charpy et al., 1980; Esteves et al., 1986). Análisis satelitales de alta resolución mostraron que el GSJ está dividido en dos regímenes hidrográficos, uno este y otro oeste (Amoroso, 2004; Gagliardini et al., 2004). Se han reportado diferencias horizontales de temperatura y nutrientes entre ambos dominios durante el verano y el invierno (Pizarro, 1975; Esteves et al., 1986). El istmo Carlos Ameghino ubicado al sur del GSJ, de 5 km de ancho, lo separa del GN. La salinidad varía entre 33,5 y 34,2 con un promedio estimado en 33,8. Este golfo es considerado una zona intangible para el turismo y la pesca, aunque se desarrollan algunas actividades de extracción artesanal de mariscos. Las características

geomorfológicas y oceanográficas hacen que el GN funcione como un ecosistema subordinado al mar epicontinental adyacente y el GSJ como un ecosistema subordinado al Golfo San Matías.

El área de muestreo en el GN consistió en tres sitios entre la zona de Punta Pardelas y Playa La Adela (Figura 1.7). Asimismo, en el GSJ también se muestrearon tres sitios ubicados entre la zona de Playa Fracaso y Puntas Conos (Figura 1.7).



**Figura 1.7: Detalle del área de estudio en el Golfo Nuevo (abajo) y en el Golfo San José (arriba), mostrando la ubicación de los sitios de muestreo en ambos golfos (Sitios 1, 2 y 3). También se detallan el lugar donde se alimentaron las ballenas el 04/09/2015 en el Golfo Nuevo y los sitios de colocación de los SPATTs (Solid Phase Adsorption Toxin Tracking; ver Sección 3.3.1, Capítulo 3) en ambos golfos.**

Capítulo 2: Dinámica plantónica y  
alimentación de la ballena franca  
austral (*Eubalaena australis*) en los  
golfos Nuevo y San José



## 2.1. Introducción

### 2.1.1 Fitoplancton en los golfos Nuevo y San José

La comunidad fitoplanctónica en estos golfos está dominada por diatomeas y dinoflagelados (Gil et al., 1989; Gayoso, 2001; Santinelli, 2008). Gayoso (2001) estudió la dinámica de las comunidades fitoplanctónicas en el GN durante los años 1995 a 1998. Este autor observó dos picos característicos que se produjeron recurrentemente a lo largo del ciclo anual del fitoplancton. El de otoño, dominado por especies de diatomeas como *Skeletonema costatum*, varias especies de *Chaetoceros* (*C. curvisetus*, *C. diadema* y *C. didymus*) y *Pseudo-nitzschia pungens* y las especies de dinoflagelados *Ceratium horridum*, *C. fusus* y *C. tripos* y el de primavera donde *Chaetoceros socialis* fue la especie más abundante y también estuvieron presentes las especies *P. pungens*, *S. costatum* y *Guinardia delicatula*. Durante el ciclo anual reportado por Gayoso (2001) especies de fitoflagelados (< 10 µm de diámetro) tales como *Phaeocystis* spp., cocolitóforos y pequeños flagelados no identificados dominaron hacia finales de la primavera (fines octubre-diciembre). En tanto que, los dinoflagelados fueron más abundantes durante la primavera y el verano. Las especies de dinoflagelados reportadas por Gayoso (2001) durante el verano fueron: *Dinophysis acuminata*, *Pyrophacus horologium* y *Prorocentrum micans*, siendo esta última la especie más abundante. Resultados similares fueron reportados por Santinelli (2008) quien estudió la dinámica del fitoplancton en la Bahía Nueva (GN, Figura 1.6) durante el ciclo anual 1997-1998.

Existen pocos estudios sistemáticos y series de tiempo sobre la comunidad fitoplanctónica del GSJ. Cadaillón (2012) encontró, en un estudio llevado a cabo en este golfo entre agosto y noviembre de 2010, una gran diversidad de diatomeas siendo el género *Pseudo-nitzschia* el más abundante. Las especies de diatomeas que estuvieron presentes durante todo el período muestreado por este autor fueron: *Thalassiosira* spp., *Pseudo-nitzschia fraudulenta*, *Pseudo-nitzschia calliantha* y *P. pungens*. Mientras que las especies: *Leptocylindrus danicus*, *Rhizosolenia setigera*, *Eucampia zodiacus*, *Chaetoceros* spp., *Thalassionema nitzschioides*, *Pleurosigma formosum* y otras diatomeas pennadas, que no pudieron ser identificadas, fueron también frecuentes durante el período de estudio. Asimismo, los dinoflagelados estuvieron presentes sólo en algunos sitios muestreados a partir de mediados de septiembre. Este autor reportó que *Alexandrium tamarense* fue la especie dominante durante el período analizado,

disminuyendo su abundancia a mediados de octubre, cuando las especies *P. fraudulenta* y *R. setigera* fueron muy numerosas en las playas Larralde y Bengoa (Figura 1.6).

Varios autores han reportado en ambos golfos la presencia de especies del género *Pseudo-nitzschia*, potencialmente productoras de AD, tales como: *P. australis*, *P. calliantha*, *P. delicatissima*, *P. fraudulenta*, *P. multiseriata* y *P. pungens* (Gayoso, 2001; Sastre et al., 2001; Santinelli, 2008; Cadaillón, 2012). Asimismo ha sido observada *A. tamarense*, una especie productora de toxina paralizante (Gayoso y Fulco, 2006; Cadaillón, 2012) y *Prorocentrum lima*, *D. acuminata*, *Dinophysis rotundata*, *Dinophysis acuta*, *Dinophysis fortii* y *Dinophysis tripos*, especies productoras de toxinas diarreicas (Gil et al., 1989; Santinelli et al., 1995; Gayoso, 2001; Gayoso y Ciocco, 2001; Gayoso y Fulco, 2006; Cadaillón, 2012; Villalobos et al., 2015).

### **2.1.2 Mesozooplankton en los golfos Nuevo y San José**

Es importante señalar que hasta el momento son escasos los estudios sobre las características del mesozooplankton en los golfos Nuevo y San José. Hasta la fecha, se tiene un limitado conocimiento de su abundancia, composición taxonómica y variaciones espacio-temporales.

Menéndez et al. (2011) reportaron la distribución y abundancia del mesozooplankton en varios sitios del GN en invierno, siendo los copépodos el grupo más importante en la fracción holoplanktonica, aunque también observaron cladóceros, misidáceos, anfípodos y eufáusidos. La fracción meroplanktonica, estuvo representada por larvas cifonautas de briozoos, nauplios de cirripedios, zoeas y megalopas de decápodos, veliger de gasterópodos, nectochaeta de poliquetos bentónicos y huevos de peces. En Esteves et al. (1996) en tanto, se ha reportado la sucesión estacional del mesozooplankton en la Bahía Nueva (Figura 1.6) y otras zonas costeras del GN (Punta Conscriptos y Baliza 25 de Mayo) en términos de diversidad y abundancia. Durante el invierno y primavera los copépodos *Ctenocalanus vanus* y *Calanus australis* fueron más abundantes en las zonas externas y más profundas de la bahía. Menéndez et al. (2011) observaron un patrón similar en la distribución de *C. australis* en el GN.

En un muestreo llevado a cabo mensualmente desde octubre de 2011 a marzo de 2012 en el GSJ, Hernández Moresino et al. (2013) encontraron que dentro de la comunidad mesozooplanktonica los copépodos calanoideos fueron el grupo más abundante seguido por cladóceros, larvas y adultos de malacostracos, huevos de peces,

apendicularias, quetognatos y larvas de peces. Estos autores reportaron dos picos de abundancia del mesozooplancton uno en diciembre y otro en febrero.

### **2.1.3 Alimentación de la ballena franca austral (*Eubalaena australis*) en los golfos Nuevo y San José**

Históricamente se creía que *E. australis* sólo se alimentaba en las zonas típicas de alimentación y no lo hacía en las áreas de cría y reproducción (IWC, 1998) como es la zona de Península Valdés. Sin embargo, esto ha sido descartado a partir de los últimos estudios y observaciones realizadas en esta área (Sironi, 2004; Menéndez et al., 2007; Hoffmeyer et al., 2010; D'Agostino et al., 2016). Este forrajeo oportunístico en un área de cría, ha sido reportado también para la población de ballena franca austral de las costas de África (Best y Schell, 1996) y para la ballena franca del norte en la Bahía de Fundy y en la Bahía de Cape Cod (Kenney et al., 1986; Kraus et al., 1986).

En un evento de alimentación reportado por Hoffmeyer et al. (2010) en el GN estos autores encontraron un pico de densidad y biomasa zooplanctónica destacable, constituida principalmente por *Calanoides carinatus*, *C. australis*, *Centropages bachiatus*, *C. vanus*, *Paracalanus parvus* y *Oithona similis* como así también estadios nauplii y caliptopis de *Euphausia lucens* y en menor proporción ctenóforos, medusas y larvas de decápodos. Estos autores observaron que el fitoplancton mostró características de *bloom* observándose especies de diatomeas del género *Chaetoceros* y especies potencialmente tóxicas, como *P. pungens* y *P. fraudulenta*. Asimismo, en el GSJ el Dr. M. Sironi (comunicación personal) registró individuos de *E. australis* alimentándose frente a la Playa 39 (Figura 1.6) en octubre de 2010. Las muestras de zooplancton colectadas durante el evento de alimentación, mostraron la dominancia de juveniles de eufáusidos y de juveniles y adultos de copépodos calanoideos (M. Hoffmeyer, datos no publicados). Recientemente, a partir del análisis de muestras fecales de individuos vivos y muertos en los golfos Nuevo y San José respectivamente, se determinó que la ballena franca austral se alimenta principalmente de copépodos, dentro de los cuales los estadios copepodito 5 de *C. australis* son una presa clave para las ballenas de esta especie durante la primavera en Península Valdés (D'Agostino et al., 2016).

En los golfos Norpatagónicos, la abundancia y biomasa del mesozooplancton son bajas durante el invierno y al comienzo de la primavera (Esteves et al., 1996; Ramírez, 1996; Hoffmeyer et al., 2010; Menéndez et al., 2011) en comparación con la plataforma

adyacente a Península Valdés (Sabatini y Martos, 2002; Derisio, 2012; Spinelli et al., 2011) y las áreas típicas de alimentación de esta especie durante el otoño y el verano (Ramírez y Sabatini, 2000; Sabatini et al., 2000; 2012; Atkinson et al., 2001; Sabatini, 2008; Padovani et al., 2012). Sin embargo, varias especies de copépodos calanoideos pueden ser numéricamente importantes en el mesozooplancton tanto del GN como del GSJ a mediados de la primavera (Ramírez, 1996; Hoffmeyer et al., 2010). Esta disponibilidad relativamente alta de copépodos en parches discretos, explicaría por qué este grupo es un alimento clave para las ballenas que utilizan la zona de Península Valdés como área de cría y reproducción. De acuerdo al conocimiento actual, Bahía Pirámides (BP, en el GN) y el GSJ se consideran las zonas donde es más frecuente que las ballenas se alimenten durante su estadía en el área.

## **2.2 Objetivos**

i) Conocer la dinámica estacional del mesozooplancton y del fitoplancton incluyendo especies potencialmente tóxicas, en los golfos Nuevo y San José y su relación con las variables ambientales.

ii) Analizar la disponibilidad mesozooplancónica para la ballena franca austral en el área de Península Valdés y describir su comportamiento de alimentación.

## **2.3 Materiales y Métodos**

### **2.3.1 Actividades de muestreo**

El programa de muestreos incluyó un ciclo anual (desde diciembre de 2014 a diciembre de 2015 en el GN y desde enero de 2015 a enero de 2016 en el GSJ). Los muestreos fueron realizados con una frecuencia aproximadamente mensual, desde embarcaciones de investigación pertenecientes al Centro Nacional Patagónico (CENPAT-CONICET). En las Tablas 2.1 y 2.2 se detallan las fechas de los muestreos, las variables registradas y muestras extraídas, durante el período de estudio en los golfos Nuevo y San José, respectivamente. En dos ocasiones en el GN las condiciones climáticas no permitieron muestrear todos los sitios. Debido a ello, no se dispone de los datos del 29/07/2015 para los sitios de muestreo 2 y 3 y del 04/09/2015 para el sitio 3 (Tabla 2.1). Sin embargo, para esta última fecha se cuenta con un sitio de muestreo

adicional, en el cual se colectó una muestra de mesozooplankton en el sitio donde individuos de *E. australis* se estaban alimentando.

Tabla 2.1: Golfo Nuevo. Muestras y datos recolectados durante el período de estudio (02/12/2014 al 21/12/2015). Se detallan las fechas de muestreo, los sitios muestreados, las variables registradas y el tipo de muestra recolectada. X= con dato. Espacio vacío: sin dato. Adicional: muestra recolectada durante el evento de alimentación de *Eubalaena australis*. Prim'14: primavera de 2014. Temp: Temperatura. PS: Profundidad del disco de Secchi. Cl-a: Clorofila-a.

GOLFO NUEVO							
	Fecha	Sitios	Fitoplancton	Mesozooplankton	Temp (°C)	PS (m)	Cl-a
Prim'14	02/12/2014	1	X	X	X		X
		2	X	X	X		X
		3	X	X	X		X
Verano	28/01/2015	1	X	X	X		X
		2	X	X	X		X
		3	X	X	X		X
	20/02/2015	1	X	X	X		X
		2	X	X	X		X
		3	X	X	X		X
19/03/2015	1	X	X	X		X	
	2	X	X	X		X	
	3	X	X	X		X	
Otoño	23/04/2015	1	X	X	X	X	X
		2	X	X	X	X	X
		3	X	X	X	X	X
	08/06/2015	1	X	X	X	X	X
		2	X	X	X	X	X
		3	X	X	X	X	X
invierno	29/07/2015	1	X	X	X	X	X
	04/09/2015	1	X	X	X	X	X
		2	X	X	X	X	X
		Adicional		X			
Primavera'15	09/10/2015	1	X	X	X	X	X
		2	X	X	X	X	X
		3	X	X	X	X	X
	12/11/2015	1	X	X	X	X	X
		2	X	X	X	X	X
		3	X	X	X	X	X
	21/12/2015	1	X	X	X	X	X
		2	X	X	X	X	X
		3	X	X	X	X	X

Tabla 2.2: Golfo San José. Muestras y datos recolectados durante el período de estudio (23/01/2015 al 13/01/2016). Se detallan las fechas de muestreo, los sitios muestreados, las variables registradas y el tipo de muestra recolectada. X= con dato. Espacio vacío: sin dato. Ver'16: verano de 2016. Temp: Temperatura. PS: Profundidad del disco de Secchi. Cl-*a*: Clorofila-*a*.

GOLFO SAN JOSÉ							
	Fecha	Sitios	Fitoplancton	Mesozooplancton	Temp (°C)	PS (m)	Cl- <i>a</i>
Verano '15	23/01/2015	1	X	X	X		X
		2	X	X	X		X
		3	X	X	X		X
	04/03/2015	1	X	X	X		X
		2	X	X	X		X
		3	X	X	X		X
Otoño	10/04/2015	1	X	X	X		X
		2	X	X	X		X
		3	X	X	X		X
	26/05/2015	1	X	X	X	X	X
		2	X	X	X	X	X
		3	X	X	X	X	X
Invierno	03/07/2015	1	X	X	X	X	X
		2	X	X	X	X	X
		3	X	X	X	X	X
	10/08/2015	1	X	X	X	X	X
		2	X	X	X	X	X
		3	X	X	X	X	X
Primavera	24/09/2015	1	X	X	X	X	X
		2	X	X	X	X	X
		3	X	X	X	X	X
	27/10/2015	1	X	X	X	X	X
		2	X	X	X	X	X
		3	X	X	X	X	X
26/11/2015	1	X	X	X	X	X	
	2	X	X	X	X	X	
	3	X	X	X	X	X	
Ver'16	13/01/2016	1	X	X	X	X	X
		2	X	X	X	X	X
		3	X	X	X	X	X

En cada sitio de muestreo se registró la temperatura superficial utilizando un termómetro protegido, a la décima de grado. Asimismo, se extrajeron muestras de agua de superficie (3 m) y de profundidad (10 m), mediante botella Van Dorn de 2,5 litros (Figura 2.1a). Se mezcló 1 litro de cada profundidad y se tomaron 500 ml para el análisis de clorofila-*a* y feopigmentos, como así también se separó una alícuota de 250

ml fijándola con 0,4 ml de solución de Lugol por cada 100 ml de muestra (Ferrario et al., 1995), la cual fue conservada en oscuridad para el análisis cuantitativo de organismos fitoplanctónicos. A partir del mes de abril se contó con un disco de Secchi, el cual fue utilizado para estimar la transparencia de la columna de agua. Considerando que, mientras mayor sea la transparencia, mayor será la distancia desde la superficie a la cual será visible el mencionado disco.

El análisis cualitativo de organismos fitoplanctónicos fue realizado a partir de muestras recolectadas mediante arrastres oblicuos con red de 20  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro, desde los 20 metros a la superficie (Figura 2.1b). Los arrastres fueron realizados durante 7 minutos y a aproximadamente 2 nudos de velocidad. Las muestras fueron colocadas en botellas plásticas de 500 ml (Figura 2.1c) y fijadas con formaldehído a una concentración final de 4%.

Los organismos mesozooplanctónicos se recolectaron mediante arrastres oblicuos desde los 30 metros a la superficie, utilizando una red de plancton de 335  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro (Figura 2.1d). Para estimar el volumen filtrado por la red se utilizó un flujómetro General Oceanics fijo al aro de la red. Los arrastres fueron realizados durante 7 minutos y a aproximadamente 2 nudos de velocidad. Las muestras fueron colocadas en frascos plásticos de 250 ml de boca ancha (Figura 2.1e) y se fijaron con formaldehído (40%) a una concentración final de 4% para el posterior análisis cualitativo y cuantitativo de los organismos.

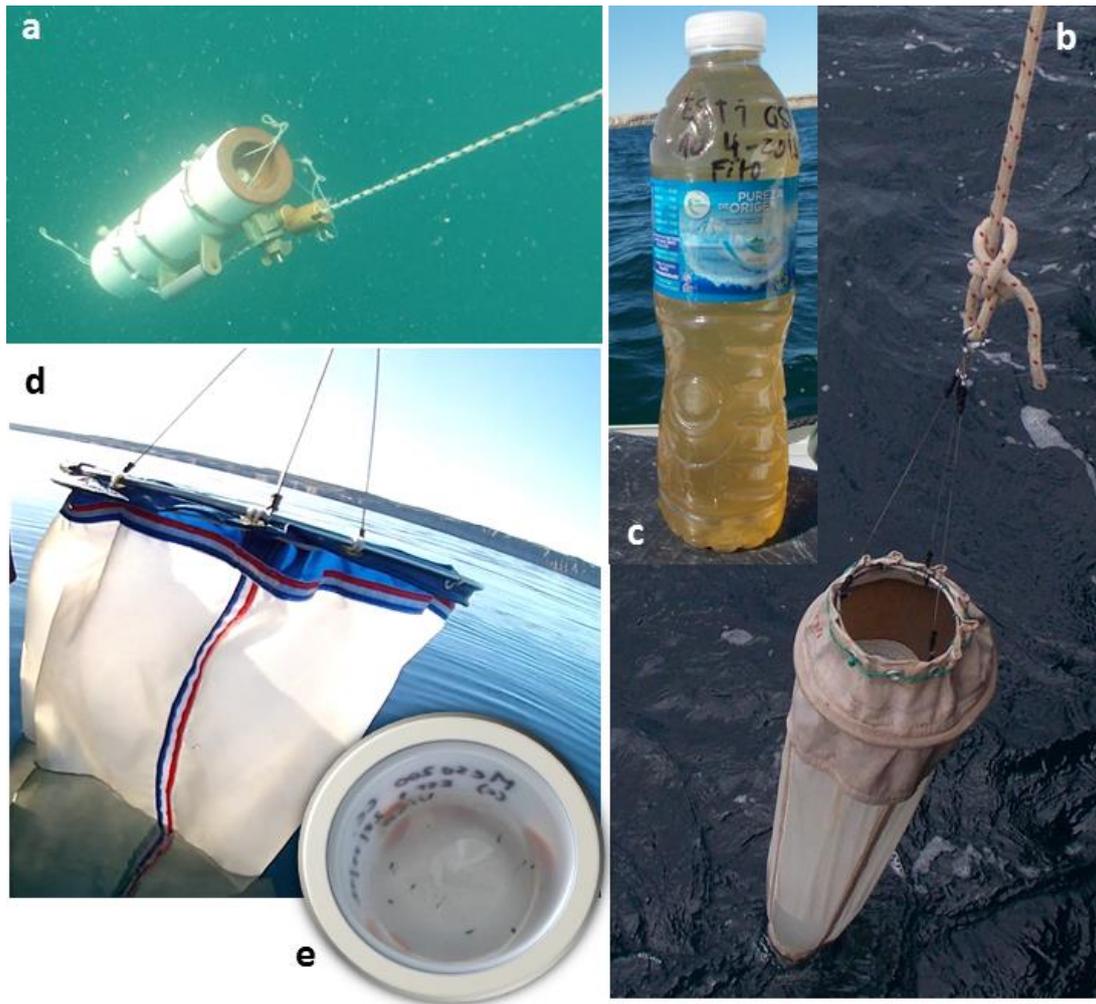


Figura 2.1: Metodología de muestreo en los golfos Nuevo y San José. a) Obtención de muestra con botella Van Dorn, b y c) recolección y almacenamiento de organismos fitoplanctónicos, d y e) recolección y almacenamiento de organismos mesozooplanctónicos.

Asimismo, la metodología descrita en el párrafo anterior fue empleada para recolectar la muestra de mesozooplancton en el lugar donde las ballenas mostraban un comportamiento de alimentación en superficie (Figura 2.2). A su vez, en ese sitio, se registró la posición geográfica de las ballenas mediante un GPS (Garmin GPS72H); en tanto que el comportamiento de los individuos debajo de la superficie del agua fue registrado utilizando una cámara subacuática (GoPro4 Silver). Asimismo, se tomaron fotografías y realizaron filmaciones sobre la superficie del agua a través de una cámara digital (Nikon COOLPIX L810).



Figura 2.2: Recolección y almacenamiento de organismos mesozooplancónicos durante el evento de alimentación de *E. australis* registrado el 04/09/2015 en el Golfo Nuevo. En imagen Facundo Irigoyen (personal técnico del CENPAT) y Valeria D'Agostino.

## 2.3.2 Actividades de laboratorio

### 2.3.2.1 Clorofila-*a* y feopigmentos

Las concentraciones de clorofila-*a* y feopigmentos ( $\mu\text{g l}^{-1}$ ) fueron determinadas de acuerdo al método de Holm Hansen et al. (1965), el cual consiste en la extracción de los pigmentos fotosintéticos con un solvente orgánico y su lectura por fluorescencia. Con este fin, se filtraron los 500 ml de agua de mar a través de filtros de fibra de vidrio Whatman GF/F (25 mm de diámetro y  $0,7 \mu\text{m}$  de tamaño de poro) los cuales fueron plegados, colocados en sobres de papel de aluminio y almacenados a  $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ . Posteriormente, los filtros fueron colocados en viales de vidrio con 5 ml de acetona 90% y se dejaron reposar en oscuridad durante 24 horas a  $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ . El extracto obtenido, en cada caso, se centrifugó a 3000 rpm durante 5 minutos y el sobrenadante fue colectado en otro vial de vidrio limpio y seco. Luego se obtuvo la lectura por fluorescencia de cada extracto, habiendo previamente calibrado a cero el espectrofluorómetro (Shimatzu RF-5301PC) con el blanco (acetona 90%). A continuación, se agregaron  $150 \mu\text{l}$  de HCl 0,1

Na cada extracto, se dejaron reposar durante 2 minutos y se obtuvo la lectura por fluorescencia del extracto acidificado para la determinación de feopigmentos. Con los datos obtenidos se calcularon las concentraciones de clorofila-*a* y feopigmentos en  $\mu\text{g l}^{-1}$ .

### 2.3.2.2 Análisis de las muestras de fitoplancton y mesozooplancton

El análisis cualitativo y cuantitativo del fitoplancton fue realizado en el Laboratorio de Hidrobiología de la Facultad de Ciencias Naturales (FCN), Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco (UNPSJB) por la Oc. Viviana Sastre y la Dra. Norma Santinelli. La identificación taxonómica de los organismos fitoplanctónicos durante los análisis cualitativos se realizó con microscopio óptico con contraste de fases (Olympus CX31). En tanto que, los recuentos celulares se realizaron con microscopio invertido (Leica DMIL) siguiendo el método de Utermöhl (1958). Asimismo, cuando fue necesario, se utilizó microscopía electrónica de barrido (Jeol JSM-6360 LV) de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata y (Zeiss Supra 40) del Centro de Microscopías Avanzadas, Universidad Nacional de Buenos Aires.

El análisis cualitativo y cuantitativo del mesozooplancton se llevó a cabo bajo lupa binocular (Nikon SMZ645), utilizando cámaras de recuento de acrílico tipo Bogorov y literatura taxonómica específica (Boltovskoy, 1981; Kirkwood, 1982; Cervellini, 1988; Boltovskoy, 1999; Harris et al., 2000; Young, 2002; entre otros) tratando de alcanzar el menor nivel taxonómico posible. De acuerdo a la abundancia de organismos observada *a priori* en las muestras, se aplicó recuento total o mediante alícuotas. En este último caso, se llevó la muestra a un volumen final de 200 ml y luego de ser homogeneizada se extrajeron cuatro alícuotas de 5 ml cada una (volumen total submuestreado: 10 %) (Boltovskoy, 1981) con reposición y se cuantificaron todos los individuos hallados en cada alícuota. Considerando el volumen de agua de mar filtrada por la red, obtenido a partir del flujómetro, la abundancia se expresó como individuos por metro cúbico ( $\text{ind. m}^{-3}$ ). El volumen ( $\text{m}^3$ ) de agua filtrado por la red se calculó utilizando la siguiente fórmula:

$$V = a \times d$$

donde:  $a =$  es el área de la boca de la red utilizada ( $\pi \times r^2$ ) y  $d =$  es la distancia recorrida, obtenida mediante la multiplicación de la constante del rotor (0,027) por el número de vueltas del flujómetro ( $n^\circ$  final -  $n^\circ$  inicial).

### 2.3.3 Análisis de los datos

Con el objetivo de estudiar la variación temporal de los datos ambientales se graficaron los valores medios obtenidos por estación climática estudiada para los golfos Nuevo y San José. Mientras que, la composición y abundancia media mensual de los organismos fitoplanctónicos y mesozooplanctónicos fueron presentadas en tablas. Asimismo, se confeccionaron gráficos con los valores relativos (AR) de sus abundancias.

Los patrones de variación en las abundancias de los organismos planctónicos fueron analizadas mediante un análisis de gradientes indirectos (Análisis de Componentes Principales-ACP), en el cual se ordenaron las estaciones climáticas estudiadas en ambos golfos en función de la comunidad planctónica. A continuación, se identificaron las variables ambientales que condicionaron estas abundancias por medio de análisis de gradiente directos (Análisis de Redundancia-RDA). En este último caso, sólo se incluyeron los resultados del RDA de los organismos mesozooplanctónicos, debido a que el análisis de RDA del fitoplancton no fue estadísticamente significativo. La significancia estadística del modelo descrito por el RDA se testeó mediante permutaciones de Monte Carlo (Legendre y Legendre, 1998; Lěps y Šmilauer, 2003). Las variables utilizadas para la caracterización de las estaciones climáticas en ambos golfos fueron incorporadas a los análisis como variables independientes, mientras que las abundancias de los diferentes grupos del fitoplancton y del mesozooplancton fueron las variables dependientes.

Tanto el ACP como el RDA y los gráficos correspondientes a dichas pruebas estadísticas fueron realizados utilizando el Software estadístico R Core Team (2016). Previo al ACP, empleando el mismo *Software*, las abundancias relativas de los organismos planctónicos (fitoplancton y mesozooplancton) fueron transformadas (transformación Hellinger, Legendre y Gallagher, 2001). La transformación es necesaria cuando se trabaja con datos de composición de comunidades con un gran número de ceros, de esta forma se evitan inconvenientes en cálculos lineales (Legendre, 2008). Mientras que para el RDA del mesozooplancton las variables ambientales fueron

estandarizadas. Cabe aclarar, que para esta prueba estadística se utilizó la salinidad media de ambos golfos según Rivas (1990a), Rivas y Beier (1990) y Pisoni (2012), con el propósito de aumentar el número de variables ambientales. Asimismo, las abundancias de los diferentes grupos planctónicos fueron consideradas en ambos golfos desde el verano de 2015 hasta la primavera de 2015, debido a un mayor número de meses muestreados durante dichas estaciones climáticas, siendo así los resultados obtenidos más representativos del período estudiado. Para los análisis estadísticos realizados en esta tesis se estableció  $p < 0,05$  como nivel de significancia.

## **2.4 Resultados**

### **2.4.1 Variables ambientales**

Las Figuras 2.3 y 2.4 muestran los valores medios de las variables temperatura, profundidad del disco de Secchi (PS), clorofila-*a* y feopigmentos registrados en los golfos Nuevo y San José respectivamente, por estación climática muestreada. Asimismo, en la Tabla 2.3 se presentan los valores medios  $\pm$  desvíos estándares, los máximos y mínimos de estas variables, medidos en cada uno de los golfos durante todo el período de analizado.

#### **2.4.1.1 Temperatura**

En el GN la temperatura media superficial del agua durante el período analizado fue de  $15,75 \pm 2,80$  °C (Tabla 2.3). El valor medio máximo registrado en este golfo fue de 18,5 °C, medido durante el verano (Tabla 2.3 y Figura 2.3). A partir de esta estación se observó un descenso en los valores de esta variable, registrándose la menor temperatura media superficial durante el invierno (11,25 °C) (Tabla 2.3 y Figura 2.3). Luego la temperatura del mar comenzó a ascender nuevamente obteniéndose una temperatura promedio de 14,45 °C durante la primavera de 2015 (Figura 2.3). Sin embargo, este valor fue menor al registrado a fines de la primavera de 2014 (diciembre de 2014, 16,66 °C; Figura 2.3).

En el GSJ la temperatura media superficial del agua fue de  $14,83 \pm 3,05$  °C (Tabla 2.3). El valor medio máximo registrado fue de 18,92 °C medido durante el verano de 2015 (Tabla 2.3 y Figura 2.4). Al igual que en el GN, luego de dicha estación se observó un descenso de la temperatura, registrándose un valor mínimo medio de 11,33

°C durante el invierno (Tabla 2.3 y Figura 2.4). En este golfo, también, se observó un ascenso de la temperatura superficial del mar a partir del invierno, registrándose una temperatura promedio de 16,33 °C a inicios del verano de 2016 (enero de 2016) (Figura 2.4).

#### **2.4.1.2 Profundidad del disco de Secchi (PS)**

Como se explicó en la sección 2.3.1 (Actividades de muestreo) esta variable se midió a partir del mes de abril. En el GN, el valor medio obtenido para esta variable fue de  $10 \pm 2,81$  m (Tabla 2.3). En tanto que, el valor medio máximo registrado fue de 12,50 m medido durante el otoño y el mínimo promedio fue de 7,67 m obtenido durante la primavera de 2015 (Tabla 2.3 y Figura 2.3).

En el GSJ la PS tuvo un valor medio de  $8,12 \pm 1,23$  m (Tabla 2.3). Al igual que en el GN, el valor promedio máximo fue medido durante el otoño (8,50 m), mientras que el mínimo fue de 7,75 m registrado durante el invierno (Tabla 2.3 y Figura 2.4).

#### **2.4.1.3 Clorofila-*a***

En el GN la concentración media de clorofila-*a* para el período analizado fue de  $1,15 \pm 1,41$   $\mu\text{g l}^{-1}$  (Tabla 2.3). En términos generales, esta variable mostró marcadas fluctuaciones durante el período estudiado (Figura 2.3). El valor medio máximo registrado en este golfo fue de  $2,26$   $\mu\text{g l}^{-1}$  medido durante la primavera de 2015, mientras que el mínimo promedio fue de  $0,47$   $\mu\text{g l}^{-1}$  registrado también a fines de dicha estación del año 2014 (Tabla 2.3 y Figura 2.3). Asimismo, la concentración de clorofila-*a* en este golfo presentó un máximo secundario de menor intensidad durante el otoño, donde el valor medio obtenido en esta estación climática fue de  $0,81$   $\mu\text{g l}^{-1}$  (Figura 2.3).

En el GSJ la concentración media de clorofila-*a* registrada durante este estudio fue de  $1,51 \pm 0,85$   $\mu\text{g l}^{-1}$  (Tabla 2.3). Al igual que en el GN, esta variable mostró marcadas variaciones a lo largo del año (Figura 2.4). El valor medio máximo obtenido fue de  $2,01$   $\mu\text{g l}^{-1}$ , el cual fue registrado tanto en el otoño como en la primavera, mientras que la concentración promedio mínima obtenida en este golfo fue de  $0,88$   $\mu\text{g l}^{-1}$  medida durante el invierno (Tabla 2.3 y Figura 2.4).

#### 2.4.1.4 Feopigmentos

En el GN, durante el período analizado, la concentración de feopigmentos tuvo un valor medio de  $0,51 \pm 0,26 \mu\text{g l}^{-1}$  (Tabla 2.3). En líneas generales la concentración de feopigmentos presentó marcadas fluctuaciones a lo largo del período estudiado (Figura 2.3). El valor promedio máximo fue de  $0,74 \mu\text{g l}^{-1}$  registrado durante la primavera de 2015, mientras que el valor medio mínimo fue de  $0,34 \mu\text{g l}^{-1}$  medido durante el verano (Tabla 2.3 y Figura 2.3). Asimismo, a fines de la primavera de 2014 se registró otro pico en la concentración de feopigmentos, donde el valor medio obtenido fue de  $0,56 \mu\text{g l}^{-1}$  (Figura 2.3).

En el GSJ la concentración media de feopigmentos fue de  $0,81 \pm 0,50 \mu\text{g l}^{-1}$  (Tabla 2.3). Al igual que en el GN, esta variable mostró notorias variaciones a lo largo del período de estudio. El valor medio máximo registrado fue de  $1,15 \mu\text{g l}^{-1}$  medido durante el otoño, en tanto que el mínimo promedio fue de  $0,31 \mu\text{g l}^{-1}$  obtenido durante el verano de 2015 (Figura 2.4). Cabe señalar que, la concentración media de feopigmentos registrada durante la primavera en este golfo fue similar a la registrada durante el otoño, siendo de  $1,12 \mu\text{g l}^{-1}$  durante la estación más cálida mencionada (Figura 2.4)

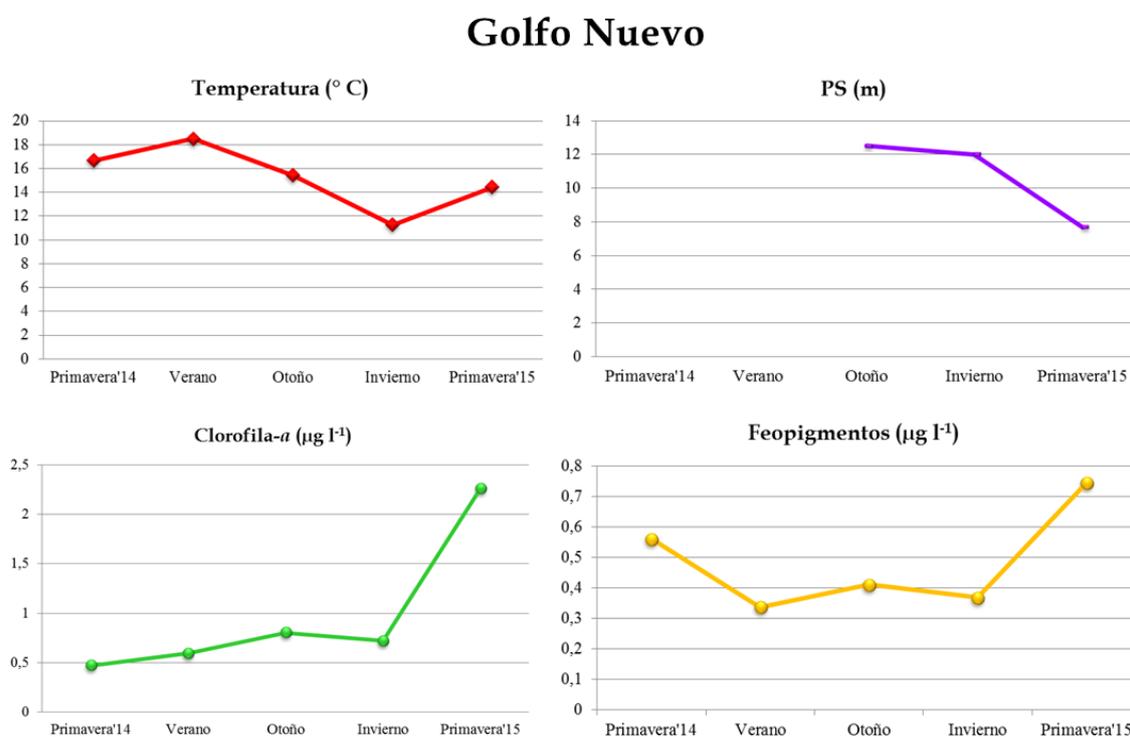


Figura 2.3: Golfo Nuevo. Variables ambientales (temperatura, profundidad del disco de Secchi [PS], concentración de clorofila-*a* y feopigmentos) presentadas en promedio durante las estaciones climáticas estudiadas.

## Golfo San José

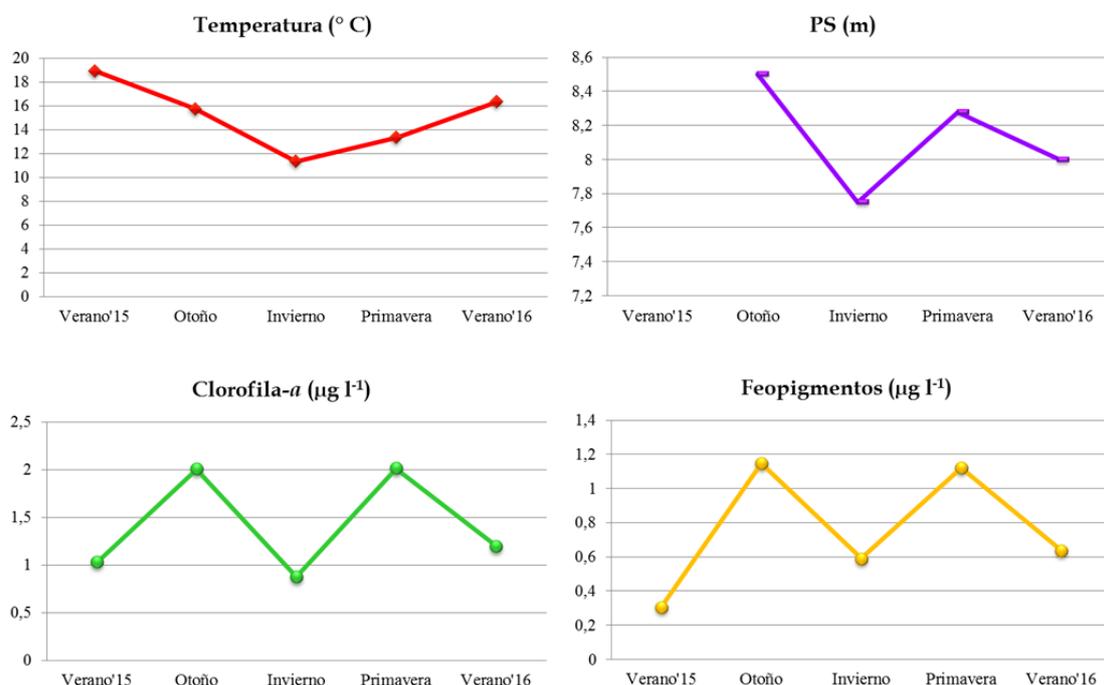


Figura 2.4: Golfo San José. Variables ambientales (temperatura, profundidad del disco de Secchi [PS], concentración de clorofila-*a* y feopigmentos) presentadas en promedio durante las estaciones climáticas estudiadas.

Tabla 2.3: Valores medios  $\pm$  desvíos estándares, máximos y mínimos (entre paréntesis) registrados durante el período analizado para las variables ambientales (temperatura, profundidad del disco de Secchi [PS], concentración de clorofila-*a* y feopigmentos) en los golfos Nuevo y San José. n = número total de registros para cada variable en particular.

	Golfo Nuevo	Golfo San José
<b>Temperatura (°C)</b>	15,75 $\pm$ 2,80 (18,50-11,25) n = 30	14,83 $\pm$ 3,05 (18,92-11,33) n = 30
<b>Profundidad del disco de Secchi (PS) (m)</b>	10 $\pm$ 2,81 (12,50-7,67) n = 18	8,12 $\pm$ 1,23 (8,50-7,75) n = 21
<b>Clorofila-<i>a</i> (µg l<sup>-1</sup>)</b>	1,15 $\pm$ 1,41 (2,26-0,47) n = 30	1,51 $\pm$ 0,85 (2,01-0,88) n = 30
<b>Feopigmentos (µg l<sup>-1</sup>)</b>	0,51 $\pm$ 0,26 (0,74-0,34) n = 30	0,81 $\pm$ 0,50 (1,15-0,31) n = 30

## **2.4.2 Composición y abundancia de los organismos fitoplanctónicos**

### **2.4.2.1 Golfo Nuevo**

En las Tablas 2.4 y 2.5 se presentan los taxa identificados en las muestras cualitativas (recolectadas mediante red) y cuantitativas (obtenidas a través de la botella Van Dorn), respectivamente por estación climática del período estudiado. Cabe aclarar que las abundancias mensuales presentadas en la Tabla 2.5 corresponden a los valores medios obtenidos a partir de los tres sitios de muestreos. En tanto que, la Figura 2.5 muestra las abundancias relativas (AR) de los componentes del fitoplancton por estación climática.

En términos generales y considerando ambos tipos de análisis, durante el período de estudio en el GN se identificaron 25 taxa pertenecientes a la clase Dinophyceae (dinoflagelados), 44 correspondientes a la clase Bacillariophyceae (diatomeas), 2 taxa pertenecientes a la clase Dictyochophyceae, 1 a la clase Euglenoidea y 1 correspondiente a la clase Cryptophyceae (Tablas 2.4 y 2.5). Asimismo, durante el presente estudio, se registraron varios organismos pertenecientes a la fracción de los nanoflagelados que no fueron identificados (Tabla 2.5).

Mediante el análisis cualitativo se observó que en todas las estaciones climáticas analizadas durante este estudio, las diatomeas fueron más frecuentes y presentaron una mayor diversidad específica en comparación con los dinoflagelados (Tabla 2.4). La mayor frecuencia y diversidad de diatomeas, registradas mediante este análisis, se observó durante el otoño en el GN, donde este grupo estuvo representado por 26 especies (Tabla 2.4). Mientras que, la menor frecuencia y diversidad de este grupo, fueron registradas a fines de la primavera de 2014 (Tabla 2.4). Asimismo, mediante el análisis cualitativo se pudo observar que el invierno y la primavera de 2015 también fueron estaciones donde este grupo mostró una baja frecuencia y diversidad (Tabla 2.4). Durante estas últimas estaciones climáticas mencionadas se registraron respectivamente 11 y 12 especies pertenecientes a esta clase de microalgas (Tabla 2.4).

En tanto que, a través de este análisis se pudo conocer que la mayor diversidad de dinoflagelados tuvo lugar durante el verano y el otoño en el GN, cuando este grupo estuvo representado por 10 especies en cada una de estas estaciones climáticas (Tabla 2.4). Asimismo, durante el verano los dinoflagelados fueron más frecuentes en comparación con el resto de las estaciones climáticas muestreadas (Tabla 2.4). Durante

el invierno y la primavera de 2015, la frecuencia de dinoflagelados fue menor y este grupo estuvo representado por 8 especies en cada una de estas estaciones (Tabla 2.4). Mientras que, a fines de la primavera de 2014 este grupo no fue hallado en las muestras de red (Tabla 2.4).

En tanto que la clase Dictyochophyceae estuvo representada exclusivamente por *Dictyocha speculum*, la cual fue identificada en todas las estaciones climáticas muestreadas, excepto a fines de la primavera de 2014 (Tabla 2.4). Su mayor frecuencia de ocurrencia fue observada durante el otoño e invierno en este golfo (Tabla 2.4).

En cuanto a *Alexandrium tamarense*, especie productora de toxinas PSP, a través del análisis cualitativo se registró que estuvo presente durante el verano y la primavera de 2015 en este golfo (Tabla 2.4). Mientras que las diatomeas potencialmente productoras de AD del género *Pseudo-nitzschia* fueron más frecuentes durante la primavera de 2015, cuando incluso durante dicha estación climática se registró un bloom de *P. australis* en el mes de octubre (Tabla 2.4).

A partir del análisis cuantitativo de organismos fitoplanctónicos, se encontró que en el único mes muestreado durante la primavera de 2014, en este golfo, la abundancia total de los organismos fitoplanctónicos estuvo dominada por los dinoflagelados (AR = 70,92%, Figura 2.5). Un dinoflagelado del orden Pyrocystales que no pudo ser identificado fue el único representante de este grupo, alcanzando una densidad máxima de 20.386,66 cél l<sup>-1</sup> (Tabla 2.5). La segunda clase más abundante durante dicha estación climática, fue Cryptophyceae representando el 25,51% del total del fitoplancton (Figura 2.5), donde *Rhodomonas sp.* presentó una concentración máxima de 7.333,33 cél l<sup>-1</sup> (Tabla 2.5). En tanto que, las diatomeas constituyeron sólo el 3,57% de los organismos fitoplanctónicos identificados durante este análisis (Figura 2.5), donde las diatomeas céntricas que no pudieron ser identificadas fueron el taxón más abundante de este grupo (586,66 cél l<sup>-1</sup>) (Tabla 2.5).

Durante el verano, las diatomeas representaron el 78,85% del total de los organismos fitoplanctónicos (Figura 2.5), donde *Chaetoceros sp.* fue el taxón más abundante (abundancia media total = 13.760,00 cél l<sup>-1</sup>) (Tabla 2.5). En tanto que, los dinoflagelados constituyeron el 18,22% del fitoplancton (Figura 2.5), donde nuevamente el dinoflagelado no identificado del orden Pyrocystales fue el más abundante, alcanzando una densidad media total de 4.519,99 cél l<sup>-1</sup> (Tabla 2.5). En esta estación, la clase Dictyochophyceae representó 2,84% de la abundancia total de los

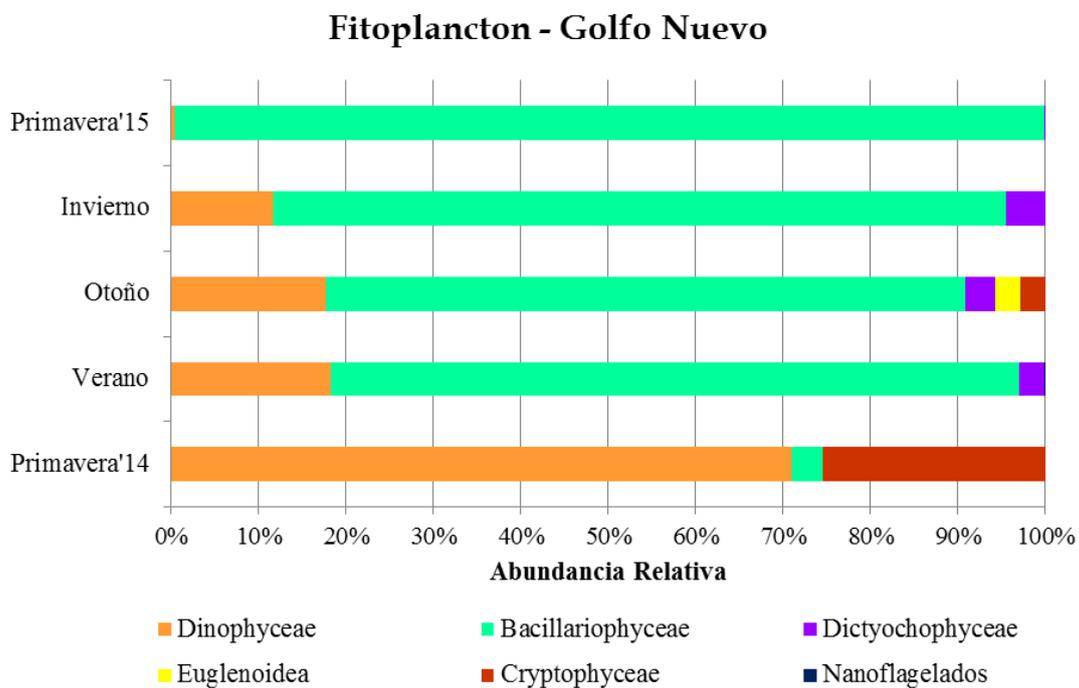
organismos fitoplanctónicos (Figura 2.5). Mientras que los nanoflagelados estuvieron presentes, durante esta estación, con una abundancia relativa menor al 1% (Figura 2.5).

En el otoño, nuevamente las diatomeas constituyeron los organismos fitoplanctónicos más abundantes, reuniendo una abundancia relativa del 73,15% (Figura 2.5), siendo *Chaetoceros decipiens* la especie dominante durante dicha estación climática, alcanzando una densidad media total de 2.953,33 cél l<sup>-1</sup> (Tabla 2.5). La segunda clase más abundante fueron los dinoflagelados, representando el 17,76% de la abundancia total del fitoplancton (Figura 2.5), donde *Ceratium tripos* fue la especie más abundante con una densidad promedio total de 1.466,66 cél l<sup>-1</sup> (Tabla 2.5). En esta estación climática, los organismos fitoplanctónicos también estuvieron representados por las clases Dictyochophyceae, Euglenoidea y Cryptophyceae; las cuales constituyeron respectivamente el 3,38%; 2,89% y 2,82% de la abundancia total del fitoplancton (Figura 2.5).

Durante el invierno, las diatomeas representaron el 83,86% del total de los organismos fitoplanctónicos (Figura 2.5), donde *Chaetoceros socialis* presentó la mayor abundancia promedio con una densidad total de 7.700 cél l<sup>-1</sup> (Tabla 2.5). En tanto que los dinoflagelados, presentaron una abundancia relativa del 11,68% (Figura 2.5), siendo *Ceratium tripos* la especie más abundante, alcanzando una densidad media total de 1.280,00 cél l<sup>-1</sup> (Tabla 2.5). Mientras que el último componente del fitoplancton identificado durante esta estación climática fue la clase Dictyochophyceae, la cual comprendió el 4,47% (Figura 2.5), donde *Dictyocha fibula* fue la especie más abundante (abundancia promedio total = 920 cél l<sup>-1</sup>, Tabla 2.5).

Durante la primavera de 2015, el 99,51% del fitoplancton total estuvo constituido por diatomeas (Figura 2.5). En esta estación climática, durante el mes de octubre (09/10/2015), se registró en el área un *bloom* de *Pseudo-nitzschia australis*; alcanzando una densidad promedio de 273.735 cél l<sup>-1</sup> (Tabla 2.5), donde esta especie representó el 76,64% del total de las diatomeas registradas durante la primavera y el 77,95% del total de las diatomeas registradas en el mes de octubre. Asimismo, es importante mencionar que, también durante este mes, *Pseudo-nitzschia calliantha* fue la segunda especie más abundante; cuya densidad alcanzó un valor de 49.770 cél l<sup>-1</sup> (Tabla 2.5). En tanto que los dinoflagelados durante esta estación climática constituyeron el 0,45% del total de los organismos fitoplanctónicos, donde *Protoperdinium* spp. fue el representante más abundante (Tabla 2.5 y Figura 2.5).

En cuanto al dinoflagelado *A. tamarense*, a través de este análisis, se pudo observar la ausencia de esta especie en las muestras cuantitativas del GN durante todo el período de estudio (Tabla 2.5). Mientras que las diatomeas del género *Pseudo-nitzschia*, estuvieron presentes en todas las estaciones climáticas muestreadas, con densidades que oscilaron entre 36,66 cél l<sup>-1</sup> (*P. calliantha*) a 273.735 cél l<sup>-1</sup> (*P. australis*) (Tabla 2.5).



**Figura 2.5: Golfo Nuevo. Abundancias relativas (%) de las clases fitoplanctónicas presentadas por estación climática analizada del período estudiado (desde 02/12/2014 al 21/12/2015).**

Tabla 2.4: Golfo Nuevo. Análisis cualitativo del fitoplancton por estación climática del período de estudio (desde 02/12/2014 al 21/12/2015). En amarillo: especies asociadas a eventos tóxicos. s/i: sin identificar. ✓: Bloom. Continúa en la pág. 38.

Golfo Nuevo											
Taxa	Primavera '14	Verano			Otoño		Invierno		Primavera '15		
	Dic-'14	Ene	Feb	Mar	Abr	Jun	Jul	Sep	Oct	Nov	Dic-'15
<b>Clase DINOPHYCEAE</b> Fritsch, 1927											
<b>Orden Gymnodiniales</b> Lemmermann, 1910											
<b>Familia Gymnodiniaceae</b> Lankester, 1885											
<i>Gymnodinium</i> sp.									✓	✓	
<b>Orden Peridinales</b> Haeckel, 1894											
<b>Familia Protoperidiniaceae</b> Bujak y Davies											
<i>Protoperidinium latissimum</i> (Kofoid, 1907) Balech, 1974		✓				✓				✓	
<i>Protoperidinium steinii</i> (Jørgensen, 1899) Balech, 1974		✓	✓	✓	✓		✓				
<i>Protoperidinium divergens</i> (Ehrenberg, 1840) Balech, 1974					✓						
<i>Protoperidinium oceanicum</i> (VanHöffen, 1897) Balech, 1974					✓	✓		✓			
<i>Protoperidinium</i> spp.										✓	
<b>Familia Peridiniaceae</b> Ehrenberg, 1831											
<i>Scrippsiella trochoidea</i> (Stein) Loeblich III, 1976										✓	
<b>Familia Protoperidiniaceae</b> Bujak y Davies											
<i>Diplopsalis lenticula</i> Bergh, 1881		✓	✓	✓	✓					✓	
<b>Orden Gonyaulacales</b> Taylor, 1980											
<b>Familia Gonyaulacaceae</b> Lindemann, 1928											
<i>Alexandrium tamarense</i> (Lebour, 1925) Balech, 1995			✓							✓	
<b>Familia Ceratiaceae</b> Kofoid, 1907											
<i>Tripos</i> (= <i>Ceratium</i> ) <i>lineatus</i> (Ehrenberg) Gómez, 2013			✓	✓	✓						
<i>Ceratium tripos</i> (Müller) Nitzsch, 1817				✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	
<i>Ceratium massiliense</i> (Gourret) Karsten, 1906			✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	
<i>Ceratium</i> sp.					✓	✓	✓	✓	✓	✓	
<b>Orden Dinophysiales</b> Lindemann, 1928											
<b>Familia Dinophysiaceae</b> Stein, 1883											
<i>Dinophysis acuminata</i> Claparède y Lachmann, 1859			✓								
<i>Dinophysis tripos</i> Gourret, 1883		✓						✓			
<b>Orden Procentrales</b> Lemmermann, 1910											
<b>Familia Procentraceae</b>											
<i>Prorocentrum micans</i> Ehrenberg, 1834		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>Prorocentrum lima</i> (Ehrenberg) Stein, 1878								✓			✓
<b>Clase BACILLARIOPHYCEAE</b> Haeckel, 1878											
<b>Orden Thalassiosirales</b> Glezer y Makarova, 1986											
<b>Familia Thalassiosiraceae</b> Lebour, 1930											
<i>Thalassiosira</i> spp.			✓	✓	✓		✓	✓	✓	✓	
<b>Familia Skeletonemaceae</b> Lebour, 1930, sensu emend.											
<i>Skeletonema costatum</i> (Greville) Cleve, 1873										✓	
<b>Orden Coscinodiscales</b> Round y Crawford, 1990											
<b>Familia Coscinodisaceae</b> Kützing, 1844											
<i>Coscinodiscus</i> spp.			✓			✓	✓	✓			
<b>Orden Paraliales</b> Crawford, 1990											
<b>Familia Paraliaceae</b> Crawford, 1988											
<i>Paralia sulcata</i> (Ehrenberg) Cleve, 1873						✓	✓	✓			
<b>Orden Leptocylindrales</b> Round y Crawford, 1990											
<b>Familia Leptocylindraceae</b> Lebour, 1930											
<i>Leptocylindrus danicus</i> Cleve, 1889	✓	✓	✓		✓						
<b>Orden Melosirales</b> Crawford, 1990											
<b>Familia Stephanopyxidaceae</b> Nikolaev											
<i>Stephanopyxis turris</i> (Greville) Ralfs, 1861								✓			
<b>Orden Rhizosoleniales</b> Silva, 1962											
<b>Familia Rhizosoleniaceae</b> De Toni, 1890											
<i>Rhizosolenia setigera</i> Brightwell, 1858						✓				✓	

Golfo Nuevo

Taxa	Primavera '14	Verano			Otoño		Invierno		Primavera '15		
	Dic-'14	Ene	Feb	Mar	Abr	Jun	Jul	Sep	Oct	Nov	Dic-'15
<b>Orden Hemiaulales</b> Round y Crawford, 1990											
<b>Familia Hemiaulaceae</b> Heiberg, 1863											
<i>Eucampia zodiacus</i> Ehrenberg, 1839						✓					
<b>Orden Triceratiales</b> Round y Crawford, 1990											
<b>Familia Triceratiaceae</b> (Schütt) Lemmermann, 1899											
<i>Trieres</i> (= <i>Odontella</i> ) <i>mobiliensis</i> (Bailey) Ashworth y Theriot, 2013						✓					
<b>Orden Chaetocerotanae incertae sedis</b>											
<b>Familia Chaetocerotaceae</b> Ralfs, 1861											
<i>Chaetoceros decipiens</i> Cleve, 1873		✓	✓	✓	✓	✓					
<i>Chaetoceros didymus</i> Ehrenberg, 1845			✓								
<i>Chaetoceros debilis</i> Cleve, 1894		✓	✓	✓		✓					
<i>Chaetoceros lorenzianus</i> Grunow, 1863						✓					
<i>Chaetoceros concavicornis</i> Mangin, 1917						✓	✓				
<i>Chaetoceros</i> spp.		✓	✓	✓	✓	✓	✓				
<i>Bacteriastrum furcatum</i> Shadbolt, 1854						✓					
<b>Orden Lithodesmiales</b> Round y Crawford, 1990											
<b>Familia Lithodesmiaceae</b> Round, 1990											
<i>Ditylum brightwellii</i> (West) Grunow, 1885			✓	✓		✓	✓				
<i>Lithodesmium undulatum</i> Ehrenberg, 1839						✓					
Diatomeas céntricas s/i								✓			
<b>Orden Fragilariales</b> Silva, 1962 sensu emend.											
<b>Familia Fragilariaceae</b> Greville, 1833											
<i>Asterionellopsis glacialis</i> (Castracane) Round, 1990				✓							
<b>Orden Striatellales</b> Round, 1990											
<b>Familia Striatellaceae</b> Kützing, 1844											
<i>Striatella unipunctata</i> (Lyngbye) Agardh, 1832						✓					
<b>Orden Thalassionematales</b> Round, 1990											
<b>Familia Thalassionemataceae</b> Round, 1990											
<i>Thalassionema nitzschioides</i> (Grunow) Mereschkowsky, 1902				✓		✓	✓	✓		✓	
<b>Orden Toxariales</b>											
<b>Familia Toxariaceae</b>											
<i>Toxarium undulatum</i> (= <i>Synedra undulata</i> ) Bailey, 1854						✓					
<b>Orden Licmophorales</b> Round, 1990											
<b>Familia Licmophoraceae</b> Kützing, 1844											
<i>Licmophora abbreviata</i> Agardh, 1831						✓					
<i>Licmophora flabellata</i> (Greville) Agardh, 1831						✓			✓	✓	
<b>Orden Striatellales</b> Round, 1990											
<b>Familia Striatellaceae</b> Kützing, 1844											
<i>Grammatophora marina</i> (Lyngbye) Kützing, 1844			✓			✓				✓	
<b>Orden Bacillariales</b> Hendey, 1937 sensu emend.											
<b>Familia Bacillariaceae</b> Ehrenberg, 1831											
<i>Pseudo-nitzschia calliantha</i> Lundholm, Moestrup y Hasle, 2003						✓					
<i>Pseudo-nitzschia fraudulenta</i> (Cleve) Hasle, 1993										✓	✓
<i>Pseudo-nitzschia australis</i> Frenguelli, 1939				✓					✓	✓	✓
<i>Pseudo-nitzschia pungens</i> (Grunow ex Cleve) Hasle, 1993						✓	✓				✓
<b>Orden Naviculales</b> Bessey, 1907 sensu emend.											
<b>Familia Pleurosigmataceae</b> Mereschkowsky, 1903											
<i>Gyrosigma acuminatum</i> (= <i>spencerii</i> ) (Kützing) Rabenhorst, 1853							✓				
<i>Pleurosigma strigosum</i> Smith, 1852				✓		✓	✓	✓			✓
<b>Familia Naviculaceae</b> Kützing, 1844											
<i>Navicula</i> spp.						✓	✓		✓		
Diatomeas pennadas s/i		✓	✓	✓				✓	✓		
<b>Clase DICTYOCOPHYCEAE</b> Silva, 1980											
<b>Orden Dictyochales</b> Haeckel, 1894											
<b>Familia Dictyochaceae</b> Lemmermann, 1901											
<i>Dictyocha speculum</i> Ehrenberg, 1839			✓			✓	✓	✓	✓		✓

**Tabla 2.5: Golfo Nuevo. Análisis cuantitativo del fitoplancton. Valores medios mensuales de abundancia (cél l<sup>-1</sup>) por estación climática del período de estudio (desde 02/12/2014 al 21/12/2015). En amarillo: especies asociadas a eventos tóxicos. s/i: sin identificar. Continúa en la pág. 40.**

Golfo Nuevo											
Taxa	Primavera '14 Dic-'14	Verano			Otoño		Invierno		Primavera '15		
		Ene	Feb	Mar	Abr	Jun	Jul	Sep	Oct	Nov	Dic-'15
<b>Clase DINOPHYCEAE</b>											
<b>Orden Gymnodinales</b>											
<i>Gyrodinium</i> sp	0,00	293,33	73,33	0,00	733,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Lepidodinium chlorophorum</i> (Elbrächter y Schnepf) Gert Hansen, Botes y de Salas, 2007	0,00	0,00	183,33	0,00	0,00	150,66	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Amphidinium</i> sp.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	440,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Orden Peridinales</b>											
<i>Protoperdinium</i> spp.	0,00	0,00	36,66	0,00	0,00	146,66	220,00	0,00	733,33	0,00	0,00
<i>Scrippsiella trochoidea</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	146,66
<b>Orden Gonyaulacales</b>											
<i>Gonyaulax ceratocoroides</i> (= <i>spinifera</i> ) Kofoid, 1910	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	75,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Ceratium fusus</i> (Ehrenberg) Dujardin, 1841	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	146,66	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Tripes</i> (= <i>Ceratium</i> ) <i>lineatus</i>	0,00	0,00	36,66	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Ceratium massiliense</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	293,33	73,33	0,00	420,00	0,00	146,66	0,00
<i>Ceratium tripes</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	1173,33	293,33	220,00	1060,00	0,00	0,00	0,00
<i>Ceratium</i> sp.	0,00	0,00	0,00	0,00	146,66	213,33	0,00	420,00	146,66	0,00	0,00
<b>Orden Dinophysiales</b>											
<i>Dinophysis caudata</i> Saville-Kent, 1881	0,00	440,00	36,66	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Orden Prorocentrales</b>											
<i>Prorocentrum micans</i>	0,00	440,00	403,33	1026,66	0,00	0,00	220,00	420,00	293,33	0,00	0,00
Dinoflagelado s/i	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	75,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Quiste	0,00	0,00	36,66	0,00	146,66	297,33	0,00	0,00	0,00	146,66	0,00
<b>Orden Pyrocystales Apstein, 1909</b>											
<b>Familia Pyrocystaceae (Schütt, 1896) Lemmermann, 1899</b>											
<i>Pyrocystis</i> sp.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	146,66	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Dinoflagelado s/i	20386,66	4373,33	146,66	0,00	0,00	75,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Clase BACILLARIOPHYCEAE</b>											
<b>Orden Thalassiosirales</b>											
<i>Thalassiosira</i> spp.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	602,66	220,00	220,00	0,00	0,00	293,33
<b>Orden Coscinodiscales</b>											
<i>Coscinodiscus</i> spp.	0,00	0,00	0,00	0,00	146,66	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Orden Paraliales</b>											
<i>Paralia sulcata</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	660,00	0,00	586,66	0,00
<b>Orden Leptocylindrales</b>											
<i>Leptocylindrus danicus</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3440,00	0,00	0,00	0,00
<i>Leptocylindrus minimus</i> Gran, 1915	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1205,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Orden Rhizosoleniales</b>											
<i>Rhizosolenia setigera</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	2640,00	0,00	0,00	0,00	8295,00	0,00	0,00
<b>Orden Hemiaulales</b>											
<i>Eucampia</i> sp.	0,00	12906,66	0,00	0,00	0,00	75,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Golfo Nuevo											
Taxa	Primavera '14	Verano			Otoño		Invierno		Primavera '15		
	Dic '14	Ene	Feb	Mar	Abr	Jun	Jul	Sep	Oct	Nov	Dic '15
<b>Orden Chaetocerotanae incertae sedis</b>											
<i>Chaetoceros socialis</i> H.S.Lauder, 1864	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	7700,00	0,00	0,00	0,00
<i>Chaetoceros decipiens</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	1320,00	1633,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Chaetoceros convolutus</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	150,66	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Chaetoceros debilis</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2176,66	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Chaetoceros</i> sp.	0,00	13320,00	0,00	440,00	2346,66	146,66	0,00	3320,00	19355,00	0,00	0,00
<b>Orden Lithodesmiales</b>											
<i>Ditylum brightwellii</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	440,00	150,66	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Orden Corethrales</b> Round y Crawford, 1990											
<i>Corethron pennatum</i> (= <i>criophilum</i> ) (Grunow) Ostenfeld, 1909	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2034,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Diatomeas céntricas s/i	586,66	2640,00	0,00	293,33	440,00	220,00	0,00	1920,00	0,00	2680,00	440,00
<b>Orden Fragilariales</b> sensu emend.											
<i>Ceratoneis closterium</i> Ehrenberg, 1839	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	75,33	0,00	220,00	0,00	0,00	0,00
<i>Synedra</i> sp.	0,00	0,00	36,66	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Orden Thalassionematales</b>											
<i>Thalassionema nitzschoides</i>	0,00	0,00	36,66	0,00	440,00	146,66	0,00	840,00	0,00	0,00	0,00
<b>Orden Toxariales</b>											
<i>Toxarium undulatum</i> (= <i>Synedra undulata</i> ) Bailey, 1854	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	301,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Orden Licmophorales</b>											
<i>Licmophora abbreviata</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	73,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Licmophora flabellata</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	146,66	0,00
<b>Orden Bacillariales</b> sensu emend.											
<i>Pseudonitzschia fraudulentata</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	146,66
<i>Pseudo-nitzschia calliantha</i>	146,66	1760,00	36,66	0,00	0,00	75,33	0,00	0,00	49770,00	840,00	0,00
<i>Pseudo-nitzschia australis</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2200,00	273735,00	0,00	0,00
<i>Nitzschia longissima</i> (Brébisson) Ralfs, 1861	0,00	0,00	73,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Orden Naviculales</b> sensu emend.											
<i>Gyrosigma fasciola</i> (Ehrenberg) Griffith y Henfrey, 1856	0,00	293,33	0,00	0,00	0,00	150,66	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Navicula</i> spp.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	146,66	220,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Orden Achnanthes</b> Silva, 1962											
<i>Cocconeis scutellum</i> Ehrenberg, 1838	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	146,66	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Diatomeas pennadas s/i	293,33	733,33	0,00	0,00	146,66	1631,00	0,00	440,00	0,00	840,00	0,00
<b>Clase DICTYOCOPHYCEAE</b>											
<b>Orden Dictyochales</b>											
<i>Dictyocha speculum</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	73,33	220,00	0,00	146,66	0,00	0,00
<i>Dictyocha fibula</i> Ehrenberg, 1839	0,00	1173,33	0,00	0,00	293,33	513,33	0,00	920,00	0,00	0,00	0,00
<b>Clase EUGLENOIDEA (= EUGLENOPHYCEAE)</b>											
Schoenichen, 1925											
<b>Orden Eutreptiida</b>											
Eutreptiaceae Hollande, 1942											
<i>Eutreptia</i> sp.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	753,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Clase CRYPTOPHYCEAE</b> Fritsch, 1927											
<b>Orden Pyrenomonadales</b> Novarino y Lucas											
<b>Familia Pyrenomonadaceae</b> Novarino y Lucas											
<i>Rhodomonas</i> spp.	7333,33	0,00	0,00	0,00	440,00	295,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Nanoflagelados</b>											
	0,00	0,00	36,66	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Fitoplancton total</b>	<b>28746,64</b>	<b>41306,56</b>	<b>26058,14</b>	<b>25520,00</b>	<b>358888,27</b>						

#### 2.4.2.2 Golfo San José

En las Tablas 2.6 y 2.7 se presentan los taxa identificados en las muestras cualitativas (obtenidas a través de la red) y cuantitativas (recolectadas mediante la botella Van Dorn), respectivamente por estación climática. Cabe aclarar que las abundancias mensuales presentadas en la Tabla 2.7 corresponden a los valores medios obtenidos a partir de los tres sitios de muestreos. En tanto que la Figura 2.6 muestra las abundancias relativas (AR) de los componentes del fitoplancton por estación climática del período analizado.

