



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

Tesis Doctor en Biología

**Dinámica trófica del mesozooplancton en dos
sitios del estuario de Bahía Blanca con diferente
nivel de impacto antrópico**

Biól. María Sofía Dutto

BAHÍA BLANCA

ARGENTINA

2013



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

Tesis Doctor en Biología

Dinámica trófica del mesozooplancton en dos sitios del estuario de Bahía Blanca con diferente nivel de impacto antrópico

Biól. María Sofía Dutto

BAHÍA BLANCA

ARGENTINA

2013

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 esta Universidad u otra. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en el Laboratorio de Zooplancton Marino del Instituto Argentino de Oceanografía (IADO) perteneciente al Centro Científico Tecnológico Bahía Blanca (CCT-CONICET-BB), dependiente del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), durante el período comprendido entre junio de 2008 y abril de 2012, bajo la dirección de las Dras. Mónica Susana Hoffmeyer (IADO-CONICET) y Telma Susana Alonso (INIBIBB-CONICET).

Biól. María Sofía Dutto



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR
Secretaría General de Posgrado y Educación Continua

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

*A mis padres, a mis hermanos
y muy especialmente
a Rodrigo*

Dinámica trófica del mesozooplancton en dos sitios del estuario de Bahía Blanca con diferente nivel de impacto antrópico

Resumen

Los organismos zooplanctónicos tienen un rol central en la transferencia de la materia orgánica dentro de las redes tróficas marinas y constituyen indicadores útiles para evaluar el estado ecológico de un ambiente. La determinación de las interacciones tróficas brinda información importante para conocer el funcionamiento de un sistema. Las técnicas moleculares tales como el análisis de ácidos grasos permiten dilucidar relaciones alimentarias e identificar el origen de la materia orgánica en un ambiente complejo como el acuático. El enriquecimiento en nutrientes y en materia orgánica causado por la descarga de desechos urbanos e industriales es un fenómeno creciente a lo largo de las costas. El estuario de Bahía Blanca, localizado al sur de la provincia de Buenos Aires, es un sistema somero, turbio y eutrófico formado por canales, planicies de marea e islas cubiertas con vegetación halófila. La costa norte recibe los efluentes de importantes centros urbanos e industriales. La comunidad del mesozooplancton, el comportamiento trófico y la composición de ácidos grasos del plancton fueron estudiados en relación con el impacto de una de las principales descargas cloacales sin tratamiento previo de la ciudad de Bahía Blanca en dos períodos climáticos contrastantes. Los sitios estudiados fueron Canal Vieja, receptor de la descarga cloacal y localizado en la costa norte del estuario y Bahía del Medio, canal de marea ubicado en la zona interna-media del estuario. La influencia de la descarga cloacal en el ambiente estuarino se reflejó principalmente en el contenido alto de nutrientes nitrogenados y fosfatados disueltos por encima de los valores de enriquecimiento natural. Valores menores de oxígeno disuelto y de pH en relación con el sitio control, fueron registrados en el sitio receptor de la descarga cloacal. Aunque este disturbio no pareció ser determinante en la estructura de la comunidad mesozooplanctónica, en el comportamiento trófico o en la composición de ácidos grasos, se determinaron ciertas variaciones. En el sitio control fue observado el patrón mesozooplanctónico típico y también el consumo sobre las tres fuentes de alimento evaluadas (fitoplancton, microzooplancton y detrito). El análisis de los ácidos grasos proporcionó información relevante para un mejor conocimiento de la trama trófica estuarina. Confirmó el origen diverso del contenido orgánico del material particulado del estuario indicando una contribución pronunciada del componente detrítico proveniente de las marismas. Evidenció la alta disponibilidad de las diatomeas en la comunidad microplanctónica por