En términos generales, considerando ambos tipos de análisis, durante el período de estudio en el GSJ se identificaron 31 taxa pertenecientes a la clase Dinophyceae, 54 correspondientes a la clase Bacillariophyceae, 2 taxa pertenecientes a la clase Dictyochophyceae y 1 a la clase Euglenoidea (Tablas 2.6 y 2.7). Además, se registraron varios organismos pertenecientes a la fracción de los nanoflagelados que no fueron identificados (Tabla 2.7).

En este golfo, el análisis cualitativo permitió conocer que durante todo el período analizado en esta tesis las diatomeas fueron el grupo más frecuente y el más diverso, exceptuando el otoño donde los dinoflagelados fueron los organismos más frecuentes y, que a su vez, mostraron una mayor diversidad específica (Tabla 2.6). En tanto que, la mayor diversidad de diatomeas se observó durante la primavera, cuando se identificaron 26 especies de estas microalgas; asimismo durante esta estación climática este grupo presentó una mayor frecuencia en las muestras (Tabla 2.6). Mientras que la menor diversidad de este grupo tuvo lugar durante el otoño, identificándose 11 especies, mientras que a inicios del verano de 2016 estas fueron menos frecuentes en comparación con el resto de las estaciones climáticas (Tabla 2.6).

En cuanto a los dinoflagelados, como se mencionó anteriormente, durante el otoño este grupo fue más frecuente y diverso que las diatomeas, cuando estuvo representado por 14 especies (Tabla 2.6). Asimismo, comparando los dinoflagelados entre las restantes estaciones climáticas muestreadas, se observó que también fueron más frecuentes y diversos durante el verano de 2015, donde se identificaron 11 especies de este grupo del fitoplancton (Tabla 2.6). En tanto que la menor frecuencia y diversidad de dinoflagelados, se observó a inicios del verano de 2016 (enero de 2016, Tabla 2.6). Donde sólo fueron registrados en dos ocasiones durante esta estación climática y este grupo estuvo representado únicamente por dos especies. Por otro lado,

la clase Dictyochophyceae fue hallada en todas las estaciones climáticas del período de estudio representada por dos especies, *Dictyocha speculum* y *Dictyocha fibula* (Tabla 2.6)

Por otro lado, este análisis permitió conocer que, *A. tamarense* estuvo presente durante todos los meses que abarcaron el invierno y la primavera en este golfo (Tabla 2.6). Mientras que las diatomeas potencialmente tóxicas del género *Pseudo-nitzschia* fueron registradas en todas las estaciones climáticas analizadas; siendo *P. australis* la especie más frecuente en las muestras, hallándose en todas las estaciones climáticas excepto durante el otoño (Tabla 2.6).

Mediante el análisis cuantitativo se encontró que en todas las estaciones climáticas del año 2015 las diatomeas fueron los organismos fitoplanctónicos más abundantes. Es necesario mencionar que debido al deterioro de la muestra recolectada en cada uno de los sitios de estudio de este golfo durante el mes enero de 2016, no se dispone de datos cuantitativos de fitoplancton para inicios del verano de 2016.

Durante el verano se encontró que las diatomeas representaron el 93,82% del total de los organismos fitoplanctónicos (Figura 2.6), donde *Chaetoceros socialis* fue la especie más abundante alcanzando una densidad máxima total de 40.186,66 cél l<sup>-1</sup> (Tabla 2.7). La segunda clase más abundante, durante dicha estación climática, fueron los dinoflagelados; los cuales constituyeron el 5,08% de la abundancia total del fitoplancton (Figura 2.6). Siendo *Ceratium tripos* la especie más abundante, cuya densidad máxima total alcanzó un valor de 1.320 cél l<sup>-1</sup> (Tabla 2.7).

Durante el otoño, las diatomeas constituyeron el 83,42% del total del fitoplancton (Figura 2.6), siendo *Eucampia zodiacus* la especie más abundante, registrándose una densidad promedio total de 29.113,32 cél l<sup>-1</sup> (Tabla 2.7). En tanto que los dinoflagelados representaron el 13,36% del total de los organismos fitoplanctónicos (Figura 2.6), siendo *Prorocentrum micans* la especie más abundante, presentando una densidad media total de 4.693,33 cél l<sup>-1</sup> (Tabla 2.7). En esta estación, la clase Dictyochophyceae constituyó el 2,34% de la abundancia total del fitoplancton (Figura 2.6), donde *Dictyocha fibula* fue la especie numéricamente más importante de este grupo alcanzando una densidad promedio total de 2.199,99 cél l<sup>-1</sup> (Tabla 2.7). El último componente del fitoplancton registrado en esta estación climática fueron los nanoflagelados, quienes representaron menos del 1% de la abundancia total de los

organismos fitoplanctónicos (Figura 2.6), alcanzando una densidad promedio máxima de 880,00 cél l<sup>-1</sup> en el mes de mayo (Tabla 2.7).

Durante el invierno, el principal componente de los organismos fitoplanctónicos fueron, nuevamente, las diatomeas, donde este grupo alcanzó una abundancia relativa de 87,84% (Figura 2.6). La especie más abundante fue *Chaetoceros decipiens*, quien alcanzó una densidad promedio total de 1.466,66 cél l<sup>-1</sup> (Tabla 2.7). En tanto que los dinoflagelados fueron el segundo componente numéricamente más importante del fitoplancton, durante dicha estación, representando el 8,78% del total del fitoplancton (Figura 2.6), donde varias especies de este grupo con densidades totales medias de 146,66 cél l<sup>-1</sup> fueron las más abundantes (Tabla 2.7). Además, durante esta estación climática, la clase Dictyochophyceae representó el 2,70% del total del fitoplancton (Figura 2.6), este grupo estuvo constituido exclusivamente por *Dictyocha speculum*, quien alcanzó una densidad promedio total de 293,33 cél l<sup>-1</sup> (Tabla 2.7). Por último, los nanoflagelados presentaron una abundancia relativa menor al 1% (Figura 2.6).

Durante la primavera los organismos fitoplanctónicos estuvieron representados casi exclusivamente por las diatomeas, donde este grupo constituyó el 99,38% del total del fitoplancton (Figura 2.6). En esta estación climática, *Chaetoceros socialis* fue la especie más abundante, alcanzando una densidad promedio total de 481.027,66 cél l<sup>-1</sup> (Tabla 2.7). Otra especie que presentó valores elevados de abundancia fue *Chaetoceros debilis* quien alcanzó una densidad promedio total de 265.716,66 cél l<sup>-1</sup> (Tabla 2.7). En tanto que el resto del fitoplancton estuvo constituido por las clases Dinophyceae, Dictyochophyceae, Euglenoidea y los nanoflagelados, los cuales estuvieron presentes con abundancias relativas menores al 1% (Figura 2.6).

Por otro lado, a través del análisis cuantitativo se encontró que *A. tamarense* estuvo presente sólo durante el mes de mayo (otoño) y de septiembre (primavera) en el GSJ, con densidades de 73,33 cél l<sup>-1</sup> y 146,66 cél l<sup>-1</sup>, respectivamente (Tabla 2.7). En tanto que las diatomeas del género *Pseudo-nitzschia* fueron halladas durante todo el año excepto en los meses de invierno. La especie más abundante de este género potencialmente tóxico, fue *P. calliantha* quien alcanzó durante el verano una densidad media total de 4.973,33 cél l<sup>-1</sup> (Tabla 2.7).

## Fitoplancton - Golfo San José

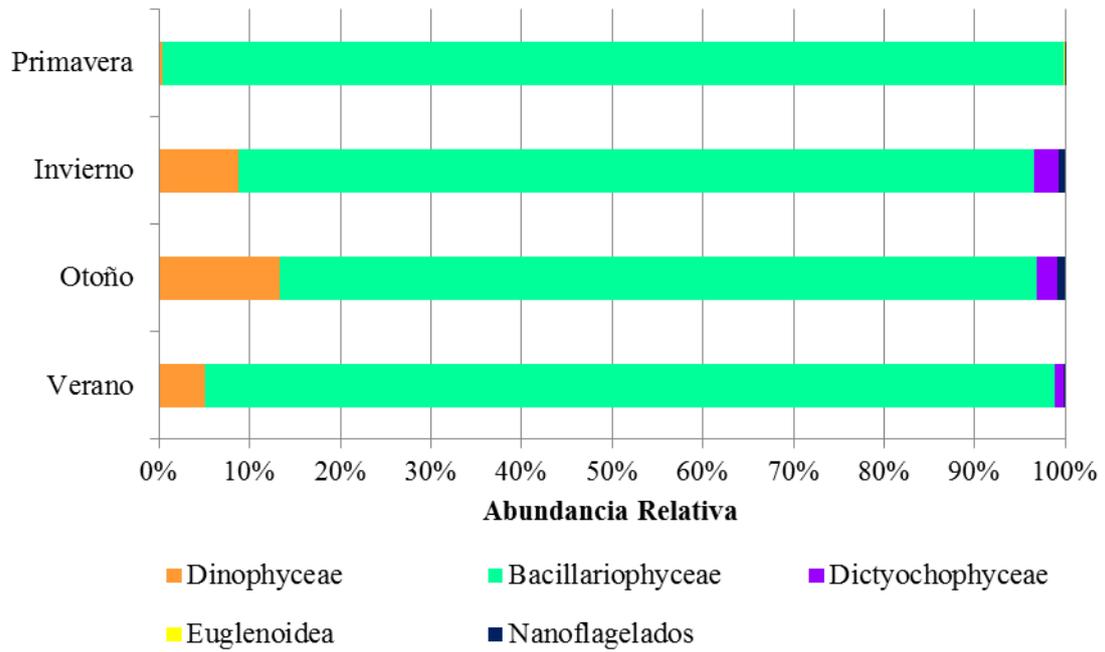


Figura 2.6: Golfo San José. Abundancias relativas (%) de las clases fitoplanctónicas presentadas por estación climática analizada del período estudiado (desde el 23/01/2015 al 26/11/2015).

Tabla 2.6: Golfo San José. Análisis cualitativo del fitoplancton por estación climática del período de estudio (desde 23/01/2015 al 13/01/2016). En amarillo: especies asociadas a eventos tóxicos. s/i: sin identificar. Continúa en la pág. 46.

Golfo San José										
Taxa	Verano '15		Otoño		Invierno		Primavera			Verano '16
	Ene-'15	Mar	Abr	May	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Ene-'16
<b>Clase DINOPHYCEAE</b> Fritsch, 1927										
<b>Orden Peridiniales</b> Lemmermann, 1910										
<b>Familia Protoperidiniaceae</b> Bujak y Davies										
<i>Protoperidinium pallidum</i> (Ostenfeld, 1899) Balech, 1973										
<i>Protoperidinium divergens</i> (Ehrenberg, 1840) Balech, 1974										
<i>Protoperidinium oceanicum</i> (VanHöffen, 1897) Balech, 1974										
<i>Protoperidinium pentagonum</i> (Gran, 1902) Balech, 1974										
<i>Protoperidinium</i> spp.										
<b>Familia Peridiniaceae</b> Ehrenberg, 1831										
<i>Scrippsiella trochoidea</i> (Stein) Loeblich III, 1976										
<b>Familia Protope ridiniaceae</b> Bujak y Davies										
<i>Diplopsalis lenticula</i> Bergh, 1881										
<b>Orden Gonyaulacales</b> Taylor, 1980										
<b>Familia Gonyaulacaceae</b> Lindemann, 1928										
<i>Alexandrium tamarense</i> (Lebour, 1925) Balech, 1995										
<i>Gonyaulax ceratocoroides</i> (= <i>spinifera</i> ) Kofoid, 1910										
<b>Familia Ceratiaceae</b> Kofoid, 1907										
<i>Ceratium fusus</i> (Ehrenberg) Dujardin, 1841										
<i>Ceratium furca</i> (Ehrenberg) Gómez, 2013										
<i>Ceratium tripos</i> (Müller) Nitzsch, 1817										
<i>Ceratium massiliense</i> (Gourret) Karsten, 1906										
<i>Ceratium symmetricum</i> Pavillard, 1905										
<i>Ceratium gibberum</i> Gourret, 1883										
<i>Ceratium</i> sp.										
<b>Orden Dinophysiales</b> Lindemann, 1928										
<b>Familia Dinophysiaceae</b> Stein, 1883										
<i>Dinophysis acuminata</i> Claparède y Lachmann, 1859										
<i>Dinophysis tripos</i> Gourret, 1883										
<b>Orden Prorocentrales</b> Lemmermann, 1910										
<b>Familia Prorocentraceae</b>										
<i>Prorocentrum micans</i> Ehrenberg, 1834										
<b>Orden Noctilucales</b> Haeckel, 1894										
<b>Familia Noctiluaceae</b> Kent, 1881										
<i>Noctiluca scintillans</i> (Macartney) Kofoid y Swezy, 1921										
<b>Clase BACILLARIOPHYCEAE</b> Haeckel, 1878										
<b>Orden Thalassiosirales</b> Glezer y Makarova, 1986										
<b>Familia Thalassiosiraceae</b> Lebour, 1930										
<i>Thalassiosira eccentrica</i> (Ehrenberg) Cleve, 1904										
<i>Thalassiosira gravida</i> (= <i>Thalassiosira rotula</i> ) Cleve, 1896										
<i>Thalassiosira</i> spp.										
<b>Orden Coscinodiscales</b> Round y Crawford, 1990										
<b>Familia Coscinodiscaceae</b> Kützing, 1844										
<i>Coscinodiscus</i> spp.										
<b>Orden Paraliales</b> Crawford, 1990										
<b>Familia Paraliaceae</b> Crawford, 1988										
<i>Paralia sulcata</i> (Ehrenberg) Cleve, 1873										
<b>Orden Leptocylindrales</b> Round y Crawford, 1990										
<b>Familia Leptocylindraceae</b> Lebour, 1930										
<i>Leptocylindrus danicus</i> Cleve, 1889										
<i>Leptocylindrus minimus</i> Gran, 1915										
<b>Orden Melosirales</b> Crawford, 1990										
<b>Familia Stephanopyxidaceae</b> Nikolaev										
<i>Stephanopyxis turris</i> (Greville) Ralfs, 1861										
<b>Orden Rhizosoleniales</b> Silva, 1962										
<b>Familia Rhizosoleniaceae</b> De Toni, 1890										
<i>Rhizosolenia setigera</i> Brightwell, 1858										
<i>Rhizosolenia striata</i> Greville, 1864										
<i>Rhizosolenia acuminata</i> (Peragallo) Peragallo, 1907										
<i>Guinardia striata</i> (Stolterfoth) Hasle, 1996										

Golfo San José

Taxa	Verano '15		Otoño		Invierno		Primavera			Verano '16
	Ene-'15	Mar	Abr	May	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Ene-'16
<b>Orden Hemiaulales</b> Round y Crawford, 1990										
<b>Familia Hemiaulaceae</b> Heiberg, 1863										
<i>Cerataulina pelagica</i> (Cleve) Hendey, 1937									✓	✓
<b>Orden Triceratales</b> Round y Crawford, 1990										
<b>Familia Triceratiaceae</b> (Schütt) Lemmermann, 1899										
<i>Odontella aurita</i> (Lyngbye) Agardh, 1832								✓		
<i>Trieres</i> (= <i>Odontella</i> ) <i>mobiliensis</i> (Bailey) Ashworth y Theriot, 2013						✓		✓		
<i>Odontella sinensis</i> (Greville) Grunow, 1884			✓	✓	✓	✓	✓			
<b>Orden Chaetocerotanae incertae sedis</b>										
<b>Familia Chaetocerotaceae</b> Ralfs, 1861										
<i>Chaetoceros decipiens</i> Cleve, 1873		✓			✓	✓				✓
<i>Chaetoceros debilis</i> Cleve, 1894		✓					✓	✓		
<i>Chaetoceros convolutus</i> Castracane, 1886				✓						
<i>Chaetoceros</i> spp.	✓	✓	✓		✓		✓	✓	✓	
<i>Bacteriastrium furcatum</i> Shadbolt, 1854		✓								
<b>Orden Lithodesmiales</b> Round y Crawford, 1990										
<b>Familia Lithodesmiaceae</b> Round, 1990										
<i>Ditylum brightwellii</i> (West) Grunow, 1885		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
<i>Lithodesmium undulatum</i> Ehrenberg, 1839						✓				
<b>Orden Biddulphiales</b> Krieger, 1954										
<b>Familia Biddulphiaceae</b> Kützing, 1844										
<i>Trigonium</i> (= <i>Biddulphia</i> ) <i>alternans</i> (Bailey) Mann, 1907						✓				
Diatomeas céntricas s/i							✓			
<b>Orden Fragilariales</b> Silva, 1962 sensu emend.										
<b>Familia Fragilariaceae</b> Greville, 1833										
<i>Ceratoneis closterium</i> Ehrenberg, 1839										✓
<i>Asterionellopsis glacialis</i> (Castracane) Round, 1990	✓						✓			
<b>Orden Thalassionematales</b> Round, 1990										
<b>Familia Thalassionemataceae</b> Round, 1990										
<i>Thalassionema nitzschiioides</i> (Grunow) Mereschkowsky, 1902	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
<b>Orden Licmophorales</b> Round, 1990										
<b>Familia Licmophoraceae</b> Kützing, 1844										
<i>Licmophora abbreviata</i> Agardh, 1831					✓		✓			
<b>Orden Bacillariales</b> Hendey, 1937 sensu emend.										
<b>Familia Bacillariaceae</b> Ehrenberg, 1831										
<i>Bacillaria paxillifera</i> (Müller) Marsson, 1901				✓						
<i>Pseudo-nitzschia calliantha</i> Lundholm, Moestrup y Hasle, 2003	✓		✓						✓	
<i>Pseudo-nitzschia fraudulenta</i> (Cleve) Hasle, 1993	✓									✓
<i>Pseudo-nitzschia australis</i> Frenguelli, 1939		✓			✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>Pseudo-nitzschia pungens</i> (Grunow ex Cleve) Hasle, 1993					✓	✓				✓
<i>Pseudo-nitzschia</i> sp.									✓	
<i>Nitzschia longissima</i> (Brébisson) Ralfs, 1861					✓		✓		✓	
<i>Tryblionella compressa</i> (= <i>Prorocentrum compressum</i> ) (Bailey) Poulin, 1990	✓									
<b>Orden Naviculales</b> Bessey, 1907 sensu emend.										
<b>Familia Pleurosigmataceae</b> Mereschkowsky, 1903										
<i>Gyrosigma fasciola</i> (Ehrenberg) Griffith y Henfrey, 1856									✓	
<i>Gyrosigma acuminatum</i> (= <i>spencerii</i> ) (Kützing) Rabenhorst, 1853	✓				✓		✓	✓	✓	
<i>Pleurosigma strigosum</i> Smith, 1852	✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓	✓	✓
<b>Familia Naviculaceae</b> Kützing, 1844										
<i>Navicula</i> spp.	✓			✓			✓			
<b>Orden Thalassiophysales</b> Mann, 1990										
<b>Familia Catenulaceae</b> Mereschkowsky, 1902										
<i>Amphora</i> sp.							✓	✓	✓	
<b>Orden Rhabdonematales</b>										
<b>Familia Rhabdonemataceae</b> Round y Crawford										
<i>Rhabdonema adriaticum</i> Kützing, 1844							✓			
<b>Clase DICTYOCHOPHYCEAE</b> Silva, 1980										
<b>Orden Dictyochales</b> Haeckel, 1894										
<b>Familia Dictyochoaceae</b> Lemmermann, 1901										
<i>Dictyocha speculum</i> Ehrenberg, 1839	✓		✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>Dictyocha fibula</i> Ehrenberg, 1839	✓	✓			✓	✓	✓			

Tabla 2.7: Golfo San José. Análisis cuantitativo del fitoplancton. Valores medios mensuales de abundancia (cél l<sup>-1</sup>) por estación climática del período de estudio (desde 23/01/2015 al 26/11/2015). En amarillo: especies asociadas a eventos tóxicos. s/i: sin identificar. Continúa en la pág. 48.

Golfo San José									
Taxa	Verano		Otoño		Invierno		Primavera		
	Ene	Mar	Abr	May	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov
<b>Clase DINOPHYCEAE</b>									
<b>Orden Gymnodiniales Lemmermann, 1910</b>									
<i>Gyrodinium</i> sp	586,66	73,33	960,00	1613,33	0,00	0,00	293,33	0,00	220,00
<i>Gymnodinium</i> sp.	146,60	0,00	1093,33	586,66	0,00	0,00	0,00	293,00	0,00
<i>Lepidodinium chlorophorum</i> (Elbrächter y Schnepf) Gert Hansen, Botes y de Salas, 2007	880,00	0,00	146,66	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Amphidinium</i> sp.	0,00	0,00	146,66	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Torodinium</i> sp.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	220,00
Dinoflagelado s/i	1026,66	0,00	0,00	1980,00	0,00	146,66	0,00	146,66	440,00
<b>Orden Peridinales</b>									
<i>Protoperidinium ovatum</i> Pouchet, 1883	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	146,66	0,00
<i>Protoperidinium pentagonum</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	146,66	0,00	0,00	0,00
<i>Protoperidinium divergens</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	146,66	0,00
<i>Protoperidinium oceanicum</i>	440,00	0,00	293,33	0,00	73,33	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Diplopsalis lenticula</i>	146,66	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Protoperidinium</i> spp.	880,00	13,33	0,00	73,33	0,00	146,66	0,00	0,00	660,00
<i>Protoperidinium</i> quiste s/i	0,00	0,00	0,00	293,33	0,00	146,66	0,00	0,00	0,00
<b>Orden Gonyaulacales</b>									
<i>Alexandrium tamarense</i>	0,00	0,00	0,00	73,33	0,00	0,00	146,66	0,00	0,00
<i>Ceratium furca</i>	0,00	0,00	0,00	293,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Tripos lineatus</i> (= <i>Ceratium lineatum</i> ) (Ehrenberg) Gómez, 2013	146,66	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Ceratium tripos</i>	0,00	1320,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Ceratium</i> sp.	0,00	0,00	293,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Orden Dinophysiales</b>									
<i>Dinophysis tripos</i>	293,33	0,00	880,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Dinophysis acuta</i> Ehrenberg, 1839	146,66	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Orden Prorocentrales</b>									
<i>Prorocentrum micans</i>	0,00	0,00	4693,33	0,00	0,00	146,66	880,00	293,33	220,00
Dinoflagelado s/i	146,66	513,33	0,00	0,00	0,00	146,66	0,00	0,00	0,00
<b>Clase BACILLARIOPHYCEAE</b>									
<b>Orden Thalassiosirales</b>									
<i>Thalassiosira eccentrica</i>	0,00	440,00	0,00	1093,33	0,00	146,66	8506,66	146,66	220,00
<i>Thalassiosira</i> spp.	0,00	146,66	0,00	1320,00	440,00	880,00	880,00	0,00	0,00
<b>Orden Coscinodiscales</b>									
<i>Coscinodiscus</i> spp.	0,00	1320,00	0,00	0,00	146,66	146,66	0,00	146,66	0,00
<i>Roperia tessellata</i> (Roper) Grunow ex Pelletan, 1889	0,00	440,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Orden Paraliales</b>									
<i>Paralia sulcata</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	880,00	0,00	0,00	0,00
<b>Orden Leptocylindrales</b>									
<i>Leptocylindrus danicus</i>	440,00	1760,00	0,00	5720,00	0,00	0,00	6160,00	11060,00	880,00
<i>Leptocylindrus minimus</i>	3226,66	15840,00	0,00	1760,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Golfo San José									
Taxa	Verano		Otoño		Invierno		Primavera		
	Ene	Mar	Abr	May	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov
<b>Orden Rhizosoleniales</b>									
<i>Guinardia striata</i>	586,66	1760,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Rhizosolenia setigera</i>	1906,66	733,33	0,00	0,00	73,33	0,00	586,66	146,66	0,00
<b>Orden Hemiaulales</b>									
<i>Eucampia zodiacus</i> Ehrenberg, 1839	3520,00	0,00	22586,66	6526,66	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Eucampia</i> sp.	0,00	0,00	0,00	3520,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Orden Triceratiales</b>									
<i>Trieres mobiliensis</i> (= <i>Odontella mobiliensis</i> )	0,00	0,00	146,66	0,00	366,66	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Orden Chaetocerotanae incertae sedis</b>									
<i>Chaetoceros socialis</i>	0,00	40186,66	0,00	0,00	0,00	880,00	16866,00	224866,66	239295,00
<i>Chaetoceros decipiens</i>	1320,00	13493,33	1906,66	3520,00	880,00	586,66	2933,33	0,00	0,00
<i>Chaetoceros debilis</i>	0,00	0,00	13493,33	733,33	0,00	733,33	14666,66	248850,00	2200,00
<i>Chaetoceros lorenzianus</i> Grunow, 1863	0,00	0,00	586,66	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Chaetoceros curvisetus</i> Cleve, 1889	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4546,66	129402,00
<i>Chaetoceros</i> sp.	1906,66	4400,00	586,66	5573,33	0,00	880,00	1173,33	1320,00	220,00
<i>Bacteriastrum furcatum</i>	0,00	146,66	0,00	146,66	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Orden Lithodesmiales</b>									
<i>Ditylum brightwellii</i>	0,00	0,00	293,33	73,33	0,00	0,00	586,66	0,00	0,00
<b>Orden Corethrales</b> Round y R.M. Crawford (1990)									
<b>Corethraceae</b> Lebour, 1930									
<i>Corethron pennatum</i> (= <i>criophilum</i> ) (Grunow) Ostenfeld, 1909	0,00	8653,33	0,00	73,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Diatomeas céntricas s/i	586,66	73,33	146,66	880,00	0,00	586,66	0,00	146,66	440,00
<b>Orden Fragilariales</b>									
<i>Ceratoneis closterium</i>	2493,33	146,66	0,00	0,00	0,00	146,66	586,66	0,00	220,00
<i>Asterionelopsis glacialis</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	293,33	0,00	0,00
<b>Orden Thalassionematales</b>									
<i>Thalassionema nitzschoides</i>	0,00	2640,00	293,33	4400,00	0,00	586,66	880,00	146,66	0,00
<b>Orden Toxariales</b> Round, 1990									
<b>Toxariaceae</b> Round, 1990									
<i>Toxarium undulatum</i> Bailey, 1854	0,00	0,00	0,00	293,33	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Orden Licmophorales</b>									
<i>Licmophora flabellata</i> (Grev.) Agardh, 1831	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	293,33	0,00	0,00
<b>Orden Bacillariales</b>									
<i>Pseudo-nitzschia fraudulenta</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	293,33	0,00	220,00
<i>Pseudo-nitzschia calliantha</i>	2053,33	2920,00	4106,66	0,00	0,00	0,00	0,00	586,66	0,00
<i>Pseudo-nitzschia australis</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	440,00
<i>Pseudo-nitzschia pungens</i>	146,66	280,00	586,66	146,66	0,00	0,00	293,33	0,00	0,00
<i>Nitzschia longissima</i>	0,00	4400,00	0,00	146,66	0,00	0,00	0,00	880,00	0,00
<b>Orden Naviculales</b>									
<i>Meuniera membranacea</i> (Cleve) Silva, 1996	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	440,00	293,33	0,00	0,00
<i>Gyrosigma fasciola</i>	0,00	0,00	0,00	146,66	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Gyrosigma acuminatum</i> (= <i>spencerii</i> )	0,00	0,00	0,00	73,33	0,00	146,66	293,33	0,00	170,00
<i>Navicula</i> spp.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	293,33	293,33	46,66	0,00
Diatomeas pennadas s/i	1906,66	4986,66	920,00	1980,00	0,00	293,33	0,00	0,00	220,00
<b>Clase DICTYOCHOPHYCEAE</b>									
<b>Orden Dictyochaales</b>									
<i>Dictyocha speculum</i>	293,33	73,33	0,00	146,66	0,00	293,33	293,33	146,66	0,00
<i>Dictyocha fibula</i>	733,33	73,33	1173,33	1026,66	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Clase EUGLENOIDEA (= EUGLENOPHYCEAE)</b>									
<i>Eutreptia</i> sp.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	880,00	146,66	0,00
<b>Nanoflagelados</b>									
	293,33	0,00	0,00	880,00	73,33	0,00	0,00	146,66	0,00
<b>Fitoplancton total</b>	<b>133086,43</b>		<b>100426,48</b>		<b>10853,21</b>		<b>928415,82</b>		

## 2.4.3 Composición y abundancia del mesozooplancton

### 2.4.3.1 Golfo Nuevo

La clasificación taxonómica y abundancia (ind. m<sup>-3</sup>) de los organismos mesozooplanctónicos identificados durante el período de estudio en el GN, se presentan en la Tabla 2.8. Cabe aclarar que las abundancias mensuales presentadas en la Tabla 2.8 corresponden a los valores medios obtenidos a partir de los tres sitios de muestreos. En tanto que, la Figura 2.7 muestra las abundancias relativas (AR) de los diferentes componentes del mesozooplancton por estación climática muestreada.

Durante todo el período de estudio se identificaron 61 taxa pertenecientes a 8 filos (Tabla 2.8). Entre ellos el grupo más diverso fue el de los copépodos, constituido por 12 especies (Tabla 2.8). De las cuales, 7 pertenecen al orden Calanoida, 2 al orden Cyclopoida, 2 corresponden al orden Harpacticoida y 1 al orden Monstrilloida (Tabla 2.8). El segundo grupo mesozooplanctónico más diverso fue el de los decápodos, representado por 11 especies identificadas (Tabla 2.8).

En líneas generales los grupos dominantes del mesozooplancton del GN, durante el período de estudio, fueron los copépodos y los cladóceros (Figura 2.7). Aunque, si bien, este último grupo no estuvo presente en las muestras de la primavera de 2014 (diciembre de 2014), fue un componente importante de la comunidad mesozooplanctónica en el resto de las estaciones climáticas analizadas (Tabla 2.8 y Figura 2.7). Mientras que otros grupos, tales como, los decápodos, eufáusidos, briozoos y organismos del ictioplancton estuvieron presentes durante todas las estaciones climáticas analizadas en bajas abundancias, en comparación con los dos grupos anteriormente mencionados (Tabla 2.8 y Figura 2.7). Es necesario mencionar, nuevamente, que durante el invierno, en el muestreo correspondiente al mes de septiembre, se registró en este golfo un evento de alimentación de *E. australis* en un sitio de muestreo adicional a los estipulados para llevar a cabo este estudio. Como se mencionó en la Sección 2.3.1 durante dicho evento se recolectó una muestra de mesozooplancton en ese sitio, mientras las ballenas se alimentaban. El comportamiento de alimentación observado, la composición taxonómica del mesozooplancton y su abundancia se analizarán más adelante en este mismo capítulo.

En este golfo, a finales de la primavera de 2014 el mesozooplancton estuvo dominado por los copépodos, reuniendo este grupo el 95,67% de la abundancia total de

los organismos identificados (Figura 2.7). La especie más abundante durante dicha estación climática fue *Paracalanus parvus* que reunió una abundancia de 175,12 ind. m<sup>-3</sup>, seguida por *Calanus australis* quien alcanzó un valor de 104,80 ind. m<sup>-3</sup> (Tabla 2.8). El segundo grupo más abundante fueron los moluscos, el cual comprendió el 2,28% del total del mesozooplankton (Figura 2.7), siendo las larvas veliger de bivalvos el representante más numeroso (8,41 ind. m<sup>-3</sup>) (Tabla 2.8). En esta estación climática el mesozooplankton también estuvo compuesto por decápodos, eufáusidos, quetognatos, briozoos y huevos de peces (agrupados bajo el nombre de ictioplankton), aunque estos grupos presentaron una abundancia relativa menor al 1% cada uno (Tabla 2.8 y Figura 2.7).

Durante el verano, los cladóceros fueron el grupo más abundante constituyendo el 47,01% del total de los organismos mesozooplanktónicos registrados (Figura 2.7). Donde *Evadne nordmanni* con una densidad media total de 687,40 ind. m<sup>-3</sup> fue la especie más abundante (Tabla 2.8). El segundo grupo más abundante en esta estación fueron los decápodos, representando el 32,01% del total del mesozooplankton (Figura 2.7). El principal componente de este grupo fueron los huevos de decápodos, alcanzando una abundancia media total de 485,30 ind. m<sup>-3</sup> (Tabla 2.8). Asimismo, otros taxa que formaron parte de la comunidad mesozooplanktónica del GN durante esta estación climática fueron, en orden decreciente de abundancia, los briozoos, eufáusidos, copépodos, las apendicularias y algunos organismos del ictioplankton (Tabla 2.8 y Figura 2.7). En tanto que los cirrípedos, moluscos, poliquetos, quetognatos, equinodermos y las ascidias también estuvieron presentes durante dicha estación pero con abundancias relativas menores al 1% del total (Figura 2.7).

Durante el otoño, el mesozooplankton estuvo dominado por los cladóceros; quienes comprendieron el 72,04% del total de los organismos mesozooplanktónicos registrados (Figura 2.7). Siendo, nuevamente, *E. nordmanni* el principal componente de este grupo durante dicha estación climática, alcanzando una abundancia promedio total de 322,84 ind. m<sup>-3</sup> (Tabla 2.8). En tanto que los copépodos fueron el segundo grupo más abundante, reuniendo el 16,64% del total (Figura 2.7), donde *Ctenocalanus vanus* fue la especie más abundante a lo largo de esta estación climática, alcanzando un valor medio total de 42,23 ind. m<sup>-3</sup> (Tabla 2.8). Asimismo, otros copépodos calanoideos que presentaron abundancias elevadas durante el otoño fueron *C. australis* y *P. parvus* (Tabla 2.8). Además, en esta estación climática los poliquetos representaron el 4,85%

del total de los organismos mesozooplancónicos observados (Figura 2.7). También, se identificaron individuos de los grupos equinodermos, briozoos y apendicularias quienes contribuyeron al total del mesozooplancton con una abundancia relativa de aproximadamente el 1,5% (Tabla 2.8 y Figura 2.7). Mientras que, individuos pertenecientes a los grupos cirrípedos, anfípodos, decápodos, eufáusidos, moluscos, quetognatos, cnidarios, ascidias y huevos y larvas de peces (ictioplancton), alcanzaron abundancias menores al 1% (Tabla 2.8 y Figura 2.7).

Durante el invierno la comunidad mesozooplancónica estuvo dominada casi exclusivamente por los copépodos y los cladóceros, quienes representaron, respectivamente, el 46,19% y 45,84% del total de los organismos registrados durante esta estación (Figura 2.7). Dentro de los copépodos la especie dominante fue *C. vanus* que alcanzó una abundancia media total de 147,92 ind. m<sup>-3</sup> (Tabla 2.8). Mientras que los cladóceros estuvieron representados principalmente por *E. nordmanni*, con una abundancia promedio total de 191,17 ind. m<sup>-3</sup> (Tabla 2.8). En tanto que los eufáusidos, equinodermos y el ictioplancton constituyeron aproximadamente el 2% del total de los organismos mesozooplancónicos identificados e individuos pertenecientes a los taxa cirrípedos, decápodos, quetognatos, briozoos y apendicularias contribuyeron al mesozooplancton de este golfo con abundancias relativas menores al 1% del total (Figura 2.7).

Durante la primavera de 2015 se observó que los cladóceros fueron el grupo más abundante, representando el 80,99% del total del mesozooplancton (Figura 2.7). Nuevamente, *E. nordmanni* fue la especie numéricamente más importante alcanzando una abundancia media total de 3754,26 ind. m<sup>-3</sup> (Tabla 2.8). El segundo grupo más numeroso fue el de los copépodos, reuniendo una abundancia relativa del 12,68% (Figura 2.7), donde *Calanoides carinatus* fue la especie dominante alcanzando una abundancia promedio total de 383 ind. m<sup>-3</sup> (Tabla 2.8). En tanto que las apendicularias y el ictioplancton, en esta estación climática, representaron aproximadamente el 2% de los organismos mesozooplancónicos identificados, mientras que los cirrípedos, decápodos, eufáusidos, moluscos, poliquetos, equinodermos, briozoos, cnidarios y huevos que no pudieron ser identificados presentaron abundancias relativas menores al 1% (Tabla 2.8 y Figura 2.7).

### Mesozooplancton - Golfo Nuevo

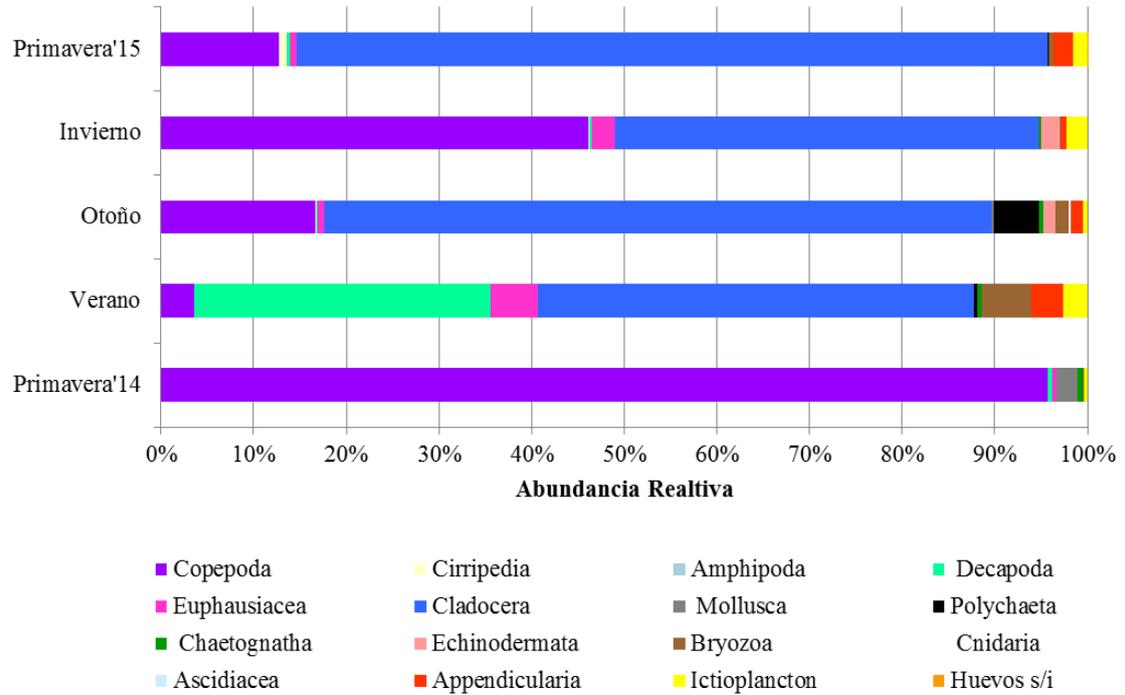


Figura 2.7: Golfo Nuevo. Abundancias relativas (%) de los grupos del mesozooplancton presentadas por estación climática analizada del período estudiado (desde 02/12/2014 al 21/12/2015). s/i: Sin identificar.

**Tabla 2.8: Golfo Nuevo. Composición y abundancia del mesozooplankton. Valores medios de abundancia (ind. m<sup>-3</sup>) por estación climática del período de estudio (desde 02/12/2014 al 21/12/2015). (L): Larva. s/i: sin identificar. Continúa en la pág. 54.**

Golfo Nuevo											
Taxa	Primavera '14	Verano			Otoño		Invierno		Primavera '15		
	Dic-'14	Ene	Feb	Mar	Abr	Jun	Jul	Sep	Oct	Nov	Dic-'15
<b>Phylum Arthropoda</b> von Siebold, 1848											
<b>Subphylum Crustacea</b> Brünnich, 1772											
<b>Clase MAXILLOPODA</b> Dahl, 1956											
<b>Subclase Copepoda</b> Milne-Edwards, 1840											
<b>Orden Calanoida</b> Sars G. O., 1903											
Nauplii	0,00	0,00	0,00	0,47	14,16	0,00	0,00	6,75	0,35	0,00	0,00
Copepoditos 1-3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,75	2,49	17,04	20,84	0,00	0,00
<b>Familia Paracalanidae</b> Giesbrecht, 1893											
<i>Paracalanus parvus</i> (Claus, 1863)	175,12	0,00	1,78	6,77	24,36	6,84	15,57	3,58	43,24	0,42	0,05
<b>Familia Clausocalanidae</b> Giesbrecht, 1893											
<i>Ctenocalanus vanus</i> Giesbrecht, 1888	65,60	0,07	7,23	21,08	24,63	17,60	112,44	35,48	90,61	1,56	0,00
<b>Familia Acartiidae</b> Sars, 1903											
<i>Acartia tonsa</i> Dana, 1849	1,98	0,12	0,00	0,00	0,00	0,04	0,00	0,00	11,66	0,76	0,51
<b>Familia Calanidae</b> Dana, 1849											
<i>Calanus australis</i> Brodsky, 1959	104,80	0,26	5,36	8,50	28,34	3,69	1,56	2,46	7,47	0,78	0,01
<i>Calanoides carinatus</i> (Kroyer, 1849)	8,64	0,09	6,52	0,58	0,75	2,81	3,11	2,89	30,33	352,67	0,00
<b>Familia Pontellidae</b> Dana, 1852											
Nauplii	0,00	0,09	0,00	0,00	0,71	0,07	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01
<i>Pontella patagoniensis</i> (Lubbock, 1853)	0,00	0,00	0,00	0,00	5,03	0,00	0,00	0,00	0,00	0,51	0,03
<i>Labidocera fluviatilis</i> Dahl F., 1894	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Orden Cyclopoida</b> Burmeister, 1834											
<b>Familia Oithonidae</b> Dana, 1853											
<i>Oithona</i> spp.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,14	25,48	0,00	0,00
<i>Oithona nana</i> Giesbrecht, 1893	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,52	0,00	0,00
<i>Oithona similis</i> Claus, 1866	0,32	0,00	0,00	0,00	0,36	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Orden Harpacticoida</b> Sars, 1903											
<b>Familia Euterpinae</b> Brian, 1921											
<i>Euterpina acutifrons</i> (Dana, 1847)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,39	0,00	0,00
<b>Familia Tisbidae</b> Stebbing, 1910											
<i>Tisbe</i> spp.	0,28	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Orden Monstrilloida</b> Sars, 1901											
<b>Familia Monstrillidae</b> Dana, 1849											
<i>Monstrilla</i> sp.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Subclase Thecostraca</b> Gruev, 1905											
<b>Infraclase Cirripedia</b> Burmeister, 1834											
Nauplii	0,00	0,37	0,00	0,00	0,72	0,00	0,00	0,14	39,70	0,00	0,00
Cypris	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,22	2,60	0,00	0,00
<b>Clase MALACOSTRACA</b> Latreille, 1802											
<b>Subclase Eumalacostraca</b>											
Grobben, 1892											
<b>Orden Amphipoda</b> Latreille, 1816											
<b>Familia Hyperiididae</b> Dana, 1852											
<i>Themisto gaudichaudii</i> Guérin, 1825	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,48	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Orden Decapoda</b> Latreille, 1802											
Huevos	0,13	4,51	123,15	357,64	1,01	0,06	0,00	0,00	4,78	0,00	0,00
Nauplii	0,00	25,57	10,79	0,50	0,00	0,00	0,00	0,00	12,82	0,00	0,00
Protozoa	0,00	0,00	4,27	1,66	0,00	0,22	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Familia Callinassidae</b> Dana, 1852											
<i>Callinassa</i> spp. (Zoea)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,14	0,00	0,00	0,00
<b>Familia Pinnotheridae</b> De Haan, 1833											
<i>Tumidotheres</i> (= <i>Pinnotheres</i> ) <i>maculatus</i> (Zoea) (Say, 1818)	0,00	0,00	0,00	0,12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Familia Ovalipidae</b> Spiridonov, Neretina y Schepetov, 2014											
<i>Ovalipes trimaculatus</i> (Zoea) (De Haan, 1833)	1,25	0,00	0,69	0,73	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Familia Epialtidae</b> MacLeay, 1838											
<i>Libidoclaea granaria</i> (Zoea) Milne Edwards y Lucas, 1842	0,00	0,00	0,00	1,81	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Familia Varunidae</b> Milne Edwards, 1853											
<i>Cyrtograpsus alimanus</i> (Zoea) Rathbun, 1914	0,57	0,00	0,39	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01
<b>Familia Munididae</b> Ah Yong, Baba, Macpherson y Poore, 2010											
<i>Munida gregaria</i> (Zoea) (Fabricius, 1793)	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,56	0,08	0,00	0,00
<b>Familia Porcellanidae</b> Haworth, 1825											
<i>Pachycheles chubutensis</i> (Zoea) Boschi, 1963	0,00	0,00	0,00	0,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Familia Pinnotheridae</b> De Haan, 1833											
<i>Austinixa patagoniensis</i> (Zoea) (Rathbun, 1918)	0,00	0,00	0,00	0,85	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Familia Epialtidae</b> MacLeay, 1838											
<i>Libinia spinosa</i> (Zoea) Guérin, 1832	0,00	0,00	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,00
<b>Familia Hymenosomatidae</b> MacLeay, 1838											
<i>Halicarcinus planatus</i> (Zoea) (Fabricius, 1775)	0,00	0,00	0,06	0,00	0,00	0,00	0,00	0,08	0,00	0,05	0,00
<b>Familia Platyxanthidae</b> Guinot, 1977											
<i>Danielethus patagonicus</i> (Zoea) (Milne-Edwards, 1879)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,31	0,00	0,00	0,00	0,00

**Golfo Nuevo**

Taxa	Primavera '14	Verano			Otoño		Invierno		Primavera '15		
	Dic-'14	Ene	Feb	Mar	Abr	Jun	Jul	Sep	Oct	Nov	Dic-'15
<b>Orden Euphausiacea</b> Dana, 1852											
<b>Familia Euphausiidae</b> Dana, 1852											
Huevos	0,00	0,00	3,65	51,01	1,98	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07
Nauplii	0,00	0,07	0,00	0,95	1,97	0,00	0,00	0,50	5,36	0,00	0,02
Caliptopis	0,00	0,00	0,00	28,72	0,46	0,00	0,00	3,52	1,84	0,00	0,00
Furcilia	1,61	0,00	0,00	0,97	0,00	0,00	0,00	0,00	0,69	0,00	0,00
<i>Euphausia lucens</i> (Caliptopis) Hansen, 1905	0,06	0,00	0,13	0,00	0,42	0,00	0,00	4,83	0,09	0,00	0,00
<i>Euphausia lucens</i> (Furcilia) Hansen, 1905	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,00	0,00	1,48	24,55	0,00	0,00
<i>Euphausia lucens</i> (Juvenil) Hansen, 1905	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06	0,00	0,42	0,97	0,00	0,02
<b>Clase BRANCHIOPODA</b> Latreille, 1817											
<b>Subclase Phyllozoa</b> Preuss, 1951											
<b>Orden Diplostraca</b> Gerstaecker, 1866											
<b>Infraorden Cladocera</b> Latreille, 1829											
<b>Familia Podonidae</b> Mordukhai-Boltovskoi, 1968											
<i>Pleopsis polyphaemoides</i> (= <i>Podon polyphemoides</i> ) (Leuckart, 1859)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,31	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Podon</i> spp.	0,00	0,00	39,92	55,89	254,77	8,25	0,00	10,50	8,81	0,00	0,00
<i>Evadne nordmanni</i> Lovén, 1836	0,00	23,78	181,23	482,39	244,18	78,66	1,56	189,61	3752,82	1,43	0,01
<b>Phylum Mollusca</b> Linnaeus, 1758											
Clase Bivalvia (Veliger) Linnaeus, 1758	8,41	0,00	0,00	0,00	2,69	0,06	0,00	0,00	0,35	0,00	0,00
Clase Gastropoda (L) Cuvier, 1795	0,09	0,00	0,00	0,46	0,00	0,00	0,00	0,00	1,21	0,00	0,00
<b>Phylum Annelida</b> Lamarck, 1809											
<b>Clase POLYCHAETA</b> Grube, 1850											
Larvas	0,00	0,00	0,00	0,00	39,30	0,13	0,00	0,00	3,21	0,00	0,01
<b>Orden Spionida</b> sensu Rouse y Fauchald, 1997											
<b>Familia Spionidae</b> Grube, 1850											
Larvas	0,00	0,12	0,00	6,47	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Phylum Chaetognatha</b> Leuckart, 1854											
<b>Clase Sagittoidea</b> Claus y Grobben, 1905											
<b>Orden Apherogastera</b> Tokioka, 1965											
<b>Familia Sagittidae</b> Claus y Grobben, 1905											
<i>Parasagitta friderici</i> (Ritter-Záhony, 1911)	2,15	0,00	0,91	6,10	4,01	0,13	0,93	0,08	0,00	0,00	0,00
<b>Phylum Echinodermata</b> Bruguière, 1791 [ex Klein, 1734]											
Larvas	0,00	0,00	0,00	0,23	9,31	0,63	0,62	8,12	0,77	0,00	0,00
<b>Phylum Bryozoa</b> Ehrenberg, 1831											
Cifonauta (L)	0,58	30,38	26,22	31,74	8,73	3,47	0,31	0,16	9,68	11,21	0,60
<b>Phylum Cnidaria</b> Verrill, 1865											
<b>Clase ANTHOZOA</b> Ehrenberg, 1834											
<b>Orden Ceriantharia</b> Perrier, 1893											
Larvas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,53
<b>Clase HYDROZOA</b> Owen, 1843											
<b>Orden Leptothecata</b> Cornelius, 1992											
<b>Familia Campanulariidae</b> Johnston, 1836											
<i>Obelia</i> sp.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,37	0,07	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Hydrozoa	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,31	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Phylum Chordata</b> Haeckel, 1874											
<b>Subphylum Tunicata</b> Lamarck, 1816											
<b>Clase ASCIDIACEA</b> Blainville, 1824											
Larvas s/i	0,00	0,00	0,06	0,73	1,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Clase APPENDICULARIA</b> Lahille, 1890											
<b>Familia Oikopleuridae</b> Lohmann, 1915											
<i>Oikopleura</i> sp.	0,00	0,56	35,29	18,25	1,17	0,00	0,00	1,83	93,43	0,00	0,00
<b>Familia Fritillariidae</b> Lohmann, 1915											
<i>Fritillaria</i> sp.	0,00	0,15	1,55	1,19	9,71	0,00	0,00	0,28	9,35	0,00	0,00
<b>Subphylum Vertebrata</b> Cuvier, 1812											
Ictioplancton Huevos	1,23	1,05	13,20	3,74	3,45	0,07	0,93	5,53	2,06	0,46	1,26
Ictioplancton Larvas	0,00	0,09	0,69	3,48	0,16	0,00	0,31	0,58	0,35	0,26	0,01
<b>Superclase Gnathostomata</b>											
<b>Clase Actinopteri</b>											
<b>Orden Syngnathiformes</b>											
<b>Familia Syngnathidae</b> Bonaparte, 1831											
Larvas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,09	0,00	0,00
<b>Orden Clupeiformes</b>											
<i>Engraulis anchoita</i> (Huevos) Hubbs Marini, 1935	0,00	0,00	18,36	3,67	0,00	0,07	0,00	2,89	64,85	0,00	0,00
Huevos s/i	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,65	0,00
<b>Mesozooplankton Total</b>	<b>372,88</b>	<b>1665,99</b>	<b>813,23</b>	<b>440,60</b>	<b>4646,31</b>						

### 2.4.3.2 Golfo San José

La clasificación taxonómica y abundancia (ind. m<sup>-3</sup>) de los organismos mesozooplanctónicos identificados durante el período de estudio en el GSJ, se presentan en la Tabla 2.9. Cabe aclarar que las abundancias mensuales presentadas en la Tabla 2.9 corresponden a los valores medios obtenidos a partir de los tres sitios de muestreos. En tanto que, la Figura 2.8 muestra las abundancias relativas (AR) de los diferentes componentes del mesozooplancton por estación climática muestreada.

Durante todo el período de estudio se identificaron 58 taxa pertenecientes a 8 filos diferentes (Tabla 2.9). El grupo más diverso en este golfo fue el de los decápodos, representado por 15 especies (Tabla 2.9). El segundo grupo mesozooplanctónico más diverso fue el de los copépodos, constituido por 11 especies de las cuales 7 pertenecen al orden Calanoida, 2 corresponden al orden Cyclopoida y 2 al orden Harpacticoida. (Tabla 2.9).

En términos generales durante este estudio se encontró que la comunidad mesozooplanctónica del GSJ estuvo dominada por los copépodos, en tanto que el segundo grupo más abundante fueron los cladóceros (Figura 2.8). Otros componentes del mesozooplancton que estuvieron presentes durante todas las estaciones climáticas muestreadas en este golfo fueron los cirrípedos, decápodos, poliquetos, quetognatos, apendicularias y organismos del ictioplancton (Tabla 2.9 y Figura 2.8).

Durante el verano de 2015, los copépodos fueron el grupo más abundante, representando el 48,35% del total de los organismos mesozooplanctónicos identificados durante dicha estación climática (Figura 2.8), siendo *Acartia tonsa* la especie dominante alcanzando una abundancia media total de 111,58 ind. m<sup>-3</sup> (Tabla 2.9). En tanto que los cladóceros fueron el segundo grupo más numeroso, constituyendo el 25,94% del total del mesozooplancton (Figura 2.8), donde *Podon* spp. fueron los representantes más abundantes en toda esta estación, alcanzando un valor medio total de 131,12 ind. m<sup>-3</sup> (Tabla 2.9). Asimismo, durante dicha estación climática los decápodos alcanzaron una abundancia relativa del 15,84% (Figura 2.8), donde *Cyrtograpsus angulatus* fue la especie numéricamente más importante de este grupo alcanzando un valor medio total de 131,27 ind. m<sup>-3</sup> (Tabla 2.9). Mientras que, el ictioplancton compuesto principalmente por huevos de *Engraulis anchoita* reunió el 5,63% del mesozooplancton total y los quetognatos el 2,02%, representados exclusivamente por *Parasagitta friderici* (Tabla 2.9 y Figura 2.8). Otros grupos que estuvieron presentes en este golfo durante esta

estación con abundancias relativas menores al 1% fueron los cirrípedos, eufáusidos, moluscos, poliquetos, equinodermos, cnidarios y las apendicularias (Figura 2.8).

Durante el otoño, los organismos mesozooplanctónicos estuvieron representados principalmente por los copépodos y los cladóceros; quienes constituyeron, respectivamente, el 49,68% y 43,43% del total del mesozooplancton (Figura 2.8). Dentro de los copépodos, la especie más abundante fue *Calanoides carinatus* quien alcanzó una abundancia media total de 110,85 ind. m<sup>-3</sup>, mientras que el cladócero *Evadne nordmanni* fue el principal componente, presentando una abundancia promedio total de 255,57 ind. m<sup>-3</sup> (Tabla 2.9). En esta estación climática, las apendicularias reunieron el 3,47% del total de los organismos registrados, donde *Oikopleura* sp. fue el taxón más abundante de este grupo (abundancia media total = 20,13 ind. m<sup>-3</sup>) (Tabla 2.9 y Figura 2.8). En tanto que cirrípedos, decápodos, eufáusidos, moluscos, poliquetos, quetognatos, briozoos, cnidarios y el ictioplancton formaron parte de la comunidad mesozooplanctónica registrada durante esta estación climática con abundancias relativas menores al 1% (Figura 2.8).

Durante el invierno, los copépodos constituyeron el 78,70% del total de los organismos mesozooplanctónicos registrados (Figura 2.8), donde los copepoditos 1-3 alcanzando una densidad media total de 68,97 ind. m<sup>-3</sup> fueron los más abundantes (Tabla 2.9). Asimismo, dentro de este grupo otro taxón que alcanzó abundancias elevadas fue *C. vanus* (Tabla 2.9). El segundo componente más abundante durante dicha estación climática fueron los cladóceros, quienes reunieron el 10,54% del total de los organismos mesozooplanctónicos observados (Figura 2.8). La especie más abundante de este grupo fue, nuevamente, *E. nordmanni*, alcanzando una abundancia promedio total de 19,17 ind. m<sup>-3</sup> (Tabla 2.9). En tanto que las apendicularias constituyeron el 6,49% del total del mesozooplancton (Figura 2.8), donde este grupo estuvo representado únicamente por *Oikopleura* sp. (Tabla 2.9). Otro grupo que estuvo presente dentro de la comunidad mesozooplanctónica de esta estación fueron los cirrípedos, quienes alcanzaron una abundancia relativa del 2,43% (Figura 2.8), siendo las larvas nauplii el componente numéricamente más importante (abundancia media total = 4,93 ind. m<sup>-3</sup>) (Tabla 2.9). Mientras que los decápodos, poliquetos, quetognatos, equinodermos, briozoos, cnidarios, las ascidias y el ictioplancton alcanzaron abundancias relativas menores al 1% (Figura 2.8).

Durante la primavera, los copépodos fueron el grupo dominante de la comunidad mesozooplanctónica; alcanzando una abundancia relativa del 74,01%, siendo *P. parvus* la especie más abundante (abundancia media total = 101,79 ind. m<sup>-3</sup>) (Tabla 2.9 y Figura 2.8). El segundo componente numéricamente más importante en esta estación climática fueron las apendicularias, quienes reunieron el 18,09% del total de mesozooplancton (Figura 2.8). El taxón más abundante de este último grupo fue *Fritillaria* sp., quien alcanzó un valor medio total de 33,20 ind. m<sup>-3</sup> (Tabla 2.9). Mientras que los cladóceros, durante dicha estación climática representaron el 3,86% del total de los organismos registrados, donde *E. nordmanni* alcanzó una abundancia promedio total de 12,43 ind. m<sup>-3</sup> siendo la especie más abundante (Tabla 2.9). En tanto que los cirrípedos y los decápodos mostraron abundancias relativas levemente superiores al 1% del total de los organismos mesozooplanctónicos identificados (Figura 2.8). Mientras que, los eufáusidos, poliquetos, quetognatos, las ascidias, como así también el ictioplancton y los huevos que no pudieron ser identificados (Huevos s/i) contribuyeron al mesozooplancton de este golfo con abundancias relativas menores al 1% del total (Figura 2.8).

A principios del verano de 2016 (enero de 2016), se encontró que los copépodos, cladóceros y el ictioplancton fueron los taxa más abundantes, alcanzando abundancias relativas del 36,33, 29,82 y 21,29%, respectivamente (Figura 2.8). Entre los copépodos, *A. tonsa* fue la especie más abundante alcanzando un valor medio de 20,42 ind. m<sup>-3</sup>, mientras que los cladóceros *Podon* spp. fueron los más numerosos alcanzando una abundancia media de 8,02 ind. m<sup>-3</sup> y por último los huevos de peces fueron los componentes numéricamente más importante del ictioplancton reuniendo una abundancia media de 12,18 ind. m<sup>-3</sup> (Tabla 2.9). En esta estación climática, las apendicularias alcanzaron el 7,72% del total del mesozooplancton, siendo *Oikopleura* sp. el componente más importante de este grupo (abundancia media máxima = 4,23 ind. m<sup>-3</sup>) (Tabla 2.9 y Figura 2.8). Los decápodos, en este golfo, durante esta estación, representaron el 3,24% del total de los organismos identificados, donde los huevos de este grupo fueron los componentes más abundantes (abundancia media máxima = 1,65 ind. m<sup>-3</sup>) (Tabla 2.9 y Figura 2.8). También, se identificaron individuos de los grupos cirrípedos, poliquetos, quetognatos, equinodermos, como así también huevos que no pudieron ser identificados quienes, cada uno de ellos, contribuyeron al total del mesozooplancton con una abundancia relativa menor al 1% (Tabla 2.9).