encima del componente heterotrófico y ratificó que la omnivoría es un comportamiento trófico natural del mesozooplancton del estuario mostrando asimismo, el importante rol que el detrito y los aportes terrígenos desempeñan en la dieta del mesozooplancton en este sistema estuarino. La influencia de la descarga cloacal y de los ambientes circundantes a la misma (polo petroquímico, arroyo Napostá Grande) se reflejó en Canal Vieja por el mayor aporte al material particulado en suspensión de bacterias y material alóctono como restos de cereales y por ácidos grasos típicos de protozoos que indicarían el desarrollo de ciertas especies en este sitio. El enfoque experimental y el análisis de los ácidos grasos son herramientas valiosas y útiles para el estudio de las relaciones tróficas y la determinación de aportes alóctonos y autóctonos en este sistema estuarino altamente dinámico.

Mesozooplankton trophic dynamic at two sites of the Bahía Blanca Estuary with different degree of anthropogenic impact

Abstract

Zooplankton organisms play a central role in the transfer of organic matter in marine food webs and are useful indicators for assessing the ecological status of an environment. Trophic interactions provide important information to understand an ecosystem functioning. Molecular techniques such as fatty acid analysis allow to determine feeding relationships and to identify the organic matter source in a complex environment as the aquatic. Enrichment in nutrients and organic matter caused by urban and industrial waste is a growing phenomenon along coasts. The Bahía Blanca Estuary, located in the south of Buenos Aires province, is a shallow, turbid and eutrophic system formed by channels, tidal flats and islands covered by halophytic vegetation. Its north coast receives wastewater of the major urban and industrial centers. The mesozooplankton community, its trophic behavior and the fatty acid composition of the plankton were studied in relation to the impact of one of the main untreated sewage from the Bahía Blanca city in two contrasting climatic periods. The sampling sites were Canal Vieja, which receives sewage discharge and is located on the north shore of the inner estuary, and Bahía del Medio, a tidal channel located in the inner-middle estuary. The influence of sewage in the estuarine environment was mainly reflected in higher content of dissolved nitrogen and phosphate nutrients above natural enrichment values. Lower values of dissolved oxygen and pH were also recorded in the sewage impacted site. Although sewage seemed not to be a decisive disturbance factor in the mesozooplanktonic community structure, the trophic behavior or the fatty acid composition, certain variations were determined. The typical mesozooplanktonic pattern and grazing on the evaluated food sources (phytoplankton, microzooplankton and detritus) was mainly observed at the control site. The fatty acid analysis provided relevant information to a better understanding of the estuarine food web. Fatty acid analysis confirmed the multiple origin of the organic content of particulate matter indicating the pronounced detrital contribution from the marshes. It showed the high availability of diatoms in the microplankton community above the heterotrophic component. It confirmed that omnivory is a natural feeding behavior of estuarine mesozooplankton also showing the important role detritus and terrigenous contributions play in the mesozooplankton diet in this estuarine system. The impact of sewage discharge and the influence of the surrounding environment (petrochemical pole,

Napostá Grande stream) were reflected at Canal Vieja by greater contribution to suspended particulate matter of bacteria and allochthonous material such as cereal debris, and typical protozoan fatty acids that would indicate the development of certain species at this site. The experimental approach and the analysis of fatty acids are valuable and useful tools for the study of trophic relationships and the assessment of allochthonous and autochthonous contributions in this highly dynamic estuarine system.

Índice General

Capítulo 1 Introducción general

1.1. Introducción

1.1.1. El zooplancton en los sistemas marinos	1
1.1.2. La transferencia de materia y energía en los sistemas marinos	3
1.1.3. El ambiente estuarino	6
1.1.4. La perturbación antrópica en los sistemas costeros	7
1.1.5. El mesozooplancton del estuario de Bahía Blanca	7

1.2. Materiales y métodos

1.2.1. Área de estudio	9
1.2.1.1. Sitios de muestreo	11
1.3. Objetivo general y estructura de la tesis	13