### Mesozooplancton - Golfo San José

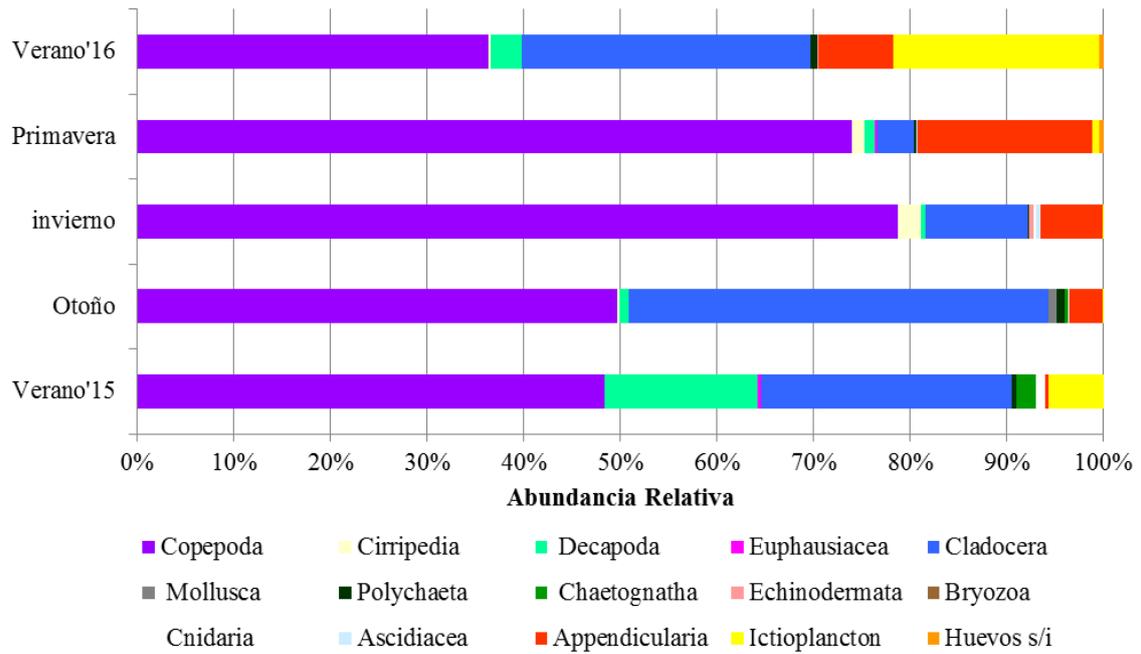


Figura 2.8: Golfo San José. Abundancias relativas (%) de los grupos del mesozooplancton presentadas por estación climática analizada del período estudiado (desde 23/01/2015 al 13/01/2016). s/i: Sin identificar.

**Tabla 2.9: Golfo San José. Composición y abundancia del mesozooplancton. Valores medios de abundancia (ind. m<sup>-3</sup>) por estación climática del período de estudio (desde 23/01/2015 al 13/01/2016). (L): Larva. s/i: sin identificar. Continúa en la pág. 60.**

<b>Golfo San José</b>										
Taxa	Verano '15		Otoño		Invierno		Primavera			Verano '16
	Ene-'15	Mar	Abr	May	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	
<b>Phylum Arthropoda</b> von Siebold, 1848										
<b>Subphylum Crustacea</b> Brünnich, 1772										
<b>Clase MAXILLOPODA</b> Dahl, 1956										
<b>Subclase Copepoda</b> Milne-Edwards, 1840										
<b>Orden Calanoida</b> Sars G. O., 1903										
Nauplii	0,00	0,00	0,14	0,31	0,11	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00
Copepoditos 1-3	46,43	7,09	2,90	0,00	35,28	33,69	2,68	36,79	0,00	0,51
<b>Familia Paracalanidae</b> Giesbrecht, 1893										
<i>Paracalanus parvus</i> (Claus, 1863)	39,99	59,18	30,61	22,89	9,91	17,81	6,88	94,63	0,27	1,07
<b>Familia Clausocalanidae</b> Giesbrecht, 1893										
<i>Ctenocalanus vanus</i> Giesbrecht, 1888	51,14	53,55	23,82	53,08	12,42	31,39	8,10	51,76	0,06	0,27
<b>Familia Acartiidae</b> Sars, 1903										
<i>Acartia tonsa</i> Dana, 1849	109,60	1,98	0,00	0,25	0,06	0,06	0,15	3,89	9,48	20,42
<b>Familia Calanidae</b> Dana, 1849										
<i>Calanus australis</i> Brodsky, 1959	57,71	2,12	0,38	19,00	2,54	4,30	1,86	2,83	0,00	0,00
<i>Calanoides carinatus</i> (Krøyer, 1849)	23,53	11,74	0,00	110,85	4,95	3,29	1,35	24,93	0,00	0,00
<b>Familia Pontellidae</b> Dana, 1852										
Nauplii	0,00	3,70	0,15	0,50	0,28	0,01	0,00	0,09	0,05	0,06
<i>Pontella patagoniensis</i> (Lubbock, 1853)	0,00	0,37	0,80	8,77	0,06	0,16	0,00	0,00	0,10	0,00
<i>Labidocera fluviatilis</i> Dahl F., 1894	0,14	0,00	5,19	0,00	0,74	0,72	0,00	0,00	0,00	0,84
<b>Orden Cyclopoida</b> Burmeister, 1834										
<b>Familia Oithonidae</b> Dana, 1853										
<i>Oithona</i> spp.	1,16	1,47	13,08	2,90	1,22	0,26	0,07	2,33	0,00	0,00
<i>Oithona nana</i> Giesbrecht, 1893	0,00	0,00	0,00	0,00	0,28	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Orden Harpacticoida</b> Sars, 1903										
<b>Familia Euterpinidae</b> Brian, 1921										
<i>Euterpina acutifrons</i> (Dana, 1847)	1,66	0,00	0,70	0,01	0,17	0,00	0,00	0,34	0,00	0,00
<b>Familia Tisbidae</b> Stebbing, 1910										
<i>Tisbe</i> ssp.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01
<b>Subclase Thecostraca</b> Gruvel, 1905										
<b>Infraclasse Cirripedia</b> Burmeister, 1834										
Nauplii	0,88	0,00	0,55	0,89	3,10	1,83	0,46	3,67	0,00	0,20
Cypris	0,00	0,00	0,15	0,01	0,00	0,00	0,01	0,12	0,00	0,00
<b>Clase MALACOSTRACA</b> Latreille, 1802										
<b>Subclase Eumalacostraca</b> Grobben, 1892										
<b>Orden Decapoda</b> Latreille, 1802										
Huevos	0,07	1,81	0,59	0,02	0,00	0,00	0,01	0,54	0,00	1,65
Nauplii	0,00	0,00	0,88	0,01	0,00	0,00	0,00	0,27	0,00	0,00
Protozoa	0,10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	0,00	0,00	0,00	0,00
Megalopa	0,00	0,45	0,15	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Familia Callinassidae</b> Dana, 1852										
<i>Callinassa</i> spp. (Zoea)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,18	0,00	0,00
<b>Familia Pinnotheridae</b> De Haan, 1833										
<i>Tumidotheres</i> (= <i>Pinnotheres</i> ) <i>maculatus</i> (Zoea) (Say, 1818)	0,83	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Familia Ovalipidae</b> Spiridonov, Neretina y Schepetov, 2014										
<i>Ovalipes trimaculatus</i> (Zoea) (De Haan, 1833)	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,06
<b>Familia Epialtidae</b> MacLeay, 1838										
<i>Libidoclaea granaria</i> (Zoea) Milne Edwards y Lucas, 1842	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Familia Varunidae</b> Milne Edwards, 1853										
<i>Cyrtograpsus altimanus</i> (Zoea) Rathbun, 1914	5,02	11,98	2,02	0,00	0,00	0,00	0,00	1,99	0,06	0,28
<i>Cyrtograpsus angulatus</i> (Zoea) Dana, 1851	129,74	1,52	0,36	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Neohelice granulata</i> (Dana, 1851)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,12	0,00	0,07
<b>Familia Munididae</b> Ah Yong, Baba, Macpherson y Poore, 2010										
<i>Munida gregaria</i> (Zoea) (Fabricius, 1793)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,83	0,28	0,00	0,00	0,00
<b>Familia Porcellanidae</b> Haworth, 1825										
<i>Pachycheles chubutensis</i> (Zoea) Boschi, 1963	0,16	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Familia Pinnotheridae</b> De Haan, 1833										
<i>Austinixa patagoniensis</i> (Zoea) (Rathbun, 1918)	0,90	1,18	0,12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Familia Epialtidae</b> MacLeay, 1838										
<i>Libinia spinosa</i> (Zoea) Guérin, 1832	0,30	0,68	1,21	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05	0,01
<b>Familia Hymenosomatidae</b> MacLeay, 1838										
<i>Halicarcinus planatus</i> (Zoea) (Fabricius, 1775)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Familia Platyxanthidae</b> Guinot, 1977										
<i>Danielethus patagonicus</i> (Zoea) (Milne-Edwards, 1879)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,11	0,00	0,09	0,00	0,00
<b>Familia Solenoceridae</b> Wood-Mason in Wood-Mason y Alcock, 1891										
<i>Pleoticus muelleri</i> (Zoea) (Spence Bate, 1888)	0,00	0,00	0,12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Familia Sergestidae</b> Dana, 1852										
<i>Peisos petrunkevitchi</i> (Zoea) Burkenroad, 1945	0,00	0,00	0,12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

**Golfo San José**

Taxa	Verano '15		Otoño		Invierno		Primavera			Verano '16
	Ene-'15	Mar	Abr	May	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Ene-'16
<b>Orden Euphausiacea</b> Dana, 1852										
<b>Familia Euphausiidae</b> Dana, 1852										
Caliptopis	0,00	0,00	0,15	0,08	0,00	0,01	0,01	0,18	0,00	0,00
<i>Euphausia lucens</i> (Caliptopis) Hansen, 1905	0,00	0,26	0,00	0,00	0,00	0,00	0,10	0,37	0,00	0,00
<i>Euphausia lucens</i> (Furcilia) Hansen, 1905	2,53	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Clase BRANCHIOPODA</b> Latreille, 1817										
<b>Subclase Phyllopoda</b> Preuss, 1951										
<b>Orden Diplostraca</b> Gerstaecker, 1866										
<b>Infraorden Cladocera</b> Latreille, 1829										
<b>Familia Podonidae</b> Mordukhai-Boltovskoi, 1968										
<i>Pleopis polyphaemoides</i> (= <i>Podon polyphemoides</i> ) (Leuckart, 1859)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,07	0,00	0,00	3,45
<i>Podon</i> spp.	64,19	66,93	2,94	0,54	0,53	1,67	0,00	0,45	0,00	8,02
<i>Evadne nordmanni</i> Lovén, 1836	105,66	16,70	251,55	4,02	0,63	18,54	0,21	2,45	9,77	7,55
<b>Familia Bosminidae</b> Baird, 1845										
<i>Bosmina</i> sp.	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Phylum Mollusca</b> Linnaeus, 1758										
Clase Bivalvia (Veliger) Linnaeus, 1758	0,00	0,37	3,78	0,88	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Clase Gastropoda (L) Cuvier, 1795	0,00	0,11	0,00	0,07	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Phylum Annelida</b> Lamarck, 1809										
<b>Clase POLYCHAETA</b> Grube, 1850										
Larvas	2,37	1,96	2,37	2,80	0,23	0,03	0,01	0,68	0,00	0,47
<b>Phylum Chaetognatha</b> Leuckart, 1854										
<b>Clase Sagittoidea</b> Claus y Grobben, 1905										
<b>Orden Aphragmophora</b> Tokioka, 1965										
<b>Familia Sagittidae</b> Claus y Grobben, 1905										
<i>Parasagitta friderici</i> (Ritter-Záhony, 1911)	16,37	3,39	1,62	0,36	0,00	0,09	0,07	0,00	0,00	0,01
<b>Phylum Echinodermata</b> Bruguère, 1791 [ex Klein, 1734]										
Larvas	0,08	0,00	0,00	0,02	0,75	0,07	0,01	0,00	0,00	0,07
<b>Phylum Bryozoa</b> Ehrenberg, 1831										
Cifonauta (L)	0,00	0,00	0,15	0,01	0,00	0,20	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Phylum Cnidaria</b> Verrill, 1865										
<b>Clase HYDROZOA</b> Owen, 1843										
<b>Orden Leptotheca</b> Cornelius, 1992										
<b>Familia Campanulariidae</b> Johnston, 1836										
<i>Obelia</i> sp.	7,52	0,11	0,00	0,09	0,12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Orden Anthoathecata</b> Cornelius, 1992										
<b>Familia Oceaniidae</b> Eschscholtz, 1829										
<i>Turritopsis nutricula</i> McCrady, 1857	0,00	0,00	0,14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Hydrozoa s/i	0,90	0,26	0,12	0,00	0,23	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Phylum Chordata</b> Haeckel, 1874										
<b>Subphylum Tunicata</b> Lamarck, 1816										
<b>Clase ASCIDIACEA</b> Blainville, 1824										
Larvas	0,00	0,00	0,00	0,00	0,34	0,58	0,00	0,37	0,00	0,00
<b>Clase APPENDICULARIA</b> Lahille, 1890										
<b>Familia Oikopleuridae</b> Lohmann, 1915										
<i>Oikopleura</i> sp.	0,05	4,28	16,98	3,15	2,74	10,43	3,12	21,17	3,28	4,23
<b>Familia Fritillariidae</b> Lohmann, 1915										
<i>Fritillaria</i> sp.	0,00	0,00	0,50	0,08	0,00	0,00	0,15	33,05	0,00	0,69
<b>Subphylum Vertebrata</b> Cuvier, 1812										
Ictioplancton Huevos	10,33	3,25	0,27	0,02	0,00	0,07	0,28	0,54	1,21	12,18
Ictioplancton Larvas	3,88	2,43	0,00	0,01	0,00	0,01	0,01	0,12	0,00	0,08
<b>Orden Clupeiformes</b>										
<i>Engraulis anchoita</i> (Huevos) Hubbs Marini, 1935	23,67	11,43	0,27	0,02	0,00	0,00	0,00	0,52	0,00	1,32
Huevos s/i	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,25	0,00	0,00	0,28
<b>Mesozooplankton Total</b>	<b>977,30</b>		<b>596,55</b>		<b>202,91</b>		<b>335,95</b>			<b>63,77</b>

## **2.4.4 Relación entre la abundancia y composición del plancton y las variables ambientales en los golfos Nuevo y San José**

### **2.4.4.1 Fitoplancton**

Los dos primeros ejes del ACP explicaron el 95,75% de la variación de las abundancias de las clases del fitoplancton entre las estaciones climáticas del año 2015 (Figura 2.9). El eje 1 explicó el 78,34% de la variabilidad y separó principalmente a las estaciones del año, lo cual podría indicar la existencia de un gradiente estacional que separa las estaciones frías (otoño e invierno) de las cálidas (primavera y verano). Los valores positivos de este eje se asociaron a la primavera en ambos golfos, como así también al verano en el GSJ. Dichas estaciones climáticas, a su vez, se caracterizaron por elevadas abundancias de diatomeas (clase Bacillariophyceae). Mientras que los valores negativos, se asociaron con las estaciones frías del año en ambos golfos y el verano en el GN. Estas estaciones estuvieron caracterizadas en mayor medida por los dinoflagelados (clase Dinophyceae) seguidos por la clase Dictyochophyceae.

En tanto que el eje 2 explicó el 17,41% de la variación total y diferenció la primavera en ambos golfos y el otoño en el GN, ubicando estas estaciones en su sector positivo. Las clases que más contribuyeron a esta separación fueron Euglenoidea y Cryptophyceae. Por el otro lado, en el sector negativo del eje 2 se ubicaron las estaciones de verano e invierno en ambos golfos y el otoño en el GSJ, estas estaciones climáticas se asociaron principalmente a los nanoflagelados.

Como se mencionó anteriormente en la Sección 2.3.3 el análisis de redundancia (RDA) mediante el cual se buscaba identificar las principales variables ambientales que determinaron la variación en la comunidad del fitoplancton entre las estaciones climáticas, no fue estadísticamente significativo (F-ratio = 0,900; p = 0,575). Razón por la cual el gráfico de los ordenamientos resultantes del RDA no fue presentado en esta tesis.

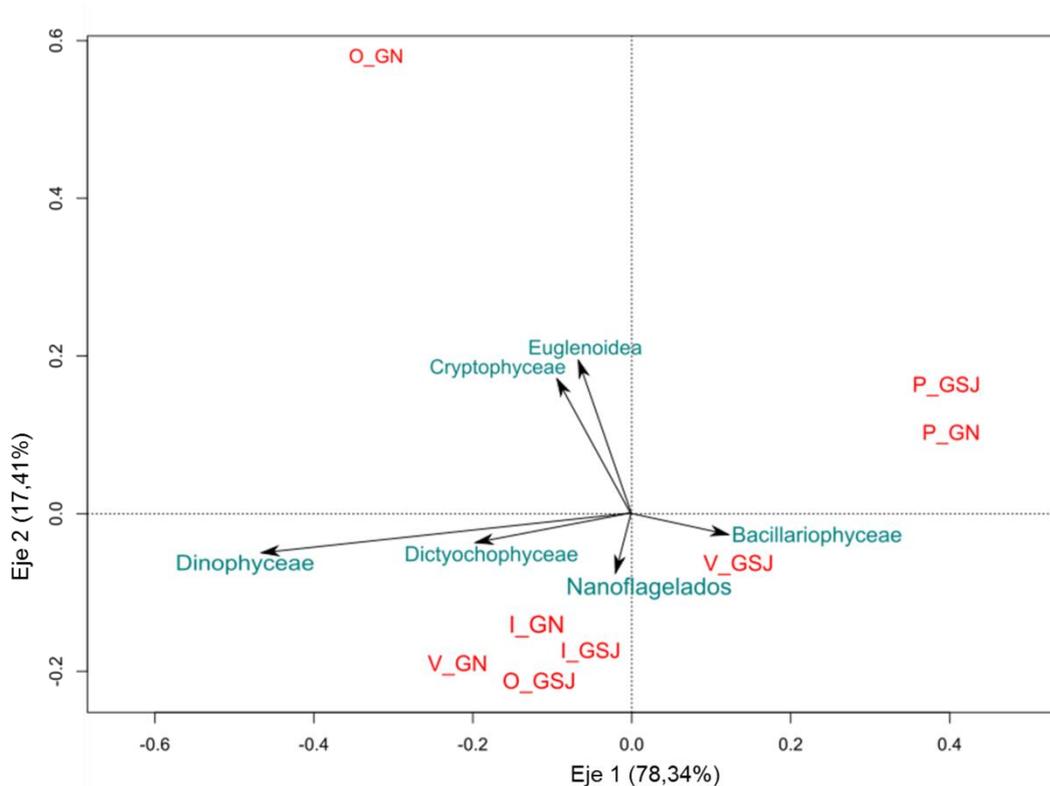


Figura 2.9: Análisis de componentes principales (ACP) donde se relacionan las estaciones climáticas del año 2015 en los golfos Nuevo (GN) y San José (GSJ) con las clases fitoplanctónicas identificadas. En cada eje se indica el porcentaje de variabilidad explicada. V\_: verano, O\_: otoño, I\_: invierno, P\_: primavera.

#### 2.4.4.2 Mesozooplancton

Los dos primeros ejes del ACP explicaron en conjunto el 84,58% de la variación de las abundancias de los grupos del mesozooplancton entre las estaciones climáticas del año 2015. El primer eje de este análisis explicó el 60,90% de la variabilidad y separó fundamentalmente al GN del GSJ (Figura 2.10). Los valores positivos de este eje se asociaron a las estaciones en el GSJ, las cuales se caracterizaron por elevadas abundancias de copépodos y apendicularias. En tanto que en el sector negativo del eje 1 se ubicaron las estaciones en el GN las cuales se diferenciaron principalmente por la contribución del orden Cladocera.

Mientras que el eje 2 explicó el 23,67% de la variabilidad y su parte positiva se asoció al otoño y al invierno en ambos golfos, como así también a la primavera en el GN las cuales se caracterizaron por elevadas abundancias de cladóceros y equinodermos. Por el otro lado el sector negativo de este eje, separó al verano en ambos

golfos y a la primavera en el GSJ. Donde dichas estaciones climáticas se caracterizaron por elevadas abundancias de decápodos y en menor medida por el ictioplancton.

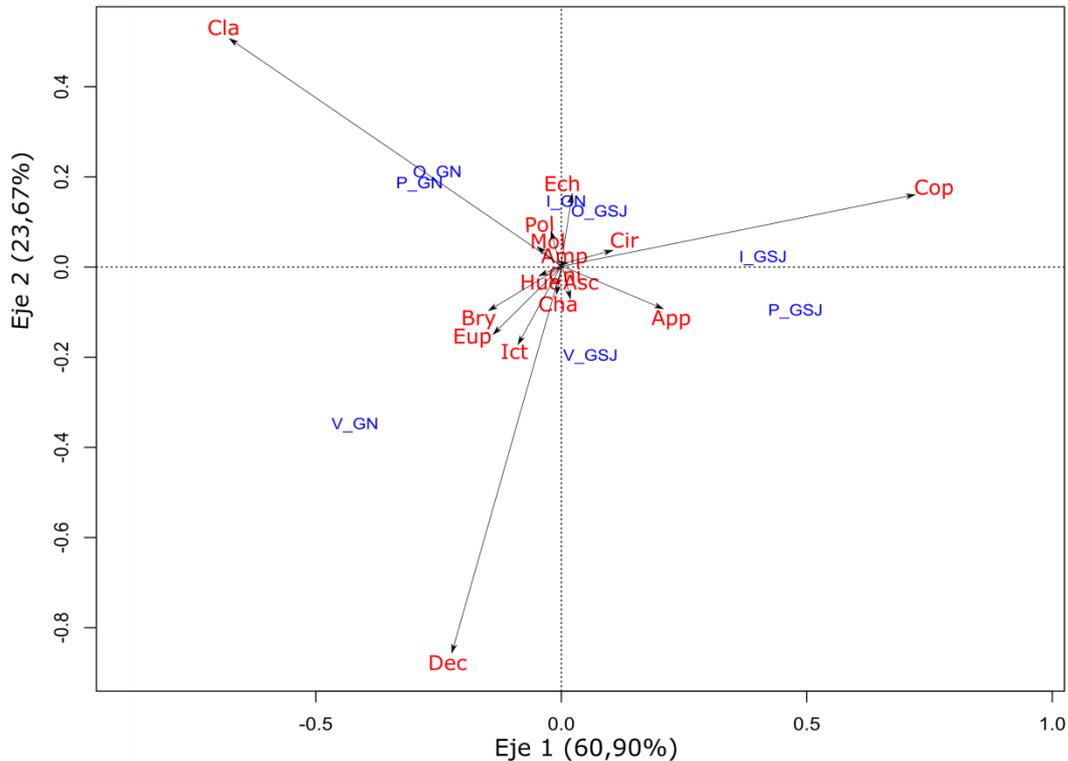


Figura 2.10: Análisis de componentes principales (ACP) donde se relacionan las estaciones climáticas del año 2015 en los golfos Nuevo (GN) y San José (GSJ) con los grupos del mesozooplankton. En cada eje se indica el porcentaje de variabilidad explicada. Amp: Amphipoda, App: Appendicularia, Asc: Ascidiacea, Bry: Bryozoa, Cop: Copepoda, Cha: Chaetognatha, Cir: Cirripedia, Cla: Cladocera, Cni: Cnidaria, Dec: Decapoda, Ech: Echinodermata, Eup: Euphausiacea, Hue: Huevos s/i, Ict: Ictioplancton, Mol: Mollusca, Pol: Polychaeta. V\_: verano, O\_: otoño, I\_: invierno, P\_: primavera.

En tanto que el RDA mostró un ordenamiento muy similar al ACP (Figura 2.11). Este análisis demostró que las variables ambientales (temperatura, salinidad, clorofila-*a* y feopigmentos) explicaron una fracción significativa de la variabilidad en la abundancia y composición del mesozooplankton (F-ratio = 4,74;  $p = 0,039$ ). Donde los dos primeros ejes del RDA explicaron de manera conjunta el 85,60% de la variación total observada, siendo este valor similar al obtenido mediante el ACP.

Los grupos que caracterizaron al GSJ se asociaron con las variables salinidad y feopigmentos. Mientras que aquellos taxones que contribuyeron al agrupamiento de las estaciones del GN mostraron cierta relación positiva con la temperatura.

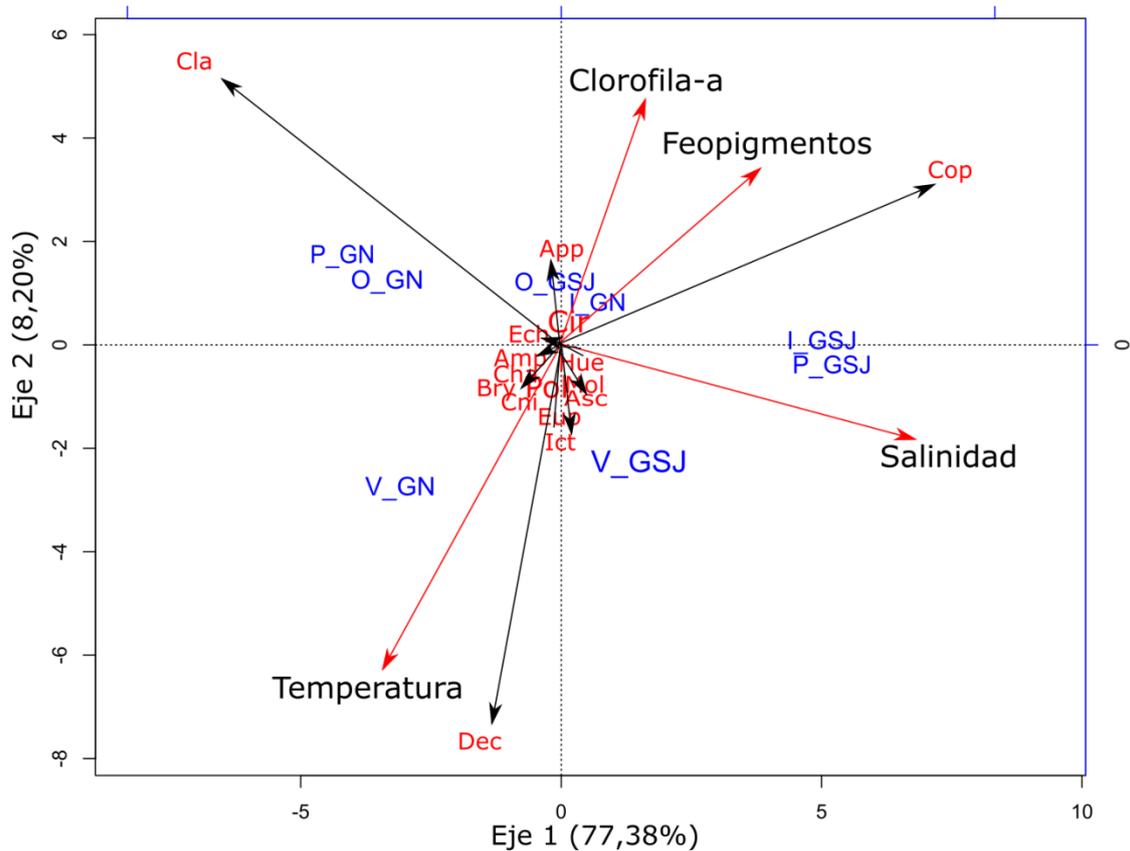


Figura 2.11: Análisis de redundancia (RDA). Ordenamiento de las variables ambientales y los grupos del mesozooplankton registrados en los golfos Nuevo (GN) y San José (GSJ) durante las estaciones climáticas del año 2015. En cada eje se indica el porcentaje de variabilidad explicada. Amp: Amphipoda, App: Appendicularia, Asc: Ascidiacea, Bry: Bryozoa, Cop: Copepoda, Cha: Chaetognatha, Cir: Cirripedia, Cla: Cladocera, Cni: Cnidaria, Dec: Decapoda, Ech: Echinodermata, Eup: Euphausiacea, Hue: Huevos s/i, Ict: Ictioplancton, Mol: Mollusca, Pol: Polychaeta. V\_: verano, O\_: otoño, I\_: invierno, P\_: primavera.

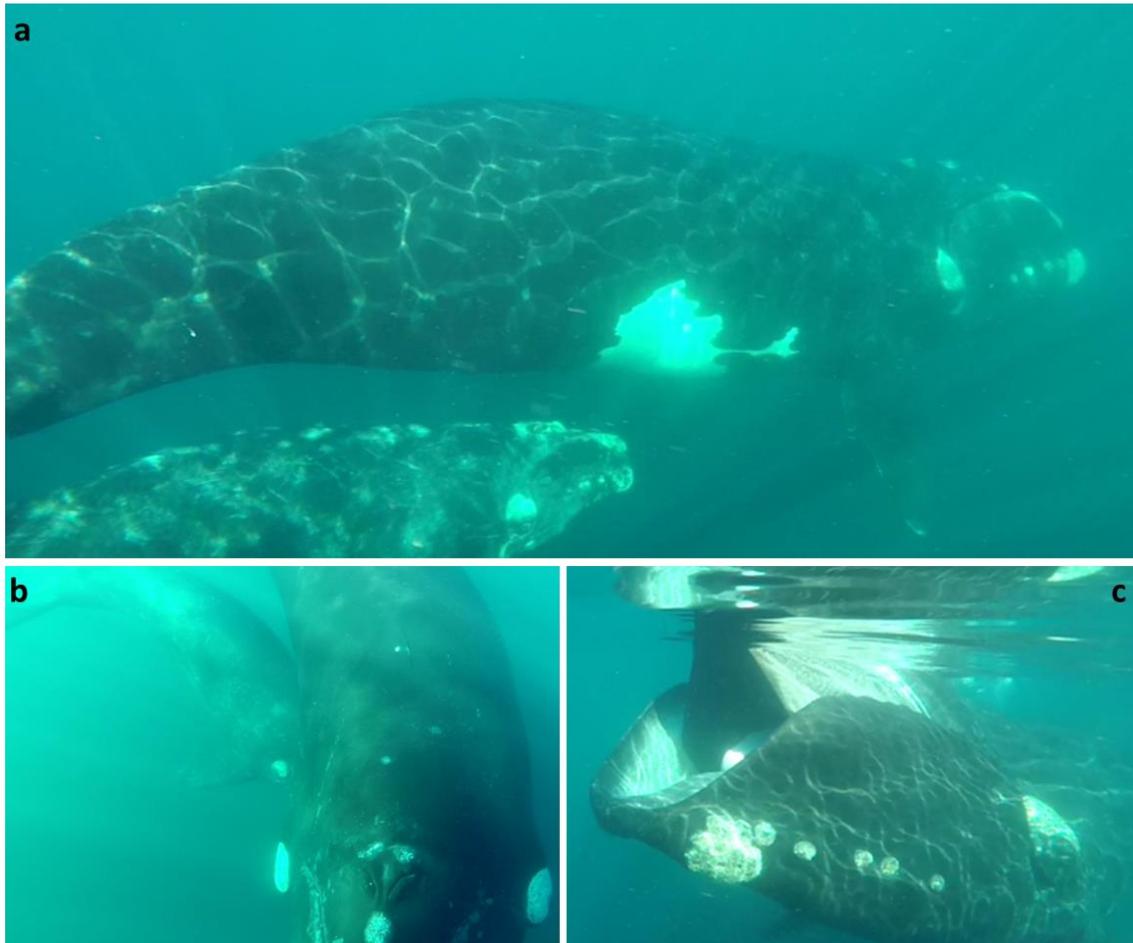
## 2.4.5 Alimentación de *E. australis* en Golfo Nuevo: Comportamiento, composición y abundancia del mesozooplankton

### 2.4.5.1 Comportamiento de alimentación

Durante el muestreo del 04/09/2015, aproximadamente a las 16.36 horas se registraron en el GN (Figura 1.7, Capítulo 1) entre 17 y 20 individuos de *E. australis* filtrando en superficie (Figura 2.12). El grupo que se alimentaba estaba compuesto por madres con crías (Figura 2.13 a y b) e individuos solitarios (Figura 2.13 c). Las crías nadaban junto a sus madres todo el tiempo, sin observarse que éstas se alimenten (Figura 2.13 a y b).



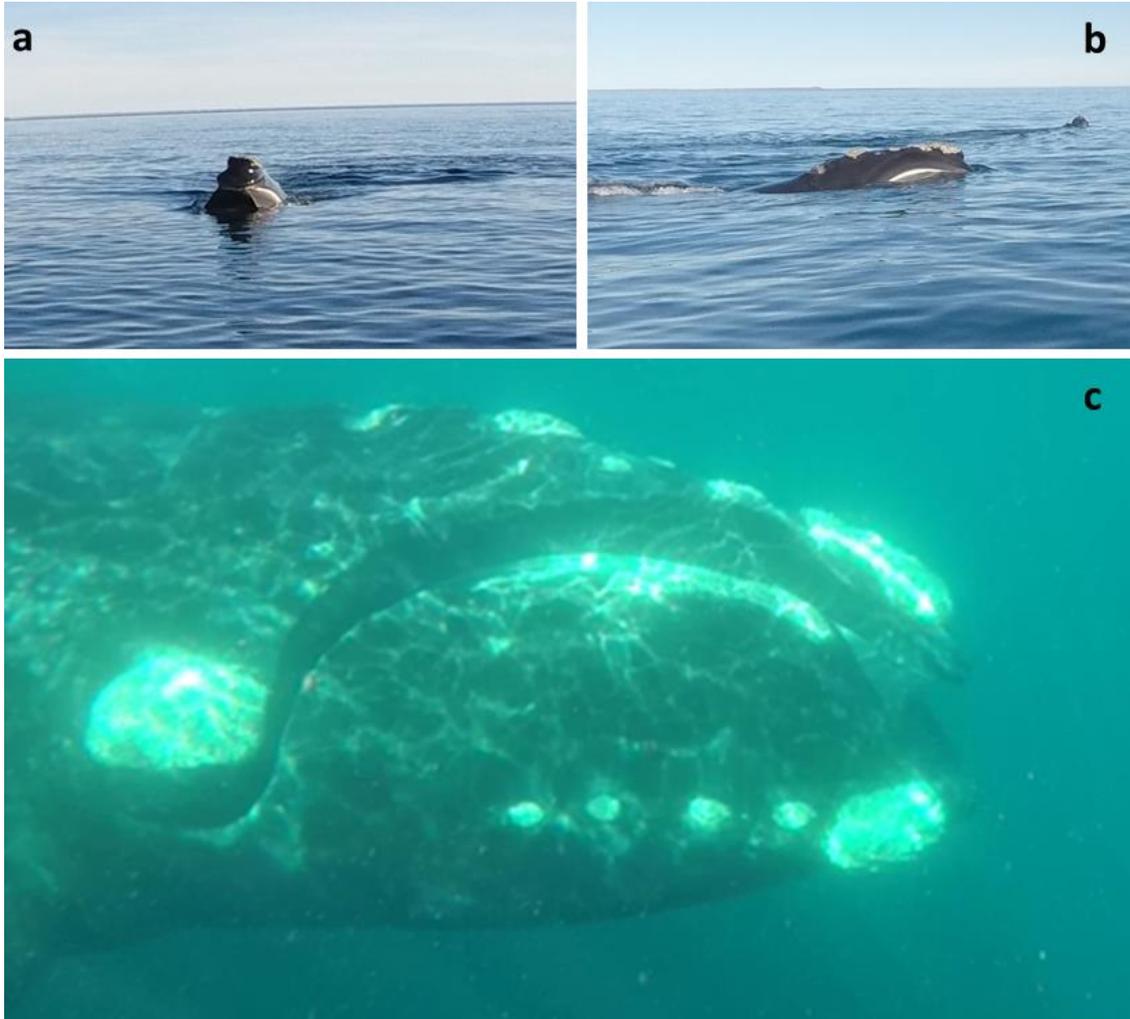
**Figura 2.12: Golfo Nuevo. Individuos de ballena franca austral (*E. australis*) alimentándose en superficie, durante el evento registrado el 04/09/2015.**



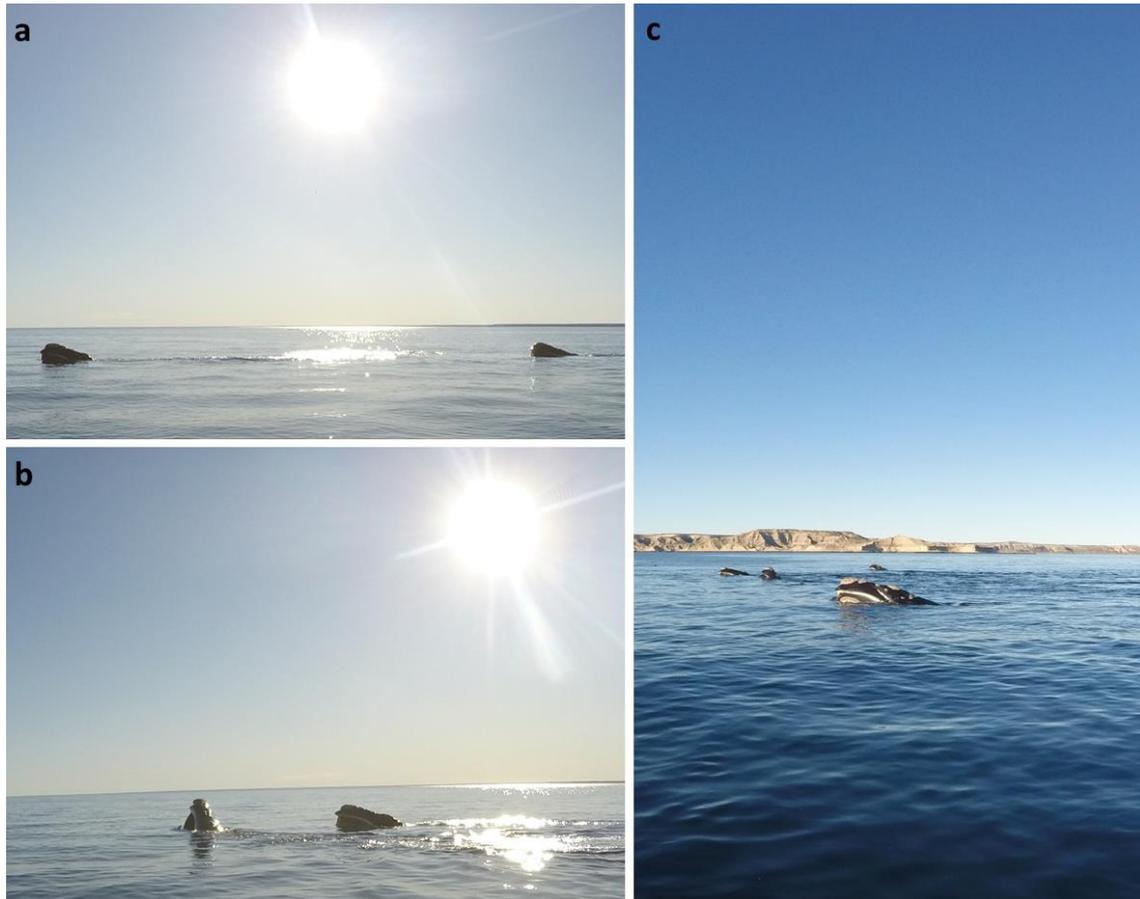
**Figura 2.13:** Golfo Nuevo. Individuos de ballena franca austral (*E. australis*) alimentándose durante el evento registrado el 04/09/2015. a y b) grupo madre-cría, c) individuo solitario.

Para alimentarse las ballenas nadaban lentamente con la boca abierta por la superficie (Figura 2.14 a y b) o muy cerca de ella (Figura 2.14 c). Luego de un período de mostrar este comportamiento, se detenían y a continuación abrían y cerraban su boca en el lugar mientras se observaba el filtrado del agua a través de los espacios existentes entre sus barbas. La mayoría de los individuos nadaban de a pares, moviéndose en la misma dirección (Figura 2.15 a y b); sin embargo, también se observaron grupos compuestos por hasta cuatro ballenas las cuales, para alimentarse, seguían una trayectoria similar (Figura 2.15 c). Este evento fue registrado durante aproximadamente una hora y luego de este período de tiempo aún ocho ballenas continuaban alimentándose en el sitio. Es importante mencionar que tres días previos a esta observación, es decir, durante el 01- 02 y 03/09/2015 y hasta el 06/09/2015 varios capitanes y marineros de embarcaciones de turismo, que operan en la zona como así

también, investigadores del CENPAT observaron y registraron (mediante fotografías) la presencia, en este mismo sitio, de individuos de *E. australis* alimentándose en superficie.



**Figura 2.14:** Golfo Nuevo. Comportamientos de alimentación de *E. australis* observados durante el evento registrado el 04/09/2015. a y b) filtración superficial, c) filtración subsuperficial.



**Figura 2.15: Golfo Nuevo. Comportamientos de alimentación de *E. australis* observados durante el evento registrado el 04/09/2015. a y b) grupos compuestos por dos individuos, c) grupo compuesto por cuatro individuos.**

Asimismo, durante las temporadas de ballenas 2014, 2015 y 2016 en varias oportunidades se han observado ballenas alimentándose mediante filtración en superficie en varios sitios del GN. Este comportamiento fue registrado tanto durante el desarrollo de esta tesis, como por capitanes y marineros de embarcaciones turísticas e investigadores del CENPAT. De dichos eventos se cuenta con un registro fotográfico y fílmico bastante amplio. En todos los casos, las ballenas mostraron un comportamiento similar al descrito en el párrafo anterior. Sin embargo, al no disponer de muestras de organismos mesozooplancónicos recolectadas en el sitio donde las ballenas se alimentaban, estos registros no fueron incluidos en el presente trabajo.

#### **2.4.5.2 Composición y abundancia del mesozooplankton**

La clasificación taxonómica y abundancia (ind. m<sup>-3</sup>) de los organismos mesozooplancónicos identificados durante el evento de alimentación de *E. australis*

registrado el 04/09/2015 en el GN se presentan en la Tabla 2.10. Durante este evento, se observó que la comunidad mesozooplancónica estuvo dominada principalmente por cladóceros y copépodos, representando estos grupos, respectivamente, el 59,57% y el 28,41% del total de los organismos identificados (Figura 2.16). Dentro de los cladóceros la especie *E. nordmanni* alcanzó una abundancia destacable, llegando a los 4.804,01 ind. m<sup>-3</sup> (Tabla 2.10). En tanto que los copépodos estuvieron representados principalmente por *C. carinatus* quien reunió una abundancia de 1.252,63 ind. m<sup>-3</sup> (Tabla 2.10). Asimismo, los copépodos calanoideos *C. vanus* y *C. australis* también fueron componentes importantes de este grupo durante dicho evento, alcanzando una abundancia de 507,74 ind. m<sup>-3</sup> y 328,80 ind. m<sup>-3</sup>, respectivamente (Tabla 2.10).

Otro grupo que contribuyó en menor proporción a la comunidad mesozooplancónica fueron los decápodos, constituyendo el 4,59% del total del mesozooplankton registrado (Figura 2.16), donde las larvas zoeas de *M. gregaria* dominaron ampliamente la abundancia de este grupo; alcanzando los 464,23 ind. m<sup>-3</sup> (Tabla 2.10). En tanto que los eufáusidos también formaron parte del mesozooplankton recolectado durante la alimentación de las ballenas en el sitio. Este grupo estuvo representado exclusivamente por *E. lucens*, donde, en orden decreciente de abundancia, las larvas caliptopis, furciliás, los juveniles y los adultos de esta especie fueron los taxa más abundantes (Tabla 2.10).

Asimismo, durante este evento de alimentación se identificaron cirrípedos, estomatópodos, quetognatos, briozoos, cnidarios, apendicularias e ictioplankton. Sin embargo, estos contribuyeron a la comunidad mesozooplancónica observada con abundancias relativas menores al 1% (Tabla 2.10 y Figura 2.16).

Por otro lado, el 18/10/2014 se registraron entre 5-7 individuos de *E. australis* filtrando en superficie frente a Punta Pirámide, GN, (Figura 1.7, Capítulo 1). Durante dicho evento se tomó una muestra de zooplankton desde una embarcación turística empleando un balde plástico. A través de su inspección bajo lupa se observó que la misma estaba dominada por larvas y huevos de peces. Asimismo, el 12/09/2016 se registró frente a la ciudad de Puerto Madryn, en cercanías del Muelle Luis Piedra Buena (Bahía Nueva, GN) (Figura 1.6, Capítulo 1) otro evento de alimentación (Figura 2.17). En el sitio, se observaron entre 8-10 ballenas, incluyendo madres con crías e individuos solitarios, alimentándose mediante filtración en superficie. Durante este evento se recolectó una muestra de zooplankton del lugar donde los individuos se alimentaban

empleando, para ello, un balde. Mediante su observación bajo lupa fue notoria la dominancia de larvas calíptopis y furciliás del eufáusidos *E. lucens*, como así también, en menor cantidad los copépodos calanoideos *P. parvus* y *C. vanus*. En dicha muestra también se observaron dinoflagelados de la familia Noctilucaeae.

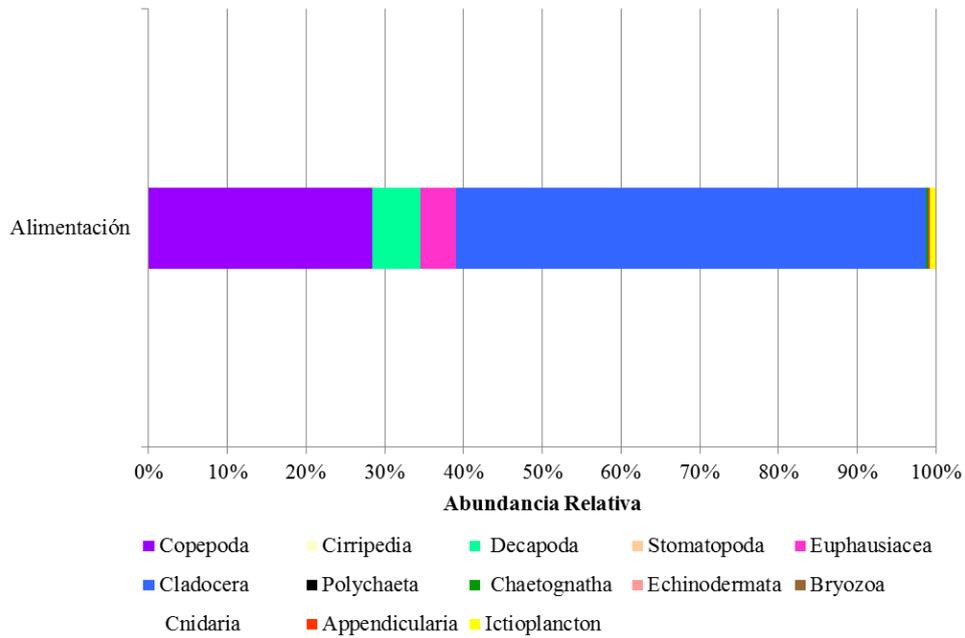


Figura 2.16: Golfo Nuevo. Abundancias relativas (%) de los grupos del mesozooplancton registrados durante el evento de alimentación de *E. australis* el 04/09/2015.



Figura 2.17: Golfo Nuevo. Evento de alimentación de *E. australis* registrado el 12/09/2016 en la Bahía Nueva. Fotos: Mariana Degradi.

Tabla 2.10: Golfo Nuevo. Composición y abundancia (ind. m<sup>-3</sup>) del mesozooplankton registradas durante el evento de alimentación de *E. australis* el 04/09/2015. (L): Larva. Continúa en la pág. 72.

Taxa	04/09/2015 Alimentación
<b>Phylum Arthropoda</b> von Siebold, 1848	
<b>Subphylum Crustacea</b> Brünnich, 1772	
<b>Clase MAXILLOPODA</b> Dahl, 1956	
<b>Subclase Copepoda</b> Milne-Edwards, 1840	
<b>Orden Calanoida</b> Sars G. O., 1903	
Copepoditos 1-3	164,79
<b>Familia Paracalanidae</b> Giesbrecht, 1893	
<i>Paracalanus parvus</i> (Claus, 1863)	30,12
<b>Familia Clausocalanidae</b> Giesbrecht, 1893	
<i>Ctenocalanus vanus</i> Giesbrecht, 1888	507,74
<b>Familia Acartiidae</b> Sars, 1903	
<i>Acartia tonsa</i> Dana, 1849	8,50
<b>Familia Calanidae</b> Dana, 1849	
<i>Calanus australis</i> Brodsky, 1959	328,80
<i>Calanoides carinatus</i> (Krøyer, 1849)	1252,63
<b>Familia Pontellidae</b> Dana, 1852	
Nauplii	0,26
<b>Orden Cyclopoida</b> Burmeister, 1834	
<b>Familia Oithonidae</b> Dana, 1853	
<i>Oithona</i> spp.	0,26
<b>Orden Harpacticoida</b> Sars, 1903	
<b>Familia Euterpinae</b> Brian, 1921	
<i>Euterpina acutifrons</i> (Dana, 1847)	0,51
<b>Subclase Thecostraca</b> Gruvel, 1905	
<b>Infraclase Cirripedia</b> Burmeister, 1834	
Nauplii	0,77
Cypris	0,51
<b>Orden Decapoda</b> Latreille, 1802	
<b>Familia Ovalipidae</b> Spiridonov, Neretina y Schepetov, 2014	
<i>Ovalipes trimaculatus</i> (Zoea) (De Haan, 1833)	0,51
<b>Familia Munididae</b> Ahyong, Baba, Macpherson y Poore, 2010	
<i>Munida gregaria</i> (Zoea) (Fabricius, 1793)	464,23
<b>Familia Hymenosomatidae</b> MacLeay, 1838	
<i>Halimniscus planatus</i> (Zoea) (Fabricius, 1775)	1,03
<b>Familia Platyxanthidae</b> Guinot, 1977	
<i>Danielethus patagonicus</i> (Zoea) (Milne-Edwards, 1879)	25,75
<b>Orden Stomatopoda</b> Latreille, 1817	
Larvas	0,51

<b>Orden Euphausiacea</b> Dana, 1852	
<b>Familia Euphausiidae</b> Dana, 1852	
<i>Euphausia lucens</i> (Caliptopis) Hansen, 1905	148,82
<i>Euphausia lucens</i> (Furcilia) Hansen, 1905	129,25
<i>Euphausia lucens</i> (Juvenil) Hansen, 1905	79,30
<i>Euphausia lucens</i> (Adulto) Hansen, 1905	12,87
<b>Clase BRANCHIOPODA</b> Latreille, 1817	
<b>Subclase Phyllopoda</b> Preuss, 1951	
<b>Orden Diplostraca</b> Gerstaecker, 1866	
<b>Infraorden Cladocera</b> Latreille, 1829	
<b>Familia Podonidae</b> Mordukhai-Boltovskoi, 1968	
<i>Pleopis polyphaemoides</i> (Leuckart, 1859)	0,51
<i>Podon</i> spp.	4,38
<i>Evadne nordmanni</i> Lovén, 1836	4804,01
<b>Phylum Annelida</b> Lamarck, 1809	
<b>Clase POLYCHAETA</b> Grube, 1850	
Larvas	0,26
<b>Phylum Chaetognatha</b> Leuckart, 1854	
<b>Clase Sagittoidea</b> Claus y Grobben, 1905	
<b>Orden Aphragmophora</b> Tokioka, 1965	
<b>Familia Sagittidae</b> Claus y Grobben, 1905	
<i>Parasagitta friderici</i> (Ritter-Záhony, 1911)	20,86
<b>Phylum Bryozoa</b> Ehrenberg, 1831	
Cifonauta (L)	16,99
<b>Phylum Cnidaria</b> Verrill, 1865	
<b>Clase ANTHOZOA</b> Ehrenberg, 1834	
<b>Orden Ceriantharia</b> Perrier, 1893	
Larvas	0,26
<b>Clase HYDROZOA</b> Owen, 1843	
<b>Orden Leptothecata</b> Cornelius, 1992	
<b>Familia Campanulariidae</b> Johnston, 1836	
<i>Obelia</i> sp.	0,26
<b>Clase APPENDICULARIA</b> Lahille, 1890	
<b>Familia Oikopleuridae</b> Lohmann, 1915	
<i>Oikopleura</i> sp.	7,98
<b>Subphylum Vertebrata</b> Cuvier, 1812	
Ictioplancton Huevos	39,65
Ictioplancton Larvas	0,77
<b>Superclase Gnathostomata</b>	
<b>Clase Actinopteri</b>	
<b>Orden Clupeiformes</b>	
<i>Engraulis anchoita</i> (Huevos) Hubbs Marini, 1935	20,08
<b>Mesozooplankton Total</b>	<b>8073,19</b>

## 2.5 Discusión

### 2.5.1 Dinámica de las variables ambientales en los golfos Nuevo y San José

En el presente estudio se pudo determinar que ambos golfos siguieron el mismo patrón estacional en lo que respecta a la temperatura superficial del agua de mar, alcanzando mayores temperaturas durante las estaciones cálidas y más bajas durante los períodos más fríos del año. Sin embargo, los valores registrados de esta variable en el GSJ, fueron más elevados en todas las estaciones climáticas muestreadas en comparación con el GN, excepto durante la primavera. En esta última estación, los valores de temperatura fueron mayores en el GN, tanto a finales de la primavera de 2014 como en la de 2015 (16,66 °C y 14,44 °C fines de la primavera de 2014 y de 2015 respectivamente, en el GN y 13,33 °C durante la primavera de 2015 en el GSJ). Asimismo, se encontró que la temperatura media anual registrada durante el presente estudio fue mayor en el GN en comparación con el GSJ (15,75 ± 2,80 °C en el GN, 14,83 ± 3,05 °C en el GSJ). Si bien se ha reportado que la estructura térmica de la columna de agua en ambos golfos son similares (Rivas, 1990a), diferentes autores establecen que la variación de la temperatura del agua en el GSJ está fuertemente ligada a los cambios en las condiciones atmosféricas, los cuales juegan un rol fundamental en la temperatura del agua de este golfo debido a la alta relación superficie/volumen que éste presenta (Pizarro, 1975; Rivas, 1990a).

Los valores de temperatura superficial registrados en el GN, durante el presente estudio, coinciden con lo reportado por Rivas y Ripa (1989), quienes documentaron temperaturas medias elevadas durante el verano en este golfo y más bajas durante el invierno. Estos autores registraron una temperatura media de 18 °C durante verano y entre 10 °C y 12 °C en el invierno. En tanto que el valor promedio medido en el presente estudio durante el verano fue mayor (18,50 °C) y el registrado durante el invierno fue, aproximadamente, intermedio al reportado por los autores anteriormente mencionados (11,25 °C).

Asimismo, los valores de temperatura superficial medidos en el GSJ durante el período analizado concuerdan con lo reportado por otros autores para este golfo (Rivas, 1990b; Amoroso y Gagliardi, 2010). Amoroso y Gagliardi (2010) documentaron temperaturas cálidas durante el verano (≈ 19 °C), a partir del cual se produce un

descenso de la temperatura alcanzando valores más bajos durante el invierno ( $\approx 12,5$  °C). Sin embargo, en el presente estudio los valores registrados de temperatura media superficial del agua de mar en este golfo alcanzaron valores más bajos que los documentados por los autores anteriormente mencionados, llegando a los 18,92 °C en verano y a los 11,33 °C durante el invierno.

El disco de Secchi es un instrumento ampliamente utilizado para medir la transparencia de la columna de agua y detectar, de manera temprana, un aumento de la biomasa fitoplanctónica (Sar et al., 2002).

Los valores de la profundidad del disco de Secchi (PS) medidos durante esta tesis para el GN, coinciden con lo reportado por Gayoso y Fulco (2006) para este golfo, quienes han indicado que la transparencia del agua en el GN es alta, oscilando esta variable entre los 5 y 15 m a lo largo del ciclo anual. En el GN la PS presentó el valor promedio mínimo durante la primavera de 2015, evidenciando mayor turbidez de la columna de agua. Esto podría estar relacionado con un incremento en la productividad primaria durante dicha estación climática en comparación con el resto de las estaciones muestreadas.

En cuanto al GSJ, esta variable mostró valores similares en las distintas estaciones climáticas analizadas. El valor medio mínimo fue registrado durante el invierno. Sin embargo, este valor podría estar asociado a las condiciones meteorológicas registradas durante las fechas de muestreo correspondientes a dicha estación climática más que al incremento en la productividad del fitoplancton. Durante el invierno en la zona se registraron principalmente días ventosos coincidentes con las fechas de muestreo, como así también, estados del mar según la escala de Beaufort entre 2 y 3 (datos no mostrados). Estos factores externos podrían haber contribuido a la disminución de la visualización del disco de Secchi desde la superficie.

Coincidiendo con los resultados obtenidos en esta tesis, estudios previos han documentado que en el GN la concentración de clorofila-*a* es alta durante el otoño y la primavera y más baja en el resto de las estaciones del año (Gayoso y Fulco, 2006). En tanto que, la concentración media anual de clorofila-*a* registrada durante el presente estudio, fue más elevada que la registrada por los autores anteriormente mencionados para este golfo (este estudio =  $1,15 \mu\text{g l}^{-1}$ , Gayoso y Fulco, 2006 =  $0,75 \mu\text{g l}^{-1}$ ).

Por otro lado la concentración mínima de clorofila-*a* en este golfo, fue registrada a fines de la primavera de 2014 (diciembre de 2014). La obtención de este bajo valor de

clorofila-*a* durante dicha estación climática, en la cual la abundancia total del fitoplancton fue mayor que la registrada durante el otoño y el invierno, puede atribuirse a la baja densidad de diatomeas hallada en diciembre de 2014, cuando la comunidad fitoplanctónica estuvo dominada por los dinoflagelados. En tanto que, durante el verano la concentración de clorofila-*a* alcanzó el segundo valor más bajo registrado en este golfo. Sin embargo, en esta última estación climática la abundancia total del fitoplancton fue mayor que el resto de las estaciones climáticas muestreadas, exceptuando la primavera de 2015. Inclusive, durante el verano, los organismos fitoplanctónicos dominantes fueron las diatomeas, sin embargo esto no se vio reflejado en la concentración de clorofila-*a* registrada. Por otro lado, el máximo valor promedio registrado de este pigmento durante la primavera de 2015 podría estar asociado al *bloom* de diatomeas registrado en este golfo durante dicha estación climática, más específicamente, de *P. australis* quien dominó ampliamente el fitoplancton en el mes de octubre.

La concentración media anual de clorofila-*a* registrada durante el presente estudio, fue mayor que la documentada por otros autores para el GSJ (este estudio =  $1,51 \mu\text{g l}^{-1}$ , Charpy y Charpy, 1977 =  $0,5 \mu\text{g l}^{-1}$ ). Durante el período analizado, la concentración de clorofila-*a* en este golfo mostró dos picos bien definidos, uno en otoño y otro durante la primavera los cuales, inclusive, alcanzaron el mismo valor. No obstante, sólo en la primavera estos valores coincidieron con una mayor abundancia de organismos fitoplanctónicos. En cambio, durante el otoño la biomasa fitoplanctónica fue menor en comparación con el invierno y el verano. Esta falta de asociación entre la concentración de clorofila-*a* y la mayor biomasa fitoplanctónica, tampoco puede ser interpretada evaluando la composición de las comunidades fitoplanctónicas registradas en el invierno y el verano. Dado que durante todo este estudio, incluyendo estas dos últimas estaciones climáticas, predominaron las diatomeas en este golfo, alcanzando incluso un porcentaje de representación mayor durante el invierno y el verano en comparación con el otoño.

Por lo cual, si bien la concentración de clorofila-*a* está estrechamente asociada a la biomasa fitoplanctónica, se ha indicado que para estimar indirectamente la abundancia del fitoplancton a través de este pigmento se deben considerar otros factores, entre ellos el estado fisiológico, la cantidad de pigmentos accesorios de los componentes del fitoplancton (Margalef, 1974) y la abundancia de formas

fitoplanctónicas de menor tamaño (<20 µm), fracción conocida como nanofitoplancton, las cuales contribuyen considerablemente a la biomasa fitoplanctónica (Gilmartin y Revelante, 1978; Poot Delgado, 2006).

La concentración de feopigmentos, en ambos golfos, presentó un patrón similar al de los niveles de clorofila-*a*, alcanzando mayores valores durante el otoño y la primavera y menores durante el invierno y verano, excepto hacia fines de la primavera de 2014 en el GN donde la concentración de clorofila-*a* fue baja, sin embargo la de feopigmentos alcanzó uno de los valores más elevados medidos durante el presente estudio en este golfo. Varios autores han señalado que los feopigmentos son un residuo producto del pastoreo del zooplancton sobre el fitoplancton, siendo esta actividad la principal fuente de feopigmentos en los océanos (Lorenzen, 1967; Helling y Baars, 1985; Head y Harris, 1992). Por lo tanto, es de esperar que los valores más elevados de esta variable coincidan con los picos en la concentración de clorofila-*a* como se observó a lo largo del presente estudio en casi todas las estaciones climáticas analizadas.

## **2.5.2 Composición y abundancia de los organismos fitoplanctónicos**

### **2.5.2.1 Golfo Nuevo**

La comunidad fitoplanctónica en el GN estuvo representada mayoritariamente por diatomeas, quienes dominaron en todas las estaciones climáticas muestreadas excepto en la primavera de 2014, cuando en el único muestreo realizado en esta estación climática (diciembre de 2014), los dinoflagelados fueron el grupo más abundante, seguido de la clase Cryptophyceae. Esta dominancia de diatomeas a lo largo del ciclo anual en el GN ya fue previamente documentada por varios autores (Gayoso, 2001; Sastre et al., 2001; Santinelli, 2008). Asimismo, Gayoso (2001) señala que el fitoplancton en este golfo muestra dos picos recurrentes a lo largo del año, uno tiene lugar durante el otoño y el otro durante la primavera. Si bien las mayores densidades de fitoplancton registradas durante las primaveras muestreadas en esta tesis (2014-2015) coincide con lo reportado por el autor antes mencionado, en este estudio, el otro pico en la abundancia del fitoplancton fue registrado durante el verano en lugar del otoño como señala Gayoso (2001) en su trabajo. En el presente estudio, durante el verano la comunidad fitoplanctónica estuvo dominada por una especie no identificada del género *Chaetoceros* con una importante contribución a la abundancia total del fitoplancton de

*Eucampia* sp. Mientras que durante la primavera de 2015, se registró en el área un bloom de *P. australis* durante el mes de octubre, a su vez, durante este mes *P. calliantha* y *Chaetoceros* sp. también fueron especies que mostraron altas densidades celulares.

Las mayores abundancias de dinoflagelados fueron registradas a fines de la primavera de 2014 (diciembre de 2014) y verano de 2015; durante ambas estaciones climáticas dominó un dinoflagelado que no pudo ser identificado. Cabe mencionar que durante la primavera de 2015, este grupo estuvo presente en bajas densidades en los análisis cuantitativos y fueron muy poco frecuentes en las muestras cualitativas. Sin embargo, la mayor representación de dinoflagelados durante la primavera de 2014 y el verano en este golfo, coincide con lo registrado por Gayoso (2001). Este mismo autor encontró que *P. micans* fue la especie numéricamente más importante durante ambas estaciones. No obstante, sin considerar el dinoflagelado no identificado que presentó las más altas densidades en estas estaciones climáticas, la especie *P. micans* fue el segundo taxón más abundante hacia fines del verano en el GN.