Capítulo 2 Evaluación ambiental y análisis de la comunidad del mesozooplancton

2.1. Hipótesis y objetivos	16
----------------------------	----

2.2. Materiales y métodos

2.2.1. Diseño de muestreo

2.2.1.1. Trabajos de campo	17
2.2.1.2. Trabajos de laboratorio	18

2.2.2. Análisis estadístico

2.2.2.1. Análisis univariado	21
------------------------------	----

2.2.2.2. Análisis multivariado	22
2.3. Resultados	
2.3.1. Condiciones ambientales y parámetros bióticos	24
2.3.2. Composición y abundancia del mesozooplancton	30
2.3.3. Análisis multivariado: variables ambientales y bióticas	35
2.4. Discusión	
2.4.1. Variación ambiental entre los sitios	41
2.4.2. Variaciones detectadas en el mesozooplancton	43
2.5. Conclusiones	45

Capítulo 3 Comportamiento trófico del mesozooplancton

3.1. Hipótesis y objetivos	46
3.2. Materiales y métodos	
3.2.1. Diseño de muestreo	48
3.2.2 Trabajos de campo	48
3.2.2.1. Método de remoción de partículas	48
3.2.2.2. Aplicación del método de remoción de partículas	50
3.2.3. Trabajos de laboratorio	53
3.2.3.1. Análisis de las muestras de plancton	53
3.2.3.2. Determinación de los alimentos	55
3.2.4. Análisis de los datos	56
3.2.4.1. Cálculo de las tasas de alimentación	56
3.2.4.2. Cálculo del índice de selectividad trófica	60
3.2.4.3. Análisis estadístico	61

3.3. Resultados

3.3.1. Aplicación del método de remoción de partículas, condiciones ambientales de la experimentación y composición de los consumidores	62
3.3.2. Oferta alimentaria: comunidad microplanctónica y detrito	64
3.3.3. Tasas de alimentación y selectividad trófica del mesozooplancton	70

3.4. Discusión

3.4.1. Aplicación del método de remoción de partículas, condiciones ambientales de la experimentación y composición de los consumidores	78
3.4.2. Comunidad microplanctónica en los experimentos de alimentación	79
3.4.3. El detrito en la dieta del mesozooplancton	82
3.4.4. Consumo y selectividad trófica del mesozooplancton	84

3.5. Conclusiones	88
--------------------------	-----------

Capítulo 4 Análisis de los ácidos grasos del plancton

4.1. Introducción	89
--------------------------	-----------

4.2. Hipótesis y objetivos	93
-----------------------------------	-----------

4.3. Materiales y métodos

4.3.1. Área de estudio	95
------------------------	----

4.3.2. Diseño de muestreo	95
---------------------------	----

4.3.2.1. Trabajos de campo	95
----------------------------	----

4.3.2.2. Trabajos de laboratorio	96
----------------------------------	----

4.3.3. Análisis estadístico	97
-----------------------------	----

4.4. Resultados

4.4.1. Contenido lipídico de las fracciones de plancton	99
---	----

4.4.2. Composición de ácidos grasos de las fracciones de plancton	99
---	----

4.5. Discusión	
4.5.1. Caracterización de las fracciones planctónicas	112
4.5.2. Variación espacio-temporal de los ácidos grasos	114
4.6. Conclusiones	119
Conclusiones generales	120
Bibliografía	122
Anexo	149
Publicación originada de esta tesis	155
Agradecimientos	156

Índice de Tablas

Tabla 2.1. Variables ambientales registradas (media \pm desvío estándar) en los dos sitios de muestreo durante el verano y en el invierno. p 29

Tabla 2.2. Mesozooplancton registrado en los sitios Canal Vieja y Bahía del Medio del estuario de Bahía Blanca durante el período de estudio. p 31

Tabla 2.3. Valores de abundancia (ind. m^{-3}) de los principales taxones mesozooplanctónicos registrados durante el verano (panel superior) y el invierno (panel inferior) en los dos sitios de muestreo, Canal Vieja y Bahía del Medio. p 34