El dinoflagelado *A. tamarense*, productor de toxinas PSP, únicamente fue detectado en una muestra de red (análisis cualitativo) correspondiente al mes de febrero (verano) y en otra del mes de octubre (primavera de 2015), mientras que esta especie no fue hallada en ninguna de las muestras cuantitativas (de botella) analizadas. Esta ausencia de *A. tamarense* en muestras provenientes del GN también fue documentada por Andrinolo et al. (1999a). Sin embargo, se contrapone a lo detectado por Gayoso (2001), quien señala a este dinoflagelado como un componente frecuente de la comunidad fitoplanctónica de este golfo a lo largo del ciclo anual. No obstante, con respecto a la dinámica de esta especie en el GN hay opiniones encontradas, Gayoso y Fulco (2006) señalan que la presencia de *A. tamarense* en la comunidad fitoplanctónica del GN varía considerablemente de un año a otro e incluso los picos en su abundancia no muestran un patrón estacional bien definido. Sin embargo Santinelli et al. (2002) establecen, que la presencia de este dinoflagelado en el GN presenta un patrón aparentemente estacional registrándose las mayores densidades de este taxón durante el verano y la primavera.

En cuanto a las especies potencialmente productoras de AD del género *Pseudo-nitzschia*, a través de ambas metodologías de muestreo empleadas en el presente estudio, fueron identificadas: *P. fraudulenta*, *P. pungens*, *P. australis* y *P. calliantha*, las cuales han sido reportadas, por diferentes autores, como componentes recurrentes de

la comunidad fitoplanctónica de este golfo (Gayoso, 2001; Sastre et al., 2001; 2007; Santinelli, 2008; Cadaillón, 2012). Asimismo, las primeras tres especies mencionadas han sido asociadas a eventos de toxicidad, tanto en este golfo como así también en el Mar Argentino (Negri et al., 2004, Sastre et al., 2007), mientras que *P. calliantha* es conocida como una especie potencialmente productora de AD en varias partes del mundo (Lelong et al., 2012).

A través del análisis cuantitativo, se pudo conocer que el género *Pseudo-nitzschia* estuvo presente en todas las estaciones climáticas muestreadas. Lo cual coincide con lo reportado por Sastre et al (2001), quienes documentaron que varias especies de este género fueron identificadas periódicamente a lo largo del año en el GN detectando, incluso, en ciertas oportunidades, floraciones de estas microalgas. Durante el período analizado en esta tesis, especies del género *Pseudo-nitzschia* fueron identificadas desde densidades celulares bajas ( $36,66 \text{ cél l}^{-1}$ ) hasta alcanzando concentraciones de *bloom* ( $2,7 \times 10^5 \text{ cél l}^{-1}$ ), hecho que tuvo lugar durante la primavera. Esta elevada abundancia podría considerarse como una alerta temprana a la detección de AD en el área. Según Reguera (2002) el rango de concentraciones celulares de especies potencialmente tóxicas del género *Pseudo-nitzschia* dentro del cual se detecta la presencia de toxinas en muestras de moluscos bivalvos es del orden de  $2 \times 10^5 \text{ cél l}^{-1}$  a  $10^6$ , los cuales están dentro de los valores registrados en el presente estudio durante el *bloom* de *P. australis*.

Si bien se ha documentado la presencia de *P. australis* a lo largo de todo el año en aguas del GN, en la mayoría de los casos las densidades celulares detectadas de esta especie fueron bajas (Sastre et al., 2001) y hasta la fecha no se ha reportado un *bloom* de *P. australis* en este golfo. Inclusive, cabe mencionar que, las densidades celulares registradas de *P. australis* en este estudio ( $2,7 \times 10^5 \text{ cél l}^{-1}$ ) durante el mes de octubre en el GN son las mayores registradas hasta la fecha en el Mar Argentino (Negri e Inza, 1998; Sastre et al., 2001; Negri et al., 2004; Almandoz et al., 2007). Se ha indicado que esta especie es un fuerte productor de AD ( $12-37 \text{ pg AD cél}^{-1}$ ; Bates, 2000; Kotaki et al., 2000). Además algunos autores señalan a esta especie como la más tóxica del género *Pseudo-nitzschia* (Trainer et al., 2000) y la principal responsable de los problemas de intoxicación por ASP a nivel mundial (Bates, 2000; Fire et al., 2010). En el Mar Argentino, Negri et al. (2004) hallaron AD en muestras de fitoplancton, mejillones (*Mytilus edulis*) y anchoítas (*Engraulis anchoita*) coincidente con concentraciones de  $1,3 \times 10^4 \text{ cél l}^{-1}$  a  $2,8 \times 10^4 \text{ cél l}^{-1}$  de *P. australis*.

Por otro lado, los valores de abundancia de *P. fraudulenta* observados en esta tesis, son mucho más bajos comparados con los reportados para el GN, donde inclusive diferentes autores han reportado *blooms* de esta especie (Sastre et al., 2007; Cadaillón, 2012). En tanto que, la ausencia de *P. pungens* en las muestras cuantitativas a lo largo del año en este golfo y su observación sólo en las muestras cualitativas correspondientes al otoño y sólo en una perteneciente a la primavera de 2015 (diciembre) se contraponen a lo documentado por varios autores para esta zona (Sastre et al., 2001; 2007; Santinelli, 2008; Cadaillón, 2012), quienes describen a esta especie como un integrante frecuente del fitoplancton del GN y en ocasiones el más abundante (Cadaillón, 2012). Asimismo, Almandoz et al., (2007), señalan que *P. pungens* fue la especie más comúnmente hallada en las muestras de fitoplancton del Mar Argentino. Estos mismos autores, documentaron que esta especie fue identificada en todas las muestras pertenecientes al verano, mientras que durante el otoño su distribución estuvo restringida al sector norte del Mar Argentino.

#### 2.5.2.2 Golfo San José

Pocos trabajos han estudiado sistemáticamente y a lo largo del tiempo la comunidad fitoplanctónica del GSJ. Inclusive, hasta la fecha no se ha realizado un estudio completo sobre la composición y abundancia del fitoplancton a lo largo del ciclo anual en este golfo. Además, la mayoría de los estudios realizados en este golfo tienen como objetivo principal conocer la dinámica y/o advertir sobre la presencia de especies tóxicas, fundamentalmente debido a las actividades económicas que se desarrollan en el GSJ tales como pesca en bancos naturales de mariscos.

Durante el presente estudio, se encontró que las diatomeas dominaron la comunidad fitoplanctónica del GSJ en todas las estaciones climáticas muestreadas, alcanzando, incluso, una representación del 99,38% sobre el total de los organismos fitoplanctónicos hallados durante la primavera. El representante numéricamente más importante de este grupo a lo largo del ciclo anual fue *Chaetoceros* spp., quien mostró densidades desde 146,66 cél l<sup>-1</sup> hasta 2,4 x 10<sup>5</sup> cél l<sup>-1</sup>. Asimismo, este género fue detectado en todas las muestras cualitativas analizadas. Esta dominancia de especies del género *Chaetoceros* en el GSJ también fue registrada por Andrinolo et al. (1999a), quienes documentaron que este género fue un componente recurrente y abundante entre los meses de noviembre a mayo en este golfo. Otras especies que estuvieron presentes a

lo largo de todas las estaciones climáticas analizadas fueron *Thalassiosira eccentrica* y *Thalassionema nitzschioides*, aunque en bajas densidades celulares.

Los dinoflagelados fueron el segundo grupo más abundante a lo largo del año en este golfo; aunque siempre fueron registrados en densidades celulares bajas, oscilando entre  $13,33 \text{ cél l}^{-1}$  y  $1,9 \times 10^3 \text{ cél l}^{-1}$ . Coincidiendo con nuestros hallazgos, en un estudio realizado durante el invierno y la primavera en este golfo, Cadaillón (2012) describe a la comunidad fitoplanctónica del GSJ compuesta principalmente por diatomeas y por dinoflagelados donde, según este autor, las diatomeas siempre fueron el componente más abundante. En el presente estudio se encontró que los dinoflagelados estuvieron mejor representados durante el otoño, donde se registraron las mayores densidades celulares como así también la mayor diversidad específica. Durante el período analizado en esta tesis, el dinoflagelado *P. micans* fue el único componente de este grupo hallado en todos los meses muestreados. Sin embargo, esta alta frecuencia de ocurrencia sólo fue detectada en las muestras cualitativas, mientras que a través del análisis cuantitativo fue identificado en el mes de abril (otoño) y agosto (invierno) y a lo largo de todos los meses correspondientes a la primavera. Su importancia en este golfo también ha sido documentada por diferentes autores (Andrinolo et al., 1999a; Cadaillón, 2012).

En tanto que el dinoflagelado *Dinophysis acuminata*, potencialmente productor de toxina diarreica, descrito por varios autores como un componente recurrente del fitoplancton del GSJ (Andrinolo et al., 1999a; Villalobos et al., 2015), sólo fue identificado en una muestra cualitativa durante el verano de 2015 (enero de 2015) y no fue hallado en las muestras cuantitativas durante el período muestreado en el presente trabajo. Estos resultados concuerdan con lo documentado por Cadaillón (2012), quien señala que *D. acuminata* fue registrado ocasionalmente en este golfo. En cuanto a *D. tripos*, mediante el análisis cualitativo se observó que este dinoflagelado estuvo presente en este golfo durante todos los meses correspondientes al verano y el otoño y sólo fue detectado en un mes del invierno (julio); sin embargo, en las muestras cuantitativas esta especie sólo fue registrada en el mes de enero y abril en bajas densidades celulares (del orden de  $10^1 \text{ cél l}^{-1}$ ). Estos hallazgos difieren de lo registrado por Villalobos et al. (2015), quienes identificaron a *D. tripos* recurrentemente a lo largo del ciclo anual y en altas densidades.

Teniendo en cuenta ambas metodologías de muestreo empleadas en el presente estudio para analizar la comunidad fitoplanctónica de este golfo, se encontró que *A.*

*tamarensis* estuvo presente durante el mes de mayo (otoño) como así también durante todo el invierno y la primavera. Esto coincide con lo reportado por otros autores para esta especie (Andrinolo et al., 1999a; Santinelli et al., 2002; Cadaillón, 2012), quienes han indicado que este dinoflagelado es un integrante frecuente del GSJ durante dichas estaciones climáticas. En tanto que Santinelli et al., (2002) reportó que las mayores abundancias de este dinoflagelado fueron halladas durante el verano y la primavera, mientras que en el presente estudio durante el verano de 2015 y principios del verano de 2016 (enero de 2016), *A. tamarensis* no fue identificado. Asimismo, cabe mencionar que, los valores de abundancia registrados en esta tesis para *A. tamarensis* fueron inferiores a los documentados por los autores anteriormente mencionados.

En cuanto a las especies potencialmente productoras de AD, mediante ambas metodologías de muestreo se observó que el género *Pseudo-nitzschia* estuvo presente a lo largo de todo el período estudiado, representado por las especies *P. fraudulenta*, *P. australis*, *P. pungens* y *P. calliantha*; asimismo durante el mes de noviembre (primavera) en este golfo, se registró una especie de este género que no pudo ser identificada. Todas las especies anteriormente mencionadas ya han sido reportadas por diferentes autores para este golfo (Sastre et al., 2001; Santinelli et al., 2002; Cadaillón, 2012). Asimismo éstas han estado asociadas a la producción de toxinas en varios sectores del Mar Argentino y de otros océanos del mundo (Negri et al., 2004; Sastre et al., 2007; Cadaillón, 2012; Lelong et al., 2012). Las densidades celulares registradas durante el período analizado en este golfo fueron bajas, con rangos de abundancias que oscilando entre 146,66 cél l<sup>-1</sup> a 4,4 x 10<sup>3</sup> cél l<sup>-1</sup> e incluso estas especies no fueron detectadas en la mayoría de los casos en las muestras cuantitativas. La especie numéricamente más importante durante el período estudiado en esta tesis fue *P. calliantha*.

En el presente estudio se encontró que *P. fraudulenta* estuvo presente durante el verano (enero de 2015 y enero de 2016) en las muestras cualitativas, en tanto que sólo fue detectada, en bajas densidades, durante la primavera (en los meses de septiembre y octubre) a través de los análisis cuantitativos. Estos hallazgos difieren de lo documentado por Cadaillón (2012), quien indicó que esta especie estuvo presente en todas las muestras analizadas pertenecientes al invierno y la primavera e inclusive en esta última estación, este autor, reportó un *bloom* de *P. fraudulenta* en el área.

En cuanto a *P. australis*, esta especie fue identificada en las muestras cualitativas colectadas durante el verano de 2015 y de 2016 (marzo de 2015 y enero de 2016,

respectivamente) como así también a lo largo de todo el invierno y la primavera. Lo cual concuerda con lo reportado por Cadaillón (2012). Sin embargo, en comparación con el presente estudio, este autor detectó una menor frecuencia de ocurrencia de esta especie en las muestras cualitativas correspondientes al invierno y la primavera. No obstante, coincidiendo con nuestros resultados, varios autores han documentado la observación de esta especie durante el verano y el invierno en aguas del Mar Argentino (Ferrario et al., 1999; Negri et al., 2004; Almandoz et al., 2007). Incluso Almandoz et al. (2007), registraron un máximo en las densidades celulares de esta especie durante el verano. En tanto que, en los análisis cuantitativos llevados a cabo durante esta tesis *P. australis* fue registrada sólo durante la primavera (noviembre) en bajas concentraciones.

Si bien se ha reportado que *P. pungens* sólo fue un representante de este género de diatomeas abundante durante la primavera (octubre) en este golfo (Sastre et al., 2001), durante el período analizado en este estudio esta especie fue registrada durante todo el verano, el otoño, el invierno y parte de la primavera (septiembre). Esta mayor ocurrencia de *P. pungens* a lo largo del año en la comunidad fitoplanctónica del GSJ también fue documentada por Cadaillón (2012), quien identificó a esta especie durante todo el invierno y la primavera en este golfo.

En tanto que, *P. calliantha* fue la especie más abundante de este género, formando parte de la comunidad fitoplanctónica durante el verano, parte del otoño, donde se registraron sus máximas densidades, y la primavera. En su estudio Cadaillón (2012) también señaló a esta especie como un componente recurrente del fitoplancton de este golfo y en ocasiones, como por ejemplo durante la primavera, el más abundante.

A partir de este estudio, en lo referente a especies productoras de toxinas PSP y potencialmente de AD, se encontró que éstas tienen una mayor ocurrencia durante la primavera en ambos golfos, siendo también frecuentes durante el invierno. Si bien, en la mayoría de los casos estas microalgas fueron halladas en bajas densidades, se ha reportado que en estos golfos las floraciones algales generalmente se producen en bajas concentraciones celulares, llegando a alcanzar, aun así, elevados niveles de toxicidad (Santinelli et al., 2002).

La floración registrada durante la primavera en el GN de *P. australis*, especie señalada por varios autores, ya mencionados, como un potente productor de AD, implica no sólo un problema para la salud pública sino también para varias especies de

aves y mamíferos marinos que se alimentan en la zona, debido a la transferencia de esta neurotoxina a través de la trama trófica. Más aún, considerando que *P. australis* ya ha sido asociada a varios eventos de mortalidad de aves y mamíferos marinos, entre ellos, por ejemplo, pelícanos (*Pelecanus occidentalis*) en las costas de México (Sierra-Beltrán et al., 1997), una ballena minke (*Balaenoptera acutorostrata*) (Fire et al., 2010), 400 lobos marinos de California (*Zalophus californianus*) (Scholin et al., 2000) ambos sucesos en las costas de California. Por lo tanto, teniendo en cuenta que las especies tóxicas presentan una mayor frecuencia de ocurrencia e incluso sus máximas densidades celulares en el período cuando la ballena franca austral se encuentra en los golfos Nuevo y San José, los resultados obtenidos en esta tesis son una evidencia del potencial riesgo natural al que están expuestos los individuos de *E. australis* durante su estadía en la zona de cría y reproducción de Península Valdés.

### **2.5.3 Composición y abundancia del mesozooplankton**

Tanto en el GN como en el GSJ son escasos los estudios sobre el análisis de la comunidad zooplanctónica. Incluyendo, hasta la fecha, la ausencia de trabajos que consideren la composición y abundancia del mesozooplankton en el GSJ a lo largo del ciclo anual. Consecuentemente, esta tesis es el primer reporte sobre la dinámica estacional del mesozooplankton en el GSJ y en una de las zonas de mayor tránsito de ballenas en el GN, a lo largo de un año. Sin embargo, cabe mencionar que, el análisis del mesozooplankton en este trabajo se realizó a partir de las muestras obtenidas de red de 335  $\mu\text{m}$ , lo cual podría conducir a una subestimación de los organismos más pequeños de la fracción zooplanctónica bajo estudio.

#### **2.5.3.1 Golfo Nuevo**

El presente estudio permitió conocer que el mesozooplankton en el GN, durante el ciclo anual estudiado, presentó dos picos de abundancia, el primero tuvo lugar durante el verano (mesozooplankton total = 1.665,99 ind.  $\text{m}^{-3}$ ) y el otro durante la primavera (mesozooplankton total primavera de 2015 = 4.646,31 ind.  $\text{m}^{-3}$ ). Esta mayor abundancia, durante dichas estaciones climáticas, coincide con lo reportado para la región patagónica sur del Mar Argentino, donde se ha señalado que la biomasa zooplanctónica aumenta en la primavera hasta el verano extendiéndose estos elevados valores de abundancia hasta principios de otoño (Sabatini y Colombo, 2001), hecho que

también fue observado en esta tesis. Durante el otoño en el GN se registró un pico de abundancia del mesozooplankton, aunque de menor intensidad que los mencionados anteriormente (abundancia total otoño = 813,23 ind. m<sup>-3</sup>).

La comunidad mesozooplancónica del GN, estuvo dominada principalmente por cladóceros y copépodos, escenario que ha sido observado en muchos ecosistemas marinos (Sabatini y Martos, 2002; Viñas et al., 2002; Marrani et al., 2004; Hoffmeyer et al., 2010; entre otros). Dentro de los cladóceros, durante el período analizado en esta tesis, *E. nordmanni* fue el representante numéricamente más importante. Esta dominancia de *E. nordmanni* sobre otras especies de cladóceros también fue documentada en varios sectores del Mar Argentino (Viñas et al., 2007). Asimismo, en este estudio, esta especie fue registrada en todos los meses del año, excepto en diciembre de 2014 (primavera de 2014). Esta alta frecuencia de ocurrencia de *E. nordmanni* a lo largo de todas las estaciones climáticas muestreadas, se contraponen a lo registrado por diferentes autores para el Mar Argentino (Ramírez y Pérez Seijas, 1985; Viñas et al., 2007), quienes reportaron la ausencia de cladóceros durante el invierno, señalando que durante dicha estación climática los individuos de este grupo migran hacia aguas más profundas. Asimismo, Viñas et al. (2007) documentan la ausencia de cladóceros también durante el otoño en aguas del Mar Argentino, lo cual difiere de nuestros resultados. Donde durante el otoño en el GN se registró el segundo valor más elevado en la abundancia de este grupo, siendo el más importante obtenido durante la primavera de 2015 coincidiendo, este último registro, con lo reportado por los autores anteriormente mencionados.

Por otro lado, la dominancia de los copépodos dentro de la comunidad mesozooplancónica, también fue registrada por varios autores en el Mar Argentino (Sabatini y Álvarez Colombo, 2001; Sabatini et al., 2001; Sabatini et al., 2012; entre otros) como así también en este golfo (Hoffmeyer et al., 2010; Menéndez et al., 2011). Coincidentemente con lo registrado por estos últimos autores en estudios llevados a cabo durante la primavera (Hoffmeyer et al., 2010) y el invierno (Menéndez et al., 2011), en el presente estudio se encontró que dentro de los copépodos el orden Calanoida fue el más importante.

Menéndez et al. (2011), estudiaron la comunidad mesozooplancónica en diferentes sectores del GN durante el mes de julio, concordando con nuestros resultados, estos autores, documentaron que *C. vanus* fue la especie más abundante

durante el mes estudiado. Cabe señalar que la abundancia de *C. vanus* registrada en el presente estudio durante el mes de julio fue mayor que la reportada por Menéndez et al. (2011) (este estudio = 112,44 ind. m<sup>-3</sup>; Menéndez et al. (2011) =  $\approx$  10,01 ind. m<sup>-3</sup>). Asimismo, esta especie ha sido reportada como un representante frecuente de la comunidad mesozooplántica del GN durante el invierno (Esteves et al., 1996), lo cual no sólo fue comprobado en el presente estudio sino que también en este trabajo se encontró que *C. vanus* fue el copépodo numéricamente más importante durante dicha estación climática. Lo cual difiere de lo registrado por Esteves et al. (1996), quienes reportaron a *P. parvus* como la especie más abundante durante el invierno en el GN. Incluso, en esta tesis, se observó que *C. vanus* fue numéricamente más importante que *P. parvus* durante todo el ciclo anual estudiado, excepto a fines de ambas primaveras analizadas (diciembre de 2014 y 2015) donde esta última especie fue más abundante.

Además, al igual que lo registrado en esta tesis, Menéndez et al. (2011) encontraron que los copéodos *C. australis* y *C. carinatus* fueron componentes importantes dentro de la comunidad mesozooplántica de este golfo. Observación que también fue reportada por Hoffmeyer et al. (2010) durante la primavera en el GN. No obstante, los autores anteriormente mencionados, reportaron que *C. australis* fue más abundante que *C. carinatus*. Sin embargo, esta dominancia de *C. australis* sobre *C. carinatus* no fue observada en esta tesis ni durante el mes de julio, difiriendo de Menéndez et al. (2011) ni tampoco durante la primavera como señalan Hoffmeyer et al. (2010). Aunque si fue registrada en la mayoría de los casos del período muestreado. Una posible explicación a esta mayor abundancia de *C. australis* durante gran parte del año, probablemente se relacione con la importante presencia de esta especie a lo largo de las costas del sur de la Patagonia (Sabatini et al., 2000). En tanto que al norte de los 46° S, su distribución se solapa parcialmente con *C. carinatus*. Además, se ha señalado que *C. carinatus* es muy abundante en primavera y verano en aguas al sur de Península Valdés, entre 42°-45° S (Ramírez y Sabatini, 2000; Sabatini et al., 2000). Esto a su vez, coincide con los resultados obtenidos en el presente trabajo, donde las mayores abundancias de esta especie fueron registradas a principios de la primavera de 2015 y mediados del verano, donde incluso alcanzó mayores abundancias que *C. australis*. Asimismo, cabe mencionar que *C. carinatus* también fue numéricamente más importante que *C. australis* durante todo el invierno en este golfo.

En el presente estudio, se encontró que la comunidad mesozooplanctónica del GN, a finales de la primavera de 2014 estuvo dominada casi exclusivamente por copépodos (abundancia relativa = 95,67%), siendo *P. parvus* y *C. australis* los representantes más abundantes. Sin embargo, esta situación no fue observada al año siguiente. A fines de la primavera de 2015 (diciembre de 2015) en este golfo dominaron los cladóceros (abundancia relativa = 87,84%), con *E. nordmanni* como el componente dominante.

Los decápodos, fueron otro representante importante de la comunidad mesozooplanctónica del GN, los cuales, coincidiendo con lo reportado por Dellatorre et al. (2014) para este golfo, fueron hallados en todas las estaciones climáticas muestreadas. Estos mismos autores documentaron que este grupo presenta dos picos de abundancia, uno en la primavera y otro durante el verano, hecho que también fue comprobado durante esta tesis, donde incluso en esta última estación climática dominaron la comunidad mesozooplanctónica junto con los cladóceros.

Los eufáusidos, principalmente estadios larvales de *E. lucens*, fueron un componente frecuente del mesozooplancton del GN, registrados también por Hoffmeyer et al. (2010) y Menéndez et al. (2011). Este grupo, durante el ciclo anual estudiado, mostraron dos picos de abundancia uno de mayor intensidad durante el verano y otro más bajo durante la primavera. En tanto que, coincidentemente con estudios previos para este golfo (Esteves et al., 1996; Hoffmeyer et al., 2010; Menéndez et al., 2011), las apendicularias, los briozoos y el ictioplancton fueron frecuentemente registrados a lo largo del período estudiado en esta tesis aunque en bajas abundancias.

### **2.5.3.2 Golfo San José**

A partir de este estudio se observó que el mesozooplancton en este golfo mostró dos picos de abundancia, uno durante el verano (mesozooplancton total = 977,30 ind. m<sup>-3</sup>) y el otro durante el otoño (mesozooplancton total = 596,55 ind. m<sup>-3</sup>).

La comunidad mesozooplanctónica del GSJ a lo largo del ciclo anual estudiado estuvo dominada por los copépodos, aunque los cladóceros también fueron un componente importante durante todas las estaciones climáticas muestreadas. Este hallazgo, coincide con el único antecedente publicado sobre el mesozooplancton de este golfo reportado por Hernández Moresino et al. (2013), quienes estudiaron la comunidad mesozooplanctónica durante la primavera y el verano en el GSJ mediante un programa

semiautomático de recuento y clasificación de taxa a través de imágenes. Si bien estos autores declaran que la utilización de esta metodología permite el análisis de un número mayor de muestras, empleando para ello menos tiempo y esfuerzo que el requerido para el estudio de la comunidad bajo microscopio, la desventaja radica en el hecho de que este método brinda menor resolución taxonómica (Hernández Moresino et al., 2013). Coincidentemente con nuestros resultados, estos mismos autores señalan la dominancia de pequeños y grandes copépodos del orden Calanoida a lo largo de dichas estaciones climáticas. A través del análisis taxonómico más profundo, realizado en esta tesis de la comunidad mesozooplancónica, se pudo conocer que los grandes copépodos calanoideos que dominaron el mesozooplankton en el GSJ durante el ciclo anual fueron *C. carinatus* y *C. australis* mientras que dentro de los pequeños, los más abundantes fueron *P. parvus* y *C. vanus*. Asimismo, cabe mencionar la dominancia sobre los copépodos antes mencionados de *A. tonsa* durante el mes de enero de 2015 y 2016 en este golfo.

Durante el período analizado se encontró que *P. parvus* y *C. vanus* fueron los componentes más abundantes dentro del orden Calanoida (*P. parvus* = 24,11% y *C. vanus* = 24,31% del total de este orden), seguidos por *C. carinatus* quien, a su vez, fue numéricamente más importante que *C. australis* (15,37% y 7,72% del total de ese orden, respectivamente). Esta dominancia de *C. carinatus*, puede atribuirse a la elevada productividad primaria que caracteriza a las aguas del GSJ. Se ha reportado que los altos niveles de nutrientes y productividad primaria que posee este golfo, como resultado de la entrada de masas de agua ricas en nutrientes de las áreas adyacentes, son similares a los reportados en zonas de surgencia o “*upwelling*” (Charpy et al., 1980; Esteves et al., 1986). En tanto que *C. carinatus* es una especie dominante en muchas zonas costeras caracterizadas por eventos de surgencia (Verheye, 1991; Lopes et al., 1999; Ceballos et al., 2004). Asimismo, en aguas del Mar Argentino también se ha sugerido que esta especie está relacionada con eventos de surgencia locales (Ramírez y Sabatini, 2000).

En cuanto a los cladóceros, durante el ciclo anual estudiado se encontró que *E. nordmanni* fue la especie numéricamente más importante a lo largo de todo el año excepto durante los meses de marzo (verano de 2015) y enero de 2016 (verano de 2016) cuando *Podon* spp. presentó una mayor abundancia. Con respecto a este grupo Hernández Moresino et al. (2013), documentaron un aparente reemplazo de las especies

indicando que durante la primavera domina *E. nordmanni* y luego durante el verano esta especie prácticamente desaparece y es reemplazada por *Podon* spp. Si bien, esta sucesión no fue registrada en el presente estudio y *E. nordmanni* fue identificado a lo largo de todo el año, se observó que *Podon* spp. fue más abundante durante el verano en el GSJ en comparación con el resto de las estaciones climáticas muestreadas.

Las apendicularias, otro importante representante de la comunidad mesozooplancónica estudiada, estuvieron presentes a lo largo de todo el ciclo anual e incluso dominaron el mesozooplankton durante la primavera junto con los copépodos. Este hallazgo coincide con lo reportado por Sabatini y Martos (2002), quienes documentaron que este grupo mostró elevadas abundancias durante la primavera en la plataforma continental frente a Península Valdés pero se contraponen a lo reportado por Hernández Moresino et al. (2013) para este golfo. Estos últimos autores señalaron que las apendicularias mostraron bajos valores de abundancia durante la primavera, sin embargo documentaron que los quetognatos fueron más abundantes que las apendicularias durante el verano, lo cual también fue hallado en este estudio durante el verano de 2015.

Si bien los decápodos estuvieron presentes a lo largo de todas las estaciones climáticas estudiadas, coincidiendo con lo reportado por Hernández Moresino et al. (2013), su mayor abundancia fue registrada durante el verano y la primavera. Sin embargo, los autores mencionados anteriormente registraron que este grupo fue numéricamente más abundante que las apendicularias durante las estaciones climáticas mencionadas, lo cual coincide con nuestros resultados para el verano pero difieren durante la primavera donde, como se mencionó en el párrafo anterior, las apendicularias fueron el segundo representante más abundante de la comunidad analizada.

El ictioplancton (huevos y larvas de peces), estuvieron presentes a lo largo de todo el ciclo anual analizado. No obstante, concordando con lo reportado por Hernández Moresino et al (2013), los máximos valores de abundancia de este grupo fueron hallados durante el verano, donde en esta estación climática, los huevos de peces, entre ellos de *E. anchoita*, dominó el grupo.

## **2.5.4 Relación entre la abundancia y composición del plancton y las variables ambientales en los golfos Nuevo y San José**

### **2.5.4.1 Fitoplancton**

El análisis de componentes principales explicó casi toda la variabilidad observada (95,75%) en la composición y abundancia del fitoplancton a lo largo del ciclo anual en ambos golfos. A partir de este análisis se puede interpretar que existe un gradiente estacional que separa las estaciones cálidas (primavera y verano) de las frías (otoño e invierno). Sin embargo, debido a la falta de significancia estadística del análisis de redundancia no se pudieron determinar los factores a los cuales responde la variación estacional registrada en esta tesis. Una posible explicación a esta falta de significancia, podría estar relacionada con el escaso número de variables ambientales consideradas con las cuales se pretendía interpretar la variación estacional de la comunidad bajo estudio. Corroborando lo anterior, Santinelli (2008) consideró un número importante de variables (fosfato, salinidad, nitrato, silicato, amonio, oxígeno disuelto, entre otras) para explicar la variación temporal de la comunidad fitoplanctónica en el GN.

Las estaciones cálidas se caracterizaron por mayores abundancias relativas de diatomeas. Las elevadas densidades de diatomeas registradas durante la primavera en estos golfos ya fue documentada por diferentes autores y discutida en la Sección 2.5.2. En tanto que las estaciones frías del año en ambos golfos se asociaron con las mayores abundancias de dinoflagelados y de la clase Dictyochophyceae. Cabe mencionar, una vez más, que en los análisis de componentes principales y de redundancia para lograr una mayor representación de las estaciones climáticas muestreadas se consideró el ciclo anual a partir del verano de 2015 hasta la primavera de 2015 en ambos golfos. Por lo tanto, al no incluir en los mismos el mes de diciembre de 2014 (referenciada en esta tesis como primavera de 2014) en el GN, donde dominaron los dinoflagelados, se obtiene que este grupo presentó mayores densidades durante las estaciones frías del año y el verano en el GN (ver Figuras 2.5 y 2.6) como muestra el ordenamiento resultante de este análisis. Si bien, coincidiendo con este resultado, un estudio previo ha documentado altas abundancias de ciertas especies de dinoflagelados durante el otoño y el invierno en estos golfos (Villalobos et al., 2015), la mayoría de los estudios, (Gayoso, 2001; Santinelli, 2008; Cadaillón, 2012; entre otros) señalan que los picos en la

abundancia de los dinoflagelados tienen lugar durante el verano y la primavera tanto en el GN como en el GSJ.

Asimismo, este análisis, mostró que las clases Euglenoidea y Cryptophyceae se asociaron a la primavera en ambos golfos y el otoño en el GN. Concordando con estos resultados, diferentes autores han detectado una mayor abundancia de estas taxa durante dichas estaciones climáticas (Gayoso y Fulco, 2006; Cadaillón, 2012). En tanto que los nanoflagelados se asociaron principalmente al verano e invierno en ambos golfos y el otoño en el GSJ, presentando una mayor abundancia relativa durante estas estaciones. Coincidentemente con estos resultados diferentes autores han documentado mayores densidades de nanoflagelados durante el verano y el invierno en el GN (Esteves et al., 1997; Santinelli, 2008). Sin embargo, hasta la fecha, no se conoce la dinámica estacional de estos integrantes de la comunidad fitoplanctónica en el GSJ.

#### **2.5.4.2 Mesozooplancton**

Debido a que los ordenamientos resultantes del ACP, en el caso de estos organismos planctónicos fueron muy similares a los del análisis de redundancia, en esta sección se discutirá en base a los resultados de este último análisis. El análisis de redundancia, para los grupos de la comunidad mesozooplanctónica fue significativo y explicó gran parte de la variabilidad (84,58%) en la composición y abundancia del mesozooplancton observada en ambos golfos. Esto demuestra que las variables ambientales consideradas en el análisis (temperatura, salinidad, clorofila-*a* y feopigmentos) constituyen factores importantes para interpretar la dinámica del mesozooplancton a lo largo del ciclo anual. Sin embargo, Sabatini et al. (2012) para el mesozooplancton del frente de Valdés, señala que además de las variables ambientales incluidas en este análisis otras, tales como estratificación térmica y salina y nutrientes son también adecuadas para explicar la estructura de la comunidad mesozooplanctónica.

Como patrón general, en el presente trabajo, se observó que los copépodos y las apendicularias se asociaron a los feopigmentos y la salinidad. La agrupación entre estos dos componentes del mesozooplancton también fue registrada por Spinelli et al. (2011) en la región frontal patagónica, quienes sugieren que existe una interacción positiva entre los copépodos y las apendicularias, lo cual podría explicar el ordenamiento resultante en este estudio. Concordando con los resultados obtenidos en esta tesis, diferentes autores han documentado la importancia de la salinidad en la distribución

espacial y temporal de los copépodos (Jeffries, 1967; Sabatini et al., 2012; Marrani et al., 2004). Asimismo, la asociación entre altos valores de salinidad y el incremento en la abundancia de las apendicularias también fue registrada en varios sectores del Mar Argentino (Viñas et al., 2002). En tanto que, teniendo en cuenta que los feopigmentos son un producto del pastoreo del zooplancton sobre el fitoplancton (Lorenzen, 1967; Helling y Baars, 1985; Head y Harris, 1992) era de esperar que esta asociación ocurra, debido a que los copépodos fueron un componente dominante a lo largo del ciclo anual en ambos golfos y, a su vez, las especies numéricamente más importantes registradas en el presente estudio (*C. vanus*, *P. parvus*, *C. australis* y *C. carinatus*) han sido definidas como preferentemente herbívoras (Santos y Ramírez, 1991; Viñas et al., 2002; Huggett, 2001; Antacli et al., 2014; entre otros). Sin embargo, un estudio reciente ha documentado que por la morfología de sus gnatobases mandibulares, las hembras de *C. carinatus* y los individuos de ambos sexos de *C. australis* deberían ser considerados omnívoros (D'Agostino, 2013). En tanto que, las apendicularias son eficientes filtradores bacterívoros o herbívoros (Fortier et al., 1994; Legendre y Rivkin, 2002).

Por otro lado, según este análisis, las mayores abundancias de cladóceros y decápodos se asociaron positivamente con la temperatura. Viñas et al. (2007), coincidentemente con estos resultados han documentado que los cladóceros, entre ellos *E. nordmanni*, el principal representante de este grupo en ambos golfos, presentan afinidad por aguas templadas-frías. Esto también quedó demostrado a partir de nuestros resultados. Donde, si bien los cladóceros estuvieron presentes a lo largo de todo el año, sus máximas abundancias relativas fueron registradas en otoño en ambos golfos y durante la primavera y el verano en el GN. En tanto que, como se discutió en la sección anterior (Sección 2.5.3) en ambos golfos, los decápodos fueron un componente dominante en las comunidades mesozooplancónicas estudiadas principalmente durante el verano, cuando se registraron las temperaturas más elevadas.

## **2.5.5 Alimentación de *E. australis* en el Golfo Nuevo: Comportamiento, composición y abundancia del mesozooplancton**

### **2.5.5.1 Comportamiento de alimentación**

El comportamiento de alimentación de *E. australis* registrado en el mes de septiembre (04/09/2015) en el GN, coincide con el reportado por Sironi (2004) en el

GSJ y por Hoffmeyer et al. (2010) en el GN para esta especie. Asimismo, un comportamiento similar ha sido documentado para estas ballenas cuando se alimentan en superficie de krill antártico (*Euphausia superba*) en la Península Antártica (Hamner et al., 1988). Además, este comportamiento de filtración en superficie también ha sido documentado para la ballena franca del norte (*E. glacialis*) cuando se alimenta de parches discretos de zooplancton compuestos principalmente por *C. finmarchicus* en la Bahía de Cape Cod (Watkins y Schevill, 1976; Mayo y Marx, 1990).

Eventos de alimentación de *E. australis* en Península Valdés fueron registrados frecuentemente en ambos golfos durante la temporada de ballenas del año 2014 hasta la del año 2016, muchos de los cuales quedaron documentado en fotos y vídeos. Coincidentemente con lo documentado por Hoffmeyer et al. (2010) la mayoría de estos sucesos tuvieron lugar durante la primavera, cuando se produce el aumento de la biomasa zooplanctónica luego del *bloom* primaveral del fitoplancton. Sin embargo el evento registrado y descrito en esta tesis al igual que el observado durante el 12/09/2016, tuvieron lugar hacia fines del invierno concordando con lo reportado por Sironi (2004) en el GSJ. Lo cual indicaría que la alimentación de las ballenas en estos golfos sucede cuando en el área ocurren parches densos de zooplancton ricos en energía, compuestos principalmente por presas similares a las que ellas encuentran en sus áreas de alimentación.

#### **2.5.5.2 Composición y abundancia del mesozooplancton**

Coincidentemente con estudios previos (Sironi, 2004; Menéndez et al., 2007; Hoffmeyer et al., 2010; D'Agostino et al., 2016), el presente estudio demuestra que los individuos de *E. australis* se alimentan principalmente de copépodos durante su estadía en Península Valdés. No obstante, cabe mencionar que durante el evento de alimentación registrado en esta tesis en el mes de septiembre de 2015 el cladócero *E. nordmanni* alcanzó una abundancia destacable. Sin embargo, hasta la fecha, no se conocen registros de individuos de ballena franca alimentándose principalmente de este grupo como sucede con otros componentes del zooplancton tales como copépodos, eufáusidos, huevos y larvas de peces, entre otros. Por lo cual podría interpretarse que este grupo formaba parte del denso parche de mesozooplancton del cual las ballenas se alimentaban y debido a que estos mamíferos marinos no son capaces de seleccionar sus

presas (Mayo et al., 2001), los cladóceros habrían sido filtrados junto con el alimento disponible para los individuos de *E. australis* en el área.

Durante el evento de alimentación documentado se encontró que la especie dominante, dentro de los copépodos, fue *C. carinatus*. Incluso, en el presente estudio, se observó que dentro de los grandes copépodos calanoideos identificados, esta especie fue la más abundante durante el invierno y principios de primavera en el GN, coincidiendo estas estaciones climáticas con la temporada de ballenas en la zona. Se ha documentado que *C. carinatus* forma parte de la dieta de la ballena franca austral en los golfos Nuevo y San José por el hallazgo de gnatobases mandibulares semejantes a las de estos copépodos en muestras fecales de individuos de *E. australis* (Menéndez et al., 2007; D'Agostino et al., 2016) como así también por la ocurrencia de *C. carinatus* en los parches de zooplancton de los cuales las ballenas se alimentan en el área (Hoffmeyer et al., 2010). Sin embargo, este estudio es el primero en documentar que los individuos de *E. australis* también se alimentan principalmente de *C. carinatus*. Este hallazgo, difiere de lo reportado por diferentes autores (Hoffmeyer et al., 2010; D'Agostino et al., 2016), quienes observaron que *C. australis* fue la principal presa para estas ballenas en los golfos Nuevo y San José. Sin embargo, cabe mencionar, una vez más, que las ballenas francas no seleccionan sus presas según la especie. Un estudio llevado a cabo por Mayo et al., (2001) con la ballena franca del norte demostró que si existiera selección por parte de estos cetáceos la misma sería mecánica de acuerdo al tamaño de las presas, las cuales serían mayores de 335  $\mu\text{m}$ . Estos mismos autores demostraron que las barbas de estas ballenas están adaptadas para filtrar organismos zooplanctónicos grandes, ricos en energía, pero son menos efectivas para capturar presas pequeñas. Consecuentemente, durante el desarrollo de este trabajo se utilizó una red de zooplancton de 335  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro con el propósito de reducir la subestimación de las potenciales presas de *E. australis* en estos golfos.

Los copépodos Calanoida acumulan principalmente dos tipos de lípidos en sacos de almacenamiento: triacilgliceroles y ésteres de cera (Michaud y Taggart, 2007), que usan de reserva energética para sobrellevar el período desfavorable durante la migración ontogenética a mayores profundidades. Se ha indicado que *C. carinatus* posee las mayores reservas de lípidos en comparación con cualquier otro copépodo calanoideo (Borchers y Hutchings, 1986; Armstrong et al., 1991; Ceballos et al., 2004), por lo cual serían una importante fuente de energía para la ballena franca austral cuando este

copépodo domina los parches zooplanctónicos en la zona de Península Valdés. Asimismo, coincidiendo con Hoffmeyer et al. (2010), otros copépodos numéricamente importantes durante el evento de alimentación registrado fueron, en orden decreciente de abundancia, *C. vanus*, *C. australis* y *P. parvus*.

Otro taxón que mostró un pico en su abundancia durante el evento de alimentación de *E. australis* en el GN fueron las larvas zoeas de *Munida gregaria*. Durante este hecho, esta especie fue la tercera numéricamente más importante luego de *C. carinatus* y *C. vanus*. Concordando con nuestros resultados, diferentes autores han registrado a individuos de ballena franca austral alimentándose sobre densos parches de *M. gregaria* en este golfo (Matthews, 1932; Bastida y Rodríguez, 2009; Werner et al., 2011).

Coincidentemente con lo reportado por Hoffmeyer et al. (2010), en el presente estudio se encontró que las larvas caliotopis y furciliias de *E. lucens* fueron otro componente numéricamente importante del mesozooplankton cuando las ballenas se alimentaron en el GN. Asimismo, estos estadios de desarrollo de *E. lucens* dominaron la muestra de zooplankton obtenida durante el evento de alimentación registrado frente a la ciudad de Puerto Madryn el 12/09/2016. No obstante durante el 04/09/2015, a diferencia de lo documentado por los autores anteriormente mencionados y lo observado durante el evento del 12/09/2016, también se registraron juveniles y adultos de esta especie de eufáusido.

Asimismo, los organismos del ictioplancton (huevos y larvas de peces) también resultaron ser una presa importante para las ballenas tanto en el evento registrado el 04/09/2015 como así también en aquel documentado el 18/10/2014, ambos en el GN. Esto concuerda con lo reportado por Pauly et al. (1998) y Leaper et al. (2006), quienes documentaron que estos componentes del mesozooplankton están dentro del espectro trófico de las ballenas francas, sin embargo durante el episodio registrado por Hoffmeyer et al. (2010) el ictioplancton fue registrado en muy baja abundancia.

Este trabajo comprueba lo documentado por diferentes autores en estos golfos (Esteves et al., 1996; Ramírez, 1996; Hoffmeyer et al., 2010; Menéndez et al., 2011), quienes han reportado que la abundancia y biomasa mesozooplanctónica en general son bajas durante la temporada de ballenas (invierno y primavera). Sin embargo, este estudio, al igual que el publicado por Hoffmeyer et al (2010), ponen de manifiesto la

eventual ocurrencia de parches densos de mesozooplankton compuestos por presas de alto contenido calórico los cuales son aprovechados por las ballenas durante su estadía en el área de cría y reproducción de Península Valdés. Se ha sugerido que la alimentación de las ballenas en el área de cría de Península Valdés ayudaría a mejorar la condición física de los individuos juveniles y adultos, antes de iniciar la migración hacia las zonas típicas de alimentación (Hoffmeyer et al., 2010).

Si bien, en esta tesis se describió y discutió sobre el comportamiento de alimentación por filtración en superficie, durante la realización de este trabajo se han observado ejemplares de *E. australis*, ya sea individuos solitarios o hembras adultas, las cuales fueron identificadas por estar acompañadas de sus crías, realizando buceos prolongados (máximo registrado 24 minutos, una hembra adulta en la temporada de 2015) y emerger a la superficie con el bonete cubierto de lodo, hecho que también fue registrado por Hoffmeyer et al. (2010). Este comportamiento indicaría que estos individuos se estarían alimentando por buceo, como se ha documentado con la ballena franca del norte (Durbin et al., 2002). Por lo tanto, este trabajo expone la necesidad de realizar un estudio más profundo del forrajeo de estas ballenas en el área de Península Valdés, el cual incluya metodologías que permitan determinar las potenciales presas de las cuales los individuos de *E. australis* se alimentan a través del buceo. Más aun, considerando, que la disminución en la disponibilidad de alimento para las hembras adultas en sus zonas típicas de alimentación es una de las hipótesis planteadas para explicar la mortandad de crías registrada en los últimos años en el área de Península Valdés (Rowntree et al., 2013). Estos mismos autores sugieren que El Niño-Oscilación del Sur produce un aumento de la temperatura superficial del agua en las islas Georgias del Sur, conocida zona de alimentación de esta especie de ballena, provocando una disminución en la abundancia del krill antártico, la principal presa de *E. australis* en esa zona. En consecuencia esta reducción en la disponibilidad de alimento, ocasionaría una mala nutrición de las hembras adultas lo cual, a su vez, conduciría a fallas reproductivas.

Capítulo 3: Biotoxinas marinas en la  
columna de agua, en el plancton y  
en muestras fecales de *Eubalaena*  
*australis*



## 3.1 Introducción

### 3.1.1 Toxinas de organismos fitoplanctónicos

Las biotoxinas marinas son metabolitos naturales sintetizados por algunas especies de microalgas fitoplanctónicas. Su mayor importancia se debe a que estas microalgas tóxicas son consumidas y sus toxinas bioacumuladas por otros organismos marinos, como peces, moluscos, krill, copépodos y otros invertebrados (Carreto et al., 1986; Shumway, 1990; Turriff et al., 1995; Bagøien et al., 1996; Teegarden y Cembella, 1996; Hwang y Tsai, 1999; Lincoln et al., 2001; Tester et al., 2001; Bargu et al., 2002; Lefebvre, et al., 2002; Costa et al., 2004; Lefebvre et al., 2012) que actúan como vectores de transmisión a lo largo de las tramas tróficas pelágicas. A consecuencia de ello, sus efectos adversos han sido registrados en predadores tope como aves marinas (Fritz et al., 1992; Work et al., 1993; Beltrán et al., 1997; Gayoso y Fulco, 2006), lobos marinos (Lefebvre et al., 1999; Scholin et al., 2000; Lefebvre et al., 2010; Buckmaster et al., 2014), ballenas (Geraci et al., 1989; Fire et al., 2010), delfines (De la Riva et al., 2009) y seres humanos (Carreto et al., 1981; Perl et al., 1990; Mons et al., 1998), los cuales han sufrido diferentes tipos de daños gastrointestinales, neurológicos e inclusive la muerte.

De todas las biotoxinas marinas conocidas, mencionadas en la Sección 1.1.1 (Capítulo 1), en este capítulo se analizarán las toxinas PSP y el AD, los cuales han sido reportados como causales de muerte de mamíferos marinos.

#### 3.1.1.1 Toxinas paralizantes de moluscos (PSP)

Actualmente, se conoce que diversas especies de dinoflagelados pertenecientes a los géneros *Alexandrium*, *Pyrodinium* y *Gymnodinium* (Hall et al., 1990) como así también algunas especies de cianobacterias (Falconer, 1996; Sivonen, 1996; Onodera et al., 1997; Lagos et al., 1997), son las responsables de la producción de estas toxinas. Las toxinas PSP son un grupo de 21 tetrahidropurinas, todas ellas análogas a la Saxitoxina (STX), la primera caracterizada químicamente (Schantz et al., 1957) y la más tóxica; dividido en cuatro subgrupos: i) carbamato (STX, neoSTX y las gonyautoxinas (GNTX1-4); ii) N-sulfo-carbamoil (GNTX5-6, C1-4); iii) decarbamoil (dc-) (dcSTX, dcneoSTX, dcGNTX1-4) y iv) compuestos del desoxidecarbamoil (do-) (doSTX, doneoSTX y doGNTX1) (Van Egmond et al., 2005).

La mayoría de los países han establecido un factor de tolerancia de toxinas PSP para el consumo o comercialización de productos de mar de 80 µg/100 g de carne fresca y de acuerdo con el método de bioensayo en ratones el nivel máximo permisible es de 400 UR (unidades ratón)/100 g tejido. Una UR es la cantidad de toxina inyectada que causa la muerte de un ratón de 20 g en 15 minutos, equivalente a 0,18 µg de STX. La determinación de toxinas PSP aún se realiza usualmente mediante el bioensayo en ratones, aunque también se utilizan otras técnicas analíticas como espectrofotometría y HPLC (cromatografía líquida de alta eficacia, del inglés High Performance Liquid Chromatography) con detección por fluorescencia (HPLC/FLD) con oxidación pre- y post-columna. Entre ellos, se ha reportado que el método de oxidación post-columna es más preciso para determinar la cantidad de cada toxina PSP individualmente, permitiendo conocer el perfil tóxico real de una muestra (Rodríguez et al., 2010).

La sintomatología ocasionada por la saxitoxina y sus derivados afecta principalmente al sistema nervioso, ya que bloquea los canales de sodio y produce parálisis. Los síntomas de intoxicación por PSP en humanos son característicos y dependiendo de la gravedad del caso, incluyen: malestar general, parestesia facial, debilidad muscular, distonía, ataxia, disnea, hipotensión, taquicardia, disfagia, desórdenes gastrointestinales, cefalea y paro cardio-respiratorio (Mons et al., 1998; Lagos y Andrinolo, 2000).

En experimentos con animales de laboratorio, se ha reportado que los efectos en el sistema respiratorio son la causa de la muerte. Esta ocurre por asfixia debido a una parálisis progresiva de los músculos respiratorios (Halstead y Schantz, 1984). Asimismo, estudios con gatos han demostrado que en dosis bajas (2,7 µg/kg), estas toxinas no ocasionaron cambios en los parámetros hemodinámicos. Mientras que en dosis altas (10 µg/kg), causaron una reducción drástica de la tensión arterial, seguida de insuficiencia del miocardio y por último un paro cardíaco, pocos minutos después de ser administradas (Andrinolo et al., 1999b). Tanto en ratas como en gatos la excreción de la STX sólo se observó en la orina, sugiriendo que la excreción de esta toxina se realiza principalmente por filtración glomerular (Andrinolo et al., 1999b; Aune, 2001). En la orina, en la sangre y en los tejidos de los gatos estudiados sólo se detectó STX y ninguna otra toxina PSP, indicando que no hubo biotransformación (Andrinolo et al., 1999b). Estos mismos autores, detectaron STX en el hígado y el bazo de estos animales;

como así también, en el cerebro y en el bulbo raquídeo, demostrando la capacidad que tiene la STX de atravesar la barrera hematoencefálica.

### 3.1.1.2 Toxinas amnésicas de moluscos (ASP)

La intoxicación amnésica por moluscos (ASP), es causada por el ácido domoico (AD) y sus isómeros geométricos. Químicamente el AD es un aminoácido tricarbóxico, termoestable e hidrosoluble (Lelong et al., 2012); que actúa como una potente neurotoxina uniéndose a proteínas receptoras específicas en las neuronas, causando su despolarización continuada hasta la ruptura celular (Wright, 1995). Los organismos fitoplanctónicos responsables de la producción de esta toxina son algunas microalgas del grupo de las diatomeas pertenecientes a los géneros *Nitzschia* y *Pseudo-nitzschia* (Romero et al., 2011; Lelong et al., 2012), como así también *Chondria armata* una macroalga roja; a partir de la cual fue descubierto el AD (Takemoto y Daigo, 1958; Lelong et al., 2012). El factor de tolerancia para el consumo o comercialización de productos de mar, adoptado por la mayoría de los países para el AD es de 20 µg/g. Los métodos analíticos utilizados para la detección de toxinas ASP son el LC-MS/MS (cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas, del inglés Liquid Chromatography-Mass Spectrometry) y el HPLC con detección ultravioleta (HPLC-UV).

La sintomatología en humanos producida por la intoxicación con AD se caracteriza por trastornos gastrointestinales, seguidos de alteraciones del sistema nervioso central, que implican: náuseas, vómitos, calambres abdominales, diarrea, dolor de cabeza, desorientación, pérdida de la memoria a corto plazo, coma y muerte; no obstante, la aparición de estos síntomas depende de la gravedad de la intoxicación (Nijjar y Nijjar, 2000; Lelong et al., 2012).

En animales de laboratorio (ratones, ratas y monos) el AD provoca síntomas característicos, los cuales se manifiestan por un rascado de los hombros con las patas traseras, convulsiones y frecuentemente, la muerte. Los efectos leves producidos por esta neurotoxina, son hipoactividad, sedación-aquinesia, rigidez, estereotipia, pérdida de control postural y temblores (Wright y Quilliam, 1995). Se ha reportado que la principal vía de eliminación del AD, tras la administración oral en ratas y primates no humanos se produce través de las heces (Costa et al., 2010).

En ratas adultas, ratones, monos y seres humanos el AD posee un efecto neurotóxico en regiones del cerebro que carecen de barrera hematoencefálica (Bruni et al., 1991). Asimismo, se ha demostrado que los animales neonatos son más sensibles al AD que los adultos (Bose et al., 1989; Glavin et al., 1989; Maucher y Ramsdell, 2005). No obstante, varios estudios han indicado que esta neurotoxina atraviesa la placenta, se acumula en el líquido amniótico y puede detectarse en el cerebro del feto (Brodie et al., 2006; Maucher y Ramsdell, 2007).

### **3.1.2 El zooplancton como un potencial vector de toxinas PSP y AD**

Las biotoxinas marinas han sido responsables de varios eventos de mortandad masiva de fauna; en todos los casos, éstas fueron transferidas desde las microalgas productoras a través de la trama trófica por uno o más vectores intermediarios. Como se mencionó anteriormente, el zooplancton es un componente clave en la mayoría de las tramas tróficas marinas, ya que transfiere energía y nutrientes esenciales desde sus presas (principalmente microalgas) hacia los niveles tróficos superiores. Esto, a su vez, lo convierte en uno de los más importantes vectores para la transferencia de biotoxinas desde las algas fitoplanctónicas hacia los depredadores de niveles tróficos superiores.

Varios estudios (Doucette et al., 2005; Turner et al., 2000; Turner et al., 2005) han analizado las concentraciones de toxinas PSP en distintas fracciones del zooplancton (100-200, 200-500, >500  $\mu\text{m}$ ), durante floraciones primaverales del dinoflagelado tóxico *Alexandrium* spp. Estos análisis han demostrado, que las concentraciones más elevadas de toxinas fueron halladas en las fracciones de mayor tamaño del zooplancton las cuales estaban dominadas por grandes copépodos calanoideos.

Los copépodos calanoideos pueden alimentarse de especies tóxicas de dinoflagelados y diatomeas; acumulando las toxinas producidas por estos organismos tanto en sus tejidos, como así también en su sistema digestivo (Turrit et al., 1995; Turner et al., 2000; Lincoln et al., 2001; Teegarden et al., 2001; Tester et al., 2001; Leandro et al., 2010a; Tammilehto et al., 2012; Harðardóttir et al., 2015), en concentraciones que pueden causar daños severos e inclusive la muerte de sus depredadores (White, 1979; 1980; 1981; Anderson y White, 1992). Asimismo, se ha comprobado que los copépodos son capaces de retener el AD inclusive hasta después de la eliminación de las microalgas productoras de esta neurotoxina (Lincoln et al., 2001; Tester et al., 2001; Maneiro et al., 2005).

Los eufáusidos, otro grupo del zooplancton, son considerados como importantes vectores en la transferencia de biotoxinas marinas hacia los niveles tróficos superiores. Estos crustáceos constituyen una de las principales presas de muchos animales marinos (peces, aves, ballenas, lobos marinos, entre otros), actuando asimismo como eficaces vectores de neurotoxinas a través de las tramas tróficas pelágicas. Se ha demostrado que el krill puede acumular AD cuando se alimenta de especies tóxicas de *Pseudo-nitzschia* (Bargu et al., 2002; Lefebvre et al., 2002; Bargu et al., 2003; Bargu y Silver, 2003); llegando a alcanzar, inclusive, concentraciones que exceden el límite permitido para el consumo humano (es decir, 20 µg DA/g en moluscos) (Bargu et al., 2002).

### 3.1.3 Toxinas PSP y AD en los golfos Nuevo y San José

Los primeros registros de toxinas PSP en estos golfos datan de 1980 en el GSJ y del verano de 1987/1988 en el GN, durante floraciones de *A. tamarense* (Carreto et al., 2008). A partir de entonces, este fenómeno se presenta periódicamente en el área, obligando a imponerse vedas a la recolección y consumo de bivalvos y otros organismos (Plan Provincial de Marea Roja, Pcia. del Chubut). Sin embargo, estas toxinas sólo han sido responsables de dos episodios tóxicos documentados, que incluyen, la hospitalización de al menos cuatro personas por exposición aguda a toxinas PSP (Esteves et al., 1992) y la muerte de aves marinas, entre ellas, pingüinos (*Spheniscus magellanicus*), gaviotas (*Larus dominicanus*) y gaviotines (*Thalasseus maximus*) (Gayoso y Fulco, 2006; Montoya y Carreto, 2007), ambos sucesos atribuidos a una floración de *A. tamarense* en el GN.

Respecto al AD, esta toxina fue registrada por primera vez en el GN en octubre de 2005 durante una floración primaveral de fitoplancton dominada por *P. pungens* y *P. fraudulenta* (Sastre et al., 2007). No obstante, hasta el momento no se han registrado episodios tóxicos o muertes de seres humanos o animales debido a la exposición al AD en la región de Península Valdés.

Andrinolo et al. (1999a) a partir de muestras de fitoplancton tomadas durante un *bloom* de *A. tamarense* en noviembre de 1995 en el GSJ, encontraron que la mayoría de las toxinas PSP presentes pertenecían a la gonyautoxinas (GTXs), principalmente GTX 1/4. Asimismo, estos autores, hallaron niveles más bajos de STX en las muestras fitoplanctónicas analizadas durante dicho evento. Más recientemente Cadaillón (2012), reportó la presencia de toxinas PSP y AD en muestras de fitoplancton y zooplancton, de

los golfos Nuevo y San José. Asimismo, este autor, postuló la transferencia de toxinas del fitoplancton hacia el zooplancton, actuando, este último, como un potencial vector de PSP y AD hacia niveles superiores de la trama trófica. Este hecho no sólo implicaría un potencial peligro para las ballenas sino también para otros organismos que se alimentan del zooplancton como aves marinas y peces, entre otros.

*Alexandrium tamarense*, productor de toxinas PSP en los golfos Norpatagónicos, está presente desde el Golfo San Matías hasta el Golfo San Jorge y su densidad se incrementa en primavera-verano en la zona costera (Carreto et al., 1981; 1985; Esteves et al., 1992; Carreto et al., 1993; Santinelli y Esteves, 1993; Sastre et al., 1997; Santinelli et al., 2002). En tanto que, especies potencialmente productoras de toxinas AD tales como *P. australis*, *P. pungens*, *P. multiseriis*, *P. fraudulenta* y *P. pseudodelicatissima*, han sido observadas recurrentemente en los golfos San Matías, San José y Nuevo (Esteves et al., 1996; 1997; Sastre et al., 1997; Ferrario et al., 1999; Sastre et al., 2001).

### **3.1.4 Biotoxinas fitoplanctónicas y mamíferos marinos**

En los últimos años la exposición de los mamíferos marinos a las biotoxinas fitoplanctónicas, es un tema que despierta interés y ha adquirido una posición clave dentro de las prioridades de investigación a nivel mundial. Más aun, considerando que muchos eventos de mortandades masivas de mamíferos marinos en todo el mundo son atribuidos a floraciones de fitoplancton tóxico.

Poco se conoce sobre cómo y en qué medida las toxinas PSP afectan a los mamíferos marinos y cetáceos en particular. Sin embargo, varios investigadores han sugerido que la exposición de los mamíferos marinos a estas potentes neurotoxinas provoca efectos subletales sobre la fisiología respiratoria que causarían anomalías en el buceo y en la alimentación, que podrían comprometer la condición corporal y posiblemente afectar la fecundidad (Geraci et al., 1989; Durbin et al., 2002).

Se ha demostrado que la ballena franca del norte está expuesta a las toxinas PSP cuando se encuentra en una de sus áreas de alimentación (Bahía de Fundy, Doucette et al., 2006). Estos autores detectaron toxinas PSP en muestras fecales y en el zooplancton (principalmente el copépodo *Calanus finmarchicus*) de esa zona, lo cual les permitió concluir que el principal vector de las toxinas PSP hacia las ballenas fue esta especie de copépodo.

El primer caso documentado de toxinas PSP asociadas con un evento de mortalidad de mamíferos marinos fue a fines de 1987 principios de 1988, cuando 14 ballenas jorobadas (*Megaptera novaeangliae*) murieron a lo largo de las playas de la Bahía de Cape Cod, Massachusetts, EE. UU. (Geraci et al., 1989). Los estómagos examinados de estos individuos contenían peces incompletamente digeridos, incluyendo grandes cantidades de caballa del Atlántico (*Scomber scombrus*), lo cual indicaría que los animales se habrían alimentado justo antes de morir. Se encontró STX principalmente en el hígado de ejemplares de *S. scombrus* capturados donde las ballenas jorobadas se habían alimentado y en individuos de *S. scombrus* del contenido estomacal de ballenas muertas. Esta toxina también fue hallada, en muestras de riñón e hígado de las ballenas analizadas. Por esto, los autores concluyeron que las ballenas murieron por consumir caballa del Atlántico, una especie zooplanctívora, contaminada con toxinas PSP.

Por otro lado, varios estudios han demostrado que la exposición crónica de mamíferos marinos al AD produce efectos subletales, los cuales ocasionan enfermedades degenerativas en el corazón, síndrome epiléptico crónico y fallas en la reproducción, que incluyen, abortos, muerte en el útero y parto prematuro (Brodie et al., 2006; Goldstein et al., 2008; Zabka et al., 2009). Mientras que la sintomatología por intoxicación aguda incluyen ataxia, cabeceos, convulsiones o coma y/o muerte (Gulland et al., 2002).

Se ha reportado que las ballenas francas del norte, están expuesta al AD por ingerir el copépodo vector *C. finmarchicus* mientras ellas se encuentran en sus áreas de alimentación durante la primavera y el verano en el Gran Canal del Sur y la Bahía de Fundy (Leandro et al., 2010b). Para este estudio, los autores analizaron muestras fecales de individuos vivos y muertos, y en todas ellas se encontró AD. Asimismo, esta toxina fue detectada en muestras fecales de ballenas azules (*Balaenoptera musculus*) y jorobadas (*Megaptera novaeangliae*) vivas (Lefebvre et al., 2002), como así también en muestras fecales y de orina del cachalote pigmeo (*Kogia breviceps*) y del cachalote enano (*Kogia sima*) varados muertos a lo largo de la costa atlántica de EE. UU. (Fire et al., 2009).

Recientemente, se ha detectado la presencia de AD en la leche de varias especies de mamíferos marinos (la marsopa común [*Phocoena phocoena*], la foca común [*Phoca vitulina*], el oso marino ártico [*Callorhinus ursinus*] y el lobo marino de California

[*Zalophus californianus*]) que estuvieron expuestos a un *bloom* de *Pseudo-nitzschia* spp. en las costas de California (Rust et al., 2014). Asimismo, se ha documentado que esta neurotoxina atraviesa la placenta en *Z. californianus*; hallándose en muestras de orina y de contenido gastrointestinal del feto (Brodie et al., 2006; Rust et al., 2014). Esto indicaría que las crías están expuestas en el útero al AD y después del nacimiento a través de la lactancia hasta que se produce su destete (Brodie et al., 2006; Rust et al., 2014). Esta exposición temprana podría dar lugar a anomalías en el desarrollo que conducirían a fallas neurológicas y en el comportamiento de las crías (Lefebvre et al., 2016).

El AD es responsable de grandes mortandades de mamíferos marinos. Por ejemplo, en 1998 aproximadamente 70 lobos marinos *Z. californianus* vararon a lo largo de la costa central de California, los individuos mostraban signos de trastornos neurológicos en forma de convulsiones (Gulland, 1999). De estos individuos, 47 murieron mientras que 23 se recuperaron y fueron liberados. Este inusual evento de mortalidad se produjo simultáneamente con la presencia de una floración de *P. australis* (Scholin et al., 2000). En esa ocasión detectaron AD y frústulos de *P. australis* en individuos de *Engraulis mordax* (anchoveta del norte) y en muestras fecales de lobos marinos (Lefebvre et al., 1999). Lo cual proporcionó pruebas suficientes para concluir que el AD producido por *P. australis* sería el agente tóxico responsable de los síntomas neurológicos observados en los lobos marinos y que la probable ruta de transferencia de la toxina entre niveles tróficos fue la anchoveta, una presa común de los lobos marinos de California (Lowry et al., 1991).

También se han documentado mortandades asociadas al AD de delfines comunes (*Delphinus* spp.) por el consumo de vectores de esta neurotoxina tales como pequeños peces planctívoros (Work et al., 1993; Lefebvre et al., 1999; Scholin et al., 2000; De la Riva et al., 2009). Asimismo, en un estudio se reportó que la muerte de un individuo de ballena minke (*Balaenoptera acutorostrata*) al sur de California, fue producto de una intoxicación con AD a través de anchoveta del norte contaminada con esta toxina luego de un *bloom* de *P. australis* (Fire et al., 2010).

Recientemente, se ha reportado la presencia de STX y AD en varias especies de mamíferos marinos de Alaska; incluyendo cuatro especies de cetáceos, dos especies de otáridos, cinco de fócidos, la morsa del Pacífico y la nutria de Mar del Norte (Lefebvre et al., 2016). En ese estudio, los niveles más altos de STX y AD fueron detectados en

muestras fecales, en el contenido estomacal e intestinal y en la orina de los animales examinados. La concentración máxima de STX (240 ng STX/g) fue detectada en el contenido intestinal de una morsa macho que también presentaba una alta concentración de AD (991 ng/g), mientras que la máxima concentración de AD fue hallada en el contenido intestinal de una morsa hembra (6.457 ng/g). Estos autores también encontraron AD en tres fetos (de una beluga, una marsopa y un lobo marino de Steller), comprobando así que existe transferencia de esta neurotoxina de la madre a la cría.

### 3.1.5 Biotoxinas fitoplanctónicas y la ballena franca austral

El efecto de las biotoxinas marinas sobre la salud de la ballena franca austral se postula actualmente como una de las hipótesis para explicar la mortalidad de crías observada durante los últimos años en Península Valdés (Rowntree et al., 2011). Sin embargo, hasta el momento es aún incipiente el conocimiento sobre los niveles de biotoxinas a los que están expuestas las ballenas mientras se encuentran en esta región y el potencial vector de estas potentes neurotoxinas.

Recientemente se ha reportado la presencia de restos de frústulos de *Pseudo-nitzschia* spp. potencialmente productoras de AD, como así también de restos de microcrustáceos, principalmente gnatobases mandibulares de copepoditos 5 de *Calanus australis*, en muestras fecales de ballenas vivas y muertas de los golfos Nuevo y San José, respectivamente (D'Agostino et al., 2015; D'Agostino et al., 2016). Estos hallazgos indicarían que las ballenas podrían estar expuestas al AD cuando se alimentan en la zona y que *C. australis* actuaría como el principal vector de esta neurotoxina.

La presencia de STX y AD ha sido detectada en muestras de tejidos de individuos de *E. australis* varados muertos en las costas de Península Valdés (Rowntree et al., 2013; Wilson et al., 2015). Wilson et al. (2015) reportaron que sólo un número reducido de muestras fueron positivas a estas neurotoxinas (4 de 105 para STX y 2 de 108 para AD) en concentraciones bajas (STX = 172 a 800 ng/g y AD = 3 y 7 ng/ml de sangre). Mediante la longitud de algunos de los individuos afectados, Wilson et al. (2015) estimaron que los mismos podrían haber estado expuestos a las toxinas en el útero ( $\approx$  5,5 m de longitud), mientras que otros presentaban menos de un mes de vida al momento de su muerte ( $\approx$  8,48 m de longitud), sugiriendo que podrían haber estado expuestos a las biotoxinas a través de la leche de su madre.

Por lo tanto, estudiar la transferencia de biotoxinas marinas a través de la trama trófica es esencial para conocer si la ballena franca austral está expuesta a estas potentes neurotoxinas vía su alimentación planctívora en Península Valdés, como así también determinar cuál es el principal vector de las mismas. Además, el estudio de la transferencia de toxinas en esta región, adquiere principal importancia debido a que un gran número de hembras que visitan cada año esta área, se encuentran en la etapa final de gestación o amamantando a sus crías cuando simultáneamente se producen floraciones de fitoplancton potencialmente tóxico. En consecuencia, las toxinas no sólo afectarían a los individuos adultos y juveniles los cuales se alimentan de los densos parches zooplanctónicos que ocurren durante la temporada de ballenas (junio-diciembre) sino también a las crías, ya sea durante la gestación o a través de la lactancia.

## 3.2 Objetivos

i) Cuantificar y analizar los niveles de toxinas PSP y AD disueltos en la columna de agua de los golfos Nuevo y San José, los contenidos en el plancton y en las muestras fecales de individuos vivos y muertos de *Eubalaena australis*.

ii) Evaluar si existe transferencia de toxinas PSP y de AD desde los organismos productores hacia los niveles tróficos superiores incluyendo a la ballena franca austral, en el área de estudio.

## 3.3 Materiales y métodos

Para la determinación de las biotoxinas disueltas en la columna de agua, se colocaron bolsas SPATT (Solid Phase Adsorption Toxin Tracking) en cada uno de los golfos (Figura 1.7, Sección 1.4, Capítulo 1). El éxito de este método se basa en el hecho de que durante el desarrollo de un *bloom* de fitoplancton tóxico, grandes cantidades de toxinas se hallan disueltas en la columna de agua debido a la desintegración de las células vegetativas. Por lo tanto, estas toxinas pueden ser adsorbidas por el sustrato de adsorción del muestreador gracias a su afinidad por estas moléculas, lo cual permite su utilización en monitoreos continuos (MacKenzie et al., 2004). Asimismo, para estudiar la transferencia de toxinas desde los organismos productores hacia niveles tróficos superiores, se realizaron muestreos de fitoplancton y mesozooplancton en ambos golfos, en los sitios de muestreo y fechas ya mencionados (Figura 1.7, Sección 1.4, Capítulo 1 y

Tablas 2.1 y 2.2, Sección 2.3.1, Capítulo 2) y se recolectaron muestras fecales de individuos de ballena franca austral vivos y muertos en el GN.

Durante los meses en que la abundancia de ballenas en la región es baja o durante aquellos meses que no incluyen la temporada de ballenas se realizó un único arrastre de fitoplancton y mesozooplancton por sitio de muestreo y cada muestra obtenida fue destinada para la determinación de AD. En cambio, durante los meses que comprenden a la temporada de ballenas se realizaron dos arrastres por tipo de muestra en cada sitio, uno destinado al análisis de toxinas PSP y el otro al de AD.

Los niveles de biotoxinas marinas detectados en los diferentes tipos de muestras de los golfos Nuevo y San José se presentan como concentraciones medias por estación climática analizada. Debido a que se promediaron los meses muestreados, algunos de los valores medios presentados son menores que el límite de detección (LD) del método. Asimismo, para un tratamiento más sencillo de los datos las concentraciones de las toxinas disueltas en la columna de agua y las detectadas en las muestras de plancton fueron expresadas en ng/NT, mientras que las contenidas en las muestras fecales de ballenas en µg/g. Los análisis de biotoxinas fueron realizados en el laboratorio de Química Ecológica del Alfred Wegener Institute for Polar and Marine Research (AWI, Bremerhaven, Alemania), a cargo del Dr. Bernd Krock.

### **3.3.1 Biotoxinas disueltas en la columna de agua. Muestreos mediante Solid Phase Adsorption Toxin Tracking (SPATT)**

#### **3.3.1.1 Actividades de muestreo**

Cada SPATT consistió en una bolsa realizada con una malla de Nylon de 95 µm (150 x 55 mm), la cual contenía en su interior, 10 g (peso seco) de resina porosa lipofílica DIAION HP20, cerrada en su extremo superior con un clip de cierre. Para su activación, cada SPATT fue colocado en un baño de metanol 100% durante aproximadamente 12 horas. Luego, se los enjuagó varias veces con agua destilada y se mantuvieron húmedos y refrigerados entre 4-6 °C hasta su colocación en el sitio.

En cada uno de los golfos se colocaron dos SPATTs, en una estación de muestreo fija (-42° 36,41', -64° 16,38' GN y -42° 24,42', -64° 6,76' GSJ; Figura 1.7, Sección 1.4, Capítulo 1), de poca profundidad (≈ 15 m) y sujetos a un fondeo mediante precintos a aproximadamente 1 m del fondo marino (Figura 3.1). Uno de los SPATTs fue destinado

al análisis de toxinas PSP, mientras que el otro al de AD. Los SPATTs fueron reemplazados durante cada campaña de muestreo mediante buceo y se conservaron a 4 °C hasta su posterior procesamiento. Sin embargo, en varias ocasiones la malla que contenía la resina estaba cubierta de organismos marinos. En esos casos, los SPATTs fueron almacenados a -20 °C para evitar la proliferación de los mismos.

En la Tabla 3.1 se detallan el período muestreado por cada SPATT en cada uno de los golfos y las toxinas analizadas en cada uno de ellos. En tres ocasiones (dos en el GN y una en el GSJ) se encontró un único SPATT en el sitio. Por lo tanto, fueron analizadas las toxinas que estaban presentes en el área de estudio, de acuerdo a datos del Plan Provincial de Marea Roja. Debido a ello, sólo se analizaron las toxinas PSP en el SPATT que comprendió el período del 23/01/2015 al 04/03/2015 en el GSJ y el AD en el período muestreado del 19/03/2015 al 23/04/2015 y del 12/11/2015 al 21/12/2015 en el GN (Tabla 3.1). No obstante, en una ocasión (período del 20/02/2015 al 19/03/2015) en el GN los SPATTs no fueron hallados; por ende no se disponen de los datos de toxinas para dicho período.

**Tabla 3.1: Período muestreado utilizando SPATTs (Solid Phase Adsorption Toxin Tracking) en los golfos Nuevo y San José y las toxinas analizadas (PSP y/o AD) en cada uno de ellos. Períodos Golfo Nuevo: Diciembre 2014/Diciembre 2015 y Golfo San José: Diciembre 2014/Enero 2016.**

Golfo Nuevo									
Período de muestreo									
02/12-28/01	28/01-20/02	19/03-23/04	23/04-08/06	08/06-29/07	29/07-04/09	04/09-09/10	09/10-12/11	12/11-21/12	
PSP	PSP		PSP	PSP	PSP	PSP	PSP		
AD	AD	AD	AD	AD	AD	AD	AD	AD	AD
Golfo San José									
Período de muestreo									
10/12-23/01	23/01-04/03	04/03-10/04	10/04-26/05	26/05-03/07	03/07-10/08	10/08-24/09	24/09-27/10	27/10-26/11	26/11-13/01
PSP	PSP	PSP	PSP	PSP	PSP	PSP	PSP	PSP	PSP
AD		AD							

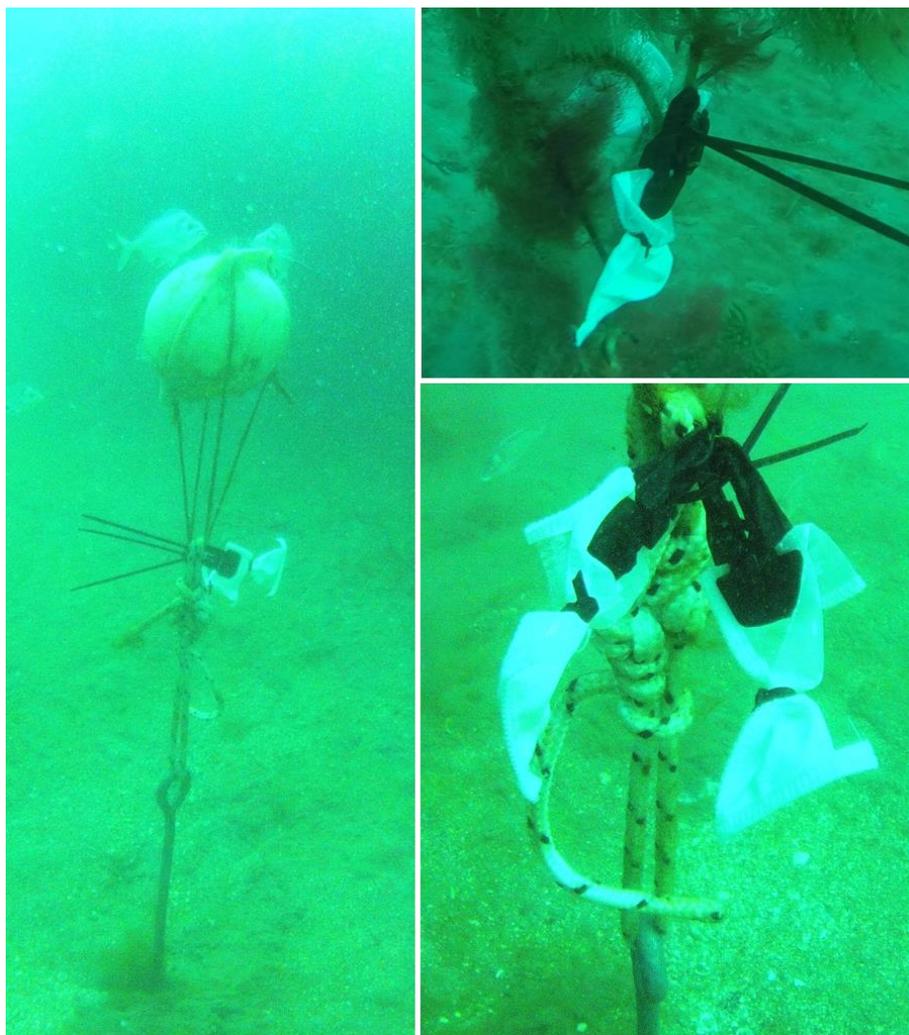


Figura 3.1: Modo de colocación de los SPATTs (Solid Phase Adsorption Toxin Tracking) en los sitios de muestreo de los golfos Nuevo y San José.

### 3.3.1.2 Actividades de laboratorio

Para la extracción de toxinas PSP se siguió la metodología utilizada por Rodríguez et al. (2011), con ciertas modificaciones. En primera instancia, se buscaba evaluar si el método de extracción utilizado por estos autores sobre un sustrato de adsorción diferente al usado en esta tesis podría ser efectivo para extraer las toxinas adsorbidas sobre la resina empleada en el presente estudio (DIAION HP20). Con este propósito, en primer lugar, se prepararon extractos a partir de tres cultivos diferentes de cepas productoras de toxinas PSP. Para ello, se tomaron 15 ml de cada uno de los cultivos y se centrifugaron (Eppendorf 5810R) a  $3220 \times g$  durante 15 minutos a  $4^\circ\text{C}$ . A continuación, se transfirió el pellet a un criovial que contenía 0,9 g de perlas de cerámica (Lysing Matrix D, Thermo Savant). Posteriormente, se añadió 1 ml de ácido

acético 0,03 M y se homogeneizó utilizando un homogeneizador mecánico FastPrep™ FP120 (Thermo BIO101) a  $6,5 \text{ m s}^{-1}$  durante 45 segundos. Luego, se centrifugó (Eppendorf 5415R) a  $16.100 \times g$  durante 15 minutos a  $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$  y el sobrenadante se filtró a través de un filtro de centrifugación ( $0,45 \text{ }\mu\text{m}$  tamaño de poro, Millipore Ultrafree) utilizando una centrífuga (Eppendorf 5415R) a  $3.000 \times g$  durante 0,5 minutos a  $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ . Por último, se transfirió el extracto a un vial de HPLC con una micropipeta y se midió mediante HPLC/FLD con oxidación post-columna, corroborándose en el extracto la presencia de saxitoxina (STX), neosaxitoxina (NEO) y gonyautoxinas GTX1/GTX4 y GTX2/GTX3.

En base a ello, se colocaron en un matraz 2 g de resina DIAION HP20 con 30 ml de cada uno de los cultivos antes mencionados. Seguidamente, se añadieron 6 ml de acetona 7% lo cual produce la ruptura celular y la consiguiente liberación de las toxinas al medio y se dejó sobre un agitador magnético durante aproximadamente 48 horas. A continuación, se transfirió la mezcla a una columna cromatográfica previamente preparada con un tapón de lana de vidrio ( $\approx 1 \text{ cm}$  de grosor) y una base de arena de cuarzo ( $\approx 1 \text{ cm}$ ), se colectó el líquido eluído en un frasco de vidrio y se conservó a  $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ . Luego, se añadieron 6 ml de agua MilliQ a la columna y se recogió el volumen en un frasco de vidrio limpio, el cual también se conservó a  $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ . Posteriormente, se lavó dos veces la resina contenida en la columna cromatográfica con 3,5 ml de metanol 10% que contenía 2 % de ácido acético 100% y se colectó el volumen eluído en otro frasco de vidrio limpio. Posteriormente, se transfirieron cada uno de los tres líquidos obtenidos a matraces con forma de corazón y se evaporaron en un rotavapor (Heidolph Rotary Evaporator, Laborota 4002) hasta obtener un concentrado de aproximadamente 0,5 ml cada uno. En cada caso, se lavaron las paredes del matraz con los concentrados obtenidos y se transfirió cada uno a un vial de HPLC utilizando una pipeta Pasteur de vidrio. A continuación, se lavaron dos veces más los matraces que contenían los concentrados con 0,4 ml de ácido acético 0,03 M y se transfirieron los volúmenes obtenidos a los viales de HPLC, luego de cada limpieza. Se ajustaron los volúmenes finales a 1 ml con ácido acético 0,03 M y se filtraron a través de filtros de centrifugación (tamaño de poro  $0,45 \text{ }\mu\text{m}$ , Millipore Ultrafree) con una centrífuga (Eppendorf 5415R) a  $3000 \times g$  por 0,5 minutos a  $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ . Finalmente, se transfirieron cada uno de los extractos obtenidos a viales de HPLC limpios y se midieron mediante HPLC/FLD con oxidación post-columna. Se encontraron toxinas GTX2/GTX3 en el líquido eluído en primer lugar, es decir, aquel que contenía la resina más el cultivo. Esta

fracción comprendía a las toxinas PSP que no fueron adsorbidas por la resina. En la fracción acuosa, el líquido eluido en segundo lugar resultante de la primera limpieza de la resina, se detectaron nuevamente las toxinas GTX2/GTX3. Por último, en el extracto obtenido a partir de la elución de la mezcla de solventes, proveniente de la segunda limpieza de la resina, se detectaron las toxinas STX y GTX2/GTX3.

Por lo tanto, esta fue la metodología utilizada para la extracción de toxinas PSP a partir de los SPATTs. No obstante, se realizaron tres modificaciones al protocolo de extracción antes mencionado. Una de ellas, consistió en la limpieza de la resina que contenían los SPATTs, la cual fue realizada dentro de un vaso de precipitado utilizando 6 ml de agua MilliQ agitando energéticamente con una varilla de vidrio, en lugar de transferir la resina directamente a la columna cromatográfica y posteriormente realizar el lavado con agua MilliQ. La segunda modificación al protocolo inicial, consistió en lavar la resina contenida dentro de la columna cromatográfica una sola vez con 7 ml de la mezcla de metanol 10% más 2% de ácido acético 100% y por último, en lugar de obtener tres extractos por cada SPATT, cada volumen eluido fue colectado en un único frasco de vidrio. Obteniéndose de esta manera un único extracto por cada SPATT.

Para la extracción del AD, cada SPATT se lavó tres veces en un vaso de precipitado con 500 ml de agua MilliQ, con el propósito de remover todas las sales. A continuación, se colocaron sobre papel absorbente y se secaron en una estufa a 50 °C durante 3 horas. Luego, se transfirió la resina de cada muestreador a tubos para centrífuga de 50 ml, se agregaron 30 ml de metanol 100%, se agitó la mezcla durante 1 minuto en un mezclador vórtex (Heidolph Reax top) y se colocó cada tubo en una rueda giratoria (Figura 3.2) durante aproximadamente 18 horas, con el fin de extraer el AD adsorbido por la resina. Posteriormente, se agitó energéticamente la mezcla de resina y metanol contenida en el tubo para centrífuga y se transfirió a una columna cromatográfica previamente acondicionada con un tapón de lana de vidrio ( $\approx$  1 cm de grosor) y una base de arena de cuarzo ( $\approx$  1 cm). A continuación, se enjuagó el tubo para centrífuga con 15 ml de metanol 100% y se transfirió a la columna cromatográfica, colectándose el volumen eluido en un frasco de vidrio. Luego, se adicionaron lentamente a la columna cromatográfica 25 ml de metanol 100% y se colectó nuevamente el volumen eluido en el frasco de vidrio. A continuación, se transfirió el volumen obtenido a un matraz con forma de corazón de 50 ml y se evaporó utilizando un rotavapor (Heidolph Rotary Evaporator, Laborota 4002) hasta aproximadamente 3

ml. Se limpiaron las paredes del matraz con el concentrado obtenido y se transfirió este volumen a un matraz con forma de corazón más chico (5 ml) utilizando una pipeta Pasteur de vidrio. A continuación, se agregó 1 ml de metanol 100% al matraz que contenía el concentrado original, se limpiaron nuevamente sus paredes y se transfirió el volumen al matraz más pequeño, este procedimiento de limpieza se realizó dos veces; obteniendo así un volumen final de aproximadamente 5 ml. Posteriormente, se evaporó el volumen obtenido en el rotavapor llevándolo a un volumen final < 0,5 ml. Luego, se lavaron las paredes del matraz con el concentrado obtenido y se transfirió a un vial de LC-MS con una pipeta Pasteur de vidrio. A continuación, se lavaron nuevamente las paredes del matraz con 0,4 ml de metanol 100%, en dos oportunidades, transfiriendo el extracto al vial de LC-MS luego de cada limpieza. Seguidamente, se ajustó el volumen a 1 ml con metanol 100%, se agitó durante 1 minuto con un mezclador vórtex y se dejó reposar durante aproximadamente 12 horas a 4 °C. Esta metodología se repitió con cada uno de los SPATTs. Finalmente, los concentrados se filtraron a través de filtros de centrifugación (tamaño de poro 0,45  $\mu\text{m}$ , Millipore Ultrafree) con una centrífuga (Eppendorf 5415R) a 3.000 x g por 0,5 minutos a 4 °C y se transfirieron los extractos obtenidos a viales de LC-MS limpios y fueron medidos mediante LC-MS/MS.



**Figura 3.2:** Rueda giratoria empleada para la extracción del AD adsorbido por la resina HP20 de los SPATTs colocados en los golfos Nuevos y San José.

## **3.3.2 Biotoxinas producidas por el fitoplancton**

### **3.3.2.1 Actividades de muestreo**

La obtención de las muestras para la determinación de biotoxinas marinas producidas por los organismos fitoplanctónicos, se realizó siguiendo la metodología detallada en la Sección 2.3.1 (Capítulo 2) para el análisis cualitativo del fitoplancton. Pero para el estudio de toxicidad las muestras no fueron fijadas, sino que en su lugar, fueron colocadas en botellas plásticas de 500 ml y se mantuvieron refrigeradas en heladeras portátiles hasta su rápido acondicionamiento en el laboratorio.

### **3.3.2.2 Actividades de laboratorio**

Las muestras se filtraron a través de filtros de fibra de vidrio Whatman GF/F, de 25 mm de diámetro y 0,7  $\mu\text{m}$  de abertura de poro. A continuación, los filtros fueron plegados, colocados en sobres de papel de aluminio y almacenados inmediatamente a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta su posterior extracción de toxinas fitoplanctónicas.

Para la extracción de toxinas PSP, se colocaron los filtros enrollados dentro de crioviales los cuales contenían 0,9 g de perlas de cerámica (Lysing Matrix D, Thermo Savant). A continuación, se añadió 1 ml de ácido acético 0,03 M a cada criovial y se homogeneizaron utilizando un homogeneizador mecánico FastPrep™ FP120 (Thermo BIO101) a  $6,5\text{ m s}^{-1}$  durante 45 segundos. Luego, se centrifugaron (Eppendorf 5415R) a  $16.100\text{ x g}$  durante 15 minutos a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ , los sobrenadantes se filtraron a través de filtros de centrifugación (0,45  $\mu\text{m}$  tamaño de poro, Millipore Ultrafree) utilizando una centrífuga a  $3.000\text{ x g}$  durante 0,5 minutos a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ . A continuación, se transfirieron los extractos a viales de HPLC con una micropipeta. Los viales que contenían los filtros se llevaron nuevamente al homogeneizador mecánico y se repitieron todos los pasos siguientes, aunque en esa ocasión el primer centrifugado (luego de la homogeneización) se realizó a  $5.000\text{ x g}$  y durante 0,5 minutos. Seguidamente, los extractos obtenidos se transfirieron con una micropipeta a los viales de HPLC que contenían el primer extracto de cada muestra, obteniéndose así un volumen final de 1 ml de cada una de ellas. Finalmente, se almacenaron a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta su lectura mediante HPLC/FLD con oxidación post-columna.

Para la extracción del AD se empleó la misma metodología que para la extracción de las toxinas PSP, pero en este caso se utilizaron 0,5 ml de metanol 100% como

solvente de extracción. Luego de obtenidos los extractos (0,5 ml volumen final), se almacenaron en viales de LC-MS a -20 °C hasta su posterior lectura mediante LC-MS/MS.

### **3.3.3 Biotoxinas acumuladas por el mesozooplancton**

#### **3.3.3.1 Actividades de muestreo**

La obtención de las muestras para la determinación de biotoxinas marinas acumuladas por los organismos mesozooplanctónicos, se llevó a cabo siguiendo la metodología detallada en la Sección 2.3.1 (Capítulo 2). Pero para estos análisis, las muestras no fueron fijadas, en su lugar, estas fueron colocadas en frascos plásticos de 250 ml de boca ancha y se mantuvieron refrigeradas en heladeras portátiles hasta su rápido acondicionamiento en el laboratorio. Cabe aclarar que, no se contó con muestras de mesozooplancton del día 09/10/2015 del GN para el análisis de biotoxinas marinas. Esto se debe, a que durante dicha fecha la gran cantidad de fitoplancton presente en los tres sitios de muestreo, como consecuencia del *bloom* de *P. australis* (Tabla 2.5, Capítulo 2), contaminó las muestras de mesozooplancton, de manera tal que éstas no pudieron ser destinadas al análisis de biotoxinas marinas acumuladas por los organismos mesozooplanctónicos (Figura 3.3).



**Figura 3.3:** Golfo Nuevo. Contaminación de las muestras de mesozooplankton durante el *bloom* de fitoplancton registrado el 09/10/2015. Arriba: red de 335 µm utilizada para la obtención de organismos mesozooplanktónicos colmatada con organismos fitoplanctónicos. Abajo: muestras recolectadas con la red de mesozooplankton.

### 3.3.3.2 Actividades de laboratorio

Las muestras se filtraron a través de filtros de fibra de vidrio Whatman GF/F, de 47 mm de diámetro y 0,7 µm de abertura de poro. A continuación, los filtros fueron plegados, colocados en sobres de papel de aluminio y almacenados rápidamente a -20 °C hasta su posterior extracción de biotoxinas marinas.

Para la extracción de toxinas PSP se cortaron los filtros en pequeñas fracciones, se colocaron dentro de tubos para centrífuga de 15 ml y se añadieron 4 ml de ácido acético 0,03 M. A continuación, se sometieron a la acción de ultrasonidos con un sonicador (Bandelin Sonopuls HD 2070) durante 2 minutos mediante 7 ciclos, al 96% de la potencia máxima, lo cual provoca la lisis celular y la consiguiente liberación de las toxinas. Luego, se agitaron durante 2 minutos en un mezclador vórtex (Heidolph Reax

top) y se centrifugaron (Eppendorf 5810R) a  $3220 \times g$  durante 10 minutos a  $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ . Posteriormente, se transfirieron los sobrenadantes a nuevos tubos para centrífuga de 15 ml utilizando una micropipeta y se conservaron a  $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ . A continuación, se agregaron 4 ml de ácido acético 0,03 M a los tubos para centrífuga que contenían los filtros previamente tratados y se repitieron todos los pasos nuevamente. Luego, se transfirieron los sobrenadantes (aproximadamente 8 ml) a un matraz con forma de corazón de 25 ml y se evaporaron en un rotavapor (Heidolph Rotary Evaporator, Laborota 4002) hasta obtener un concentrado de aproximadamente 0,5 ml de cada una de las muestra. En cada caso, se lavaron las paredes del matraz con el volumen obtenido y se transfirió a un vial de HPLC utilizando una pipeta Pasteur de vidrio. Seguidamente, se lavaron dos veces más los matraces que contenían los concentrados con 0,4 ml de ácido acético 0,03 M y se transfirieron los volúmenes obtenidos a los viales de HPLC, luego de cada limpieza. A continuación, se ajustaron los volúmenes a 1 ml con ácido acético 0,03 M. Finalmente, los concentrados se filtraron a través de filtros de centrifugación (tamaño de poro  $0,45 \text{ }\mu\text{m}$ , Millipore Ultrafree) con una centrífuga (Eppendorf 5415R) a  $3.000 \times g$  por 0,5 minutos a  $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , se transfirieron a viales de HPLC limpios y se almacenaron a  $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$  hasta su posterior lectura mediante HPLC/FLD con oxidación post-columna.

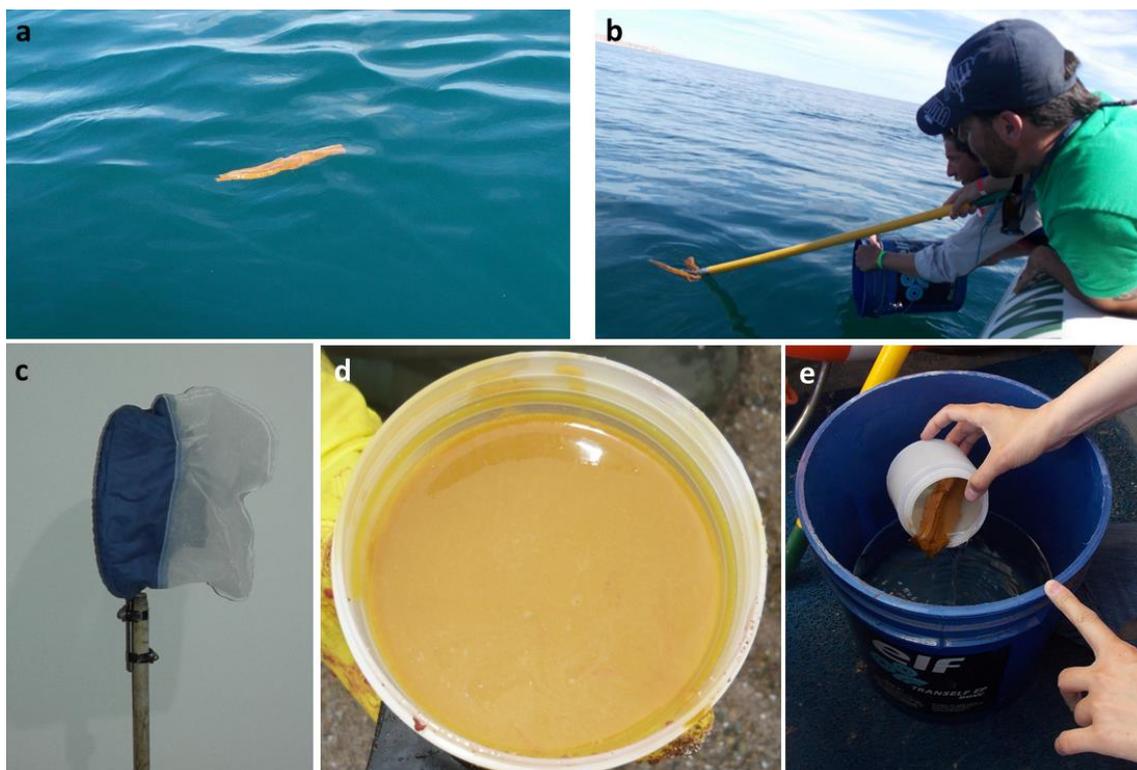
Para la extracción del AD acumulado por los organismos mesozooplancónicos, se cortaron por la mitad los filtros y se colocaron cada una de ellas enrolladas dentro de un criovial que contenía 0,9 g de perlas de cerámica (Lysing Matrix D, Thermo Savant). A continuación, se añadió 1 ml de metanol 100% a cada criovial y se homogeneizaron utilizando un homogeneizador mecánico FastPrep™ FP120 (Thermo BIO101) durante 45 segundos a  $6,5 \text{ m s}^{-1}$  y posteriormente fueron centrifugados (Eppendorf 5415R) a  $16.100 \times g$  durante 15 minutos a  $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ . A continuación, los sobrenadantes fueron filtrados a través filtros de centrifugación ( $0,45 \text{ }\mu\text{m}$  tamaño de poro, Millipore Ultrafree) utilizando una centrífuga (Eppendorf 5415R) a  $3.000 \times g$  durante 0,5 minutos a  $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ . Luego, se transfirieron los extractos a viales de LCMS con una micropipeta. Debido a que se obtuvo un volumen final de 2 ml por cada muestra, los cuales estaban distribuidos en diferentes viales, los extractos se evaporaron bajo campana y luego ambos extractos fueron recuperados con 0,25 ml de metanol 100%. De este modo, se obtuvo un único extracto por muestra (volumen final 0,5 ml). A continuación, se filtraron los extractos a través de filtros de centrifugación ( $0,45 \text{ }\mu\text{m}$  tamaño de poro, Millipore Ultrafree) y a  $16.100 \times g$  por 5 minutos a  $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , se transfirieron los extractos

obtenidos a viales de LCMS limpios y se almacenaron a -20 °C hasta su posterior lectura mediante LCMS/MS.

### **3.3.4 Biotoxinas contenidas en las muestras fecales de ballenas**

#### **3.3.4.1 Actividades de muestreo**

Para este estudio se contaron con muestras fecales de ballenas varadas muertas en las costas del GN durante las temporadas 2013 y 2014; como así también de individuos vivos, recolectadas durante las temporadas 2014 y 2015 en el GN. El hecho de que sólo se cuente con muestras fecales de ballenas vivas recolectadas en este golfo, se debe a que la mayoría de ellas fueron recolectadas por capitanes y marineros de empresas turísticas de avistaje de ballenas las cuales operan en la zona de Puerto Pirámides (GN). Además, durante el desarrollo de esta tesis se realizaron salidas desde las embarcaciones turísticas en busca de este tipo de muestras. Para la obtención de muestras fecales de ballenas vivas, dado que el material fecal flota durante un corto período de tiempo luego que es defecado por el animal (Figura 3.4 a), estas muestras fueron recolectadas poco tiempo después de la defecación. Para ello, se utilizaron baldes (Figura 3.4 b) o colectores realizados con redes de 125 µm de diámetro de poro, confeccionados exclusivamente para la recolección de estas muestras (Figura 3.4 c). Mientras que las muestras fecales de ballenas muertas, fueron recolectadas directamente del intestino del animal durante las necropsias de los ejemplares (Figura 3.4 d). Dependiendo del tamaño de las muestras, éstas fueron guardadas en frascos plásticos de 125, 250 o 500 ml de boca ancha. En el caso de ballenas muertas, las muestras fecales, se mantuvieron refrigeradas en heladeras portátiles hasta su posterior almacenamiento a -20 °C y cuando se trataba de muestras provenientes de ballenas vivas, éstas se mantuvieron en sitios frescos y al resguardo de la luz dentro de la embarcación y una vez en tierra, las muestras fueron almacenadas a -20 °C. En los casos en donde las muestras se recolectaron con baldes, se escurrió toda el agua al momento de su recolección (Figura 3.4 e).



**Figura 3.4:** Recolección y almacenamiento de muestras fecales de *E. australis*. a) muestra fecal originada por un individuo vivo, b) colección del material fecal utilizando un balde, c) colector de muestras fecales de red de 125  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro, d) muestra fecal procedente de un individuo muerto y d) escurrimiento del agua previo al almacenamiento de la muestra fecal originada por un individuo vivo. En imagen Alexis Fioramonti y Fernando Varsky, personal de Whales Argentina (empresa de avistaje de ballenas).

### 3.3.4.2 Actividades de laboratorio

En el laboratorio las muestras fueron liofilizadas (OPERON FDU-8606) para eliminar el agua sin alterar su composición (Figura 3.5 a y b). Una vez que se completó este proceso (5-7 días), éstas fueron divididas en dos fracciones aproximadamente iguales (una destinada a la extracción de toxinas PSP y la otra a la de AD) y se guardaron en bolsas plásticas provistas de un cierre hermético a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Figura 3.5 c y d) hasta su posterior extracción de biotoxinas marinas.



**Figura 3.5: Procesamiento de muestras fecales de individuos de *E. australis*. a y b) liofilización, c y d) almacenamiento en bolsas plásticas provistas con cierre hermético.**

Con el propósito de evaluar cuál era la metodología adecuada para la extracción de las toxinas PSP contenidas en las muestras fecales de ballenas, se testearon dos técnicas. En primer lugar, se siguió el método empleado por Lefebvre et al. (2016) con ciertas modificaciones. Brevemente, se tomó una muestra fecal elegida al azar (BFA24, originada por una hembra adulta, recolectada el 22/11/2014 en el GN) y se dejó descongelar a temperatura ambiente. Luego se colocó 1 g de la muestra dentro de un tubo para centrifuga de 15 ml y se añadió etanol 80%, como solvente de extracción, en una proporción 1:4 (m/v). A continuación, se agitó la mezcla durante 2 minutos en un mezclador vórtex (Heidolph Reax top) y se sometió a la acción de ultrasonidos con un sonicador (Bandelin Sonopuls HD 2070) durante 2 minutos mediante 7 ciclos, al 96% de la potencia máxima. Posteriormente, se agitó nuevamente la mezcla durante 2 minutos utilizando un vórtex y se centrifugó (Eppendorf 5810R) a  $3.220 \times g$  durante 20 minutos a  $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ . Seguidamente, se transfirió el sobrenadante a un matraz con forma de

corazón y se conservó a 4 °C. A continuación, se añadió nuevamente metanol 80% (1:4 m/v) al tubo para centrifuga que contenía la muestra fecal y se repitió toda la metodología anteriormente descrita. De esta manera se obtuvieron dos sobrenadantes, los cuales fueron evaporados hasta un volumen <0,5 ml cada uno, utilizando un rotavapor (Heidolph Rotary Evaporator, Laborota 4002). A continuación, se lavaron las paredes de cada matraz con los concentrados obtenidos y se transfirieron los volúmenes a viales de HPLC utilizando una pipeta Pasteur de vidrio. Luego, se lavaron dos veces más los matraces que contenían los concentrados con 0,4 ml de metanol 80% y se transfirieron los volúmenes obtenidos cada uno a su correspondiente vial de HPLC, luego de cada limpieza. Se ajustó el volumen final de cada extracto a 1 ml con metanol 80% y finalmente, se filtraron a través de filtros de centrifugación (tamaño de poro 0,45 µm, Millipore Ultrafree) con una centrifuga (Eppendorf 5415R) a 16.100 x g por 15 minutos a 4 °C. Luego del proceso de evaporación los concentrados obtenidos presentaban una cantidad considerable de materia orgánica, lo cual implicó el uso de un gran número de filtros de centrifugación para lograr la limpieza de los mismos y la consiguiente pérdida de extracto durante las sucesivas filtraciones, obteniéndose así un volumen final <0,5 ml de cada uno de ellos. A continuación, los extractos se transfirieron a viales de HPLC limpios y se almacenaron a -20 °C hasta su posterior lectura. No obstante, estos extractos debieron ser filtrados nuevamente a través de los filtros de centrifugación, debido a la formación en ellos de precipitados e inclusive la presencia de lípidos, lo cual impedía su lectura.

En segundo lugar, se experimentó utilizando HCl 0,1 M como solvente de extracción. Para ello, se colocó 1 g de la muestra fecal utilizada en el ensayo anteriormente descrito en un tubo para centrifuga de 50 ml y se añadió HCl 0,1 M en una proporción 1:8 (m/v) y NaCl (proporción = 2 g de NaCl: 1 g de muestra fecal); este último compuesto químico se agregó para facilitar la separación de fases. A continuación, se agitó la mezcla durante 2 minutos en un mezclador vórtex (Heidolph Reax top) y se sometió a la acción de ultrasonidos con un sonicador (Bandelin Sonopuls HD 2070) durante 8 minutos mediante 7 ciclos, al 96% de la potencia máxima. Este proceso de lisis celular se realizó en dos etapas, primero se llevó a cabo durante 4 minutos, se dejó enfriar la muestra durante 5 minutos y luego se realizó por los 4 minutos restantes. Posteriormente, se agitó la mezcla durante 2 minutos utilizando un vórtex y se centrifugó (Eppendorf 5810R) a 3.220 x g durante 20 minutos a 4 °C. Seguidamente, se transfirió el sobrenadante a un matraz con forma de corazón y se

conservó a 4 °C. A continuación, se añadió nuevamente HCl (1:8 m/v) al tubo para centrífuga que contenía la muestra fecal con NaCl y se repitió toda la metodología anteriormente descrita. El nuevo sobrenadante obtenido se transfirió a un matraz limpio con forma de corazón, de manera que se obtuvieron dos sobrenadantes. Luego, se evaporaron utilizando un rotavapor (Heidolph Rotary Evaporator, Laborota 4002). Se lavaron las paredes de cada matraz con los concentrados obtenidos y se transfirieron los volúmenes a viales de HPLC utilizando una pipeta Pasteur de vidrio. Luego, se lavaron dos veces más los matraces que contenían cada concentrado con 0,5 ml de HCl 0,1 M y se transfirieron los volúmenes obtenidos cada uno a su correspondiente vial de HPLC, luego de cada limpieza. Es necesario mencionar, que durante el proceso de evaporación se formaron precipitados de NaCl, lo cual dificultó la limpieza del matraz y la consiguiente obtención del concentrado. Por este motivo, el volumen final del concentrado obtenido fue muy variable entre las distintas extracciones. Razón por la cual, se dejaron evaporar bajo campana hasta obtener un volumen final de 1 ml de cada concentrado. Posteriormente, estos, se filtraron a través de filtros de centrifugación (tamaño de poro 0,45 µm, Millipore Ultrafree) con una centrífuga (Eppendorf 5415R) a 16.100 x g por 5-10 minutos (dependiendo de la suciedad del extracto) a 4 °C, luego se transfirieron a viales de HPLC limpios y se almacenaron a -20 °C hasta su posterior lectura.

Por último, los extractos obtenidos mediante las dos técnicas de extracción se midieron mediante LCMS/MS. Cabe aclarar que, en este caso, al igual que para la lectura de las toxinas PSP en el resto de las muestras fecales, se utilizó ese equipamiento debido a un desperfecto con el HPLC/FLD con oxidación post-columna ocasionado durante la medición de estas muestras. Si bien no se hallaron niveles detectables de toxinas PSP en los extractos obtenidos mediante las diferentes metodologías ensayadas, en esta tesis se optó por utilizar la metodología que emplea HCl como solvente de extracción. Las razones fueron que, los concentrados obtenidos mediante esta técnica quedaron más limpios luego del proceso de evaporación, como así también luego del almacenamiento anterior a su lectura, siendo esto una ventaja frente al otro método ensayado. No obstante, para la extracción de toxinas PSP acumuladas en las muestras fecales de ballenas se aplicó una modificación, ya que se utilizaron entre 0,58-4 g de muestra dependiendo de la cantidad disponible.

Por otro lado, con el propósito de conocer cuál era la metodología adecuada para la extracción de AD del material fecal de ballenas, en primera instancia, se tomaron cuatro muestras fecales elegidas al azar (BFA9, BFA11, BFA12 y BFA13, ver detalles en la Tabla 3.6). Se dejaron descongelar a temperatura ambiente y se colocaron 4 g de cada una de ellas en tubos para centrífuga de 50 ml y se añadió metanol 100% en una proporción 1:4 (m/v). A continuación, cada mezcla se agitó durante 2 minutos en un mezclador vórtex (Heidolph Reax top) y se sometió a la acción de ultrasonidos con un sonicador (Bandelin Sonopuls HD 2070) durante 8 minutos mediante 7 ciclos, al 96% de la potencia máxima. Este proceso se realizó en dos etapas, primero se llevó a cabo durante 4 minutos con cada una de las muestras y cuando se finalizó con todas ellas se comenzó nuevamente por la primera por 4 minutos más. Posteriormente, se agitó cada mezcla durante 2 minutos utilizando un vórtex y se centrifugó (Eppendorf 5810R) a  $3.220 \times g$  durante 20 minutos a  $4^\circ\text{C}$ . Luego, se transfirió cada sobrenadante a un matraz con forma de corazón y se conservó a  $4^\circ\text{C}$ . A continuación, se añadió nuevamente metanol 100% (proporción 1:4 m/v) al tubo para centrífuga que contenía cada muestra fecal y se repitieron todos los pasos anteriormente descritos. Cada nuevo sobrenadante obtenido se transfirió a un matraz limpio con forma de corazón, de manera que se obtuvieron dos sobrenadantes por cada muestra fecal. Luego, se evaporaron utilizando un rotavapor (Heidolph Rotary Evaporator, Laborota 4002) hasta obtener un volumen final de aproximadamente 0,5 ml. Se lavaron las paredes del matraz con los volúmenes obtenidos y se transfirieron a viales de LCMS utilizando una pipeta Pasteur de vidrio. Seguidamente, se lavaron dos veces los matraces que contenían los concentrados con 0,4 ml de metanol 100%, se transfirieron los volúmenes obtenidos cada uno a su correspondiente vial de LCMS, luego de cada limpieza y se ajustó el volumen final de cada uno a 1 ml con metanol 100%, obteniéndose dos concentrados por cada muestra fecal. Finalmente, se filtraron a través de filtros de centrifugación (tamaño de poro  $0,45 \mu\text{m}$ , Millipore Ultrafree) con una centrífuga (Eppendorf 5415R) a  $16.100 \times g$  por 5 minutos a  $4^\circ\text{C}$ , luego se transfirieron a viales de LCMS limpios y se midieron mediante LCMS/MS. En ambos extractos de cada muestra fecal se detectaron niveles muy elevados de AD, lo cual impidió la correcta cuantificación de esta toxina, por lo tanto se debió testear otra metodología.

Con el objetivo de realizar una extracción exhaustiva del AD presente en las muestras fecales de ballenas como así también, conocer el número de extracciones necesarias para alcanzar este objetivo, se tomaron tres fracciones de 9,6 mg, 10,8 mg y

12 mg respectivamente de la muestra fecal BFA9. Ésta era la que presentaba los mayores niveles de AD medidos a partir de los extractos obtenidos mediante la metodología descrita en el párrafo anterior. Luego, las fracciones mencionadas se colocaron dentro de crioviales los cuales contenían 0,9 g de perlas de cerámica (Lysing Matrix D, Thermo Savant). A continuación, se añadió 1 ml de metanol 100% a cada criovial y se homogeneizaron utilizando un homogeneizador mecánico FastPrep™ FP120 (Thermo BIO101) a  $6,5 \text{ m s}^{-1}$  durante 45 segundos. Posteriormente, se centrifugaron (Eppendorf 5415R) a  $16.100 \times g$  durante 10 minutos a  $4 \text{ }^\circ\text{C}$ , los sobrenadantes se filtraron a través de filtros de centrifugación ( $0,45 \text{ }\mu\text{m}$  tamaño de poro, Millipore Ultrafree) utilizando una centrífuga a  $16.100 \times g$  durante 5 minutos a  $4 \text{ }^\circ\text{C}$ . A continuación, se transfirieron los extractos a viales de LCMS con una micropipeta y se ajustó el volumen final a 1 ml. Seguidamente, se agregó 1 ml de metanol 100% a los viales que contenían las muestras y se repitieron todos los pasos anteriormente descritos. Esta metodología se realizó cuatro veces más con cada fracción de muestra fecal, obteniéndose de esta manera, cinco extractos de 1 ml de cada fracción. A continuación, los extractos obtenidos se transfirieron con una micropipeta a viales de LCMS limpios y se analizaron mediante LCMS/MS. Aunque la concentración de AD disminuyó entre las sucesivas extracciones, aún los niveles de esta neurotoxina medidos en los cinco extractos de cada una de las fracciones eran elevados, lo cual dificultaba su correcta cuantificación e impedía conocer la concentración total de esta toxina en la muestra. Por lo tanto, se realizaron 15 extracciones adicionales de cada una de las fracciones, siguiendo la metodología mencionada anteriormente, obteniéndose así 20 extractos de cada una de las fracciones (Figura 3.6). Si bien, los niveles de AD disminuyeron a través de las sucesivas extracciones en cada una de las réplicas, no se alcanzaron niveles de esta toxina por debajo del LD (límite de detección). Sin embargo, en las tres réplicas, se observó que a partir del décimo extracto los niveles de AD permanecieron prácticamente constantes. En consecuencia, la concentración de esta neurotoxina en la muestra fecal (BFA9) fue estimada sumando las concentraciones de AD en las primeras 10 extracciones de cada réplica y promediando luego las tres réplicas.

En tanto que, para conocer los niveles de AD presentes en el resto de las muestras fecales destinadas al análisis de esta toxina, sólo se realizaron dos extracciones de cada una de ellas, aplicando la metodología antes descrita y utilizando entre 9,8-12,5 mg de muestra fecal. De esta manera, se obtuvieron dos extractos por muestra y para estimar

los niveles de AD presentes en cada una de ellas se extrapoló a diez extracciones utilizando el porcentaje de extracción de la concentración media de AD del tercero al décimo extracto de la muestra BFA9.

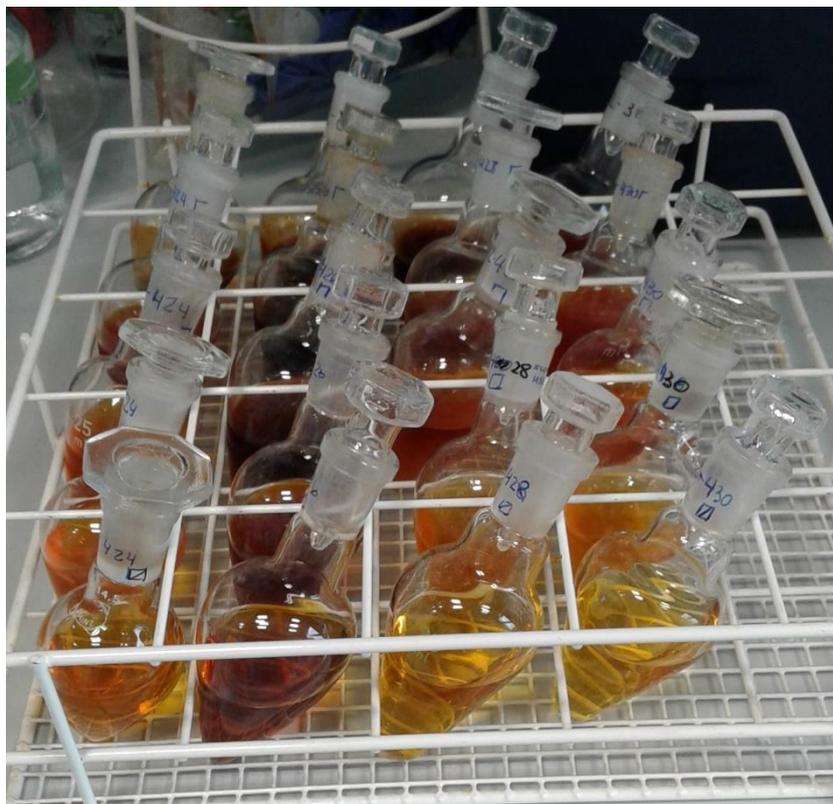


Figura 3.6: Extractos obtenidos para la determinación de AD a partir de las muestras fecales de individuos vivos y muertos de *E. australis* recolectadas en el Golfo Nuevo (GN).

### 3.3.5 Transferencia de biotoxinas marinas a través de la trama trófica

Con el propósito de analizar la transferencia de biotoxinas a través de la trama trófica en los golfos Nuevo y San José durante el período de estudio, se realizaron tablas y gráficos con los niveles medios de las toxinas PSP y AD hallados por fecha de muestreo en la columna de agua, en las muestras de fitoplancton y mesozooplancton, como así también en el material fecal de ballenas. Este último caso sólo para el GN, dado que como se mencionó anteriormente en la Sección 3.3.4.1, no se dispuso de muestras fecales de ballenas provenientes del GSJ.

## 3.4 Resultados

### 3.4.1 Biotoxinas disueltas en la columna de agua. Muestreos mediante SPATTs

No se hallaron toxinas PSP en los SPATTs situados en los golfos Nuevo y San José durante este estudio. En tanto que, los niveles de AD (en ng) adsorbidos por los SPATTs colocados en ambos golfos, por estación climática muestreada, se presentan en la Tabla 3.2. En ésta se detallan los valores medios  $\pm$  las desviaciones estándares y los máximos y mínimos de las concentraciones de AD medidos durante cada estación del año del período analizado. Mientras que, la Figura 3.7 a muestra las concentraciones medias de AD detectadas en los golfos Nuevo y San José por estación climática. Vale aclarar, que cuando el período de muestreo del SPATT comprendió dos estaciones climáticas, se consideró para su análisis aquélla en la cual el SPATT fue retirado. Esto se debe, a que los SPATTs son eficientes para la adsorción de toxinas por un período limitado de tiempo (entre 3 a 7 días) (MacKenzie et al., 2004). Después del cual, pueden producirse repetidas adsorciones y desorciones de las toxinas disueltas en la columna de agua. El límite de detección (LD) de la metodología fue de 1,97 ng AD/SPATT.

En el GN, se detectó AD en todos los SPATTs colocados durante el período de estudio (Tabla 3.2). En este golfo, la concentración media más baja de AD fue detectada durante el verano ( $4,33 \pm 1,59$  ng AD/SPATT) (Tabla 3.2 y Figura 3.7 a). Mientras que, la concentración media más elevada fue registrada durante la primavera ( $27,84 \pm 38,17$  ng AD/SPATT) (Tabla 3.2). Asimismo, se obtuvieron niveles elevados de AD durante el otoño, cuando la concentración media fue  $10,34 \pm 0,61$  ng AD/SPATT (Tabla 3.2 y Figura 3.7 a).

Con respecto al GSJ, se detectó AD en todos los SPATTs excepto en 1. Éste correspondió al período de muestreo 10/12/2014-23/01/2015 (verano) (Tabla 3.2). En este golfo, la concentración media más baja de AD fue detectada en otoño ( $5,04 \pm 2,02$  ng AD/SPATT), mientras que la más alta, al igual que en el GN, fue registrada durante la primavera ( $14,88 \pm 4,84$  ng AD/SPATT) (Tabla 3.2 y Figura 3.7 a). Los niveles de AD detectados durante el verano y el invierno, en el GSJ, fueron similares entre sí ( $8,16 \pm 11,55$  y  $8,75 \pm 4,82$  ng AD/SPATT verano e invierno, respectivamente) y mayores a los observados en el GN durante dichas estaciones del año (Tabla 3.2 y Figura 3.7 a).

Tabla 3.2. Niveles de AD (ng AD/SPATT) detectados en los SPATTs de los golfos Nuevo (GN) y San José (GSJ) presentados por estación climática. Se indican los valores medios, las desviaciones estándares (DE) y los valores máximos y mínimos. ND: no detectado. LD = 1,97 ng AD/SPATT.

<b>Concentración de ácido domoico (AD)</b>				
<b>Golfo Nuevo</b>			<b>Golfo San José</b>	
	<b>Período</b>	<b>ng AD/SPATT</b>	<b>Período</b>	<b>ng AD/SPATT</b>
<b>Verano</b>	02/12/2014-28/01/2015	3,20	10/12/2014-23/01/2015	ND
	28-01/2015-20/02/2015	5,45	26/11/2015-13/01/2016	16,33
	<b>Media ± DE</b>	<b>4,33 ± 1,59</b>	<b>Media ± DE</b>	<b>8,16 ± 11,55</b>
	<b>(Mín-Máx)</b>	<b>(3,20 - 5,45)</b>	<b>(Mín-Máx)</b>	<b>(ND - 16,33)</b>
<b>Otoño</b>	19/03/2015-23/04/2015	10,77	04/03/2015-10/04/2015	6,47
	23/04/2015-08/06/2015	9,90	10/04/2015-26/05/2015	3,61
	<b>Media ± DE</b>	<b>10,34 ± 0,61</b>	<b>Media ± DE</b>	<b>5,04 ± 2,02</b>
	<b>(Mín-Máx)</b>	<b>(9,90 - 10,77)</b>	<b>(Mín-Máx)</b>	<b>(3,61 - 6,47)</b>
<b>Invierno</b>	08/06/2015-29/07/2015	6,24	26/05/2015-03/07/2015	5,34
	29/07/2015-04/09/2015	5,82	03/07/2015-10/08/2015	12,16
	<b>Media ± DE</b>	<b>6,03 ± 0,29</b>	<b>Media ± DE</b>	<b>8,75 ± 4,82</b>
	<b>(Mín-Máx)</b>	<b>(5,82 - 6,24)</b>	<b>(Mín-Máx)</b>	<b>(5,34 - 12,16)</b>
<b>Primavera</b>	04/09/2015-09/10/2015	6,59	10/08/2015-24/09/2015	17,89
	09/10/2015-12/11/2015	5,02	24/09/2015-27/10/2015	9,29
	12/11/2015-21/12/2015	71,91	27/10/2015-26/11/2015	17,46
	<b>Media ± DE</b>	<b>27,84 ± 38,17</b>	<b>Media ± DE</b>	<b>14,88 ± 4,84</b>
	<b>(Mín-Máx)</b>	<b>(5,02 - 71,91)</b>	<b>(Mín-Máx)</b>	<b>(9,29 - 17,89)</b>

### 3.4.2 Biotoxinas producidas por el fitoplancton

En las Tablas 3.3 y 3.4 se presentan las concentraciones de toxinas PSP y AD respectivamente, en ng por lance de red (Net Tow, NT, por sus siglas en inglés; aproximadamente 21.150 litros de agua de mar filtrada) detectadas en el fitoplancton de cada sitio de muestreo de los golfos Nuevo y San José por estación climática. Asimismo, se detallan los valores medios ± los desvíos estándares, máximos y mínimos de estas toxinas hallados en las muestras por estación climática en cada uno de los golfos. En tanto, las Figuras 3.7 b y 3.7 c muestran las concentraciones medias de toxinas PSP y AD, respectivamente, detectadas en el fitoplancton de GN y GSJ por estación climática del período estudiado.

En ambos golfos las toxinas PSP estuvieron representadas por los pares de toxinas del grupo sulfocarbamoil C1 y C2 (C1/C2) y por las gonyautoxinas 2 y 3 (GTX2/GTX3). Debido a que cada uno de estos pares de moléculas son epímeros y pueden sufrir rápidas transformaciones entre sí (Teegarden et al., 2003), en este estudio,

para el análisis de las toxinas PSP, éstas fueron agrupadas. El LD de la metodología para las toxinas PSP fue 23,30 ng C1/C2/NT y 19,07 ng GTX2/GTX3/NT.

En líneas generales, en el GN, un número reducido de muestras de organismos fitoplanctónicos resultaron positivas para las toxinas PSP (Tabla 3.3). La concentración media más baja de las toxinas C1/C2, medida en este golfo, fue registrada durante la primavera ( $4,42 \pm 13,25$  ng C1/C2/NT) (Tabla 3.3 y Figura 3.7 b). Mientras que, los niveles más altos fueron encontrados durante el invierno, cuando la concentración media registrada fue  $22,49 \pm 19,75$  ng C1/C2/NT (Tabla 3.3). Las toxinas GTX2/GTX3 halladas en el fitoplancton, en cambio, mostraron un patrón opuesto en comparación con las toxinas C1/C2. Dado que en este golfo no fueron detectadas durante el invierno y presentaron la mayor concentración media durante la primavera ( $2,63 \pm 7,44$  ng GTX2/GTX3/NT) (Tabla 3.3 y Figura 3.7 b).

En cuanto al GSJ, los niveles de toxinas C1/C2 y GTX2/GTX3 hallados en los organismos fitoplanctónicos fueron mayores durante el invierno y la primavera en comparación con el GN. Mientras que, estas toxinas no fueron detectadas en el fitoplancton del GSJ durante el muestreo de verano (Tabla 3.3). Al igual que en el GN, en este golfo, se registró la concentración media más baja de toxinas C1/C2 durante la primavera ( $70,93 \pm 70,77$  ng C1/C2/NT) y la más alta durante el invierno ( $140,19 \pm 110,38$  ng C1/C2/NT) (Tabla 3.3 y Figura 3.7 b). En cambio, los niveles de toxinas GTX2/GTX3 en las muestras del GSJ mostraron un patrón opuesto al observado en el GN. Debido a que, la concentración media más baja de estas toxinas fue detectada durante la primavera ( $49,66 \pm 68,04$  ng GTX2/GTX3) y los niveles más elevados fueron detectados en el invierno, con una concentración media de  $155,08 \pm 112,03$  ng GTX2/GTX3/NT (Tabla 3.3 y Figura 3.7 b).

Con respecto al AD, el LD de la metodología fue 1,28 ng AD/NT (para las muestras colectadas desde diciembre de 2014 a junio de 2015 en el GN y enero de 2015 a mayo de 2015 en el GSJ) y 0,64 ng AD/NT (para el resto de las muestras en ambos golfos). En términos generales, se encontró que en el GN un reducido número de muestras resultaron positivas al AD; mientras que en el GSJ, sólo en 3 muestras esta neurotoxina no fue detectada (Tabla 3.4). En el fitoplancton del GN, la concentración media más baja fue registrada durante el verano ( $0,73 \pm 1,56$  ng AD/NT); mientras que la más alta fue medida durante la primavera ( $1.804,46 \pm 2.609,82$  ng AD/NT) (Tabla 3.4 y Figura 3.8 c). Coincidentemente, en la única fecha que se detectó AD durante la

primavera (muestreo del 09/10/2015), se registraron en los tres sitios de muestreo los niveles más altos de AD obtenidos durante este estudio en el fitoplancton (Tabla 3.4). Asimismo, se registraron niveles elevados de AD durante el otoño, con una concentración media de esta neurotoxina de  $381,43 \pm 494,15$  ng AD/NT (Tabla 3.4 y Figura 3.7 c).

En tanto que en las muestras de fitoplancton del GSJ, a diferencia de lo observado en el GN durante el período analizado, la concentración media más baja de AD fue registrada durante la primavera ( $21,70 \pm 29,57$  ng AD/NT). Inclusive, en el GSJ, los valores de AD detectados durante dicha estación fueron los más bajos registrados en el fitoplancton, en comparación con las otras estaciones del año (Tabla 3.4 y Figura 3.7 c). Sin embargo, durante la primavera en el fitoplancton del GSJ se detectó AD en todas las muestras, lo cual no ocurrió en el GN (Tabla 3.4). No obstante, en el resto de las estaciones del año (verano, otoño e invierno) los niveles de AD mostraron una tendencia igual que en el GN (Figura 3.7 c), registrándose concentraciones medias bajas en verano e invierno y altas durante el otoño (Figura 3.7 c). En efecto, las mayores concentraciones de AD en el fitoplancton del GSJ fueron detectadas durante el otoño, cuando la concentración media fue  $409,45 \pm 409,45$  ng AD/NT (Tabla 3.4). Cabe aclarar, que si bien en ambos golfos las concentraciones medias detectadas durante el invierno fueron bajas, éstas fueron mayores que las halladas durante el verano (Verano =  $0,73 \pm 1,56$  y  $46,78 \pm 46,06$  ng AD/NT GN y GSJ, respectivamente e Invierno =  $16,98 \pm 6,65$  y  $73,97 \pm 47,00$  ng AD/NT GN y GSJ, respectivamente) (Tabla 3.4).

Tabla 3.3. Concentración de toxinas PSP en el fitoplancton colectado en los golfos Nuevo (GN) y San José (GSJ) durante el período de estudio, presentada por estación climática. Se indican los valores medios  $\pm$  los desvíos estándares (DE) y los valores mínimos y máximos registrados en cada estación climática. SD (sin dato): no se dispone de muestra de fitoplancton; ND: no detectado; <LD (límite de detección): concentraciones de PSP menores que el límite de detección del método. LD: 23,30 ng C1/C2/NT y 22,27 ng GTX2/GTX3/NT.

Concentración de C1/C2 (ng C1/C2/NT)								
Golfo Nuevo					Golfo San José			
	Fecha	Sitio			Fecha	Sitio		
		1	2	3		1	2	3
Invierno	29/07/2015	ND	SD	SD	10/08/2015	265,63	97,01	57,93
	04/09/2015	37,04	30,43	SD				
	<b>Media <math>\pm</math> DE (Mín-Máx)</b>	<b>22,49 <math>\pm</math> 19,75 (ND - 37,04)</b>			<b>Media <math>\pm</math> DE (Mín-Máx)</b>	<b>140,19 <math>\pm</math> 110,38 (57,93 - 265,63)</b>		
Primavera	09/10/2015	ND	39,76	ND	24/09/2015	137,55	73,05	196,33
	12/11/2015	ND	ND	ND	27/10/2015	ND	ND	36,84
	21/12/2015	ND	ND	ND	26/11/2015	ND	63,79	130,82
	<b>Media <math>\pm</math> DE (Mín-Máx)</b>	<b>4,42 <math>\pm</math> 13,25 (ND - 39,76)</b>			<b>Media <math>\pm</math> DE (Mín-Máx)</b>	<b>70,93 <math>\pm</math> 70,77 (ND - 196,33)</b>		
Verano					13/01/2016	ND	ND	ND
					<b>Media <math>\pm</math> DE (Mín-Máx)</b>	<b>ND</b>		
Concentración de GTX2/GTX3 (ng GTX2/GTX3/NT)								
Golfo Nuevo					Golfo San José			
	Fecha	Sitio			Fecha	Sitio		
		1	2	3		1	2	3
Invierno	29/07/2015	ND	SD	SD	10/08/2015	282,69	109,60	72,94
	04/09/2015	<LD	<LD	SD				
	<b>Media <math>\pm</math> DE (Mín-Máx)</b>	<b>ND</b>			<b>Media <math>\pm</math> DE (Mín-Máx)</b>	<b>155,08 <math>\pm</math> 112,03 (72,94 - 282,69)</b>		
Primavera	09/10/2015	ND	21,04	ND	24/09/2015	88,33	27,44	209,82
	12/11/2015	<LD	ND	ND	27/10/2015	ND	ND	23,76
	21/12/2015	ND	ND	ND	26/11/2015	ND	23,08	74,53
	<b>Media <math>\pm</math> DE (Mín-Máx)</b>	<b>2,63 <math>\pm</math> 7,44 (ND - 21,04)</b>			<b>Media <math>\pm</math> DE (Mín-Máx)</b>	<b>49,66 <math>\pm</math> 68,04 (ND - 209,82)</b>		
Verano					13/01/2016	ND	ND	ND
					<b>Media <math>\pm</math> DE (Mín-Máx)</b>	<b>ND</b>		

Tabla 3.4. Concentración de ácido domoico (AD) en el fitoplancton recolectado en los golfos Nuevo (GN) y San José (GSJ) durante el período de estudio, presentada por estación climática. Se indican los valores medios  $\pm$  los desvíos estándares (DE) y los valores mínimos y máximos registrados en cada estación climática. SD (sin dato): no se dispone de muestra de fitoplancton; ND: no detectado; <LD (límite de detección): concentraciones de AD menores que el límite de detección del método. LD: 0,64 y 1,28 ng AD/NT.

Concentración de ácido domoico (AD) (ng AD/NT)								
Golfo Nuevo					Golfo San José			
	Fecha	Sitio			Fecha	Sitio		
		1	2	3		1	2	3
Verano	28/01/2015	1,47	ND	<LD	23/01/2015	50,20	22,76	19,51
	20/02/2015	ND	ND	ND	04/03/2015	1,28	<LD	<LD
	19/03/2015	ND	4,37	ND	13/01/2016	135,15	21,88	76,73
	<b>Media <math>\pm</math> DE (Mín-Máx)</b>		<b>0,73 <math>\pm</math> 1,56 (ND - 4,37)</b>			<b>Media <math>\pm</math> DE (Mín-Máx)</b>		<b>46,78 <math>\pm</math> 46,06 (&lt;LD - 135,15)</b>
Otoño	23/04/2015	407,02	309,49	1339,40	10/04/2015	3,86	14,68	ND
	08/06/2015	25,88	193,76	13,00	26/05/2015	132,64	204,16	1053,32
	<b>Media <math>\pm</math> DE (Mín-Máx)</b>		<b>381,43 <math>\pm</math> 494,15 (13,00 - 1339,40)</b>			<b>Media <math>\pm</math> DE (Mín-Máx)</b>		<b>409,45 <math>\pm</math> 409,45 (ND - 1053,32)</b>
Invierno	29/07/2015	<LD	SD	SD	03/07/2015	45,69	33,37	51,98
	04/09/2015	12,28	21,68	SD	10/08/2015	112,38	151,49	48,91
	<b>Media <math>\pm</math> DE (Mín-Máx)</b>		<b>16,98 <math>\pm</math> 6,65 (&lt;LD - 21,68)</b>			<b>Media <math>\pm</math> DE (Mín-Máx)</b>		<b>73,97 <math>\pm</math> 47,00 (33,37 - 151,49)</b>
Primavera	02/12/2014	ND	ND	ND	24/09/2015	3,48	17,67	13,56
	09/10/2015	5049,50	6138,61	3247,52	27/10/2015	8,07	1,18	1,72
	12/11/2015	<LD	ND	<LD	26/11/2015	8,02	87,62	53,96
	21/12/2015	<LD	ND	<LD				
	<b>Media <math>\pm</math> DE (Mín-Máx)</b>		<b>1804,46 <math>\pm</math> 2609,82 (ND - 6138,61)</b>			<b>Media <math>\pm</math> DE (Mín-Máx)</b>		<b>21,70 <math>\pm</math> 29,57 (1,18 - 87,62)</b>

### 3.4.3 Biotoxinas acumuladas por el mesozooplancton

Sólo dos muestras de mesozooplancton resultaron positivas para las toxinas GTX2/GTX3, con valores medios de 44,2 ng GTX2/GTX3/NT el 12/11/2015 en el sitio 1 del GN y 23,4 ng GTX2/GTX3/NT el 10/08/2015 en el sitio 1 del GSJ (datos no mostrados). Es necesario aclarar, que en el caso de las muestras de organismos mesozooplanctónicos cada lance de red (NT) correspondió a aproximadamente 84.620 litros de agua de mar filtrada. El LD de la metodología fue 22,27 ng GTX2/GTX3/NT. Además, en tres muestras del GN (04/09/2015, en el sitio 1 y 12/11/2015, en los sitios 1 y 2), como así también en dos muestras pertenecientes al GSJ (10/08/2015, en el sitio 1 y 24/09/2015, en el sitio 1) se detectaron niveles trazas de dc-GTX3 (decarbamoil-Gonyaulatoxina 3) (LD = 15 ng dc-GTX3/NT), mientras que el resto de las muestras fueron negativas para esta toxina (datos no mostrados).

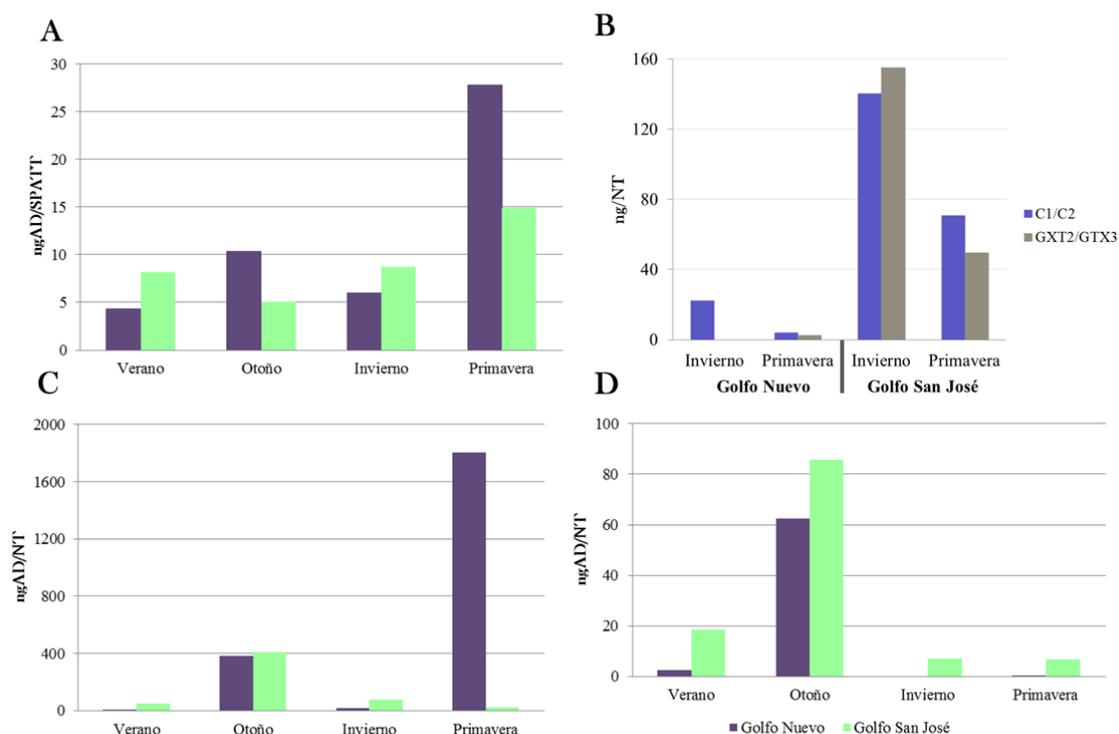
En cuanto al AD, en la Tabla 3.5 se presentan las concentraciones de esta neurotoxina en ng/NT, detectadas en el mesozooplancton en cada sitio de muestreo de los golfos Nuevo y San José por estación climática. Asimismo, se detallan los valores medios  $\pm$  los desvíos estándares, máximos y mínimos de AD medidos en las muestras por estación del año en cada uno de los golfos. En tanto que, en la Figura 3.7 d se muestran las concentraciones medias de AD detectadas en los organismos mesozooplanctónicos de los golfos Nuevo y San José por estación climática del período analizado. El LD de la metodología fue 1,28 ng AD/NT (para las muestras colectadas desde diciembre de 2014 a junio de 2015 en el GN y enero de 2015 a mayo de 2015 en el GSJ) y 0,64 ng AD/NT (para el resto de las muestras de ambos golfos).

En el GN un escaso número de muestras de mesozooplancton fueron positivas para el AD. Las concentraciones de esta neurotoxina oscilaron entre no detectado a 138,23 ng AD/NT, en consecuencia, los niveles medios de AD fueron bajos a lo largo de las estaciones climáticas analizadas (Tabla 3.5). En cambio en el GSJ, se detectó AD en un mayor número de muestras, con concentraciones que oscilaron entre no detectado a 229,26 ng AD/NT, obteniéndose, de esta manera, niveles medios de AD superiores para todas las estaciones del año en comparación con el GN (Tabla 3.5).

En líneas generales, en ambos golfos, la concentración media de AD acumulada en los organismos mesozooplanctónicos en cada una de las estaciones climáticas siguió un patrón similar (Tabla 3.5 y Figura 3.7 d). Registrándose, los niveles medios más

altos de esta neurotoxina en el otoño en ambos golfos ( $62,53 \pm 45,16$  y  $85,64 \pm 90,32$  ng AD/NT, GN y GSJ respectivamente) y concentraciones medias más bajas el resto de las estaciones (Tabla 3.5 y Figura 3.7 d). Las concentraciones medias más bajas fueron registradas durante el invierno en el GN y en la primavera en el GSJ (no detectado y  $6,67 \pm 6,89$  ng AD/NT, respectivamente) (Tabla 3.5 y Figura 3.7 d).

Si bien en GSJ los niveles medios de AD registrados en el mesozooplankton durante el invierno y la primavera fueron bajos en comparación con el resto de las estaciones (verano y otoño), se observó que durante el invierno, la concentración media de AD acumulada por estos organismos fue levemente superior a la registrada durante la primavera ( $6,98 \pm 7,95$  y  $6,67 \pm 6,89$  ng AD/NT, respectivamente) (Tabla 3.5).



**Figura 3.7:** Concentración media de toxinas detectada en los golfos Nuevo (GN) y San José (GSJ) por estación climática. A) AD en los SPATs (ng AD/SPATT) (los desvíos estándares por estación climática se presentan en la Tabla 3.2), B) toxinas PSP en el fitoplancton (ng PSP/NT) (los desvíos estándares por estación climática se presentan en la Tabla 3.3), C) AD en el fitoplancton (ng AD/NT) (los desvíos estándares por estación climática se presentan en la Tabla 3.4) y D) toxinas PSP en el mesozooplankton (ng/NT) (los desvíos estándares por estación climática se presentan en la Tabla 3.5).

**Tabla 3.5. Concentración de ácido domoico (AD) en el mesozooplancton recolectado en los golfos Nuevo (GN) y San José (GSJ) durante el período de estudio, presentada por estación climática. Se indican los valores medios  $\pm$  los desvíos estándares (DE) y los valores mínimos y máximos registrados en cada estación climática. SD (sin dato): no se dispone de muestra de mesozooplancton; ND: no detectado; <LD (límite de detección): concentraciones de AD menores que el límite de detección del método. LD: 0,64 y 1,28 ng AD/NT.**

Concentración de ácido domoico (AD) (ng AD/NT)								
Golfo Nuevo					Golfo San José			
	Fecha	Sitio			Fecha	Sitio		
		1	2	3		1	2	3
Verano	28/01/2015	<LD	2,39	0,00	23/01/2015	36,15	20,42	14,95
	20/02/2015	ND	ND	ND	04/03/2015	ND	ND	29,52
	19/03/2015	12,70	<LD	<LD	13/01/2016	47,67	12,08	6,58
	<b>Media <math>\pm</math> DE (Mín-Máx)</b>		<b>2,52 <math>\pm</math> 5,08 (ND - 12,70)</b>			<b>Media <math>\pm</math> DE (Mín-Máx)</b>		<b>18,60 <math>\pm</math> 16,46 (ND - 47,67)</b>
Otoño	23/04/2015	30,56	72,17	138,23	10/04/2015	12,95	<LD	1,34
	08/06/2015	84,01	31,83	18,40	26/05/2015	120,55	64,11	229,26
	<b>Media <math>\pm</math> DE (Mín-Máx)</b>		<b>62,53 <math>\pm</math> 45,16 (18,40 - 138,23)</b>			<b>Media <math>\pm</math> DE (Mín-Máx)</b>		<b>85,64 <math>\pm</math> 90,32 (&lt;LD - 229,26)</b>
Invierno	29/07/2015	ND	SD	SD	03/07/2015	7,18	21,34	9,75
	04/09/2015	ND	ND	SD	10/08/2015	ND	1,82	1,77
	<b>Media <math>\pm</math> DE (Mín-Máx)</b>		<b>ND</b>			<b>Media <math>\pm</math> DE (Mín-Máx)</b>		<b>6,98 <math>\pm</math> 7,95 (ND - 21,34)</b>
Primavera	02/12/2014	ND	ND	ND	24/09/2015	0,69	ND	ND
	12/11/2015	ND	ND	0,71	27/10/2015	4,71	8,91	10,99
	21/12/2015	ND	<LD	<LD	26/11/2015	1,48	17,92	15,30
	<b>Media <math>\pm</math> DE (Mín-Máx)</b>		<b>0,10 <math>\pm</math> 0,27 (ND - 0,71)</b>			<b>Media <math>\pm</math> DE (Mín-Máx)</b>		<b>6,67 <math>\pm</math> 6,89 (ND - 17,92)</b>

### 3.4.4 Biotoxinas contenidas en las muestras fecales de ballenas

No se detectaron toxinas PSP en las muestras fecales de ballenas analizadas en este estudio. En tanto que, en la Tabla 3.6 se muestran las concentraciones de AD en  $\mu\text{g/g}$  de muestra fecal analizada (peso seco). Asimismo, se detallan los sitios y fechas de recolección de las muestras fecales, el estado vital de los animales que las originaron (vivos o muertos) y las clases de edades (adultos o juveniles). La edad y el sexo del individuo, en el caso de ballenas muertas, fueron determinados a través de las necropsias. En cambio, en animales vivos, la clase etaria, se determinó mediante el tamaño del ejemplar. En los casos en que se logró confirmar el sexo del individuo vivo, éste se determinó conociendo que las ballenas forman grupos madre-cría, por consiguiente cuando el individuo estaba acompañado de una cría, el mismo fue identificado como una hembra adulta. El límite de detección de la metodología fue  $0,11 \mu\text{g AD/g}$  de muestra fecal (peso seco).

No se detectó AD en las muestras colectadas durante la temporada de ballenas 2013 ( $n = 3$ ) provenientes de animales muertos (Tabla 3.6). En cuanto a las muestras fecales obtenidas durante la temporada 2014 ( $n = 7$ ), sólo una muestra presentó niveles detectables de AD (BFA9), la cual fue recolectada el 19/11/2014 y pertenecía a una hembra adulta viva (Tabla 3.6). Como se mencionó anteriormente en la Sección 3.3.4.2, en esta muestra se encontró la mayor concentración de AD detectada en este estudio en las muestras fecales de ballenas ( $707,62 \pm 74,56 \mu\text{g AD/g}$  peso seco de muestra fecal,  $n=3$ ) (Tabla 3.6). En tanto que las muestras pertenecientes a la temporada de ballenas 2015, todas excepto una, presentaron niveles detectables de AD ( $n = 4$ ) (Tabla 3.6). La concentración más baja en la temporada 2015 se registró en un individuo adulto vivo (BFA13), que mostraba un comportamiento de alimentación en superficie en Bahía Pirámide (BP, Golfo Nuevo), el 15/11/2015 ( $0,31 \mu\text{g AD/g}$  peso seco de muestra fecal) (Tabla 3.6). El nivel más alto de AD, durante la misma temporada, también fue medido en una muestra originada por un individuo adulto en BP el 28/10/2015 (BFA12,  $9,07 \mu\text{g AD/g}$  peso seco de muestra fecal) (Tabla 3.6).

**Tabla 3.6:** Niveles de ácido domoico (AD) en muestras fecales de *E. australis* recolectadas durante las temporadas de ballenas 2013, 2014 y 2015 en el Golfo Nuevo (GN). BP: Bahía Pirámide; SD: Sin datos; <LD: (límite de detección): concentraciones de AD menores que el límite de detección del método. LD = 0,11 µg AD/g peso seco de muestra fecal.

ID	Sitio de recolección	Fecha de recolección	Estado	Clase de edad	AD (µg/g)
BFA1	GN	29/07/2013	Muerto	SD	<LD
BFA2	GN	06/10/2013	Muerto	SD	<LD
BFA3	GN	09/12/2013	Muerto	SD	<LD
BFA4	BP (GN)	18/09/2014	Vivo	Hembra adulta	<LD
BFA5	BP (GN)	27/09/2014	Vivo	Hembra adulta	<LD
BFA6	Playa Kaiser (GN)	05/10/2014	Muerto	Macho Juvenil	<LD
BFA7	BP (GN)	13/10/2014	Vivo	Hembra adulta	<LD
BFA8	BP (GN)	17/11/2014	Vivo	Hembra adulta	<LD
BFA9	BP (GN)	19/11/2014	Vivo	Hembra adulta	707,62 ± 74,56
BFA10	BP (GN)	22/11/2014	Vivo	Hembra adulta	<LD
BFA11	Pta. Piaggio (GN)	11/10/2015	Vivo	Juvenil	1,02
BFA12	BP (GN)	28/10/2015	Vivo	Adulto	9,07
BFA13	BP (GN)	15/11/2015	Vivo	Adulto <sup>a</sup>	0,31
BFA14	BP (GN)	15/12/2015	Vivo	Hembra adulta	<LD

<sup>a</sup> Individuo alimentándose por filtración en superficie

### 3.4.5 Biotoxinas transferidas a través de la trama trófica

En la Tabla 3.7 se presentan los niveles promedio ± desvíos estándares de las toxinas PSP hallados en el fitoplancton y el mesozooplancton de los golfos Nuevo y San José por fecha muestreada. En el GN, no se detectaron toxinas PSP en las muestras de fitoplancton y mesozooplancton recolectadas en la misma fecha de muestreo (Tabla 3.7). En cuanto al GSJ, sólo se detectaron toxinas PSP en ambos tipos de muestras el 10/08/2015, siendo las concentraciones promedio en el fitoplancton de 140,19 ng C1/C2/NT y 155,08 ng GT2/GTX3/NT y en el mesozooplancton de 7,80 ng GTX2/GTX3/NT (Tabla 3.7). Es necesario aclarar que debido al tratamiento que se le aplicó a los datos para este análisis, mediante el cual se calcularon las concentraciones medias por fecha de muestreo de toxinas PSP y AD en el plancton de los golfos Nuevo y San José, en ciertas ocasiones los valores de toxicidad presentados son menores al LD del método. Sin embargo, esto sólo es producto del procesamiento de los resultados y no significa una falta de detección de la toxina en particular. El límite de detección de cada metodología fue mencionado en las secciones dedicadas al análisis de toxicidad de cada tipo de muestra.

**Tabla 3.7. Concentraciones medias  $\pm$  los desvíos estándares (entre paréntesis) de toxinas PSP detectadas en el fitoplancton y el mesozooplancton de los golfos Nuevo y San José por fecha de muestreo. ND: no detectado.**

Golfo Nuevo				Golfo San José			
Fecha	Fitoplancton		Mesozooplancton	Fecha	Fitoplancton		Mesozooplancton
	C1/C2 (ng/NT)	GTX2/GTX3 (ng/NT)	GTX2/GTX3 (ng/NT)		C1/C2 (ng/NT)	GTX2/GTX3 (ng/NT)	GTX2/GTX3 (ng/NT)
29/07/2015	ND	ND	ND	10/08/2015	140,19 ( $\pm$ 110,38)	155,08 ( $\pm$ 112,15)	7,80 ( $\pm$ 16,55)
04/09/2015	33,73 ( $\pm$ 4,70)	ND	ND	24/09/2015	135,64 ( $\pm$ 61,66)	108,53 ( $\pm$ 92,85)	ND
09/10/2015	13,25 ( $\pm$ 23,00)	7,01 ( $\pm$ 12,15)	ND	27/10/2015	12,28 ( $\pm$ 21,27)	7,92 ( $\pm$ 13,71)	ND
12/11/2015	ND	ND	14,74 ( $\pm$ 25,52)	26/11/2015	64,87 ( $\pm$ 65,42)	32,54 ( $\pm$ 38,16)	ND
21/12/2015	ND	ND	ND	13/01/2016	ND	ND	ND

La Figura 3.8 muestra los niveles de AD adsorbidos por los SPATTs, como así también, la concentración promedio de esta toxina detectada en las muestras de fitoplancton y mesozooplancton por fecha de muestreo en los golfos Nuevo y San José y la concentración de AD hallada en las muestras fecales de ballenas, en este último caso sólo para el GN. Nuevamente, para el análisis del período de muestreo de los SPATTs se tomó en cuenta la fecha en que estos muestreadores fueron retirados del sitio.

En el GN, se detectó AD en las muestras de fitoplancton y mesozooplancton de la misma fecha excepto en dos oportunidades, el 04/09/2015 cuando la concentración media registrada en el fitoplancton fue 16,98 ng AD/NT, mientras que en las muestras de mesozooplancton esta toxina no fue detectada y el 12/11/2015, donde se halló AD en las muestras de mesozooplancton (concentración media 0,24 ng AD/NT) y este no fue registrado en el fitoplancton (Figura 3.8 a). En tanto que en las fechas anteriormente mencionadas, se detectó AD en los SPATTs con concentraciones de 5,82 ng AD/SPATT y 5,02 ng AD/SPATT para el 04/09/2015 y el 12/11/2015, respectivamente (Tabla 3.2, Sección 3.4.1).

Los niveles más altos de esta neurotoxina, en el GN, considerando la concentración retenida en los SPATTs y las muestras de plancton, se obtuvieron el 23/04/2015, registrándose concentraciones de AD de 10,77 ng AD/SPATT, 685,31 ng AD/NT y 80,32 ng AD/NT en el SPATT, en el fitoplancton y en el mesozooplancton, respectivamente y el 08/06/2015, cuando las concentraciones halladas, considerando los tres tipos de muestras, fueron 9,9 ng AD/SPATT, 77,55 ng AD/NT y 44,75 ng AD/NT,

respectivamente (Figura 3.8 a). No obstante, como se observa en la Figura 3.8 a, los mayores niveles de AD registrados en este estudio, corresponden a las muestras de fitoplancton del 09/10/2015 (concentración media = 4.811,88 ng AD/NT). Sin embargo, durante dicho muestreo no se obtuvieron muestras de mesozooplancton, debido a la gran abundancia de fitoplancton con características de *bloom* en los tres sitios de muestreo (densidad promedio de *P. australis* =  $2,7 \times 10^5$  cél l<sup>-1</sup>, ver Sección 2.4.2.1, Capítulo 2), lo que saturó la red utilizada para la recolección de organismos mesozooplanctónicos provocando la contaminación de estas muestras (Figura 3.3, Sección 3.3.3.1). Sin embargo, en las muestras fecales de ballenas recolectadas en fechas cercanas a ese evento, se encontró que éstas fueron positivas al AD, registrándose en ellas importantes niveles de esta neurotoxina (BFA11 = 1,02 µg AD/g peso seco recolectada el 11/10/2015 y BFA12 = 9,07 µg AD/g peso seco recolectada el 28/10/2015) (Tabla 3.6, Sección 3.4.4 y Figura 3.8 a). Asimismo, se detectó AD en una muestra fecal de un individuo adulto (BFA13) que se estaba alimentando mediante filtración en superficie en BP el 15/11/2015 (0,31 µg AD/g peso seco, Tabla 3.6, Sección 3.4.4), siendo la fecha de recolección de esta muestra cercana al muestreo del 12/11/2015, en el cual, como se mencionó en el párrafo anterior se detectó una concentración media de AD en el mesozooplancton de 0,24 ng AD/NT y de 5,02 ng AD/SPATT en el SPATT (Figura 3.8 a).

Si bien la mayor concentración de AD registrada en este estudio en las muestras fecales de ballenas corresponde a la muestra del 19/11/2014 ( $707,62 \pm 74,56$  µg AD/g peso seco, Tabla 3.6, Sección 4.4.4 y Figura 3.8 a), al no contar con muestras de SPATTs, fitoplancton y mesozooplancton de ese período, no se pudo conocer si el patrón seguido por el AD los días cercanos a la obtención de la muestra fecal analizada fue similar. Sin embargo, las muestras de fitoplancton y mesozooplancton colectadas aproximadamente dos semanas después (02/12/2014) resultaron negativas al AD (Figura 3.8 a).

Por otro lado en el GSJ, se detectó AD en todas las muestras de fitoplancton y mesozooplancton del mismo período analizado (Figura 3.8 b). Los niveles más altos registrados en ambos tipos de muestra fueron medidos el 26/05/2015, con concentraciones de AD de 463,37 ng AD/NT y 137,97 ng AD/NT en el fitoplancton y el mesozooplancton, respectivamente. Mientras que en el SPATT de esa fecha de

muestreo se detectó la concentración más bajas de AD (3,61 ng AD/SPATT, Tabla 3.2, Sección 3.4.1).

Excepto en 3 fechas (04/03/2015, 10/04/2015 y 27/10/2015) los niveles medios mensuales de AD detectados en el fitoplancton fueron superiores a los medidos en el mesozooplancton para el mismo período (Figura 3.8 b). En tanto que los niveles de AD detectados en los SPATTs durante dichas fechas fueron superiores a los registrados en el fitoplancton (Figura 3.8 b).

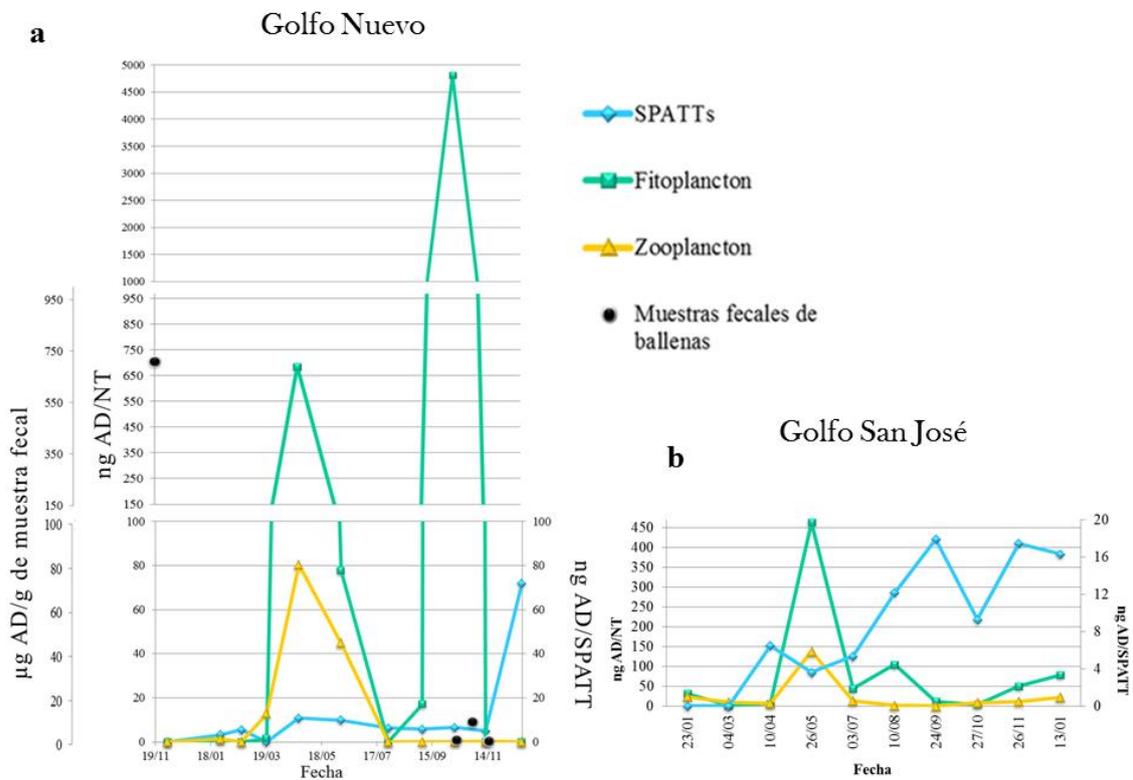


Figura 3.8: a) Concentraciones medias presentadas por fecha de muestreo de ácido domoico (AD) detectados en los SPATTs, en el fitoplancton y en el mesozooplancton de los golfos Nuevo (GN) y San José (GSJ) y en las muestras fecales de ballenas colectadas en el GN. Período analizado en el GN: 19/11/2014 - 21/12/2015 y en el GSJ: 23/01/2015 -13/01/2016.

## 3.5 Discusión

### 3.5.1 Toxinas PSP y AD disueltos en la columna de agua

Este es el primer estudio en el cual se utilizan SPATTs (Solid Phase Adsorption Toxin Tracking) para determinar las toxinas PSP y el AD disueltos en la columna de agua de los golfos Nuevo y San José. Se ha sugerido, que estos muestreadores pasivos tienen el potencial para actuar como un método de detección temprana de los eventos de intoxicación y de la acumulación de biotoxinas marinas en especies centinelas de moluscos (MacKenzie et al., 2004; Rodríguez et al., 2011).

Durante el período analizado en esta tesis (diciembre de 2014 a diciembre de 2015 en el GN y enero de 2015 a enero de 2016 en el GSJ), no se detectaron toxinas PSP en los SPATTs situados en los golfos Nuevo y San José. Sin embargo, cabe mencionar que, entre los meses de enero a marzo de 2015, como así también en diciembre de ese mismo año se establecieron vedas por parte del Plan Provincial de Marea Roja a la recolección y consumo de moluscos bivalvos y gasterópodos en todo el litoral de la Provincia del Chubut, debido a la detección de elevadas concentraciones de la especie *A. tamarense* (desde enero a marzo de 2015) y de valores superiores a las 400 UR de toxinas PSP en muestras de moluscos bivalvos (desde diciembre de 2015 a enero 2016)

Se ha señalado, que las toxinas PSP son probablemente las más difíciles de detectar en la columna de agua debido, principalmente, a su alto carácter hidrofílico (Chan et al., 2005). Sin embargo, Lane et al. (2010); han documentado la adsorción de toxinas PSP disueltas en la columna de agua mediante SPATTs contruidos con resina HP20 (la misma que se utilizó en este estudio) y colocados en las costas de California, donde estos fueron reemplazados semanalmente. Según estos autores, las concentraciones de las toxinas PSP adsorbidas por los SPATTs siguieron el mismo patrón que el de las densidades celulares de *A. catenella* (un dinoflagelado productor de toxinas PSP), como así también el de los niveles de estas toxinas medidos en mejillones. Como se mencionó en la Sección 3.3.1.2, en esta tesis se utilizó un protocolo de extracción diferente al empleado por Lane et al. (2010); el aquí utilizado fue una modificación del aplicado por Rodríguez et al. (2011). Éste resultó ser eficiente en la extracción de toxinas PSP durante la etapa de experimentación para determinar la metodología que se utilizaría en el presente estudio para la extracción de este grupo de toxinas desde los SPATTs. Sin embargo la desventaja de nuestro trabajo, radica

principalmente en el hecho de que estos muestreadores fueron reemplazados con una frecuencia aproximadamente mensual, lo cual es un período de tiempo demasiado extenso para obtener un muestreo eficaz de toxinas a través del empleo de SPATTs. Por lo tanto no debería descartarse la pérdida de estas toxinas desde estos muestreadores, teniendo en cuenta que durante el período de estudio se detectaron densidades elevadas de *A. tamarense*, como así también, concentraciones de toxinas PSP superiores a 400 UR, lo que llevó a establecer vedas en el área. Esa pérdida, posiblemente se debió a la desorción de las toxinas luego que la concentración de las mismas disminuyera en la columna de agua. Asimismo, es importante mencionar que, en varias fechas de muestreo, tanto en el GN como en el GSJ se observó que los SPATTs estaban cubiertos de organismos marinos. Por lo tanto, la adhesión de estos organismos a la malla de 95  $\mu\text{m}$  que contenía la resina pudo ocasionar la obstrucción de los poros evitando, en esas fechas, la adsorción de las toxinas PSP.

Respecto al AD, esta neurotoxina fue detectada en todos los SPATTs colocados en los golfos Nuevo y San José excepto en el mes de enero de 2015 en esta última área. Esto último coincide con el único dato reportado por el Plan Provincial de Marea Roja para las toxinas ASP en enero de 2015, el cual documenta la ausencia de esta neurotoxina en muestras de mejillón procedentes del GSJ. Mientras que, el resto del año no se realizaron determinaciones para estas toxinas en el área de estudio (N. Santinelli, comunicación personal). Si bien en estos golfos hasta la fecha no se han documentado eventos de intoxicación de personas ni animales marinos producidos por el AD, los resultados de esta tesis demuestran la necesidad de ejecutar un monitoreo continuo de estas toxinas en el área de estudio. Más aun, esta sugerencia se justifica ampliamente considerando las floraciones de especies de *Pseudo-nitzschia* potencialmente productoras de AD que ocurren en el área, como así también la relevancia de la problemática que estas toxinas representan a nivel mundial.

Diferentes autores han documentado la presencia de biotoxinas marinas en SPATTs, las cuales no fueron detectadas en el área de estudio mediante los métodos convencionales de monitoreo (Garnett et al., 2006; Takahashi, 2007; Turrell et al., 2007; Lane et al., 2010). Por esto, varios autores han indicado que el monitoreo de las biotoxinas marinas únicamente a través de los métodos tradicionales, en ocasiones, no es suficiente para analizar de manera adecuada su transferencia hacia los niveles tróficos superiores (Lane et al., 2010; MacKenzie et al., 2004; McCarthy et al., 2015). Por

ejemplo, en un evento de mortalidad masiva de lobos marinos de California (*Zalophus californianus*, aproximadamente 400 individuos muertos) causada por el AD producido durante una floración de *Pseudo-nitzschia australis* en las costas de California, esta neurotoxina fue detectada en el fitoplancton, en la anchoveta (*Engraulis mordax*) y en muestras de los lobos marinos; sin embargo, no se detectó AD o sus niveles fueron muy bajos en los mejillones recolectados simultáneamente en el sitio (Schollin et al., 2000).

En el presente estudio, los niveles más altos de AD detectados en los SPATTs situados en los golfos Nuevo y San José durante el período analizado, fueron medidos durante la primavera. Sin embargo, como se mencionó anteriormente, teniendo en cuenta el tiempo de permanencia de los SPATTs en cada uno de golfos no debería descartarse la pérdida de AD por desorción ni por la incrustación a la malla de organismos del medio lo cual, pudo ocasionar, en el caso de esta toxina, la subestimación de la misma.

Si bien la implementación de SPATTs en los golfos Nuevo y San José resultó ser una herramienta útil, que permitió detectar la presencia de AD durante todo el año en el área de estudio, futuras investigaciones deberían considerar el reemplazo de estos muestreadores semanalmente. Lo cual, reduciría la desorción de las toxinas adsorbidas y conduciría a la detección de toxinas altamente polares como lo son las PSP. Asimismo, profundizaría el conocimiento de las toxinas presentes en estos golfos, su persistencia en el ambiente y duración de los episodios tóxicos.

### **3.5.2 Biotoxinas producidas por el fitoplancton**

Tanto en el GN como en el GSJ se encontró que las toxinas PSP, producidas por organismos fitoplanctónicos, estuvieron representadas únicamente por los epímeros C1/C2 y GTX2/GTX3, siendo los niveles de estas toxinas más elevados en el GSJ durante las estaciones climáticas estudiadas en ambos golfos (invierno y primavera). En tanto que en la única fecha muestreada durante el verano en el GSJ, no se hallaron toxinas PSP. Se ha señalado que de estas neurotoxinas, las gonyautoxinas (GTXs) tienen una toxicidad intermedia comparadas con la STX, mientras que las toxinas del grupo sulfocarbamoil (toxinas C) son las menos tóxicas (Kwong et al., 2006).

La obtención de niveles de toxinas C1/C2 mayores a los de las toxinas GTX2/GTX3 como se detectó en el presente estudio en el GN y en la primavera en el GSJ, se contrapone a lo registrado por otros autores (Reyero et al., 1998; Andrinolo et

al., 1999a) para los perfiles de las toxinas PSP hallados a partir de muestras de fitoplancton de los golfos Nuevo y San José. Estos autores encontraron niveles trazas de toxinas C1/C2 o inclusive éstas no fueron detectadas en las muestras analizadas en esos estudios. A su vez, estos han documentado que los perfiles de las toxinas PSP, estaban dominados casi exclusivamente por GTX1/GTX4, en tanto que las toxinas GTX2/GTX3 y STX fueron registradas en bajas concentraciones. Esta dominancia de toxinas epímeras GTX1/GTX4 en muestras provenientes de los golfos Nuevo y San José también fue registrada en un estudio llevado a cabo durante el invierno y la primavera de 2010 (Cadaillón, 2012). Este mismo autor registró, además, niveles trazas de GTX2/GTX3. Por lo expuesto, los resultados de Cadaillón (2012), también difieren de los hallados en esta tesis para las mismas estaciones climáticas analizadas.

Asimismo, contrariamente a lo registrado en este trabajo, varios autores han reportado la ausencia de toxinas C1/C2 o la detección de niveles bajos de estos epímeros en comparación con las toxinas GTX2/GTX3 en poblaciones naturales de *A. tamarense* del Mar Argentino (Carreto et al., 2001; Montoya et al., 2010; Krock et al., 2015). Según estos autores, los perfiles de las toxinas PSP obtenidos a partir del análisis de las muestras de este dinoflagelado, estaban dominados por los epímeros GTX2/GTX3 e incluso Krock, et al. (2015) encontraron únicamente estas toxinas y trazas de STX. No obstante, Montoya et al. (2010) y Krock et al. (2015) reportaron la presencia de niveles elevados de toxinas C1/C2 seguidos de los epímeros GTX1/GTX4, en cepas cultivadas de *A. tamarense* que fueron aisladas de la misma zona donde fueron muestreadas las poblaciones naturales de este dinoflagelado. Estas diferencias en cuanto a los niveles de las toxinas epímeras C1/C2 entre células de *A. tamarense* naturales y cultivadas halladas por estos autores, como así también por otros (Oshima et al., 1992; Anderson et al., 1996), condujo a la hipótesis de que la producción de toxinas de este dinoflagelado cambia de acuerdo a si se lo estudia en condiciones naturales o de laboratorio (Andrinolo et al., 1999b; Montoya et al., 2010). Sin embargo, los resultados obtenidos en nuestro estudio demuestran que este dinoflagelado es capaz de sintetizar elevados niveles de las toxinas epímeras C1/C2 también en condiciones naturales. Otra posible explicación a la ausencia de toxinas C1/C2 considera el tiempo que transcurre entre la recolección de la muestra en el sitio de estudio y su análisis de toxicidad en el laboratorio, el cual sería suficiente para la conversión química de las toxinas sulfocarbamoil (toxinas C) a gonyautoxinas (GTXs) (Santinelli et al., 2002; Krock et al., 2015). En su trabajo Krock et al. (2015) señalan que la detección de únicamente

toxinas GTX2/GTX3 probablemente estuvo asociada a la transformación de las toxinas C1/C2, la cual pudo haber ocurrido dentro de los tres meses que aconteció entre la recolección de las muestras de *A. tamarense* en el área de estudio y su análisis de toxicidad. En tanto que en el presente estudio este período de tiempo, en ocasiones, fue aún mayor, debido a que entre la recolección de la muestra en los golfos hasta su análisis de toxicidad en el laboratorio transcurrieron aproximadamente entre 1 mes (para las muestras colectadas en enero de 2016) a 7 meses (para las muestras colectadas en julio de 2015). Si bien a partir de nuestros resultados no se descarta que dicha transformación ocurra, a diferencia de lo registrado por los autores antes mencionados, en este estudio se detectaron ambas toxinas; e inclusive en las muestras de GSJ que permanecieron más tiempo sin analizar (6 y 5 meses, para las muestras colectadas en agosto y septiembre de 2015 respectivamente) se registraron los mayores niveles de toxinas C1/C2.

Por otro lado, el presente estudio representa el análisis más completo realizado hasta la fecha sobre la dinámica del AD producido por los organismos fitoplanctónicos en los golfos Nuevo y San José, el cual pone de manifiesto la presencia de esta neurotoxina durante todas las estaciones del año en el área. Es importante remarcar que, durante el período analizado en este estudio las toxinas ASP no fueron monitoreadas por el Plan Provincial de Marea Roja, excepto en una oportunidad en enero de 2015 en el GSJ donde no se detectó AD en muestras de mejillones, a través de los análisis realizados por el ente provincial. En contraste, bajas concentraciones de esta toxina fueron halladas en el presente estudio mediante el análisis del fitoplancton recolectado en los tres sitios de muestreo del GSJ en enero de 2015.

A partir del análisis de los organismos fitoplanctónicos, en este estudio, se observó que las concentraciones de AD siguieron el mismo patrón en ambos golfos durante el período analizado, excepto en la primavera cuando en el GN se detectaron los niveles más elevados de esta neurotoxina medidos en el fitoplancton, mientras que en el GSJ las concentraciones de AD fueron las más bajas registradas para este golfo en el presente estudio. No obstante, en el resto de las estaciones climáticas los niveles de AD detectados en el GSJ fueron más elevados que los medidos en el GN. Asimismo, en el GSJ un número mayor de muestras resultaron ser positivas para esta neurotoxina. Recientemente, Cadaillón (2012) reportó la presencia de AD en muestras de fitoplancton recolectadas en los golfos Nuevo y San José durante los meses de

septiembre a noviembre de 2010. A diferencia de los resultados obtenidos en esta tesis, este autor señala que los niveles de AD hallados en el GN fueron mayores a los registrados en el GSJ, e inclusive, y contrariamente a lo registrado en el presente estudio, documenta que esta neurotoxina fue hallada en un número mayor de muestras del GN mientras que en el GSJ sólo una muestra fue positiva para esta neurotoxina.

En el presente estudio mediante el análisis de organismos fitoplanctónicos recolectados en el GN se registraron dos picos de toxicidad bien definidos, uno en el otoño y otro en la primavera. Como se mencionó anteriormente, los niveles de AD hallados en la primavera fueron superiores a los registrados en el otoño. Cabe destacar que el pico en la concentración de esta potente neurotoxina durante la primavera, fue detectado concomitantemente con el *bloom* de *P. australis* registrado durante el mes de octubre en este golfo (Tabla 2.5, Sección 2.4.2.1, Capítulo 2). Por otro lado nuestros resultados en el GSJ documentan un único pico de toxicidad durante el otoño.

### **3.5.3 Biotoxinas acumuladas por el mesozooplankton**

En el presente estudio se encontró que sólo dos muestras de organismos mesozooplanktónicos resultaron positivas a las toxinas PSP durante las estaciones climáticas estudiadas (invierno, primavera y verano, esta última sólo en el GSJ), una recolectada durante la primavera en el GN y la otra durante el invierno en el GSJ. En ambos casos se detectaron niveles bajos de los epímeros GTX2/GTX3. Asimismo, un reducido número de muestras provenientes de ambos golfos, presentaron niveles trazas de dc-GTX3 (decarbamoil-Gonyaulatoxina 3). El único precedente a esta tesis que analizó las toxinas PSP acumuladas por el zooplankton de los golfos Nuevo y San José durante el invierno y la primavera fue el estudio de Cadaillón (2012). Al igual que en el presente estudio, este autor encontró toxicidad en un reducido número de muestras. Contrariamente a los resultados obtenidos en esta tesis, Cadaillón (2012) señala en su trabajo que el perfil de las toxinas PSP estaba dominado por los epímeros GTX1/GTX4, seguido por niveles bajos de GTX2/GTX3.

Varios estudios han documentado que el zooplankton selecciona sus presas en función de los niveles de toxinas PSP (Turrieff et al., 1995; Shaw et al., 1997; Teegarden, 1999; Guisande et al., 2002). Por ejemplo, Guisande et al. (2002), han demostrado que el copépodo *Acartia clausi* se alimenta del dinoflagelado productor de toxinas PSP *Alexandrium minutum* cuando los niveles de toxinas presentes en este

último son bajos. Sin embargo, a medida que aumenta la concentración de toxinas en el dinoflagelado, esta especie de copépodo opta por *Prorocentrum micans*, un dinoflagelado no tóxico, disminuyendo la tasa de ingestión hacia la especie tóxica. Inclusive, estos mismos autores señalan que la producción de toxinas por parte de los dinoflagelados tóxicos sería una adaptación para evitar la predación del zooplancton, lo cual, a su vez, funcionaría como una estrategia de competencia por los recursos con las especies de dinoflagelados no tóxicas, debido al incremento en la tasa de predación sobre ellas. Este comportamiento selectivo del zooplancton hacia las especies no tóxicas de dinoflagelados, podría ser una explicación a la ausencia de toxinas PSP registrada en el presente estudio, más aun, considerando que estas toxinas fueron detectadas en el fitoplancton de los golfos Nuevo y San José, como así también, teniendo en cuenta, las vedas impuestas por el Plan Provincial de Marea Roja por la presencia de estas toxinas en el área durante el período analizado. Además se ha reportado que la supervivencia de los copépodos se ve afectada negativamente cuando se alimentan de especies de dinoflagelados tóxicas (Carlsson et al., 1995; Bagøien et al., 1996). Por lo tanto, teniendo en cuenta la dominancia de este grupo zooplanctónico en el área de estudio, este hecho también pudo haber conducido a la obtención de resultados negativos de toxicidad en el mesozooplancton.

Sin embargo, varios autores han señalado que el mesozooplancton, y principalmente los copépodos, son capaces de alimentarse de especies tóxicas de dinoflagelados (Turriff et al., 1995; Turner et al., 2000; Teegarden et al., 2001; Durbin et al., 2002; Doucette et al., 2006) y acumular las toxinas PSP producidas por éstas (White, 1981; Turriff et al., 1995; Lincoln et al., 2001; Bargu et al., 2002; Durbin et al., 2002; Hamasaki et al., 2003; Teegarden et al., 2003; Doucette et al., 2006). Inclusive, se ha documentado que durante un *bloom* de dinoflagelados tóxicos (*Alexandrium* spp.), los copépodos acumulan grandes cantidades de toxinas PSP (Teegarden y Cembella, 1996; Durbin et al., 2002). No obstante, se ha comprobado que los copépodos son ineficientes en asimilar las toxinas PSP ingeridas (Durbin et al., 2002; Guisande et al., 2002; Teegarden et al., 2003) y la mayor parte de éstas serían excretadas en los pellets fecales (Guisande et al., 2002). A través de estudios de laboratorio quedó demostrado que los copépodos acumulan la máxima cantidad de toxinas dentro de las 48 horas que comienzan a alimentarse de especies tóxicas de *Alexandrium* spp., ya sea en experimentos donde este dinoflagelado fue su único alimento o se les proporcionó una dieta mixta; cuando la ingestión de células tóxicas cesa, la pérdida de toxinas PSP es

rápida, perdiendo aproximadamente el 90% de la carga acumulada dentro de las 48 horas (Teegarden, 1999). Esta rápida tasa de detoxificación podría ser otra explicación a la ausencia de toxinas PSP observada en este estudio en las muestras de mesozooplankton de los golfos Nuevo y San José. Pese a esto, diferentes autores argumentan que si bien los copépodos no son eficaces en asimilar gran parte de las toxinas PSP que consumen, los niveles corporales de toxinas que estos organismos son capaces de retener serían suficientes como para que éstas neurotoxinas sean transferidas a través de las tramas tróficas (Durbin et al., 2002; Teegarden et al., 2003; Doucette et al., 2006).

Con respecto al AD, esta tesis representa el estudio más completo realizado hasta el momento en cuanto al análisis de los niveles de esta neurotoxina acumulada por los organismos mesozooplanktónicos en los golfos Nuevo y San José. El único antecedente en el área es el trabajo de Cadaillón (2012), quien analizó la presencia de AD en el zooplankton de estos golfos entre los meses de septiembre a noviembre de 2010. Cabe recordar que en el presente estudio no se dispone de muestras de organismos mesozooplanktónicos para el análisis de toxinas acumuladas por este grupo para el 09/10/2015 en el GN, debido al *bloom* de fitoplancton registrado en el área de estudio durante dicho muestreo, el cual produjo la contaminación de las muestras de mesozooplankton, al colmatarse la red.

En el presente estudio se observó que los niveles de AD acumulados por los organismos mesozooplanktónicos siguieron el mismo patrón en los golfos Nuevo y San José durante el período analizado, registrándose un pico de toxicidad en el otoño en ambos golfos y concentraciones más bajas el resto del año, incluyendo la ausencia de esta neurotoxina durante el invierno en el GN. Además, se encontró que las concentraciones de AD medidas en el mesozooplankton del GSJ fueron mayores que las registradas en el GN para todas las estaciones climáticas analizadas, e inclusive en el GSJ un número mayor de muestras resultaron positivas al AD. En líneas generales, estos resultados coinciden con los obtenidos por Cadaillón (2012), quien encontró niveles no detectables de AD en la mayoría de las muestras zooplanktónicas del GN y concentraciones de AD mayores en el GSJ. Este mismo autor, reportó niveles de AD mayores durante la primavera en ambos golfos en comparación con el invierno. Sin considerar el pico registrado durante el otoño observado en el presente trabajo y comparando sólo invierno y primavera, los resultados detectados por Cadaillón (2012)

coinciden con lo hallado para el GN en esta tesis. En cambio, los niveles de AD hallados en el presente estudio en el GSJ fueron similares en ambas estaciones climáticas, aunque se registraron concentraciones más elevadas de esta neurotoxina durante el invierno.

Ciertos organismos zooplanctónicos son capaces de alimentarse de especies tóxicas de *Pseudo-nitzschia* y acumular las toxinas que éstas producen, actuando de esta manera como potenciales vectores de AD hacia los niveles tróficos superiores (Lincoln et al., 2001; Tester et al., 2001; Bargu et al., 2002; Bargu et al., 2003; Leandro et al., 2010a; Harðardóttir et al., 2015). En muchos ecosistemas marinos dentro de la comunidad mesozooplanctónica los copépodos son el grupo más abundante, por lo tanto ocupan un rol fundamental en la transferencia de toxinas en la trama trófica pelágica. Varios estudios han señalado que los copépodos (estadios adultos y copepoditos) no seleccionan entre especies tóxicas y no tóxicas de *Pseudo-nitzschia* (Leandro et al., 2010a; Shaw et al., 1997; Lincoln et al., 2001; Tester et al., 2001; Harðardóttir et al., 2015); siendo, además, capaces de acumular grandes cantidades de AD (Tester et al., 2001; Harðardóttir et al., 2015) incluso hasta después de la eliminación del organismo tóxico productor (Lincoln et al., 2001; Tester et al., 2001; Maneiro et al., 2005). Esto explicaría la detección de AD en las muestras mesozooplanctónicas analizadas en el presente estudio.

Asimismo, se ha documentado que el AD no produce efectos negativos en las tasas de supervivencia de los copépodos; ni en la producción de huevos; ni en la viabilidad de los mismos (Lincoln et al., 2001; Maneiro et al., 2005; Harðardóttir et al., 2015; Miesner et al., 2016). Sin embargo, estudios llevados a cabo en el laboratorio, han registrado una interrupción de la ingestión de especies tóxicas de *Pseudo-nitzschia* luego de 6 horas de ser alimentados con estas microalgas, por lo que se consideró que el AD ingerido podría afectar temporalmente a estos organismos (Tammilehto et al., 2012). Aunque, estos mismos autores, reportaron que la toxina no afectó la tasa de supervivencia de los copépodos durante la experimentación. Además, se ha comprobado que la tasa de asimilación de esta neurotoxina por parte de los copépodos es rápida, llegando a alcanzar las máximas concentraciones en menos de tres horas cuando se alimentan de especies tóxicas de *Pseudo-nitzschia* (Tester et al., 2001). Asimismo, estos organismos poseen una lenta tasa de detoxificación (Tester et al., 2001; Tammilehto et al., 2015). Por lo tanto, esta rápida acumulación de AD y las bajas tasas de eliminación

de esta toxina, hacen de los copépodos vectores eficientes para la transferencia de AD desde las microalgas productoras hacia los niveles tróficos superiores.

Mediante estudios de laboratorio, se ha documentado que especies de *Pseudo-nitzschia* tóxicas en presencia de copépodos comenzaron a sintetizar una mayor cantidad de AD (Tammilehto et al., 2015). Incluso, se registró que especies de estas microalgas que fueron tratadas como no tóxicas al comienzo de los análisis, cuando fueron utilizadas en los experimentos de alimentación de copépodos, comenzaron a producir toxinas (Harðardóttir et al., 2015). A partir de éstas y otras observaciones, diferentes autores argumentan que la producción de esta neurotoxina podría funcionar como un mecanismo de defensa o anti-predatorio (Harðardóttir et al., 2015; Tammilehto et al., 2015). Sin embargo, varios estudios han demostrado que la producción de AD por parte de estas algas no afectó la predación de los copépodos sobre ellas (Lincoln et al., 2001; Maneiro et al., 2005; Leandro et al., 2010a; Harðardóttir et al., 2015; Miesner et al., 2016).

Otro grupo de organismos zooplanctónicos que actúa como potencial vector de AD hacia los niveles tróficos superiores es el krill (Bargu et al., 2002; Bargu et al., 2003; Bargu y Silver et al., 2003). Este grupo constituye la dieta principal del calamar, las ballenas y muchas aves marinas (Bargu et al., 2002). Análisis de contenidos estomacales de especies de eufáusidos, han mostrado que sus estómagos estaban repletos de especies tóxicas de *Pseudo-nitzschia* cuando ellos se alimentaron en presencia de un *bloom* de estas microalgas (Bargu et al., 2002). Asimismo estos mismos autores documentan que las concentraciones de AD detectadas en el krill, variaron de acuerdo a las densidades de estas microalgas, llegando a alcanzar valores en sus tejidos de 44  $\mu\text{g AD/g}$  los cuales se encuentran por encima del límite permitido para el consumo humano (20  $\mu\text{g AD/g}$  de molusco bivalvo) no ocasionando efectos negativos sobre estos individuos. Sin embargo, estudios de laboratorio encontraron que *Euphausia pacifica* ingiere de manera discontinua una especie de *Pseudo-nitzschia* productora de AD, lo cual sugiere que esta neurotoxina podría provocar daños temporales en el krill cuando se alimenta de microalgas productoras de toxinas (Bargu et al., 2003). No obstante, estos autores señalaron que el AD ingerido por esta especie no afectó su tasa de supervivencia ni causó daños evidentes en los ejemplares expuestos.

### 3.5.4 Biotoxinas marinas y la ballena franca austral

En el presente estudio no se detectaron toxinas PSP en las muestras fecales procedentes de individuos vivos y muertos de ballena franca austral, las cuales fueron recolectadas durante las temporadas 2013, 2014 y 2015 en el GN. Sin embargo, estudios previos han demostrado que la ballena franca austral está expuesta a estas neurotoxinas mientras se encuentra en el área de cría y reproducción de Península Valdés. Rowntree et al. (2013) a partir del análisis de muestras de tejidos de ballenas halladas muertas en las costas de Península Valdés reportaron que un reducido número de individuos (4 de 36) presentaron niveles trazas de toxinas PSP. Mientras que más recientemente Wilson et al. (2015), documentaron la detección de estas neurotoxinas en muestras fecales, de hígado y tejido estomacal de dos ballenatos muertos en el GN, en niveles similares a los detectados en Doucette et al. (2006) en muestras fecales de ejemplares vivos y muertos de la ballena franca del norte.

Los efectos de las toxinas PSP en los mamíferos marinos no están bien documentados (Lefebvre et al., 2016). Se ha indicado que la exposición de los cetáceos a estas neurotoxinas causaría neuropatías, incluyendo parálisis muscular (Durbin et al., 2002). En efecto, varios autores argumentan que la exposición crónica de las ballenas francas a las toxinas PSP podría ocasionarles daños en la respiración afectando, de esta manera su alimentación, lo cual influiría negativamente en la condición reproductiva de la población (Geraci et al., 1989; Durbin et al., 2002; Doucette et al., 2006).

Varios estudios han demostrado que diferentes especies de mamíferos marinos están expuestas a estas potentes neurotoxinas (Geraci et al., 1989; Durbin et al., 2002; Doucette et al., 2006; Doucette et al., 2012; Rowntree et al., 2013; Wilson et al., 2015; Lefebvre et al., 2016). Sin embargo, son pocos los casos documentados de mortalidad de mamíferos marinos asociados con las toxinas PSP (Lefebvre et al., 2016). El primer evento reportado de mortalidad de ballenas por efecto de estas neurotoxinas, incluye la muerte de 14 ballenas jorobadas, *Megaptera novaeangliae*, a lo largo de las playas de la Bahía de Cape Cod, Massachusetts, EE. UU.; siendo el vector de estas toxinas la caballa del Atlántico (*Scomber scombrus*), una especie zooplanctívora (Geraci et al., 1989). En tanto que, se ha sugerido que las toxinas PSP fueron las responsables de la muerte de 60 nutrias marinas (*Enhydra lutris*) en Alaska (DeGange y Vacca, 1989) y de 117 focas monjes del Mediterráneo (*Monachus monachus*) en Sahara Occidental, África (Costas y Lopez-Rodas, 1998). En la zona de Península Valdés, hasta la fecha, no se conocen

eventos de mortalidad de individuos de ballena franca austral u otras especies de mamíferos marinos asociados a las toxinas PSP.

En cuanto al AD, este es el primer estudio que demuestra que individuos vivos de *E. australis* están expuestos a esta neurotoxina durante su estadía en Península Valdés. En esta tesis se analizaron 14 muestras fecales originadas por 11 ejemplares vivos y tres muertos de ballena franca austral entre las temporadas 2013 a 2015 en el GN; siendo esta neurotoxina detectada en cuatro muestras de animales vivos con valores que oscilaron entre 0,31 a 707,62  $\mu\text{g AD/g}$  peso seco. Sin embargo, estas concentraciones podrían estar subestimadas debido a la metodología de cuantificación empleada en el presente estudio, en la cual no se consiguió una extracción exhaustiva del AD contenido en las muestras fecales, hecho que no permitió conocer la cantidad total de esta neurotoxina en cada una de ellas. Los individuos afectados incluyeron, una hembra adulta avistada durante la temporada 2014 y un juvenil y dos adultos de la temporada 2015 cuyos sexos no pudieron ser identificados. Análisis previos realizados a partir de muestras de tejidos de ballenas muertas en Península Valdés, han reportado la detección de niveles trazas de AD en un reducido número de ejemplares (Rowntree et al., 2013); en tanto que Wilson et al. (2015) documentaron bajas concentraciones de esta neurotoxina en muestras de sangre de una cría macho y una hembra adulta muertas en el GN y GSJ, respectivamente (cría = 0,003  $\mu\text{g AD/ml}$ ; hembra adulta = 0,007  $\mu\text{g AD/ml}$ ).

Asimismo, este es el primer estudio que reporta la detección de AD en muestras fecales de *E. australis*. Se ha señalado que una gran parte de las dosis ingeridas oralmente de esta neurotoxina son eliminadas a través de las heces (Iverson et al., 1989; 1990; Costa et al., 2010), es por ello que algunos autores indican que las muestras fecales serían los mejores indicadores de la exposición al AD (Fire et al., 2009; Wilson et al., 2015).

Los niveles de AD hallados en este estudio son los más elevados reportados hasta la fecha para *E. australis*. Análogamente, estos registros, excepto la concentración medida en la muestra BFA13 (0,31  $\mu\text{g AD/g}$ ), son superiores a los documentados para la ballena franca del norte con niveles entre 0,02 a 0,61  $\mu\text{g AD/g}$  (Leandro et al., 2010b). Recientemente Lefebvre et al. (2016) demostraron que varias especies de mamíferos marinos de Alaska están expuestas al AD. Estos autores reportaron que las concentraciones máximas obtenidas en diferentes muestras de cetáceos muertos oscilaron entre 0,01 a 0,36  $\mu\text{g AD/g}$  o ml (dependiendo del tipo de muestra), en tanto

que, excluyendo la muestra BFA13, nuevamente queda demostrado que los niveles hallados en este estudio superan los valores de AD detectados en los cetáceos de Alaska. Según los resultados reportados por Lefebvre et al., (2016) se puede observar que el mayor nivel registrado por estos autores es similar al mínimo detectado en este estudio para la ballena franca austral (0,36 µg AD/g, Lefebvre et al., 2016; 0,31 µg AD/g presente estudio). Asimismo, los niveles de AD detectados aquí para la ballena franca austral son superiores a los registrados en muestras fecales de individuos de cachalote pigmeo (*Kogia breviceps*) y cachalote enano (*Kogia sima*) (valores medios 0,08 y 0,06 µg AD/g, respectivamente) varados muertos a lo largo de la costa Atlántica de EE. UU. (Fire et al., 2009). Es importante mencionar que, en los trabajos anteriormente mencionados se documenta la exposición al AD de los mamíferos marinos hallados muertos aunque en ninguno de ellos se determinó que esta neurotoxina fuese la responsable de dicho deceso.

La mayor concentración de AD hallada en las muestras fecales (BFA9) de *E. australis* en el presente estudio (707,62 µg AD/g peso seco) corresponde, como se mencionó anteriormente, a una hembra adulta avistada durante la temporada 2014 en el GN. Este valor es el más alto reportado hasta la fecha en muestras fecales de mamíferos marinos. Niveles elevados de AD fueron hallados en muestras fecales de dos ballenas azules (25 y 207 µg AD/g; *Balaenoptera musculus*) y una jorobada (10 µg AD/g; *Megaptera novaeangliae*) vivas (Lefebvre et al., 2002). Interesantemente, la concentración de esta neurotoxina detectada en la muestra fecal BFA9, es mayor que los niveles medidos en ambos individuos de ballena azul, la cual es la especie de mamífero marino más grande que existe, alcanzando los 27 metros de longitud y pesando aproximadamente 110 toneladas (Bastida y Rodríguez, 2009). Asimismo, se ha documentado que los niveles de AD detectados en las muestras fecales de una ballena minke (*Balaenoptera acutorostrata*) varada muerta al Sur de California, cuya causa de muerte fue asociada a la exposición aguda a esta neurotoxina fue de 258 µg AD/g (Fire et al., 2010). Según estos autores, esta concentración es la más alta registrada en un individuo de mamífero marino hallado muerto; sin embargo, el nivel de AD medido en la muestra fecal BFA9 supera ampliamente este valor. Del mismo modo, los mayores niveles de AD registrados en el presente estudio en las muestras fecales de *E. australis* (9,07 y 707,62 µg AD/g peso seco), son también superiores a los detectados en el material fecal de lobos marinos de California durante el evento de mortalidad que afectó a 400 individuos en las costas de California (Scholin et al., 2000).

Si bien, algunos de los niveles de AD detectados en las muestras fecales de *E. australis*, son mayores a los reportados por otros autores durante eventos de mortalidad de mamíferos marinos (Gulland, 1999; Lefebvre et al., 1999; Scholin et al., 2000; Fire et al., 2010), en la zona de Península Valdés no se han documentado hasta la fecha ballenas muertas cuya posible causa haya sido la exposición a esta neurotoxina. Sin embargo, no se puede descartar que estas ballenas estén sufriendo una exposición crónica, en lugar de aguda, a esta neurotoxina mientras ellas se encuentran en su área de cría y reproducción de Península Valdés. Se ha señalado, que la exposición crónica de mamíferos marinos al AD produce efectos subletales, tales como cardiopatías, síndrome epiléptico crónico y fallas en la reproducción, que incluyen abortos, muerte en el útero y parto prematuro (Brodie et al., 2006; Goldstein et al., 2008; Zabka et al., 2009).

Una de las limitaciones más importantes en la evaluación del riesgo para la salud de mamíferos marinos expuestos al AD, radica en el hecho de que la concentración de esta neurotoxina en las muestras de estos animales no está directamente relacionada con el grado de exposición del individuo, debido, principalmente, a que las tasas de detoxificación a través de la orina o las heces son rápidas (Lefebvre et al., 2016). Por lo tanto, aunque en el presente estudio esta neurotoxina fue hallada sólo en cuatro muestras fecales (n = 14) no puede descartarse que el resto de los individuos hayan estado expuestos al AD.

### **3.5.5 Transferencia de biotoxinas marinas a través de la trama trófica**

En los últimos años se ha reportado un incremento en el número de ballenatos que aparecen muertos en el área de Península Valdés (664 crías muertas entre 2003-2015, Programa de Monitoreo Sanitario Ballena Franca Austral [PMSBFA]). Se plantearon cuatro hipótesis principales para explicar este fenómeno, una de ellas, abordada en este capítulo, es la transferencia de biotoxinas marinas a lo largo de la trama trófica desde los organismos productores hasta la ballena franca austral, cuyo único vector es el zooplancton del cual ellas se alimentan.

A partir de los resultados obtenidos en este estudio en cuanto al análisis de toxinas PSP no pudo demostrarse que exista transferencia de este grupo de neurotoxinas a través de la trama trófica y que ésta esté afectando a la ballena franca austral durante su estadía en Península Valdés. Debido a que no se hallaron toxinas PSP en los SPATTs situados en ambos golfos, un reducido número de muestras de fitoplancton y

mesozooplancton presentaron niveles detectables de estas neurotoxinas y por último, no se hallaron toxinas PSP en las muestras fecales de ballenas colectadas en el GN. Sin embargo, no puede descartarse que los individuos de *E. australis* estén expuestos a estas neurotoxinas durante su permanencia en el área. Por lo tanto, se resalta la importancia de continuar con este tipo de investigaciones, que consideren la implementación de SPATTs con un tiempo de reemplazo menor al empleado en esta tesis. Asimismo, la realización de análisis de estas toxinas en muestras de fitoplancton y mesozooplancton aunque muestreados con una frecuencia más alta, por ejemplo semanalmente, lo cual permitiría detectar los *blooms* de *A. tamarense* en el área. Como así también, seguir evaluando la presencia de toxinas PSP en muestras fecales de individuos vivos y muertos de ballena franca austral de diferentes clases etarias, incluyendo crías. Inclusive, para comprender los riesgos a los que están expuestos los mamíferos marinos en el área de Península Valdés, estudios futuros deberían contemplar el análisis de otros tipos de muestras (orina, contenido estomacal, leche, líquido amniótico, sangre, etc.) tanto de *E. australis* como de otras especies de mamíferos marinos.

En cuanto al AD, nuestros resultados demuestran, por primera vez, que la ballena franca austral está expuesta a esta potente neurotoxina a través de su alimentación en la región de Península Valdés. Lo cual quedó comprobado por la detección de AD en los SPATTs situados en el GN, en las muestras de fitoplancton y mesozooplancton de este golfo, coincidiendo, en la mayoría de los casos, los picos de toxicidad en ambos tipos de muestras y por último se detectaron elevados niveles de esta neurotoxina en las muestras fecales de ejemplares vivos de ballena franca austral. Estudios recientes han reportado el hallazgo de restos de frústulos de *Pseudo-nitzschia* spp. potencialmente tóxicas, como así también de copépodos y otros microcrutáceos en las muestras fecales de individuos vivos y muertos de *E. australis* en los golfos Nuevo y San José, siendo las gnatobases mandibulares de copepoditos 5 de *C. australis* los restos más abundantes (D'Agostino et al., 2015; D'Agostino et al., 2016). Según estos autores, una proporción de los restos de estas diatomeas hallados en las muestras fecales de *E. australis* probablemente provenían del contenido intestinal de los copépodos ingeridos por las ballenas durante su estadía en el área. Lo cual junto a nuestros hallazgos, serían evidencias claras de que esta ballena está expuesta al AD a través de la ingestión de mesozooplancton en el área de estudio y el principal vector de esta neurotoxina serían los copépodos.

En el presente estudio se registró que la máxima concentración de AD en el material fecal pertenecía a una hembra adulta colectada el 19/11/2014. Si bien, no se dispone de datos de toxicidad en el fitoplancton, ni en el mesozooplancton durante la temporada de ballenas 2014, los datos del Plan Provincial de Marea Roja reportaron la ausencia de esta neurotoxina durante todo el año 2014. Sin embargo, a partir del elevado nivel de AD hallado en la muestra fecal de este ejemplar, se puede deducir la presencia en el área de una importante concentración de especies de *Pseudo-nitzschia* tóxicas coincidente con el período de recolección de la muestra. En tanto que, las muestras BFA11 y BFA12 fueron recolectadas el 11/10/2015 y 28/10/2015, respectivamente; lo cual indicaría que estas ballenas estuvieron expuestas al máximo nivel de AD detectado en el fitoplancton, en el presente estudio, el 09/10/2015. Cabe recordar, que durante esta última fecha no se midieron los niveles de AD en el mesozooplancton debido a la contaminación de esta muestra con organismos fitoplanctónicos, producto de un importante *bloom* de *P. australis*. En cuanto a la muestra BFA13 recolectada el 15/11/2015, si bien no se detectó AD en el fitoplancton muestreado en una fecha próxima a su recolección (12/11/2015) y los niveles de esta neurotoxina en el mesozooplancton correspondiente a esa fecha de muestreo fueron bajos, el hecho de que esta muestra haya sido originada por un individuo adulto que exhibía un comportamiento de alimentación en superficie indicaría que este ejemplar estuvo expuesto a la toxina durante dicho evento. Como fue documentado con la ballena franca del norte mientras esta especie se alimenta de zooplancton, principalmente copépodos, en el Gran Canal del Sur y la Bahía de Fundy (Leandro et al., 2010b).

La mayor concentración de AD fue medida en una hembra adulta que estaba junto a su cría. Se ha reportado la presencia de AD en la leche de varias especies de mamíferos marinos que estuvieron expuestos a un *bloom* de *Pseudo-nitzschia* spp. (Rust et al., 2014). Por lo tanto, las crías de mamíferos marinos estarían expuestas al AD a través de la leche materna y esta exposición a través de la lactancia pudo haber acontecido con la cría de la hembra que originó la muestra BFA9. Recientemente, Wilson et al. (2015) detectaron AD en muestras de sangre de un ballenato hallado muerto en el GN y estimaron que este individuo podría haber estado expuesto a esta neurotoxina a través de la leche de su madre. Se ha documentado que la exposición de crías al AD puede conducir a anormalidades en el desarrollo tales como déficits neurológicos y comportamientos anormales lo cual afectaría la supervivencia de las mismas (Lefebvre et al., 2016).

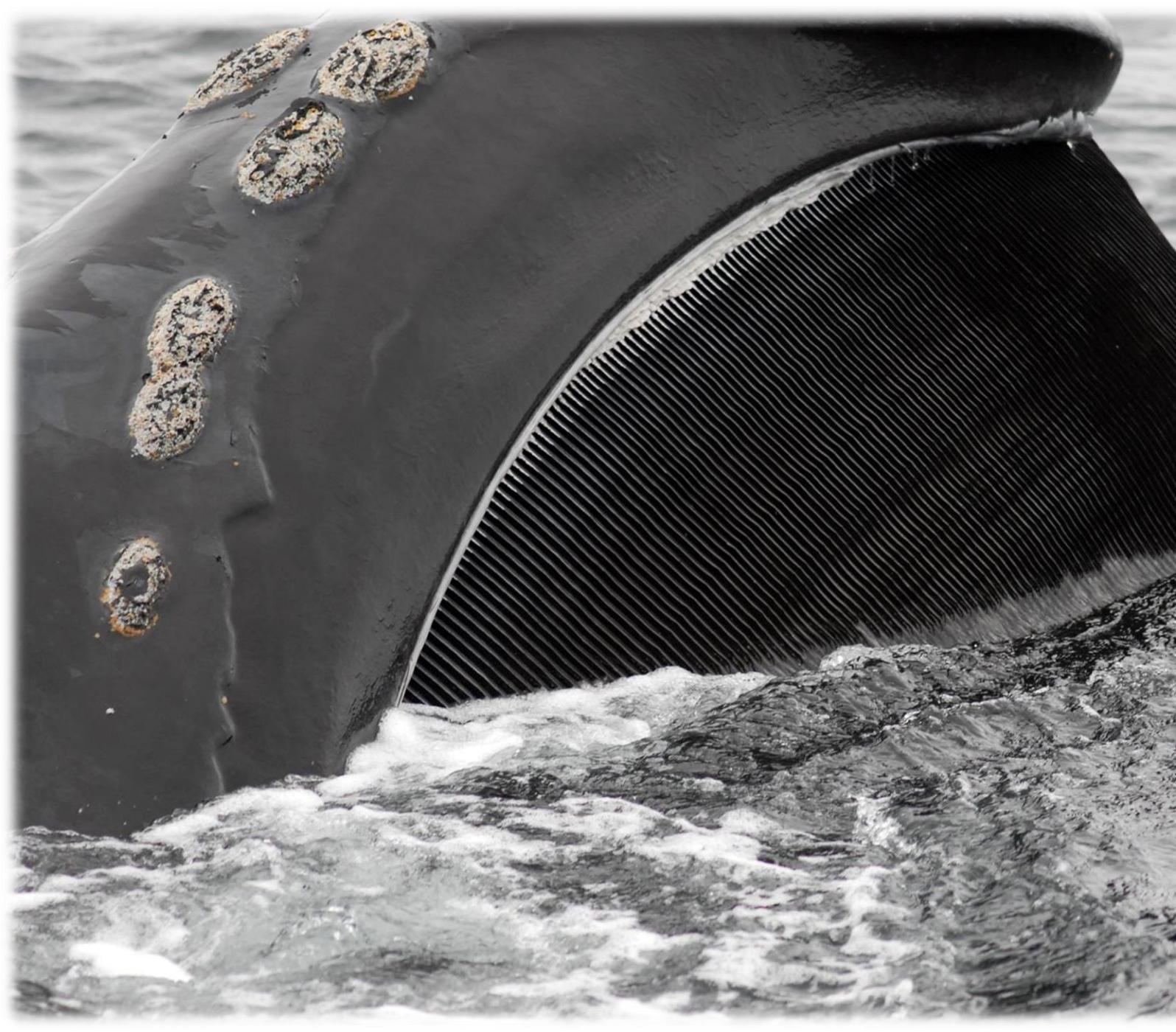
El resto de las muestras fecales que fueron positivas al AD, fueron originadas por un individuo juvenil y dos adultos cuyos sexos no pudieron ser determinados. Los mismos podrían haber sido animales que migran hacia esta zona para llevar a cabo actividades vinculadas a la reproducción e inclusive, los ejemplares adultos, podrían tratarse de hembras preñadas. En este último caso, el AD no sólo sería un riesgo para el individuo que originó la muestra sino también para su cría. Se ha documentado que el AD atraviesa la placenta en mamíferos marinos intoxicados con esta neurotoxina, detectándose en el cerebro del feto y el líquido amniótico (Brodie et al., 2006; Goldstein et al., 2009). Asimismo, como se mencionó anteriormente, se ha comprobado que esta neurotoxina produce fallos reproductivos, tales como abortos, partos prematuros o muerte de hembras preñadas (Brodie et al., 2006).

Con respecto al GSJ, la transferencia de AD desde los organismos productores hasta el mesozooplankton fue detectada a lo largo de todo el año de estudio. Si bien, en esta tesis no se dispone de muestras fecales de ballenas recolectadas en este golfo, estudios previos (Sironi, 2004; D'Agostino et al., 2016) como así también observaciones propias, documentan que la ballena franca austral también se alimenta en el GSJ. Por lo tanto, considerando que en este estudio se registró la transferencia de AD desde el fitoplancton al mesozooplankton es probable que esta ballena este expuesta al AD también en este golfo a través de la ingestión de organismos zooplanctónicos contaminados. En efecto, esto fue reportado por Wilson et al. (2015) en su estudio, quienes mencionaron el hallazgo de AD en muestras de sangre de una hembra adulta varada muerta en el GSJ.

El presente estudio es el primero en demostrar que la ballena franca austral está expuesta al AD a través de su alimentación en el área de Península Valdés. La detección de elevados niveles de esta potente neurotoxina, en algunos casos, más altos que los reportados durante eventos de mortalidad de mamíferos marinos, señala el riesgo natural al que están expuestas estas ballenas durante su estadía en el área. En este estudio se demostró que una hembra adulta la cual fue avistada con su cría presentaba los niveles más elevados de AD, lo cual significa, también, un potencial riesgo para su ballenato, debido a la transferencia de esta neurotoxina desde la madre hacia la cría a través de la leche. Sin embargo, debido a que la exposición de *E. australis* a las biotoxinas se postula actualmente como una hipótesis para explicar la mortandad de crías ocurrida en

los últimos años en el área de Península Valdés (Rowntree et al., 2013), se plantea la necesidad de que estudios futuros contemplen el análisis de estas neurotoxinas en muestras de crías vivas y muertas de ballena franca austral, incluyendo la simultaneidad en la toma de muestras de los pares madre-cría. Lo cual permitirá determinar los riesgos a los que están expuestas estas ballenas en el área y profundizar el conocimiento sobre la transferencia de toxinas de madres a crías. Asimismo, este estudio revela la necesidad del desarrollo de investigaciones que consideren el análisis de biotoxinas en diferentes especies de mamíferos marinos, tanto de individuos vivos como muertos, en el área de Península Valdés. A través de ello, se obtendrá nueva información sobre el grado de exposición a estas neurotoxinas y los potenciales riesgos a los que están expuestos los mamíferos marinos que utilizan el área de Península Valdés.

Capítulo 4: Análisis global de las  
biotoxinas en el plancton y la  
exposición a las mismas de la  
ballena franca austral en Península  
Valdés



## 4.1 Introducción

Alimentarse en los golfos Norpatagónicos podría ser un riesgo para las ballenas, debido a los recurrentes *blooms* de fitoplancton potencialmente tóxico que ocurren durante la primavera en el área (Sastre et al., 2001; Cadaillón, 2012; el presente estudio). El efecto de las toxinas sobre la salud de la ballena franca austral se postula actualmente, como una de las explicaciones a la mortalidad de crías observada durante los últimos años en la región de Península Valdés (Rowntree et al., 2011).

*Alexandrium tamarense*, productor de toxina PSP está presente desde el Golfo San Matías hasta el Golfo San Jorge (Carreto et al., 1981; 1985; Esteves et al., 1992; Carreto et al., 1993; Santinelli y Esteves, 1993; Sastre et al., 1997; Santinelli et al., 2002). Poco se conoce sobre cómo y en qué medida las toxinas PSP afectan a los mamíferos marinos y cetáceos en particular. En un estudio realizado con la ballena franca del norte por Doucette et al. (2006), cuando ésta se encontraba en su zona de alimentación en la Bahía de Fundy, se detectaron toxinas PSP en muestras fecales y en el zooplancton. La simultaneidad de estos dos hechos, demuestra que estas toxinas son ingeridas por los individuos de *E. glacialis*, a través del zooplancton (principalmente el copépodo *C. finmarchicus*) contaminado con esta toxina. Varios autores han señalado que el mesozooplancton, principalmente los copépodos, son capaces de alimentarse de especies tóxicas de dinoflagelados (Turriff et al., 1995; Turner et al., 2000; Teegarden et al., 2001; Durbin et al., 2002; Doucette et al., 2005) y acumular las toxinas PSP producidas por estas (White, 1981; Turriff et al., 1995; Lincoln et al., 2001; Bargu et al., 2002; Durbin et al., 2002; Hamasaki et al., 2003; Teegarden et al., 2003; Doucette et al., 2006).

Por otro lado, las diatomeas potencialmente productoras de AD, *P. australis*, *P. pungens*, *P. multiseriis*, *P. fraudulenta* y *P. calliantha* han sido observadas recurrentemente en los golfos San Matías, San José y Nuevo (Esteves et al., 1996; 1997; Sastre et al., 1997; Ferrario et al., 1999; Sastre et al., 2001; el presente estudio). El AD, es responsable de grandes mortandades de mamíferos marinos, debido a su acumulación en las tramas tróficas marinas y la posterior exposición aguda de depredadores tope (Van Dolah, 2005; Ramsdell, 2010). Se ha demostrado que la ballena franca del norte, está expuesta al AD por ingerir el copépodo vector *C. finmarchicus*, mientras ellas se encuentran en su área de alimentación durante la primavera y el verano en el Gran

Canal Sur y la Bahía de Fundy (Leandro et al., 2010b). Asimismo recientemente se reportó la presencia de restos de diatomeas potencialmente tóxicas del género *Pseudo-nitzschia* spp. junto con gnatobases mandibulares de copépodos calanoideos, principalmente estadio copepodito 5 de *C. australis*, en muestras fecales de *E. australis* colectadas en los golfos Nuevo y San José (D'Agostino et al., 2015; D'Agostino et al., 2016). Este hallazgo sugiere que el potencial vector de estas neurotoxinas hacia la ballena franca austral en estos golfos, serían principalmente los copépodos de los cuales este cetáceo se alimenta. Una gran cantidad de organismos zooplanctónicos son capaces de alimentarse de especies tóxicas de *Pseudo-nitzschia* y acumular las toxinas que estas producen, actuando así como potenciales vectores de AD hacia los niveles tróficos superiores (Lincoln et al., 2001; Tester et al., 2001; Bargu et al., 2002; 2003; Leandro et al., 2010a; Harðardóttir et al., 2015).

En este contexto se pretende identificar las probables especies del género *Pseudo-nitzschia* productoras de los niveles de AD detectados en la columna de agua y en el fitoplancton de los golfos Nuevo y San José, como así también relacionar los niveles de toxinas PSP con la presencia de *A. tamarense* en estos golfos. Asimismo, se propone reconocer los potenciales vectores de estas neurotoxinas a través de la trama trófica hasta la ballena franca austral.

## 4.2 Materiales y Métodos

Para determinar las especies potencialmente productoras del AD disuelto en la columna de agua se graficaron las abundancias medias mensuales de las especies del género *Pseudo-nitzschia* identificadas a lo largo del período estudiado, en relación con la concentración de AD medido en los SPATTs. También, para este análisis, se consideraron las especies de microalgas identificadas mediante los análisis cualitativos (muestras de red). Esto se debe a la ventaja que tienen estos muestreadores de adsorber biotoxinas marinas disueltas en la columna de agua integrando el tiempo y el espacio de muestreo.

Para el caso de las toxinas PSP se confeccionaron tablas que relacionan la presencia de *A. tamarense* en los análisis cualitativos y la concentración media mensual de toxinas C1/C2 y GTX2/GTX3 detectada en el plancton tanto del GN como del GSJ. Mientras que, para identificar las posibles especies productoras de AD se realizaron tablas que muestran la presencia de especies del género *Pseudo-nitzschia* y los niveles

de AD detectados en la comunidad planctónica de estos golfos. En los análisis mencionados anteriormente sólo se consideraron las muestras cualitativas de fitoplancton, dado que para la obtención de muestras de organismos fitoplanctónicos para los análisis de toxicidad se utilizó la misma metodología de muestreo (Sección 2.3.1, Capítulo 2 y Sección 3.3.2.1, Capítulo 3). En tanto que, con el fin de conocer los potenciales vectores de estas neurotoxinas hacia niveles tróficos superiores incluyendo la ballena franca austral, se graficaron las abundancias medias mensuales de los grupos del mesozooplankton definidos como herbívoros u omnívoros (utilizando para dicha determinación bibliografía adecuada, entre ellos: Boltovskoy, 1981; 1999; Lombard et al., 2010; Antacli et al., 2014; D'Agostino, 2013) en relación con las concentraciones de toxinas PSP y AD detectadas en el plancton de los golfos Nuevo y San José. Para el caso del GN se incluyen las concentraciones de AD detectadas en las muestras fecales de individuos de *E. australis* por fecha de recolección.

Es necesario mencionar que, debido al tratamiento que se le aplicó a los datos para estos análisis, mediante el cual se calcularon las concentraciones medias mensuales de toxinas PSP y AD en el plancton de los golfos Nuevo y San José, en ciertas ocasiones los valores de toxicidad presentados son menores al LD del método. Sin embargo, esto sólo es producto del procesamiento de los resultados y no significa una falta de detección de la toxina en particular. El límite de detección de cada metodología fue mencionado en el Capítulo 3, en las diferentes secciones dedicadas al análisis de toxicidad de cada tipo de muestra.

## 4.3 Resultados y discusión

### 4.3.1 SPATTs

Especies potencialmente productoras de AD del género *Pseudo-nitzschia*, considerando ambas metodologías de muestreo, fueron halladas a lo largo todo el año en ambos golfos, con excepción del mes de julio en el GN y mayo en el GSJ (Tablas 2.4-2.5 GN y 2.6-2.7 GSJ, Sección 2.4.2, Capítulo 2). Asimismo, esta neurotoxina fue detectada en todos los SPATTs analizados en los golfos Nuevo y San José, exceptuando el mes de enero de 2015 en este último golfo (Figuras 4.1 y 4.2).

Tanto en el GN como en el GSJ se observó que los picos de abundancia de las especies potencialmente tóxicas del género *Pseudo-nitzschia* observados (octubre en GN = *P. australis* y abril en GSJ = *P. calliantha*) no se correlacionaron con los mayores niveles de toxicidad registrados en los SPATTs (Figuras 4.1 y 4.2). Inclusive en el GN durante el mes de octubre se detectó una floración de *P. australis* (09/10/2015, Tablas 2.4 y 2.5, Sección 2.4.2.1, Capítulo 2), sin embargo esta neurotoxina fue detectada en baja concentración en el SPATT retirado en esa fecha (Figura 4.1). Concordando con estos hallazgos, diferentes autores han reportado la detección de bajos niveles de toxinas en estos muestreadores durante un *bloom* de especies tóxicas de fitoplancton (Turrel et al., 2007; Lane et al., 2010). No obstante, Turrel et al. (2007) documentaron que los mayores niveles de biotoxinas fueron hallados en los SPATTs cuando las células fitoplanctónicas ya habían desaparecido o éstas eran registradas en muy bajas abundancias luego de la floración. Como es de esperar, los mayores niveles de toxinas se encuentran disueltos en la columna de agua durante la fase de finalización del *bloom*, cuando se produce la degradación y lisis final de las células vegetativas. Por lo tanto, a partir de esta metodología es difícil determinar la especie de microalga productora de las biotoxinas cuantificadas. Sin embargo, estos muestreadores constituyen una herramienta útil ya que se prestan para ser utilizados en monitoreos continuos de la columna de agua a través del tiempo y en distintos sitios de interés. En cambio, las metodologías convencionales para el seguimiento de toxinas (la identificación y cuantificación de las especies de algas tóxicas y el análisis de toxinas en moluscos bivalvos) proveen un panorama acotado en el tiempo y el espacio de la columna de agua. Por esto, para evaluar la exposición a biotoxinas marinas de la ballena franca austral, como así también de mamíferos marinos en general, se debería considerar la implementación del uso de estos muestreadores pasivos, reemplazándolos semanalmente en el área. Este monitoreo permitiría registrar la presencia de toxinas, la dinámica de las mismas, su persistencia ambiental y duración de los episodios tóxicos (Lindahl et al., 2007; Pizarro et al., 2008), analizando los potenciales riesgos aun cuando las biotoxinas marinas en muestras de plancton o los productores de las mismas no sean detectadas mediante los métodos tradicionales de monitoreo.

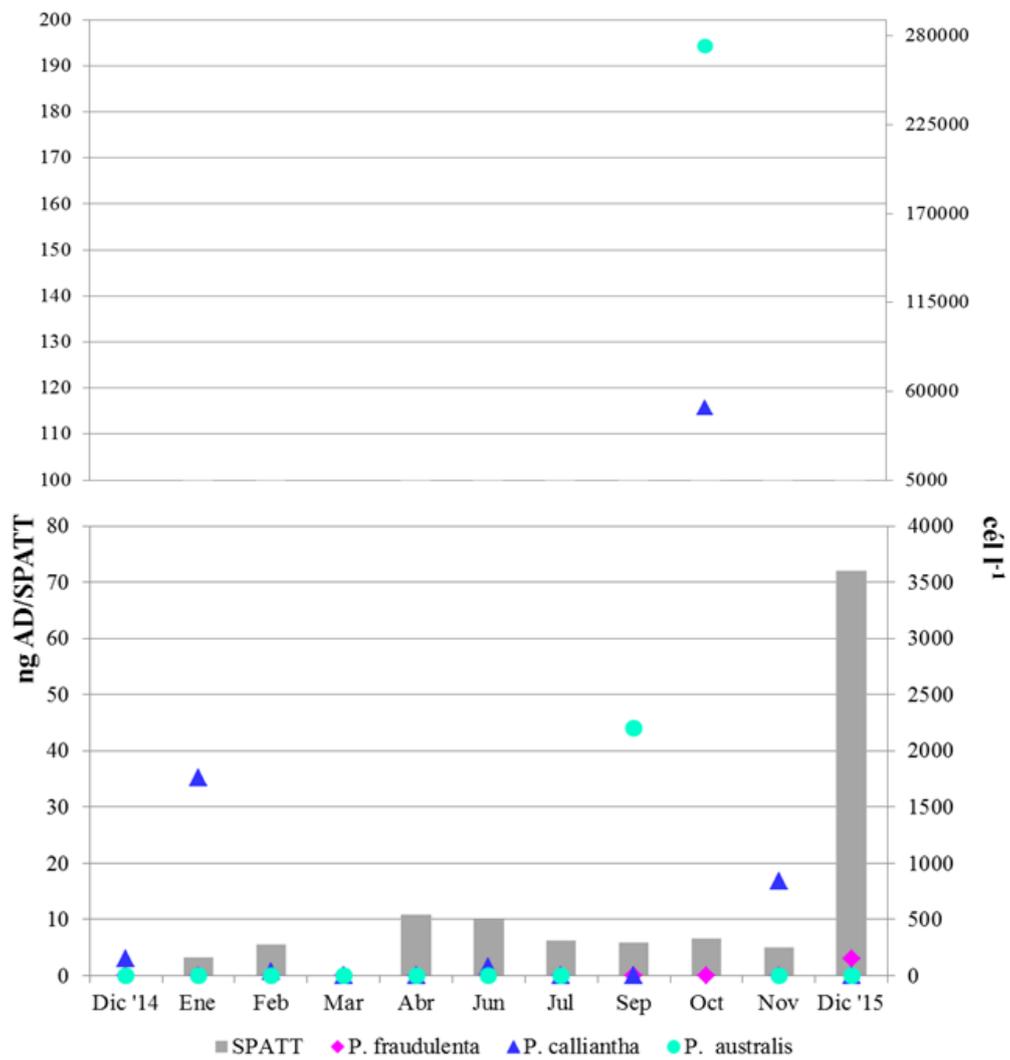


Figura 4.1: Golfo Nuevo. Variación de la abundancia media mensual de especies del género *Pseudo-nitzschia* y los niveles medios mensuales de AD (ng AD/SPATT) detectados en los SPATTs durante el período de estudio.

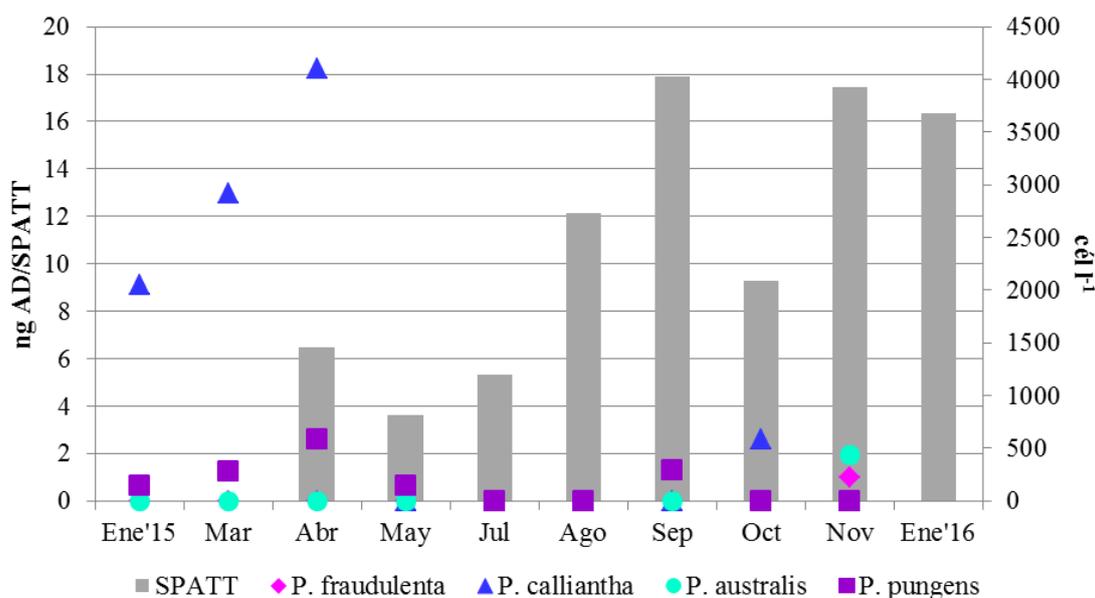


Figura 4.2: Golfo San José. Variación de la abundancia media mensual de especies del género *Pseudo-nitzschia* y los niveles medios mensuales de AD (ng AD/SPATT) detectados en los SPATTs durante el período de estudio.

### 4.3.2 Biotoxinas en el fitoplancton y potenciales vectores mesozooplanctónicos

En el presente estudio se observó que las especies potencialmente productoras de AD fueron más frecuentes durante la primavera en el GN (Tabla 4.1). En cambio en el GSJ estas microalgas estuvieron presentes en todos los meses del período analizado excepto en mayo (Tabla 4.2).

Tabla 4.1: Golfo Nuevo. Variación de especies del género *Pseudo-nitzschia* en las muestras de red (análisis cualitativos) y los niveles medios mensuales de AD (ng AD/NT) detectados en fitoplancton y el mesozooplancton durante el período de estudio. ND: no detectado. SD: sin dato. <LD: Menor al límite de detección. Rojo: bloom.

Golfo Nuevo											
Especie potencialmente tóxica	Dic-'14	Ene	Feb	Mar	Abr	Jun	Jul	Sep	Oct	Nov	Dic-'15
<i>Pseudo-nitzschia calliantha</i>					✓						
<i>Pseudo-nitzschia fraudulenta</i>										✓	✓
<i>Pseudo-nitzschia australis</i>				✓					✓	✓	✓
<i>Pseudo-nitzschia pungens</i>					✓	✓					✓
AD (ng/NT)											
Fitoplancton	ND	0,74	ND	1,46	685,31	77,55	<LD	16,98	4811,88	ND	ND
Mesozooplancton	ND	1,20	ND	12,70	80,32	44,75	ND	ND	SD	0,24	ND

**Tabla 4.2: Golfo San José. Variación de especies del género *Pseudo-nitzschia* en las muestras de red (análisis cualitativos) y los niveles medios mensuales de AD (ng AD/NT) detectados en fitoplancton y el mesozooplancton durante el período de estudio.**

Golfo San José										
Especies potencialmente tóxicas	Ene-'15	Mar	Abr	May	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Ene-'16
<i>Pseudo-nitzschia calliantha</i>	✓		✓						✓	
<i>Pseudo-nitzschia fraudulenta</i>	✓									✓
<i>Pseudo-nitzschia australis</i>		✓			✓	✓	✓	✓	✓	✓
<i>Pseudo-nitzschia pungens</i>					✓	✓				✓
<i>Pseudo-nitzschia</i> sp.									✓	
AD (ng/NT)										
Fitoplancton	30,82	1,28	6,18	463,37	43,68	104,26	11,57	3,66	49,87	77,92
Mesozooplancton	23,84	9,84	7,15	137,97	12,76	1,20	0,23	8,20	11,56	22,11

En el mes de octubre se registró en el GN un *bloom* de *P. australis* concurrentemente con la mayor concentración de AD registrado en este estudio (Tabla 4.1). Si bien la atribución de toxicidad a una especie requiere además de su identificación la demostración de la presencia de toxinas en cultivos o en células aisladas (Álvarez et al., 2009), la identificación únicamente de *P. australis* en las muestras cualitativas (Tabla 4.1) y las elevadas densidades celulares registradas en el análisis cuantitativo (Tabla 2.5, Sección 2.4.2.1, Capítulo 2) sugieren que esta especie fue la productora de los mayores niveles de AD registrados en este estudio. Asimismo, cabe remarcar que la abundancia de *P. australis* registrada en esta tesis ( $2,7 \times 10^5$  cél l<sup>-1</sup>; Tabla 2.5, Sección 2.4.2.1, Capítulo 2) es la mayor reportada hasta la fecha en el Mar Argentino (Negri e Inza, 1998; Sastre et al., 2001; Negri et al., 2004; Almandoz et al., 2007).

En tanto para el resto del año tanto en el GN como en el GSJ resulta difícil sugerir una única especie como potencial productora de AD en estos golfos. Dado que en ciertas ocasiones la fuente de esta neurotoxina pudo haber sido más de una especie, como por ejemplo durante los meses de abril en el GN o en los meses de enero (2015-2016) y julio, entre otros en el GSJ (Tablas 4.1 y 4.2). Incluso en ambos golfos se registraron niveles de AD en las muestras planctónicas cuando especies potencialmente productoras de esta neurotoxina no fueron halladas en las muestras cualitativas (mes de septiembre en el GN y mes de mayo en el GSJ) (Tablas 4.1 y 4.2).

Con respecto al posible vector de AD, nuestros resultados sugieren que los copépodos fueron la principal ruta para la transferencia de esta neurotoxina a lo largo de la trama trófica en todo el período estudiado. Una evidencia de ello sería la dominancia

de este grupo entre los potenciales consumidores de estas microalgas a lo largo de todo el año, incluyendo aquellos meses en los cuales se registraron los mayores niveles de AD en el fitoplancton y el mesozooplancton de ambos golfos (Figuras 4.3 y 4.4). En el presente estudio, cuando se detectaron las mayores concentraciones de AD durante los meses de abril, junio y octubre en el plancton del GN, los copépodos alcanzaron el 77, 95 y 53% del total de los taxa que podrían actuar como vectores potenciales de toxinas (Figura 4.3). En tanto que los mayores niveles de AD en el GSJ fueron registrados en el plancton durante los meses de mayo, julio y enero de 2016 cuando los copépodos representaron respectivamente el 98, 91 y 80% del total de los potenciales vectores (Figura 4.4). Debido a que las especies de copépodos numéricamente más importantes registradas en el presente estudio han sido definidas como herbívoras u omnívoras (Boltovskoy, 1981; 1999; Lombard et al., 2010; D'Agostino, 2013; Antacli et al., 2014; entre otros), este grupo podría actuar como un eficaz vector de neurotoxinas ya sea, por el consumo directo de especies productoras de AD o a través de la ingestión de organismos de niveles tróficos inferiores que contengan estas toxinas (M. Hoffmeyer comunicación personal). Por lo tanto, no sólo se produciría la concentración de toxinas por el consumo de algas tóxicas, sino también tendría lugar la bioacumulación de toxinas por predación de especies de niveles tróficos inferiores contaminadas con AD. Varios estudios han demostrado que los copépodos calanoideos se alimentan de células de *Pseudo-nitzschia* (Harðardóttir et al., 2015; Tammilehto et al., 2015) y no seleccionan entre especies tóxicas y no tóxicas (Leandro et al., 2010a; Harðardóttir et al., 2015), lo cual remarca su potencial capacidad como vector de toxinas.

A partir de este estudio se puede comprobar, por primera vez, que la ballena franca austral está expuesta al AD a través de su alimentación en el área de estudio (Tabla 3.6, Sección 3.4.4, Capítulo 3 y Figura 4.3). Lo cual, no sólo quedó demostrado por el hallazgo de esta neurotoxina entre los distintos niveles tróficos analizados (Figura 3.8, Sección 3.4.5, Capítulo 3 y Figura 4.3), sino también debido a la detección de AD en la muestra fecal de un individuo adulto que exhibía un comportamiento de alimentación en superficie el 15/11/2015 (Tabla 3.6, Sección 3.4.4, Capítulo 3 y Figura 4.3). Basándonos en que los copépodos son una presa clave para la ballena franca austral en estos golfos, junto con la dominancia de este grupo, principalmente especies herbívoras u omnívoras, durante la temporada de ballena analizada (junio-diciembre de 2015), nuestros resultados demuestran que este grupo sería el principal vector de AD a estas ballenas durante su estadía en Península Valdés. Además, estos resultados se ven

apoyados por el reciente hallazgo de restos de organismos zooplanctónicos, principalmente gnatobases mandibulares de copépodos, y de diatomeas potencialmente tóxica del género *Pseudo-nitzschia* spp. en muestras fecales de individuos vivos y muertos de *E. australis* en los golfos Nuevo y San José, respectivamente (D'Agostino et al., 2015; D'Agostino et al., 2016).

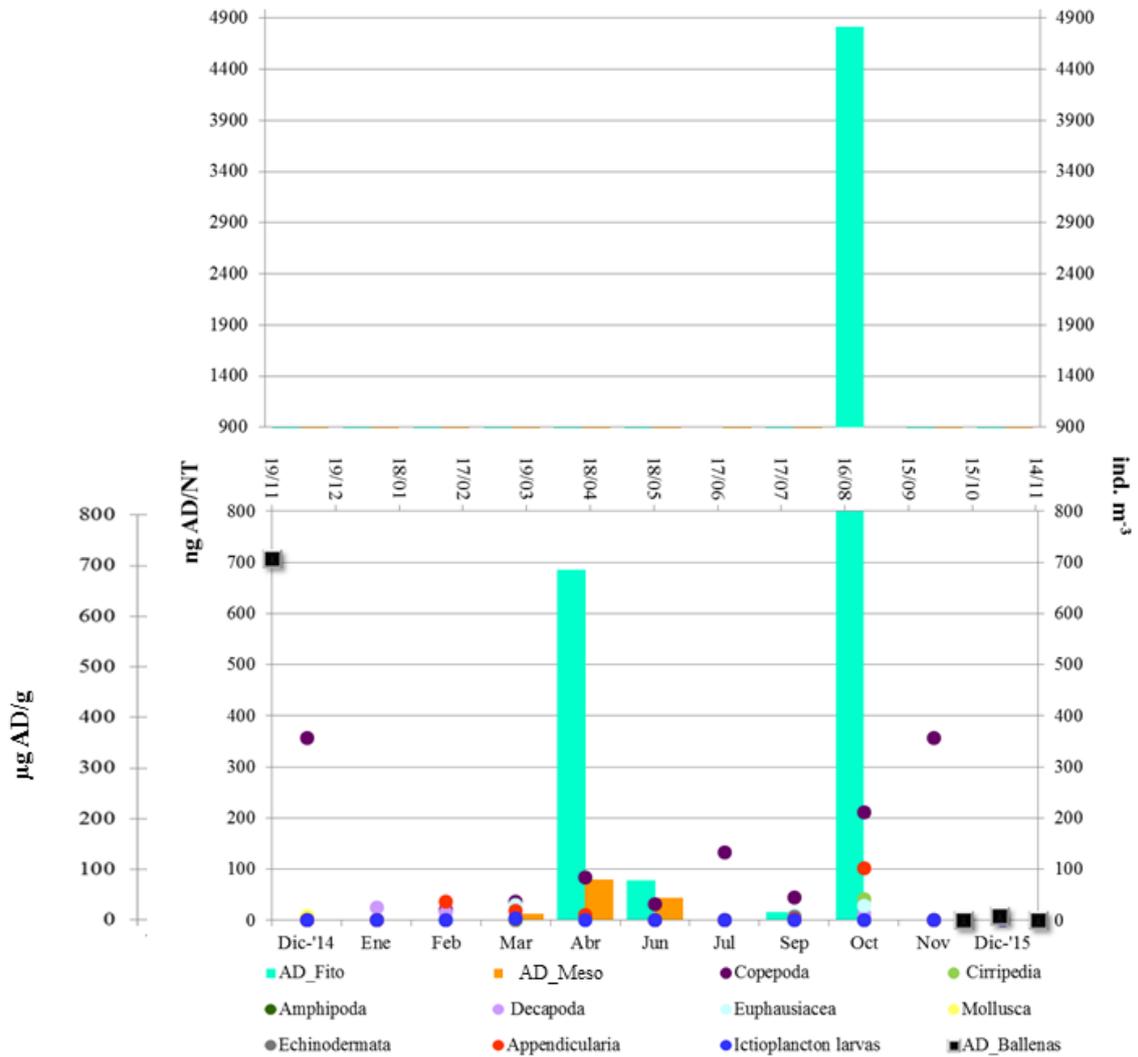
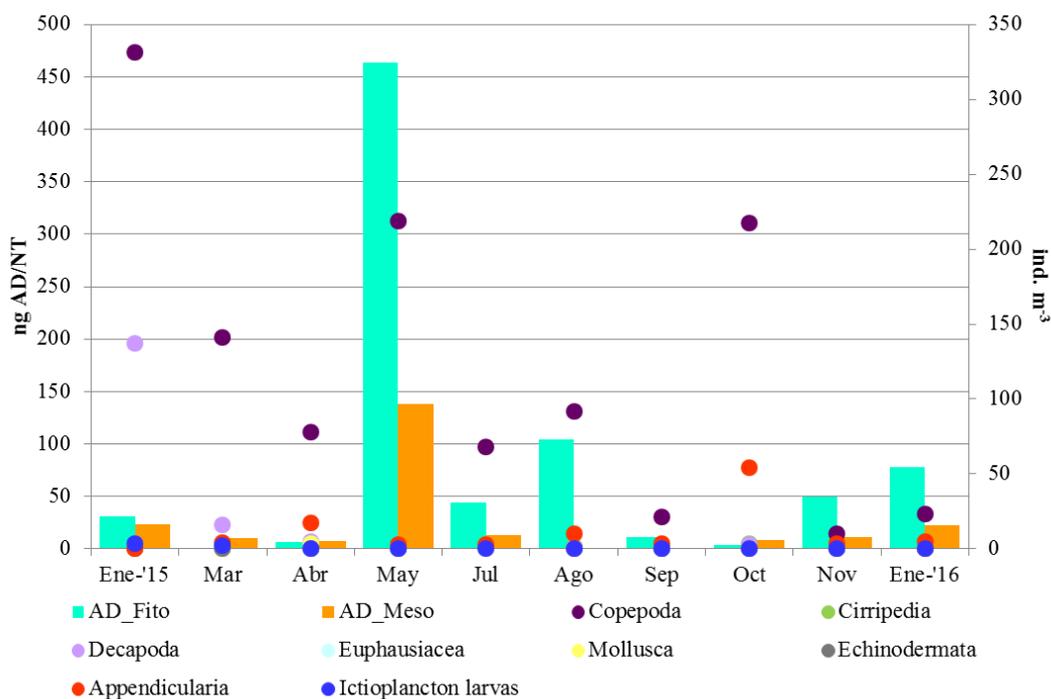


Figura 4.3: Golfo Nuevo. Variación de la abundancia media mensual (ind. m<sup>-3</sup>) de potenciales vectores mesozooplanctónicos de AD, la concentración media mensual de AD (ng AD/NT) en el fitoplancton y en el mesozooplancton durante el periodo analizado. El eje secundario muestra la concentración de AD en las muestras fecales de ballenas por fecha de recolección.



**Figura 4.4:** Golfo San José. Variación de la abundancia media mensual (ind. m<sup>-3</sup>) de potenciales vectores mesozooplancónicos de AD, la concentración media mensual de AD (ng AD/NT) en el fitoplancton y en el mesozooplankton durante el período analizado.

En el presente estudio se observó que la mayor concentración de AD fue detectada en el material fecal de una hembra adulta avistada con su ballenato en el GN (BFA9, 19/11/2014 =  $707,62 \pm 74,56 \mu\text{g AD/g}$  peso seco de muestra fecal, Tabla 3.6, Sección 3.4.4, Capítulo 3 y Figura 4.3). Lo cual sería una evidencia del potencial riesgo natural al que están expuestos tanto los individuos adultos como las crías que permanecen junto a sus madres en Península Valdés, debido a la transferencia de biotoxinas a través de la leche (Rust et al., 2014). Mientras que, la detección de AD en las muestras fecales recolectadas el 11/10/2015 y 28/10/2015 (BFA11 y BFA12, respectivamente) en el GN (Tabla 3.6, Sección 3.4.4, Capítulo 3 y Figura 4.3) indicarían que estos individuos estuvieron expuestos al *bloom* de *P. australis* registrado el 09/10/2015 cuando, a su vez, se registraron los mayores niveles de AD en este golfo (Tabla 2.5, Sección 2.4.2.1, Capítulo 2 y Figura 4.3). Incluso la colmatación, durante este *bloom*, de la red de 335  $\mu\text{m}$  de diámetro de poro utilizada para la recolección de organismos mesozooplancónicos (Figura 3.3, Sección 3.3.3.1, Capítulo 3), sería una evidencia que estas ballenas podrían haber estado expuestas directamente al AD por la ingestión de células de *P. australis* mientras se alimentaron en el área. *Pseudo-nitzschia* spp.

frecuentemente forman largas cadenas cuya longitud puede superar la distancia existente entre las barbas de las ballenas francas (335  $\mu\text{m}$ ; Mayo et al., 2001; Leandro et al., 2010b).

El importante rol que cumplen los copépodos en la dieta de la ballena franca austral en el área de Península Valdés (Menéndez et al., 2007; Hoffmeyer et al., 2010; D'Agostino et al., 2016; el presente estudio), justifica la necesidad de la realización de estudios bajo condiciones controladas que evalúen el consumo de especies tóxicas de microalgas. A partir de los cuales se podrá determinar la tasa de ingestión de los copépodos, como así también su comportamiento de alimentación y, además, estimar sus tasas de concentración y acumulación de toxinas. Sin lugar a dudas, esto permitirá profundizar en el conocimiento sobre la transferencia de toxinas entre distintos niveles tróficos, como así también estimar la cantidad de toxinas que llega a la ballena franca austral. Además, estudios futuros deberían abordar la hipótesis de inducción en la producción de toxinas por parte de especies potencialmente tóxicas del género *Pseudo-nitzschia* en presencia de copépodos, lo cual ya fue demostrado por diferentes autores (Harðardóttir et al., 2015; Tammilehto et al., 2015) y fue discutido en la Sección 3.5.3 (Capítulo 3).

En cuanto a las toxinas PSP nuestros datos son escasos para evaluar su transferencia a lo largo de la trama trófica. En la mayoría de las muestras analizadas en el GN, no se observó una asociación entre la presencia de *A. tamarense* y los niveles de toxinas PSP en el fitoplancton y el mesozooplancton (Tabla 4.3). *Alexandrium tamarense* fue registrado sólo durante el mes de octubre en este golfo, lo cual coincide con la única detección conjunta de toxinas C1/C2 y GTX1/GTX2 en el fitoplancton (Tabla 4.3). En tanto que en el mesozooplancton de este golfo, estas neurotoxinas sólo fueron detectadas en el mes de noviembre, representadas por los epímeros GTX2/GTX3 (Tabla 4.3 y Figura 4.5). Mientras que en el GSJ se registró una correlación más clara entre la presencia de *A. tamarense* y la detección de las toxinas PSP en el fitoplancton (Tabla 4.4), sin embargo sólo en el mes de agosto se pudo comprobar la transferencia de toxinas PSP a través de la trama trófica (Tabla 4.4).

**Tabla 4.3: Golfo Nuevo. Variación de *Alexandrium tamarense* en las muestras de red (análisis cualitativos) y los niveles medios mensuales de toxina PSP (ng/NT) detectados en fitoplancton y el mesozooplancton durante el período de estudio. ND: no detectado. <LD: Menor al límite de detección.**

<b>Golfo Nuevo</b>					
	Jul	Sep	Oct	Nov	Dic-'15
<i>Alexandrium tamarense</i>			✓		
<b>PSP (ng/NT)</b>					
Fitoplancton C1/C2	ND	33,73	13,25	ND	ND
Fitoplancton GTX2/GTX3	ND	<LD	7,01	ND	ND
Mesozooplancton GTX2/GTX3	ND	ND	ND	14,73	ND

**Tabla 4.4: Golfo San José. Variación de *Alexandrium tamarense* en las muestras de red (análisis cualitativos) y los niveles medios mensuales de toxina PSP (ng/NT) detectados en fitoplancton y el mesozooplancton durante el período de estudio. ND: no detectado.**

<b>Golfo San José</b>					
	Ago	Sep	Oct	Nov	Ene-'16
<i>Alexandrium tamarense</i>	✓	✓	✓	✓	
<b>PSP (ng/NT)</b>					
Fitoplancton C1/C2	140,19	135,64	12,28	64,87	ND
Fitoplancton GTX2/GTX3	155,08	108,53	7,92	32,54	ND
Mesozooplancton GTX2/GTX3	7,80	ND	ND	ND	ND

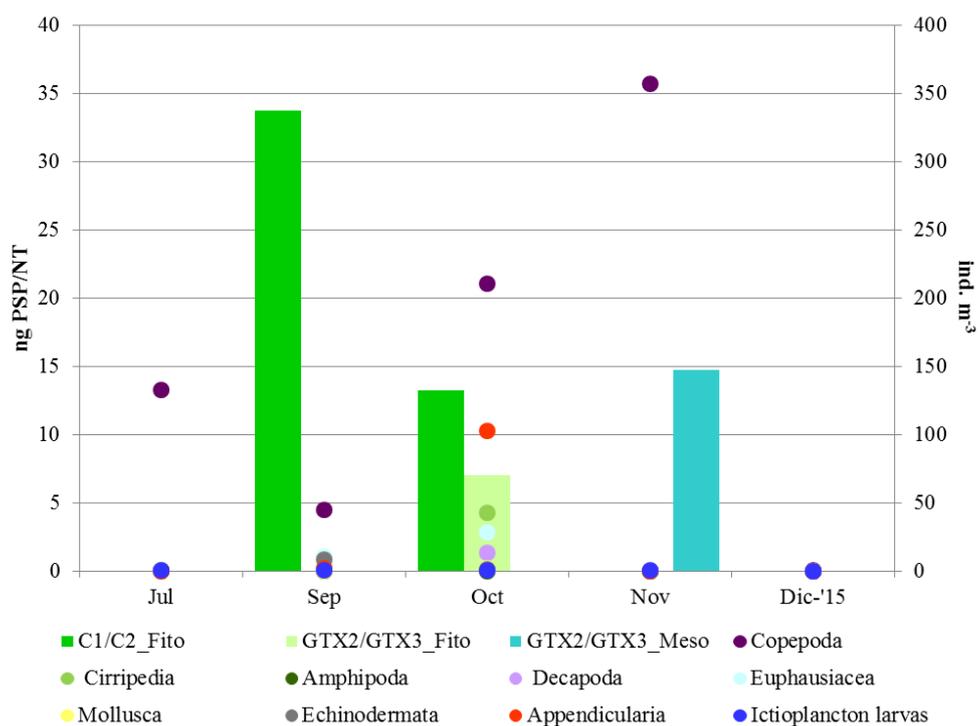


Figura 4.5: Golfo Nuevo. Variación de la abundancia media mensual (ind. m<sup>-3</sup>) de potenciales vectores mesozooplancónicos de toxinas PSP, la concentración media mensual de toxinas PSP (ng/NT) en el fitoplancton y en el mesozooplancton durante el período analizado.

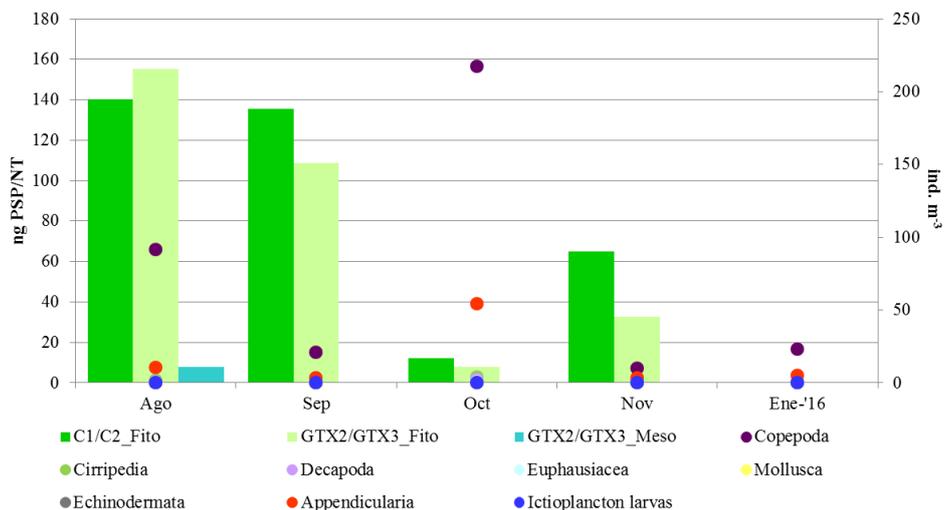


Figura 4.6: Golfo San José. Variación de la abundancia media mensual (ind. m<sup>-3</sup>) de potenciales vectores mesozooplancónicos de toxinas PSP, la concentración media mensual de toxinas PSP (ng/NT) en el fitoplancton y en el mesozooplancton durante el período analizado.

Dentro de los organismos que podrían actuar como vectores de toxinas PSP en ambos golfos, los copépodos fueron el grupo dominante (Figuras 4.5 y 4.6). No obstante el reducido número de muestras analizadas y positivas a esta neurotoxina no permiten elucidar la potencial ruta de estas neurotoxinas durante el período analizado en esta tesis. Por lo tanto se requieren futuros estudios que abarquen un período prolongado de tiempo como así también experimentos de laboratorio, para conocer la dinámica de estas toxinas y evaluar la transferencia de las mismas en la trama trófica de los golfos Nuevo y San José. Además para determinar de manera inequívoca el potencial vector de AD al igual que de las toxinas PSP, investigaciones futuras deberían considerar análisis de toxicidad en diferentes fracciones de tamaño de la comunidad mesozooplancónica. Esto no sólo permitirá conocer el potencial riesgo al que están expuestos los individuos de *E. australis* en su principal área de cría y reproducción del Atlántico Sudoccidental, sino también otros predadores tope que utilizan el área de Península Valdés.

# Conclusiones generales



A continuación se presentan nuevamente las hipótesis planteadas en esta tesis (Sección 1.3, Capítulo 1), cada una de ellas fue corroborada a partir de los resultados obtenidos.

**Hipótesis 1.** *La oferta trófica planctónica para las ballenas, aumenta hacia mediados de la temporada de cría en la región de Península Valdés. De esta manera se espera encontrar una mayor disponibilidad de parches zooplanctónicos de alta biomasa (preferidos por la ballena franca austral) y constituidos por copépodos grandes, sus copepoditos y juveniles de eufáusidos, a fines del invierno y durante de la primavera cuando es más común que las ballenas se alimenten.*

Los resultados de esta tesis corroboran la hipótesis planteada, ya que hacia fines del invierno y la primavera la comunidad mesozooplanctónica estuvo representada principalmente por copépodos en ambos golfos. Asimismo, el único evento de alimentación registrado en el presente estudio en el cual se cuantificaron las presas de *E. australis* tuvo lugar hacia fines del invierno en el GN (septiembre). Durante este episodio la biomasa mesozooplanctónica fue considerablemente mayor a la registrada el resto de las estaciones del año. Asimismo, las principales presas para las ballenas registradas durante el mismo fueron los copépodos calanoideos, principalmente, *Calanoides carinatus*, larvas zoeas de *Munida gregaria* y larvas y juveniles del eufáusido *Euphausia lucens*. A su vez, en este evento de alimentación se observaron entre 17 y 20 individuos de *E. australis* filtrando en superficie, lo cual demuestra la eventual ocurrencia de parches densos de mesozooplancton en el área compuestos por presas de alto contenido calórico que son aprovechadas por las ballenas durante su estadía en Península Valdés.

**Hipótesis 2.** *Las ballenas están expuestas a las toxinas producidas por el fitoplancton tóxico a través de los componentes dominantes del zooplancton que actúan como vectores. A consecuencia de ello, se espera encontrar biotoxinas marinas en las muestras de organismos planctónicos (fito- y mesozooplancton) y en el material fecal de individuos de *E. australis* recolectado en la zona de Península Valdés.*

Los resultados de este trabajo corroboran la hipótesis para el caso del AD, ya que a partir de los análisis de toxicidad se pudo demostrar que existe transferencia de esta neurotoxina desde las especies productoras de AD del género *Pseudo-nitzschia* hacia el mesozooplankton y desde ellos a la ballena franca austral. Incluso, en este trabajo, se detectaron los niveles más elevados reportados hasta la fecha en muestras fecales de mamíferos marinos, tanto en animales vivos como muertos. El individuo afectado fue una hembra adulta que fue avistada junto a su cría, a partir de lo cual se deduce la exposición de ese ballenato al AD a través de la leche materna. En tanto que, la dominancia de los copépodos, entre los principales consumidores de microalgas tóxicas, y las mayores abundancias de estos organismos concomitantemente con los niveles de toxinas más altos registrados en el plancton de ambos golfos, indicarían que este grupo es el principal vector de estas neurotoxinas a través de la trama trófica.

En cuanto a las toxinas PSP nuestros resultados son escasos para corroborar la transferencia de estas neurotoxinas a lo largo de la trama trófica y que ésta esté afectando a las ballenas en área de Península Valdés. Por lo tanto se requieren futuros estudios, que abarquen un período más largo de tiempo como así también experimentación bajo condiciones controladas, para comprender la dinámica de estas toxinas y la bioacumulación de las mismas en la trama trófica de los golfos que rodean Península Valdés.

## Bibliografía Citada

- Almandoz, G. O., M. E. Ferrario, G. A. Ferreyra, I. R. Schloss, J. L. Esteves y F. E. Paparazzo. 2007. The genus *Pseudo-nitzschia* (Bacillariophyceae) in continental shelf waters of Argentina (Southwestern Atlantic Ocean, 38-55° S). *Harmful Algae* 6(1), 93-103.
- Álvarez, G., E. Uribe, S. Quijano-Scheggia, A. López-Rivera, C. Mariño y J. Blanco. 2009. Domoic acid production by *Pseudo-nitzschia australis* and *Pseudo-nitzschia calliantha* isolated from North Chile. *Harmful Algae* 8(6), 938-945.
- Amoroso, R.O. 2004. Heterogeneidad espacial en la dinámica de la metapoblación de vieira tehuelche (*Aequipecten tehuelchus*) del golfo San José. Chubut, Argentina: Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco. Tesis de licenciatura, 55 pp.
- Amoroso R. O. y D. A. Gagliardini. 2010. Inferring complex hydrographic processes using remote-sensed images: turbulent fluxes in the patagonian gulfs and implications for scallop metapopulation dynamics. *Journal of Coastal Research* 26(2), 320-332.
- Anderson, D. M. y A. W. White. 1992. Marine biotoxins at the top of the food chain. *Oceanus* 35, 55-61.
- Anderson, D. M., D. M. Kulis, Y. Z. Qi, L. Zheng, S. Lu y Y. T. Lin. 1996. Paralytic shellfish poisoning in southern China. *Toxicon* 34(5), 579-590.
- Andrinolo, D., N. Santinelli, S. Otano, V. Sastre y N. Lagos. 1999a. Paralytic shellfish toxins in mussels and *Alexandrium tamarense* at Valdes Peninsula, Chubut, Patagonia, Argentina: Kinetics of a natural depuration. *Journal of Shellfish Research* 18(1), 203-209.
- Andrinolo, D., L. F. Michea y N. Lagos. 1999b. Toxic effects, pharmacokinetics and clearance of saxitoxin, a component of paralytic shellfish poison (PSP), in cats. *Toxicon* 37(3), 447-464.
- Antacli, J. C., M. E. Sabatini, R. I. Silva, D. R. Hernández, A. J. Jaureguizar y R. Akselman. 2014. Feeding and reproductive activity of the copepods *Drepanopus forcipatus* and *Calanus australis* during late summer on the southern patagonian shelf (Argentina, 47°-55° S). *Brazilian Journal of Oceanography* 62(4), 295-314.

- Armstrong, D. A., H. M. Verheye y A. D. Kemp. 1991. Short-term variability during an Anchor Station study in the southern Benguela upwelling system. Fecundity estimates of the dominant copepod, *Calanoides carinatus*. Progress in Oceanography 28(1-2), 167-188.
- Atkinson, A., P. Ward, A. Hill, A. Brierley y G. Cripps. 1999. Krill-copepod interactions at South Georgia, Antarctica, II. *Euphausia superba* as a major control on copepod abundance. Marine Ecology Progress Series 176, 63-79.
- Atkinson, A., M. J. Whitehouse, J. Priddle, G. C. Cripps, P. Ward y M. A. Brandon. 2001. South Georgia, Antarctica: a productive, cold water, pelagic ecosystem. Marine Ecology Progress Series 216, 279-308.
- Atkinson, A., V. Siegel, E. Pakhomov y P. Rothery. 2004. Long-term decline in krill stock and increase in salps within the Southern Ocean. Nature 432, 100-103.
- Aune, T. 2001. Risk assessment of toxins associated with DSP, PSP and ASP in seafood. Mycotoxins and Phycotoxins in Perspective at the Turn of the Millennium 515-526.
- Bagøien E., A. Miranda, B. Reguera y J. M. Franco. 1996. Effects of two paralytic shellfish toxin producing dinoflagellates on the pelagic harpacticoid copepod *Euterpina acutifrons*. Marine Biology 126, 361-369.
- Bargu, S., C. L. Powell, S. L. Coale, M. Busman, G. J. Doucette y M. W. Silver. 2002. Krill: a potential vector for domoic acid in marine food webs. Marine Ecology Progress Series 237, 209-216.
- Bargu, S. y M. W. Silver. 2003. Field evidence of krill grazing on the toxic diatom genus *Pseudo-nitzschia* in Monterey Bay, California. Bulletin of Marine Science 72, 629-638.
- Bargu, S., B. Marinovic, S. Mansergh y M. Silver. 2003. Feeding responses of krill to the toxin-producing diatom *Pseudo-nitzschia*. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 284, 87-104.
- Bastida, R., D. Rodríguez, E. R. Secchi y V. M. F Da Silva. 2007. Mamíferos Acuáticos de Sudamérica y Antártida. Vázquez Mazzini, (Eds.). Vol.1. Buenos Aires, 360 pp.
- Bastida, R. y D. Rodríguez. 2009. Mamíferos Marinos de Patagonia y Antártida. Vázquez Manzini, (Eds.). Buenos Aires, Argentina, 208 pp.

- Bates, S. S. 2000. Domoic-acid-producing diatoms: another genus added!. *Journal of Phycology*, 36(6), 978-983.
- Beltran, A. S., M. Palafox-Urbe, J. Grajales-Montiel, A. Cruz-Villacorta y J. L. Ochoa. 1997. Sea bird mortality at Cabo San Lucas, Mexico: evidence that toxic diatom blooms are spreading. *Toxicon*, 35(3), 447-453.
- Best, P. B. y D. M. Schell. 1996. Stable isotopes in southern right whale (*Eubalaena australis*) baleen as indicators of seasonal movements, feeding and growth. *Marine Biology* 124, 483-494.
- Best, P. B. y H. Rüther. 1992. Aerial photogrammetry of southern right whales, *Eubalaena australis*. *Journal of Zoology*, London 228, 595-614.
- Blanco, J., A. Morono, Y. Pazos, J. Maneiro y J. Mariño. 1998. Trends and variations of the abundance of main PSP and DSP producing species in the Galician Rías: environmental and biological influences. En: Reguera, B., J. Blanco, M. L. Fernández y T. Wyatt, (Eds.). *Harmful Algae*. Xunta de Galicia and IOC of UNESCO Publishers: 204-207.
- Boltovskoy, D. (Ed). 1981. Atlas del zooplancton del Atlántico Sudoccidental y métodos de trabajo con el zooplancton marino. Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero (INIDEP). Mar del Plata, 933 pp.
- Boltovskoy, D. (Ed.). 1999. South Atlantic Zooplankton. Backhuys, Leiden, 1627 pp.
- Boraso de Xaiso A. L., I. Kreibohm de Paternoster. 1984. Demografía, reproducción y propagación en poblaciones de *Gracilaria verrucosa* (Hudson) *Papenfuss* de la provincia del Chubut (Rep. Argentina) I. Golfo Nuevo. Centro Nacional Patagónico (CONICET). Contribución N° 99.
- Borchers, P., y L. Hutchings. 1986. Starvation tolerance, development time and egg production of *Calanoides carinatus* in the Southern Benguela Current. *Journal of Plankton Research* 8(5), 855-874.
- Bose R., G. B. Glavin y C. Pinsky. 1989. Neurotoxicity and lethality of toxic extracts from Atlantic coast shellfish. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 13(3-4), 559-562.
- Bradford-Grieve, J. M., E. L. Markoseva, C. E. F. Rocha y B. Abichi. 1999. Copepoda. En: South Atlantic Zooplankton. Boltovskoy, D., (Eds.). Leiden, The Netherlands: Backhuys Publishers, 869-1098 pp.

- Brodie, E. C., F. M. D. Gulland, D. J. Greig, M. Hunter, J. Jaakola, J. St. Leger, T. A. Leighfield y F. M. Van Dolah. 2006. Domoic acid causes reproductive failure in California sea lions (*Zalophus californianus*). *Marine Mammal Science* 22, 700-707.
- Bruni J. E., R. Bose, C. Pinsky y G. Glavin. 1991. Circumventricular organ origin of domoic acid-induced neuropathology and toxicology. *Brain research bulletin* 26(3), 419-424.
- Buckmaster, P. S., X. Wen, I. Toyoda, F. Gulland y W. Van Bonn. 2014. Hippocampal neuropathology of domoic acid-induced epilepsy in California sea lions (*Zalophus californianus*). *Journal of Comparative Neurology*, 522(7), 1691-1706.
- Cadaillón, A., 2012. Floraciones Algales Nocivas: Ficotoxinas en Fitoplancton y Zooplancton de los Golfos Nuevo y San José. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Chubut. Argentina, 154 pp.
- Carlsson, P., E. Granéli, G. Finenko y S. Y. Maestrini. 1995. Copepod grazing on a phytoplankton community containing the toxic dinoflagellate *Dinophysis acuminata*. *Journal of Plankton Research* 17, 1925-1938.
- Carreto, J. I., M. L. Lasta, R. M. Negri y H. R. Benavides. 1981. Los fenómenos de marea roja y toxicidad de moluscos bivalvos en el Mar Argentino. Contribución INIDEP (Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero), N° 399, Mar del Plata 55 pp.
- Carreto, J. I., R. Negri, R. H. Benavidez y R. Akselman. 1985. Toxic dinoflagellate blooms in the Argentine Sea. En: Anderson, D. M., A. White y D. G. Baden, (Eds.). *Toxic Dinoflagellates*. Elsevier, 147-152 pp.
- Carreto, J. I., H. R. Benavides, R. M. Negri y P. D. Glorioso. 1986. Toxic red-tide in the Argentine Sea. Phytoplankton distribution and survival of the toxic dinoflagellate *Gonyaulax excavata* in a frontal area. *Journal of Plankton Research* 8(1), 15-28.
- Carreto Iraurgi, J. I. 1989. Mareas rojas. *Ciencia Hoy*, 1(4), 28-36.
- Carreto, J. I., C. El Busto, H. Sancho, M. O. Carignan, A. D. Cucchi-Colleoni, S. G. De Marcos y A. Fernández. 1993. An exploratory analysis of the Mar del Plata shellfish toxicity area (1980-1990). En: Smayda, T. J. e Y. Shimizu, (Eds.). *Toxic Phytoplankton Blooms en the Sea*. Elsevier, Amsterdam, 377-382 pp.

- Carreto, J. I., M. O. Carignan y N. G. Montoya. 2001. Comparative studies on mycosporine-like amino acids, paralytic shellfish toxins and pigment profiles of the toxic dinoflagellates *Alexandrium tamarense*, *A. catenella* and *A. minutum*. *Marine Ecology Progress Series* 223, 49-60.
- Carreto, J. I., N. G. Montoya y M. O. Carignan. 2008. Floraciones de algas tóxicas. Atlas de Sensibilidad Ambiental de la Costa y el Mar Argentino. Secretaría de Ambiente y Desarrollo Sustentable, Buenos Aires, 1-11.
- Ceballos, S., J. A. Cabal y F. Álvarez-Marqués. 2004. Reproductive strategy of *Calanoides carinatus* and *Calanus helgolandicus* during a summer upwelling event off NW Spain. *Marine Biology* 145, 739-750.
- Cervellini, P.M. 1988. Las larvas y postlarvas de los crustáceos Decapoda en el estuario de Bahía Blanca. Variaciones estacionales y su relación con los factores ambientales. Tesis Doctoral. Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina, 246 pp.
- Chan, I.O.M., P. K. S. Lam, R. H. Y. Cheung, M. H. W. Lam y R. S. S. Wu. 2005. Application of solid phase microextraction in the determination of paralytic shellfish poisoning toxins. *Royal Society of Chemistry* 130, 1524-1529.
- Charpy, C. y A. Charpy. 1977. Biomasse phytoplantonique, production primaire et facteurs limitant la fertilité des eaux du Golfe San José (Península Valdés, Argentine). Thèse, Université d'aix-Marseille II. France, 185 pp.
- Charpy, L. J., C. J. Charpy-Roubaud y M. J. Pizarro. 1980. La production primaire des eaux du Golfe San Jos (Peninsule Valdes, Argentine). I. Parametres physiques et teneurs en sels minéraux. *Hydrobiologia* 75, 209-214.
- Cooke, J. G., V. J. Rowntree y R. Payne. 2001. Estimates of demographic parameters for southern right whales (*Eubalaena australis*) observed off Península Valdés, Argentina. *Journal of Cetacean Research and Management* 2, 125-132.
- Cortés, A. R. 1998. Las mareas rojas, AGT Editor, México.
- Costas, E. y V. Lopez-Rodas. 1998. Paralytic phycotoxins in monk seal mass mortality. *Veterinary Record* 142 (23), 643-644.
- Costa, P. R., R. Rosa y M. A. M. Sampayo. 2004. Tissue distribution of the amnesic shellfish toxin, domoic acid, in *Octopus vulgaris* from the Portuguese coast. *Marine Biology*, 144(5), 971-976.

- Costa, L. G., G. Giordano y E. M. Faustman. 2010. Domoic acid as a developmental neurotoxin. *Neurotoxicology* 31(5), 409-423.
- Crespo, E. A. y Pedraza, S. N. 1991. Estado actual y tendencia de la población de lobos marinos de un pelo (*Otaria flavescens*) en el litoral norpatagónico. *Ecología austral*, 1(2), 87-95.
- Crespo, E.A., S. N. Pedraza, S. L. Dans, M. A. Coscarella, G. M. Svendsen y M. Degradi. 2014. Number of southern right whales *Eubalaena australis* and population trend in the neighbourhood of Península Valdés during the period 1999-2013 by means of aerial and boat surveys. Reporte IWC SRW Assessment Workshop SC/65b/BRG07.
- Curry, B. E. y R. L. Brownell. 2014. Family Balaenidae (Right and Bowhead whales). En: D. E. Wilson y R. A. Mittermeier, (Eds.). *Handbook of the Mammals of the World* (186-214 pp.). Volume 4: Sea Mammals. Lynx Edicions, Barcelona.
- D'Agostino, V. 2013. Caracterización y comparación de restos de organismos planctónicos en material fecal de individuos de Ballena Franca Austral (*Eubalaena australis*), Península Valdés, Chubut, Argentina. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Puerto Madryn, Argentina, 94 pp.
- D'Agostino, V. C., M. S. Hoffmeyer, G. O. Almandoz, V. Sastre y M. Degradi. 2015. Potentially toxic *Pseudo-nitzschia* species in plankton and fecal samples of *Eubalaena australis* from Península Valdés calving ground, Argentina. *Journal of Sea Research*, 106, 39-43.
- D'Agostino, V. C., M. S. Hoffmeyer y M. Degradi. 2016. Faecal analysis of southern right whales (*Eubalaena australis*) in Península Valdés calving ground, Argentina: *Calanus australis*, a key prey species. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 96(04), 859-868.
- Dawes, C. 1991. *Botánica Marina*. Editorial LIMUSA, Balderas México, 650.
- Dawson, J. F. y C. F. Holmes. 1999. Molecular mechanisms underlying inhibition of protein phosphatases by marine toxins. *Frontiers in Bioscience* 4, 646-658.
- De La Riva, G. T., C. K. Johnson, F. M. Gulland, G. W. Langlois, J. E. Heyning, T. K. Rowles y J. A. Mazet. 2009. Association of an unusual marine mammal mortality event with *Pseudo-nitzschia* spp. blooms along the southern California coastline. *Journal of Wildlife Diseases* 45(1), 109-121.

- Dellatorre, F. G., G. Lovrich, L. Rojas, V. Milano, N. D. Figueroa y P. J. Barón. 2014. Seasonal abundance and vertical distribution of crab larvae from northern Patagonia (Argentina): implications for their transport in a biogeographic boundary region. *Marine Biology Research*, 10(1), 37-50.
- DeGange, A. R. y M. M. Vacca. 1989. Sea otter mortality at Kodiak Island, Alaska, during summer 1987. *Journal of Mammalogy* 70 (4), 836-838.
- Derisio, C. 2012. El rol del frente de mareas de Península Valdés en el control de la comunidad zooplanctónica. Tesis doctoral. Universidad Nacional de Mar del Plata, Mar del Plata, Argentina, 148 pp.
- Doucette, G. J., J. T. Turner, C. L. Powell, B. A. Keafer y D. M. Anderson. 2005. Trophic accumulation of PSP toxins in zooplankton during *Alexandrium fundyense* blooms in Casco Bay, Gulf of Maine, April-June 1998. I. Toxin levels in *A. fundyense* and zooplankton size fractions. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* 52(19), 2764-2783.
- Doucette, G. J., A. D. Cembella, J. L. Martin, J. Michaud, T. V. N. Cole y R. M. Rolland. 2006. Paralytic shellfish poisoning (PSP) toxins in North Atlantic right whales *Eubalaena glacialis* and their zooplankton prey in the Bay of Fundy, Canada. *Marine Ecology Progress Series* 306, 303-313.
- Doucette, G. J., C. M. Mikulski, K. L. King, P. B. Roth, Z. Wang, L. F. Leandro, S. L. DeGrasse, K. D. White, D. De Biase, R. M. Gillett y R. M. Rolland. 2012. Endangered North Atlantic right whales (*Eubalaena glacialis*) experience repeated, concurrent exposure to multiple environmental neurotoxins produced by marine algae. *Environmental research* 112, 67-76.
- Durbin, E., G. Teegarden, R. Campbell, A. Cembella, M. F. Baumgartner y B. R. Mate. 2002. North Atlantic right whales, *Eubalaena glacialis*, exposed to paralytic shellfish poisoning (PSP) toxins via zooplankton vector, *Calanus finmarchicus*. *Harmful Algae* 1, 243-251.
- Elías I., 1998. Alternativas de explotación pesquera en áreas costeras norpatagónicas ecológicamente sensibles. Tesis doctoral en Ciencias Naturales. Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Ciencias Naturales y Museo.

- Esteves J. L., M. Solís, J. Cejas y R. Vera. 1986. Golfo San José-Resultados de las campañas oceanográficas 1984/1985. Puerto Madryn, Argentina: CENPAT, Report to the Chubut Province Administration, 13 pp.
- Esteves, J. L., N. Santinelli, V. Sastre, R. Díaz y O. Rivas. 1992. A toxic dinoflagellate bloom and PSP production associated with upwelling in Golfo Nuevo, Patagonia, Argentina. *Hydrobiologia*, 242(2), 115-122.
- Esteves, J. L., M. Solís, M. Gil, N. Santinelli, V. Sastre, C. Gonzalez Raies, M. Hoffmeyer y M. Commendatore. 1996. Dos Bahías Patagónicas: Bahía Nueva-Bahía Engaño. En: International Conference on Pollution Processes in Coastal Enviroments. Mar del Plata, Argentina, 2nd – 6th December 1996, 64-70 pp.
- Esteves, J. L., M. Solís, M. Gil, V. Sastre, C. González Raies, M. Hoffmeyer y M. Commendatore. 1997. Evaluación de la contaminación urbana de la Bahía Nueva (Provincia del Chubut). Fundación Patagonia Natural, Chubut (Argentina) Plan de Manejo Integrado de la Zona Costera Patagónica.
- Falconer, I. R. 1996. Potential impact on human health of toxic cyanobacteria. *Phycologia* 36, 6-11.
- Falkowski, P. G., M. E. Katz, A. H. Knoll, A. Quigg, J. A. Raven, O. Schofield y F. J. R. Taylor. 2004. The evolution of modern eukaryotic phytoplankton. *Science* 305, 354-360.
- Ferrario, M. E., E. A. Sar y S. E. Sala. 1995. Metodología básica para el estudio del fitoplancton con especial referencia a las diatomeas. En: Alveal, K., M. E. Ferrario, E. Oliviera y E. Zar, (Eds.). Manual de métodos ficológicos. Universidad de Concepción, Chile, 2-20 pp.
- Ferrario, M. E., E. A. Sar, C. Castaños y F. Hinz. 1999. Potentially toxic species of the diatom genus *Pseudo-nitzschia* in Argentinian coastal waters. *Nova Hedwigia* 68(1), 131-148.
- Fire, S. E., Z. Wang, T. A. Leighfield, S. L. Morton, W. E. McFee, W. A. McLellan, W. Litaker, P. A. Tester, A. A. Hohn, G. Lovewell, C. Harms, D. S. Rotstein, S. G. Barco, A. Costidis, B. Sheppard, G. D Bossart, M. Stolen, W. N. Durden y F. M. Van Dolah. 2009. Domoic acid exposure in pygmy and dwarf sperm whales (*Kogia* spp.) from southeastern and mid-Atlantic US waters. *Harmful Algae* 8(5), 658-664.

- Fire, S. E., Z. Wang, M. Berman, G. W. Langlois, S. L. Morton, E. Sekula-Wood y C. R. Benitez-Nelson. 2010. Trophic transfer of the harmful algal toxin domoic acid as a cause of death in a minke whale (*Balaenoptera acutorostrata*) stranding in southern California. *Aquatic Mammals* 36(4), 342-350.
- Folt, C. L. y C.W. Burns. 1999. Biological drivers of zooplankton patchiness. *Trends in Ecology & Evolution* 14(8), 300-305.
- Fortier, L., J. Le Fèvre y L. Legendre. 1994. Export of biogenic carbon to fish and to the deep ocean: The role of large planktonic microphages. *Journal of Plankton Research* 16, 809-839.
- Fritz, L., M. A. Quilliam, J. L. C. Wright, A. M. Beale y T. M. Work. 1992. An outbreak of domoic acid poisoning attributed to the pennate diatom *Pseudo-nitzschia australis*. *Journal of Phycology* 28, 439-442.
- Gagliardini, D. A., R. O. Amoroso, P. dell'Arcipriete, P. Yorio y J. M. Orensanz. 2004. Detection of small-scale coastal oceanographic processes through Landsat-TM/ETM+images: implications for the study of biological processes along the Patagonian coasts of Argentina. *Gayana* 68(2), 194-200.
- Garnett, C. M., C. M. Rafuse, N. I. Lewis, S. Kirchhoff, J. Cullen y M. A. Quilliam. 2006. Monitoring of lipophilic shellfish toxins using SPATT (solid-phase adsorption toxin tracking) in Nova Scotia, Canada. Abstract O.19-02 of the 12th International Conference on Harmful Algae; Copenhagen, Denmark, 4-8 September.
- Gatto, A. J. 2009. Ecología trófica de tres especies simpátricas de gaviotines en la costa norte de Patagonia. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Buenos Aires.
- Gayoso, A. M. 2001. Observations on *Alexandrium tamarense* (Lebour) Balech and other dinoflagellate populations in golfo Nuevo, Patagonia (Argentina). *Journal of Plankton Research* 23(5), 463-468.
- Gayoso, A. M. y N. F. Ciocco. 2001. Observations on *Prorocentrum lima* from North-Patagonian coastal waters (Argentina) associated with a human diarrhoeic disease episode. *Harmful Algae News*, 22(4).
- Gayoso, A. M. y V. K. Fulco. 2006. Occurrence patterns of *Alexandrium tamarense* (Lebour) Balech populations in the Golfo Nuevo (Patagonia, Argentina), with

- observations on ventral pore occurrence in natural and cultured cells. *Harmful Algae* 5(3), 233-241.
- Geraci, J. R., D. M. Anderson, R. J. Timperi, D. J. St. Aubin, G. A. Early, J. H. Prescott y C. A. Mayo. 1989. Humpback whales (*Megaptera novaengliae*) fatally poisoned by dinoflagellate toxin. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic* 46, 1895-1898.
- Gil, M., V. Sastre, N. Santinelli y J. L. Esteves. 1989. Metal content in seston from San José Gulf, Patagonia Argentina. *Bulletin of environmental contamination and toxicology* 43(3), 337-341.
- Gilmartin, M. y N. Revelante. 1978. The phytoplankton characteristics of the barrier island lagoons of the Gulf of California. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 7, 29-47.
- Glavin G. B., C. Pinsky y R. Bose. 1989. Toxicology of mussels contaminated by neuroexcitant domoic acid. *Lancet* 1(8636), 506-507.
- Goldstein, T., J. A. K. Mazet, T. S. Zabka, G. Langlois, K. M. Colegrove, M. W. Silver, S. Bargu, F. Van Dolah, T. Leighfield, P. A. Conrad, J. Barakos, D. C. Williams, S. Dennison, M. Haulena y F. M. D. Gulland. 2008. Novel symptomatology and changing epidemiology of domoic acid toxicosis in California sea lions (*Zalophus californianus*): An increasing risk to marine mammal health. *Proceedings of the Royal Society B, Biological Sciences* 275, 267-276.
- Goldstein, T., T. S. Zabka, R. L. DeLong, E. A. Wheeler, G. Ylitalo, S. Bargu, M. Silver, T. Leighfield, F. Van Dolah, G. Langlois, I. Sidor, J. L. Dunn y F. M. D. Gulland. 2009. The role of domoic acid in abortion and premature parturition of California sea lions (*Zalophus californianus*) on San Miguel Island, California. *Journal of wildlife diseases* 45(1), 91-108.
- Gomendio, M. y E. R. Roldan. 1991. Sperm competition influences sperm size in mammals. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 243(1308), 181-185.
- Groch, K. R., J. T. Palazzo Jr., P. A. C. Flores, F. R. Adler y M. E. Fabian. 2005. Recent rapid increases in the Brazilian right whale population. *LAJAM* 4, 41-47.
- Guisande, C., M. Frangopulos, Y. Carotenuto, I. Maneiro, I. Riveiro y A. R. Vergara. 2002. Fate of paralytic shellfish poisoning toxins ingested by the copepod *Acartia clausi*. *Marine Ecology Progress Series* 240, 105-115.

- Gulland, F. 1999. Domoic acid toxicity in California sea lions stranded along the central California Coast, May-October 1998. NOAA Tech. Memo. NMFS-OPR-8. USA National Marine Fisheries Service, U.S. Department of Commerce.
- Gulland, F. M., M. Haulena, D. Fauquier, G. Langlois, M. E. Lander, T. Zabka y R. Duerr. 2002. Domoic acid toxicity in California sea lions (*Zalophus californianus*); clinical signs, treatment.
- Hall, S., G. Strichartz, E. Moczydlowski, A. Ravindran, P. B. Reichardt. 1990. The saxitoxins; sources, chemistry, and pharmacology. En: Hall, A. y G. Strichartz, (Eds.). Marine Toxins: Origin, Structure and Molecular Pharmacology, American Chemical Society Symposium, series 418. American Chemical Society, Washington, DC, 29-65 pp.
- Hallegraeff, G. 1995. Harmful algal blooms: A global overview. Manual on Harmful Marine Microalgae 1-22.
- Halstead, B. W. y E. J. Schantz. 1984. Paralytic shellfish poisoning. En WHO offset publication (Vol. 79). World Health Organization, 60 pp.
- Hamasaki, K., T. Takahashi y S. Uye. 2003. Accumulation of paralytic shellfish poisoning toxins in planktonic copepods during a bloom of the toxic dinoflagellate *Alexandrium tamarense* in Hiroshima Bay, western Japan. Marine Biology 143, 981-988.
- Hamner, W. M., G. S. Stone y B. S. Obst. 1988. Behavior of southern right whales, *Eubalaena australis*, feeding on the Antarctic krill, *Euphausia superba*. Fishery Bulletin 86(1), 143-150.
- Harðardóttir, S., M. Pančić, A. Tammilehto, B. Krock, E. F. Møller, T. G. Nielsen y N. Lundholm. 2015. Dangerous relations in the Arctic marine food web: interactions between toxin producing *Pseudo-nitzschia* diatoms and *Calanus* copepodites. Marine drugs 13(6), 3809-3835.
- Harris G. y C. García. 1990. Ballenas francas australes. El lento camino de la recuperación. Ciencia Hoy, Vol 2, No. 7.
- Harris, R. P., P. H. Wiebe, J. Lenz, H. R. Skjoldal y M. Huntley, (Eds.). 2000. ICES Zooplankton Methodology Manual. Academic Press, London San Diego, 673 pp.

- Hasle, G. R., 1965. *Nitzschia* and *Fragilariopsis* studied in the light and electron microscopes. II The group *Pseudonitzschia*. Skr. Norske Vidensk.-Akad. Oslo I. Mat.-Naturv. Kl. N.S. 18, 1-45.
- Head, E. J. H. y L. R. Harris. 1992. Chlorophyll and carotenoid transformation and destruction by *Calanus* spp. grazing on diatoms. Marine Ecology Progress Series 86, 229-238.
- Helling, G. R. y Baars, M. A. 1985. Changes of the concentration of chlorophyll and phaeopigment in grazing experiments. Hydrobiological bulletin 19, 41-48.
- Hernández Moresino, R. D., L. Villanueva Gomila, R. Di Mauro y P. J. Baron. 2013. Structural differentiation of the mesozooplankton community in two hydrographic domains of a small basin: The frontal system of San Jose Gulf (Patagonia, Argentina) as a study case. Journal of Plankton Research 36, 578-584.
- Hirche, H. J. 1997. Life cycle of the copepod *Calanus hyperboreus* in the Greenland Sea. Marine Biology 128(4), 607-618.
- Hoffmeyer, M. S., M. S. Lindner, A. Carribero, V. K. Fulco, M. C. Menéndez, M. D. Fernández Severini, S. L. Diodato, A. A. Berasategui, F. Biancalana y E. Berrier. 2010. Planktonic food and foraging of *Eubalaena australis*, on Península Valdés (Argentina) nursery ground. Revista de Biología Marina y Oceanografía, 45, 131-139.
- Holm-Hansen, O., C. J. Lorenzen, R. W. Holmes y J. D. Strickland. 1965. Fluorometric determination of chlorophyll. Journal du Conseil 30(1), 3-15.
- Huggett, J. A. 2001. Reproductive response of the copepods *Calanoides carinatus* and *Calanus agulhensis* to varying periods of starvation in the southern Benguela upwelling region. Journal Plankton Research 23(10), 1061-1071.
- Hwang, D. F. e Y. H. Tsai. 1999. Toxins in toxic Taiwanese crabs. Food Reviews International, 15(2), 145-162.
- Ichii, T., K. Katayama, N. Obitsu, H. Ishii y Naganobu, M. 1998. Occurrence of Antarctic krill (*Euphausia superba*) concentrations in the vicinity of the South Shetland Islands: relationship to environmental parameters. Deep Sea Research I, 45, 1235-1262.
- Iverson, F., J. Truelove, E. Nera, L. Tryphonas, J. Campbell y E. Lok. 1989. Domoic acid poisoning and mussel-associated intoxication: preliminary investigations into

- the response of mice and rats to toxic mussel extract. *Food and Chemical Toxicology* 27(6), 377-384.
- Iverson, F., J. Truelove, L. Tryphonas y E. A. Nera. 1990. The toxicology of domoic acid administered systematically. *Canada diseases weekly report* 16, 15-19.
- IWC, 1998. Reports of the International Whaling Commission: Right Whales: Past and Present Status. Special Issue 10, 1-49 pp.
- IWC, 2001. Journal of Cetacean Research and Management: Right Whales: Worldwide Status; International Whaling Commission. Special Issue 2, 1-60 pp.
- Jeffries, H. P. 1967. Saturation of estuarine zooplankton by congeneric associates. *Estuaries* 83, 500-508.
- Kenney, R. D., M. A. M. Hyman, R. E. Owen, G. P. Scott y H. E. Winn. 1986. Estimation of prey densities required by western North Atlantic right whales. *Marine Mammals Science* 2, 1-13.
- Kjørboe, T. 1993. Turbulence, phytoplankton cell size, and the structure of pelagic food webs. *Advances in Marine Biology* 29, 1-72.
- Kirkwood, J. M. 1982. A guide to the Euphausiacea of the Southern Ocean (No. 1-5). Information Services Section, Antarctic Division, Dept. of Science and Technology.
- Kotaki, Y., K. Koike, M. Yoshida, C. Van Thuoc, N. T. M. Huyen, N. C. Hoi, Y. Fukuyo, M. Kodama. 2000. Domoic acid production in *Nitzschia* sp. (bacillariophyceae) isolated from a shrimp-culture pond in do son, Vietnam. *Journal of Phycology* 36(6), 1057-1060.
- Kraus S. D., J. H. Prescott, A. R. Knowlton y G. S. Stone. 1986. Migration and calving of right whales (*Eubalaena glacialis*) in the western North Atlantic. Reports of the International Whaling Commission 10(Special Issue), 139-144.
- Krock, B., C. M. Borel, F. Barrera, U. Tillmann, E. Fabro, G. O. Almandoz, M. Ferrario, J. E. Garzón Cardona, B. P. Koch, C. Alonso y R. Lara. 2015. Analysis of the hydrographic conditions and cyst beds in the San Jorge Gulf, Argentina, that favor dinoflagellate population development including toxigenic species and their toxins. *Journal of Marine Systems* 148, 86-100.
- Kwong, R. W., W. X. Wang, P. K. Lam y K. N. Peter. 2006. The uptake, distribution and elimination of paralytic shellfish toxins in mussels and fish exposed to toxic dinoflagellates. *Aquatic toxicology* 80(1), 82-91.

- Lagos, N., J. L. Liberona, D. Andrinolo, P. A. Zagatto, S. R. Moraes y M. F. Q. S. Azevedo. 1997. First evidence of paralytic shellfish toxins in the freshwater cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* isolated from Brasil. Abstracts, VIII International Conference on Harmfull Algae, VIGO, June 1997, 115 pp.
- Lagos, N. W. y D. Andrinolo. 2000. Paralytic shellfish poisoning (PSP): toxicology and kinetics. Food Science and Technology-New York-Marcel Dekker- 203-216.
- Lane, J. Q., C. Roddam, G. W. Langlois y R. M. Kudela. 2010. Application of Solid Phase Adsorption Toxin Tracking (SPATT) for field detection of the hydrophilic phycotoxins domoic acid and saxitoxin in coastal California. Limnology and Oceanography: Methods 8(11), 645-660.
- Leandro, L. F., G. J. Teegarden, P. B. Roth, Z. Wang y G. J. Doucette. 2010a. The copepod *Calanus finmarchicus*: A potential vector for trophic transfer of the marine algal biotoxin, domoic acid. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 382, 88-95.
- Leandro, L. F., R. M. Rolland, P. B. Roth, N. Lundholm, Z. Wang y G. J. Doucette. 2010b. Exposure of the North Atlantic right whale *Eubalaena glacialis* to the marine algal biotoxin, domoic acid. Marine Ecology Progress Series 398, 287–303.
- Leaper, R., J. Cooke, P. Trathan, K. Reid, V. J. Rowntree y R. Payne. 2006. Global climate drives southern right whale (*Eubalaena australis*) population dynamics. Biology Letters 2, 289-292.
- Lee, K. W., H. G. Park, S. M. Lee y H. K. Kang. 2006. Effects of diets on the growth of the brackish water cyclopoid copepod *Paracyclops nana* Smirnov. Aquaculture 256(1), 346-353.
- Lefebvre, K.A., C. L. Powell, M. Busman, G. J. Doucette, P. D. R. Moeller, J. B. Sliver, P. E. Miller, M. P. Hughes, S. Singaram, M. W. Silver y R. S. Tjeerdema. 1999. Detection of domoic acid in northern anchovies and California sea lions associated with an unusual mortality event. Natural Toxins 7 (3), 85-92.
- Lefebvre, K. A., S. Bargu, T. Kieckhefer y M. W. Silver. 2002. From sanddabs to blue whales: the pervasiveness of domoic acid. Toxicon 40, 971-977.
- Lefebvre, K. A., A. Robertson, E. R. Frame, K. M. Colegrove, S. Nance, K. A. Baugh, H. Wiedenhof y F. M. Gulland. 2010. Clinical signs and histopathology associated

- with domoic acid poisoning in northern fur seals (*Callorhinus ursinus*) and comparison of toxin detection methods. *Harmful Algae* 9(4), 374-383.
- Lefebvre, K.A., M. W. Silver, S. L. Coale y R. S. Tjeerdema. 2012. Domoic acid in planktivorous fish in relation to toxic *Pseudo-nitzschia* cell densities. *Marine Biology* 140 (3), 625-631.
- Lefebvre, K. A., L. Quakenbush, E. Frame, K. B. Huntington, G. Sheffield, R. Stimmelmayer, A. Bryan, P. Kendrick, H. Ziel, T. Goldstein, J. A. Snyder, T. Gelatt, F. Gulland, B. Dickerson y V. Gill. 2016. Prevalence of algal toxins in Alaskan marine mammals foraging in a changing arctic and subarctic environment. *Harmful Algae*, 55, 13-24.
- Legendre, P. y L. Legendre. 1998. *Numerical ecology*. Amsterdam: Elsevier Science, 870 pp.
- Legendre, P. y E. Gallagher. 2001. Ecologically meaningful transformations for ordination of species data. *Oecologia* 129(2), 271-280.
- Legendre, L. y R. B. Rivkin. 2002. Fluxes in the upper ocean: Regulation by food-web control nodes. *Marine Ecology Progress Series* 242, 95-109.
- Legendre, P. 2008. Studying beta diversity: ecological variation partitioning by multiple regression and canonical analysis. *Journal of Plant Ecology* 1(1), 3-8.
- Lelong, A., H. Hégaret, P. Soudant y S. S. Bates. 2012. *Pseudo-nitzschia* (Bacillariophyceae) species, domoic acid and amnesic shellfish poisoning: revisiting previous paradigms. *Phycologia* 51, 168-216.
- Lenz, J. 2000. Introduction. En: Harris, R. P., P. H. Wiebe, J. Lenz, H. R. Skjoldal y M. Huntley, (Eds.). *ICES Zooplankton Methodology Manual*, Academic Press, London, 1-32 pp.
- Lepš, J., y P. Šmilauer. 2003. *Multivariate analysis of ecological data using CANOCO*. Cambridge university press.
- Lincoln, J. A., J. T. Turner, S. S. Bates, C. Léger y D. A. Gauthier. 2001. Feeding, egg production, and egg hatching success of the copepods *Acartia tonsa* and *Temora longicornis* on diets of the toxic diatom *Pseudo-nitzschia multiseries* and the non-toxic diatom *Pseudo-nitzschia pungens*. *Hydrobiologia* 453(1), 107-120.
- Lindahl, O. 1998. Occurrence and Monitoring of harmful algae in the marine environment. En Miraglia, M., H. Van Egmond, C. Brera y J. Gilbert, (Eds.) 1998.

- Mycotoxins and phycotoxins – developments in chemistry, toxicology and food safety. Proceedings of the IX International IUPAC Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins, Fort Collins, Colorado, Alaken Press, 409-423 pp.
- Lindahl, O., B. Lundve y M. Johansen. 2007. Toxicity of *Dinophysis* spp. in relation to population density and environmental conditions on the Swedish west coast. *Harmful Algae* 6, 218-231.
- Lombard, F., D. Eloire, A. Gobet, L. Stemmann, J. R. Dolan, A. Sciandra y G. Gorsky. 2010. Experimental and modeling evidence of appendicularian-ciliate interactions. *Limnology and Oceanography* 55(1), 77-90.
- Lopes, R. M., F. P. Brandini y S. A. Gaeta. 1999. Distribution patterns of epipelagic copepods off Rio de Janeiro (SE Brazil) in summer 1991/1992 and winter 1992. *Hydrobiologia* 411, 161-174.
- Lorenzen, C. J. 1967. Vertical distribution of chlorophyll and phaeopigments: Baja California. *Deep-Sea Research* 14, 735-745.
- Lowry, M. S., B. S. Stewart, C. B. Heath, P. K. Yochem y J. M. Francis. 1991. Seasonal and annual variability in the diet of California sea lions *Zalophus californianus* at San Nicolas Island, California, 1981-86. *Fisheries Bulletin US* 89, 331-336.
- Mackas, D. L. y G. Beaugrand. 2010. Comparison of zooplankton time series. *Journal of Marine Systems* 79, 286-304.
- MacKenzie, L., V. Beuzenberg, P. Holland, P. McNabb y A. Selwood. 2004. Solid phase adsorption toxin tracking (SPATT): a new monitoring tool that simulates the biotoxin contamination of filter feeding bivalves. *Toxicon* 44, 901-918.
- Maneiro, I., P. Iglesias, C. Guisande, I. Riveiro, A. Barreiro, S. Zervoudaki y E. Granéli. 2005. Fate of domoic acid ingested by the copepod *Acartia clausi*. *Marine Biology* 148, 123- 130.
- Margalef, R., 1974. *Ecología*. Ed. Omega, 953 pp.
- Marrari, M., M. D. Viñas, P. Martos y D. Hernández. 2004. Spatial patterns of mesozooplankton distribution in the Southwestern Atlantic Ocean (34°-41° S) during austral spring: relationship with the hydrographic conditions. *ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil* 61(4), 667-679.
- Matthews, L. H. 1932. Lobster-krill. *Discovery Reports* 5, 467-484.

- Maucher, J. M. y J. S. Ramsdell. 2005. Domoic acid transfer to milk: evaluation of a potential route of neonatal exposure. *Environmental Health Perspectives* 113, 461-464.
- Maucher, J. M. y J. S. Ramsdell. 2007. Maternal-fetal transfer of domoic acid in rats at two gestational time points. *Environmental health perspectives* 1743-1746.
- Mauchline, J. 1998. *The Biology of Calanoid copepods*. *Advances in Marine Biology*, vol. 33, Academic Press, New York, 710 pp.
- Mayo, C. A. y M. K. Marx. 1990. Surface foraging behaviour of North Atlantic right whale and associated plankton characteristics. *Canadian Journal of Zoology* 68, 2214- 2220.
- Mayo, C. A., B. H. Letcher y S. Scott. 2001. Zooplankton filtering efficiency of the baleen of a North Atlantic right whale, *Eubalaena glacialis*. *Journal of Cetacean Research Management*, Special Issue 2, 225-229.
- McCarthy, M., V. Bane, M. García-Altare, F. N. van Pelt, A. Furey y J. O'Halloran. 2015. Assessment of emerging biotoxins (pinnatoxin G and spirolides) at Europe's first marine reserve: Lough Hyne. *Toxicon*, 108, 202-209.
- McLaren, I. A., M. J. Tremblay, C. J. Corkett y J. C. Roff. 1989. Copepod production on the Scotian Shelf based on life-history analyses and laboratory rearings. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 46, 560-583.
- Menéndez, M. C, A. A. Berasategui, M. S. Lindner, S. L. Diodato, M. D. Fernández Severini y M. S. Hoffmeyer. 2007. Trophic spectrum of southern right whale *Eubalaena australis* by means of faecal analysis. *Biocell* 3, 347. [Abstract 87].
- Menéndez, C., F. Biancalana, A. A. Berasategui, M. D. Fernández Severini, M. S. Hoffmeyer y J. L. Esteves. 2011. Mesozooplankton composition and spatial distribution, Nuevo Gulf, Patagonia, Argentina. *Check List* 7, 101-107.
- Michaud, J. y C. T. Taggart. 2007. Lipid and gross energy content of North Atlantic right whale food, *Calanus finmarchicus*, in the Bay of Fundy. *Endangered Species Research* 3, 77-94.
- Miesner, A. K., N. Lundholm, B. Krock y T. G. Nielsen. 2016. The effect of *Pseudo-nitzschia seriata* on grazing and fecundity of *Calanus finmarchicus* and *Calanus glacialis*. *Journal of Plankton Research* 38(3), 564-574.

- Miquel, J. C. 1991. Distribution and abundance of post-larval krill (*Euphausia superba* Dana) near Prydz Bay in summer with reference to environmental conditions. *Antarctic Science* 3, 279-292.
- Mons, M. P., H. P. van Egmond y G. J. A. Speijers. 1998. Paralytic shellfish poisoning; A review. RIVM Report 388802005.
- Montoya, N. y J. I. Carreto. 2007. Informe sobre mortandad de aves marinas ocurrida en las costas de Chubut (noviembre de 2006), asociada a la presencia de toxinas paralizantes de moluscos. INIDEP (Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero), Informe técnico N° 34, 8 pp.
- Montoya, N.G., V. K. Fulco, M. O. Carignan y J. I. Carreto. 2010. Toxin variability in cultured and natural populations of *Alexandrium tamarense* from southern South America - evidences of diversity and environmental regulation. *Toxicon* 56, 1408-1418.
- Mullin, M. M. 1993. Webs and scales: physical and ecological processes in marine fish recruitment. Washington Sea Grant. University of Washington Press, 135 pp.
- Negri, R. M. y D. Inza. 1998. Some potentially toxic species of *Pseudo-nitzschia* in the Argentine Sea (35°-39°S). Harmful algae. En: Reguera, B., J. Blanco, M. L. Fernandez y T. Wyatt, (Eds.). Proceedings of the VIII International Conference on Harmful Algae. Xunta de Galicia and IOC of UNESCO Publishers, Vigo, 84- 85 pp.
- Negri, R. M., N. G. Montoya, J. I. Carreto, R. Akselman y D. Inza. 2004. *Pseudo-nitzschia australis*, *Mytilus edulis*, *Engraulis anchoita*, and domoic acid in the Argentine Sea. *Harmful algae* 2002, 139-141.
- Nijjar, M. S. y S. S. Nijjar. 2000. Ecobiology, clinical symptoms, and mode of action of domoic acid, an amnesic shellfish toxin. *Food Science and Technology-New York: Marcel Dekker-*, 325-358.
- Núñez-Vazquez, E. J., A. Heredia-Tapia, J. C. Pérez-Urbiola, R. Alonso-Rodríguez, J. Arellano-Blanco, A. Cordero-Tapia, J. Pérez-Linares y J. L. Ochoa. 2004. Evaluation of dinoflagellate toxicity implicated in recent HAB events in the Gulf of California, Mexico. 90 p. En: Proceedings of HABTech 2003 Workshop. Nelson, New Zealand Cawthron Report No. 906

- Onodera, H., M. Satake, Y. Oshima, T. Yasumoto y W. W. Carmichael. 1997. Detection of PSP toxins and six new saxitoxin analog in the freshwater filamentous cyanobacterium *Lyngbya wollei*. Abstracts, VIII International Conference on Harmfull Algae, VIGO, June 1997, 153 p.
- Oshima, Y., C. J. Bolch y G. M. Hallegraeff. 1992. Toxin composition of resting cysts of *Alexandrium tamarense* (Dinophyceae). *Toxicon* 30(12), 1539-1544.
- Padovani, L. N., M. D. Viñas, F. Sánchez y H. Mianzan. 2012. Amphipod-supported food web: *Themisto gaudichaudii*, a key food resource for fishes in the southern Patagonian Shelf. *Journal of Sea Research* 67(1), 85-90.
- Parsons, R., M. Takahashi y B. Margrave. 1984. Biological oceanographic processes. Pergamon Press, London, 330 pp.
- Pauly, D., A. W. Trites, E. Capulli y V. Christensen. 1998. Diet composition and trophic levels of marine mammals. *ICES Journal of Marine Science* 55, 467-481.
- Payne, R. y E. M. Dorsey. 1983. Sexual dimorphism and aggressive use of callosities in right whales (*Eubalaena australis*). *Communication and behavior of whales* (295-329 pp.). AAAS Selected Symposia Series 76, R. Payne, (Ed.), Westview Press, Boulder CO.
- Payne, R. 1986. Long term behavioural studies of the southern right whale (*Eubalaena australis*). Report International Whaling Commission, (Special issue 10), 161-167.
- Payne, R., V. Rowntree, J. S. Perkins, J. G. Cooke y K. Lankester. 1990. Populations size, trends and reproductive parameters of right whales (*Eubalaena australis*) off Península Valdés. Report International Whaling Commission, (Special Issue12), 271-278.
- Pepin, P. y E. Head. 2009. Seasonal and depth-dependent variations in the size and lipid contents of stage 5 copepodites of *Calanus finmarchicus* in the waters of the Newfoundland Shelf and the Labrador Sea. *Deep-Sea Research Part I*, 56, 989-1002.
- Perl, T. M., L. Bédard, T. Kosatsky, J. C. Hockin, E. C. Todd y R. S. Remis. 1990. An outbreak of toxic encephalopathy caused by eating mussels contaminated with domoic acid. *New England Journal of Medicine*, 322(25), 1775-1780.

- Pisoni, J. P. 2012. Los sistemas frontales y la circulación en las inmediaciones de los Golfos Norpatagónicos. Tesis doctoral. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires, 197 pp.
- Pizarro, M. J. 1975. Análisis de los resultados de la primera campaña oceanográfica en el golfo San José. Informe Científico No 3, Centro Nacional Patagónico (Puerto Madryn, Argentina), 19 pp.
- Pizarro G, L. Escalera, S. González-Gil, J. M. Franco y B. Reguera. 2008. Growth, behaviour and cell toxin quota of *Dinophysis acuta* during a daily cycle. Marine Ecology Progress Series 353,89-105.
- Poot Delgado, C. A. 2006. Estructura de la comunidad fitoplanctónica con énfasis en las especies tóxicas y/o nocivas de la Laguna de Macapule, Sinaloa. Tesis Doctoral. Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, 160 pp.
- R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Ramírez, F. C. y P. Seijas. 1985. New data on the ecological distribution of cladocerans and first local observations on reproduction of *Evadne nordmanni* and *Podon intermedius* (Crustacea, Cladocera) in Argentine sea waters. Physis, Seccion A 43(105), 131-143.
- Ramírez, F. C. 1996. Composición, abundancia y variación estacional del zooplankton de red del Golfo San Matías. Frente Marítimo 16, 157-167.
- Ramírez, F. C. y M. E. Sabatini. 2000. The occurrence of Calanidae species in waters off Argentina. Hydrobiologia 439, 21-42.
- Ramsdell, J. S. 2010. Neurological disease rises from ocean to bring model for human epilepsy to life. Toxins 2, 1646-1675.
- Raymont, J. 1983. Plankton and productivity in the oceans. Pergamon Press, Oxford, 1-824.
- Reguera, B., I. Bravo, C. Marcaillou-Le Baut, P. Masselin, M. L. Fernández, A. Míguez y A. Martínez, 1993. Monitoring of *Dinophysis* spp. and vertical distribution of okadaic acid on mussel rafts from Ría de Pontevedra (NW Spain). En Smayda T.J. y Y. Shimizu, (Eds.). Toxic Phytoplankton Blooms in the Sea. Elsevier, Amsterdam, 553-558 pp.

- Reguera B. 2002. Capítulo 1: Establecimiento de un programa de seguimiento de microalgas tóxicas. En: Sar, E. A., M. E. Ferrario y B. Reguera, (Eds). Floraciones Algales Nocivas en el Cono Sur Americano. Instituto Español de Oceanográfico de Vigo, Vigo, 19-54 pp.
- Reyero, M., N. H. Santinelli, V. Sastre, E. Maroño, J. M. Franco y A. Andrade. 1998. Toxin profiles of PSP from molluscs and phytoplankton containing *Alexandrium tamarense* (Lebour) Balech in two Patagonian gulfs (Argentina). En: Reguera, B., J. Blanco, M. L. Fernández y T. Wyatt, (Eds). Harmful Algae. Xunta de Galicia and IOC of UNESCO 507-508 pp.
- Rivas, A. y P. Ripa. 1989. Variación estacional de la estructura termo-halina de Golfo Nuevo, Argentina. Geofísica Internacional 28, 3-24.
- Rivas, A. 1990a. Heat balance and annual variation of mean temperature in the North-Patagonian gulfs. Oceanologica Acta 13, 265-272.
- Rivas, A. L. 1990b. Análisis estacional de la estructura termo-halina en el golfo San José, Argentina. Geoacta 17(1), 37-48.
- Rivas, A. L., y E. J. Beier. 1990. Temperature and salinity fields in the north Patagonian gulfs. Oceanologica Acta 13(1), 15-20.
- Rodríguez, P., A. Alfonso, A. M. Botana, M. R. Vieytes y L. M. Botana. 2010. Comparative analysis of pre-and post-column oxidation methods for detection of paralytic shellfish toxins. Toxicon 56(3), 448-457.
- Rodríguez, P., A. Alfonso, E. Turrell, J. P. Lacaze y L. Botana. 2011. Study of solid phase adsorption of paralytic shellfish poisoning toxins (PSP) onto different resins. Harmful algae 10(5), 447-455.
- Romero M. L. J., Y. Kotaki, N. Lundholm, H. Thoha, H. Ogawa, J. R. Relox, R. Terada, S. Takeda, Y. Takata, K. Haraguchi, T. Endo, P. T. Lim, M. Kodama y Y. Fukuyo. 2011. Unique amnesic shellfish toxin composition found in the South East Asian diatom *Nitzschia navis-varingica*. Harmful Algae 10, 456-462.
- Rowntree, V. J., R. S. Payne y D. S. Schell. 2001. Changing patterns of habitat use by southern right whales (*Eubalaena australis*) on their nursery ground at Península Valdés, Argentina and their long-range movements. Journal of Cetacean Research and Management, (Special Issue 2), 133-143.

- Rowntree, V. J., L. O. Valenzuela, P. Franco Fraguas y J. Seger. 2008. Foraging behavior of southern right whales (*Eubalaena australis*) inferred from variation of carbon stable isotope ratios in their baleen. International Whaling Commission Document SC/60/BRG23, pp. 10.
- Rowntree, V., M. M. Uhart, M. Sironi, A. Chirife, L. La Sala, L. M. Pozzi, L. Musmeci, N. Mohamed, J. Andrejuk, J. E. Sala, A. Carribero, M. Franco, J. Seger, R.L. Brownell y T. Rowles. 2011. High mortalities of southern right whales (*Eubalaena australis*) on their nursery ground at Península Valdés, Argentina. IWC Southern Right Whale Assessment Workshop: Buenos Aires, 13-16 September 2011. SC/S11/RW24 Report, 22 pp.
- Rowntree, V.J., M. M. Uhart, M. Sironi, A. Chirife, M. Di Martino, L. La Sala, L. Musmeci, N. Mohamed, J. Andrejuk, D. McAloose, J. E. Sala, A. Carribero, H. Rally, M. Franco, F. R. Adler, R. L. Brownell Jr., J. Seger y T. Rowles. 2013. Unexplained recurring high mortality of southern right whale *Eubalaena australis* calves at Península Valdés, Argentina. Marine Ecology Progress Series 493, 275-289.
- Rust, L., F. Gulland, E. Frame y K. Lefebvre. 2014. Domoic acid in milk of free living California marine mammals indicates lactational exposure occurs. Marine Mammal Science 30, 1272-1278.
- Sabatini, M., F. Ramírez y P. Martos. 2000. Distribution pattern and population structure of *Calanus australis* Brodski, 1959 over the southern Patagonian shelf off Argentina in summer. ICES Journal of Marine Science 57, 1856-1866.
- Sabatini, M. E., y G. L. Álvarez Colombo. 2001. Seasonal pattern of zooplankton biomass in the Argentinian shelf off Southern Patagonia (45°-55° S). Scientia Marina 65(1), 21-31.
- Sabatini, M. E., J. Giménez y V. Rocco. 2001. Características del zooplancton del área costera de la plataforma patagónica austral (Argentina). Boletín. Instituto Español de Oceanografía 17(3 y 4), 245-254.
- Sabatini, M. y P. Martos. 2002. Mesozooplankton features in a frontal area off northern Patagonia (Argentina) during spring 1995 and 1998. Scientia Marina 66, 215-232.
- Sabatini, M. E. 2008. Life history trends of copepods *Drepanopus forcipatus* (Clausocalanidae) and *Calanus australis* (Calanidae) in the southern Patagonian shelf (SW Atlantic). Journal of plankton research 30(9), 981-996.

- Sabatini, M. E., R. Akselman, R. Reta, R. M. Negri, V. A. Lutz, R. I. Silva, V. Segura, M. N. Gil, N. Santinelli, V. Sastre, M. C. Daponte y J. C. Antacli. 2012. Spring plankton communities in the southern Patagonian shelf: Hydrography, mesozooplankton patterns and trophic relationships. *Journal of Marine Systems* 94, 33-51.
- Santinelli, N. H y J. L. Esteves. 1993. Características químicas y fitoplanctónicas del estuario del río Chubut, Patagonia, Argentina. *Naturalia Patagónica* 1, 22-34.
- Santinelli, N.H., G. Caille y A. Lettieri. 1995. Harmful algae and PSP toxicity along the Northern Patagonian coast. *Harmful Algae News*, 9.
- Santinelli, N., V. Sastre y J. L. Esteves. 2002. Episodios de algas nocivas en la Patagonia Argentina. *Floraciones algales nocivas en el cono sur americano*, 199-208.
- Santinelli, N. H. 2008. Fitoplancton de un ambiente costero sometido a perturbación antrópica: Bahía Nueva, provincia de Chubut. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco. Chubut, Argentina, 216 pp.
- Santos, B. y F. C. Ramírez. 1991. Variación estacional de las asociaciones de copépodos en una transecta de la plataforma argentina. *Boletim do Instituto Oceanográfico a Universidade de São Paulo* 39(1), 71-86.
- Sar, E. A., M. E. Ferrario y B. Reguera. 2002. *Floraciones algales nocivas en el Cono Sur Americano* (No. 589.3098 S2). Madrid: Instituto Español de Oceanografía.
- Sastre, A. V., N. H. Santinelli y J. L. Esteves. 1997. Fitoplancton del Golfo San Matías de tres campañas de muestreo (Noviembre'92, Septiembre'93 y Marzo'94). *Physis Sección A* 53, 7-12.
- Sastre, A. V., N. H. Santinelli, J. L. Esteves y M. E. Ferrario. 2001. Aspectos ecológicos de especies de *Pseudo-nitzschia* en aguas costeras patagónicas (Argentina). En: Alveal, K. y T. Antezana, (Eds). *Sustentabilidad de la biodiversidad*, Universidad de Concepción, Chile 217-235 pp.
- Sastre, V., N. Santinelli, G. Marino, M. Solís, L. Pujato y M. Ferrario. 2007. First detection of domoic acid produced by *Pseudo-nitzschia* species, Chubut coastal waters, Patagonia, Argentina. *Harmful Algae News* 34, 12-14.
- Schantz, E. J., J. Mold, D. Stanger, J. Shavel, F. Riel, J. Bowden, J. Lynch, R. Wyler, B. Riegel y H. Sommer. 1957. Paralytic shellfish poison VI. A procedure for the

- isolation and purification of the poison from toxic clams and mussel tissues. *Journal of the American Chemical Society* 79, 5230-5235.
- Scholin, C. A., F. Gulland, G. J. Doucette, S. Benson, M. Busman, F. P. Chavez, J. Cordaro, R. DeLong, A. De Vogelaere, J. Harvey, M. Haulena, K. Lefebvre, T. Lipscomb, S. Loscutoff, L. J. Lowenstine, R. Marin, P. E. Miller, W. A. McLellan, P. D. Moeller, C. L. Powell, T. Rowles, P. Silvagni, M. Silver, T. Spraker, V. Trainer y F. M Van Dolah. 2000. Mortality of sea lions along the central California coast linked to a toxic diatom bloom. *Nature* 403 (6765), 80-84.
- Shaw, B.A., R. J. Andersen y P. J. Harrison. 1997. Feeding deterrent and toxicity effects of apo-fucoxanthinoids and phycotoxins on a marine copepod (*Tigriopus californicus*). *Marine Biology* 128, 273-280.
- Shumway, S. E. 1990. A review of the effects of algal blooms on shellfish and aquaculture. *Journal of the World Aquaculture Society* 21(2), 65-104.
- Sieburth, J. M., V. Smetacek y J. Lenz. 1978. Pelagic ecosystem structure: heterotrophic compartments of the plankton and their relationship to plankton size fractions. *Limnology and Oceanography* 23, 1256-1263.
- Sironi, M. 2004. Behaviour and social development of juvenile southern right whales (*Eubalaena australis*) and interspecific interactions at Península Valdés, Argentina. Tesis doctoral. University of Wisconsin, Madison, 198 pp.
- Sivonen, K. 1996. Cyanobacterial toxins and toxin production. *Phycologia* 36, 12-24.
- Spinelli, M. L., M. Pájaro, P. Martos, G. B. Esnal, M. Sabatini y F. L. Capitanio. 2011. Potential zooplankton preys (Copepoda and Appendicularia) for *Engraulis anchoita* in relation to early larval and spawning distributions in the Patagonian frontal system (SW Atlantic Ocean). *Scientia Marina* 76(1), 39-47.
- Takahashi, E. 2007. Risk Assessment of Marine Algal Toxins on Humans and Dugongs. Doctoral dissertation, Griffith University Australia.
- Takemoto T. y K. Daigo. 1958. Constituents of *Chondria armata*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 6, 578-580.
- Tammilehto, A., T. G. Nielsen, B. Krock, E. Friis y N. Lundholm. 2012. *Calanus* spp.—vectors for the biotoxin, domoic acid, in the Arctic marine ecosystem? *Harmful Algae* 20, 165-174.

- Tammilehto, A., T. G. Nielsen, B. Krock, E. F. Møller y N. Lundholm. 2015. Induction of domoic acid production in the toxic diatom *Pseudo-nitzschia seriata* by calanoid copepods. *Aquatic Toxicology* 159, 52-61.
- Teegarden, G. J. y A. D. Cembella. 1996. Grazing of toxic dinoflagellates, *Alexandrium* spp., by adult copepods of coastal Maine: implications for the fate of paralytic shellfish toxins in marine food webs. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 196, 145-176.
- Teegarden, G. J. 1999. Copepod grazing selection and particle discrimination on the basis of PSP toxin content. *Marine Ecology Progress Series* 181, 163-176.
- Teegarden, G. J., R. G. Campbell y E. G. Durbin. 2001. Zooplankton feeding behavior and particle selection in natural plankton assemblages containing toxic *Alexandrium* spp. *Marine Ecology Progress Series* 218, 213-226.
- Teegarden, G. J., A. D. Cembella, C. L. Capuano, S. H. Barron y E. G. Durbin. 2003. Phycotoxin accumulation in zooplankton feeding on *Alexandrium fundyense* -vector or sink? *Journal of Plankton Research* 25 (4), 429-443.
- Tester, P.A., Y. Pan y G. J. Doucette. 2001. Accumulation of domoic acid activity in copepods. En: Hallegraeff, G.M., S. I. Blackburn, C. J. Bolch y R. J. Lewis, (Eds.). *Harmful algal blooms 2000*. IOC-UNESCO, Paris, 418-420 pp.
- Tormosov, D., Y. Mikhaliev, P. Best, V. Zemsky, K. Sekiguchi y R. J. Brownell. 1998. Soviet catches of southern right whales *Eubalaena australis*, 1951-1971 Biological data and conservation implications. *Biological Conservation* 86, 185-197.
- Trainer, V. L., N. G. Adams, B. D. Bill, C. M. Stehr, J. C. Wekell, P. Moeller, M. Busman y D. Woodruff. 2000. Domoic acid production near California coastal upwelling zones, June 1998. *Limnology and oceanography* 45(8), 1818-1833.
- Turner, J. T., G. J. Doucette, C. L. Powell, D. M. Kulis, B. A. Keafer y D. M. Anderson. 2000. Accumulation of red tide toxins in larger size fractions of zooplankton assemblages from Massachusetts Bay, USA. *Marine Ecology Progress Series* 203, 95-107.
- Turner, J. T., G. J. Doucette, B. A. Keafer y D. M. Anderson. 2005. Trophic accumulation of PSP toxins in zooplankton during *Alexandrium fundyense* blooms in Casco Bay, Gulf of Maine, April-June 1998. II: Zooplankton abundance and

- size-fractionated community composition. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* 52(19), 2784-2800.
- Turrell, E., L. Stobo, J. P. Lacaze, E. Bresnan y D. Gowland. 2007. Development of an 'early warning system' for harmful algal blooms using solid-phase adsorption toxin tracking (SPATT). In *Oceans 2007- Europe*, 1-6 pp.
- Turriff, N., J. A. Runge y A. D. Cembella. 1995. Toxin accumulation and feeding behaviour of the planktonic copepod *Calanus finmarchicus* exposed to the red-tide dinoflagellate *Alexandrium excavatum*. *Marine Biology* 123(1), 55-64.
- Utermöhl, H. 1958. Zur Vervollkommung der quantitativen Phytoplankton . Methodik. *Mitt. Int. Ver. Theor. Angew. Limnology* 9, 1-38.
- Valenzuela, L., M. Sironi, V. Rowntree y J. Seger. 2009. Isotopic and genetic evidence for culturally inherited site fidelity to feeding grounds in southern right whales (*Eubalaena australis*). *Molecular Ecology* 18, 782-791.
- Van Dolah, F. M. 2005. Effects of harmful algal blooms. En: J. Reynolds, W. Perrin, R. Reeves, S. Montgomery y T. Ragen, (Eds.). *Marine mammal research: Conservation beyond crisis*. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 85-101 pp.
- Van Egmond, H. P., M. E. Van Apeldoorn y G. J. A. Speijers. 2005. Biotoxinas marinas. Estudio FAO: alimentación y nutrición. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación FAO [disponible en Internet].
- Verheye, H. M. 1991. Short-term variability during an anchor station study in the southern Benguela upwelling system: abundance, distribution and estimated production of mesozooplankton with special reference to *Calanoides carinatus* (Krøyer, 1984). *Progress Oceanography* 28, 91-119.
- Villalobos, L. G., N. Santinelli, V. Sastre, B. Krock y J. L. Esteves. 2015. *Dinophysis* species associated with diarrhetic shellfish poisoning episodes in North Patagonian Gulfs (Chubut, Argentina). *Journal of Shellfish Research* 34(3), 1141-1149.
- Viñas, M. D., R. M. Negri, F. C. Ramírez y D. Hernández. 2002. Zooplankton assemblages and hydrography in the spawning area of anchovy (*Engraulis anchoita*) off Rio de la Plata estuary (Argentina-Uruguay). *Marine and Freshwater Research* 53(6), 1031-1043.

- Viñas, M. D., F. C. Ramírez, B. A. Santos y M. Marrari. 2007. Spatial and temporal distribution patterns of Cladocera in the Argentine Sea. *Hydrobiologia* 594(1), 59-68.
- Ward, P., R. Shreeve, M. Whitehouse, B. Korb, A. Atkinson, M. Meredith, D. Pond, J. Watkins, C. Goss, N. Cunningham. 2005. Phyto- and zooplankton community structure and production around South Georgia (Southern Ocean) during summer 2001/02. *Deep-Sea Research I*, 52, 421-441.
- Watkins, W. A. y W. E. Schevill. 1976. Right whale feeding and baleen rattle. *Journal of Mammalogy* 57, 58-66.
- Werner, R., J. Forcada, M. Bertellotti, E. A. Crespo, S. Dans, M. Degradi y K. Acevedo-Whitehouse. 2011. Report of the southern right whale die-off workshop (Conference Paper). *The Journal of Cetacean Research and Management* 12, 367-398.
- White, A. W. 1979. Dinoflagellate toxins in phytoplankton and zooplankton fractions during a bloom of *Gonyaulax excavata*. *Toxic dinoflagellate blooms*, 381-384 pp.
- White, A. W. 1980. Recurrence of kills of Atlantic herring (*Clupea harengus harengus*) caused by dinoflagellate toxins transferred through herbivorous zooplankton. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 37, 2262-2265.
- White, A. W. 1981. Marine zooplankton can accumulate and retain dinoflagellate toxins and cause fish kills. *Limnology and Oceanography* 26, 103-109.
- Wilson, C., A. V. Sastre, M. Hoffmeyer, V. J. Rowntree, S. E. Fire, N. H. Santinelli, S. Díaz Ovejero, V. C. D'Agostino, C. Maron, G. Doucette, M. Broadwater, Z. Wang, N. Montoya, J. Seger, F. Adler, M. Sironi y M. Uhart. 2015. Southern right whale (*Eubalaena australis*) calf mortality at Península Valdés, Argentina: Are harmful algal blooms to blame?. *Marine Mammal Science* 32(2), 423-451.
- Work, T. M., A. M. Beale, L. Fritz, M. A. Quilliam, M. W. Silver, K. Buck y J. L. C. Wright. 1993. Domoic acid intoxication of brown pelicans and cormorants in Santa Cruz, California. En: Smayda, T. J. e Y. Shimizu, (Eds). *Toxic phytoplankton blooms in the sea*. Elsevier, Amsterdam, 643-649 pp.
- Wright, J. L. C. 1995. Dealing with seafood toxins: present approaches and future options. *Food Research International* 28(4), 347-358.

- Wright, J. L. C., y M. A. Quilliam. 1995. Methods for domoic acid, the amnesic shellfish poisons. Manual on Harmful Marine Microalgae. IOC Manuals and Guides, 33, 113-127.
- Yorio P., E. Frere, P. Gandini y G. Harris, (Eds.). 1998. Atlas de la distribución reproductiva de aves marinas en el litoral Patagónico Argentino. Plan de Manejo integrado de la Zona Costera Patagónica. Fundación Patagonia Natural y Wildlife Society. Instituto Salesiano de Artes Gráficas, Buenos Aires, 221 pp.
- Young, C. M. 2002. Atlas of Marine Invertebrate Larvae. Academic Press, London, 626 pp.
- Zabka, T. S., T. Goldstein, C. Cross, R. W. Mueller, C. Kreuder-Johnson, S. Gill, *et al.* 2009. Characterization of a degenerative cardiomyopathy associated with domoic acid toxicity in California sea lions (*Zalophus californianus*). Veterinary Pathology 46, 105-119.