Tabla 2.4. Matriz de correlación de Spearman del ACP. p 37

Tabla 3.1. Concentración media \pm desvío estándar de cada alimento en los tres tratamientos (Inicial, Control y Experimental). p 59

Tabla 3.2. Abundancia (cél. l^{-1}) y biomasa ($\mu g C l^{-1}$) promedio \pm desvíos estándares de los taxones fitoplanctónicos registrados en el verano (diciembre 2008, febrero y marzo 2009) y el invierno (julio y agosto 2009) en los dos sitios estudiados. p 67

Tabla 3.3. Abundancia (ind. l^{-1}) y biomasa ($\mu g C l^{-1}$) promedio \pm desvíos estándares de los taxones microzooplanctónicos registrados en el verano (diciembre 2008, febrero y marzo 2009) y en el invierno (julio y agosto 2009) en los dos sitios de muestreo. p 68

Tabla 3.4. Tasas de alimentación calculadas sobre los alimentos naturales en cada experimentación. p 72

Tabla 3.5. Comparación entre los dos sitios de muestreo de las tasas de alimentación sobre los mismos alimentos consumidos en los meses de diciembre, marzo y agosto. p 74

Tabla 4.1. Ácidos grasos marcadores tróficos utilizados en esta tesis y sus referencias. p 92

Tabla 4.2. Análisis de similitud *SIMPER* para cada grupo considerado. p 104

Tabla 4.3. Análisis de similitud *SIMPER* y *ANOSIM*. p 104

Tabla 4.4. Ácidos grasos y/o relaciones que mostraron interacción entre los sitios y los períodos abarcados. p 105

Tabla 4.5. Ácidos grasos determinados en el material particulado en suspensión (MPS) en los sitios y los períodos abarcados. p 107

Tabla 4.6. Ácidos grasos determinados en la fracción microplanctónica (Fito/Micro) en los sitios y los períodos abarcados. p 108

Tabla 4.7. Ácidos grasos determinados en el mesozooplancton en los sitios y los períodos abarcados. p 110

Índice de Figuras

Figura 1.1. Espectro de tamaños de los diferentes grupos taxonómico-tróficos del plancton (organismos suspendidos en la columna de agua) incluyendo el rango de tamaño del necton (nadadores activos). p 3

Figura 1.2. Esquema de las redes tróficas planctónicas en el ambiente marino. p 5

Figura 1.3. Mapa y ubicación geográfica del estuario de Bahía Blanca. p 10

Figura 1.4. Detalle de la zona interna-media del estuario de Bahía Blanca. p 12

Figura 2.1. Valores medios y desvíos estándares de las variables físicoquímicas y bióticas registradas en los sitios de muestreo durante los meses de verano (diciembre 2008, febrero 2009 y marzo 2009) e invierno (julio 2009 y agosto 2009). p 25 y 26

Figura 2.2. Valores medios y desvíos estándares de los índices de diversidad y de la abundancia del mesozooplancton en los sitios de muestreo durante los meses de verano e invierno. p 27

Figura 2.3. Abundancias relativas del mesozooplancton (%). p 32

Figura 2.4. Representación bidimensional del ACP en el espacio de los dos primeros componentes principales (CP 1 y CP 2). p 35

Figura 2.5. Grupos mesozooplanctónicos y variables ambientales asociados a los sitios de muestreo y a las estaciones climáticas estudiadas determinados por los métodos de análisis multivariados. p 39

Figura 3.1. Abundancia relativa (%) de los consumidores mesozooplanctónicos en los experimentos de alimentación realizados en los dos sitios de muestreo en los meses de verano e invierno. p 63

Figura 3.2. a) Abundancia y b) biomasa relativas (%) de los taxones fitoplanctónicos en el período de estudio y en los dos sitios de muestreo. p 65

Figura 3.3. a) Abundancia y b) biomasa relativas (%) de los taxones microzooplanctónicos en el período de estudio y en los dos sitios de muestreo. p 69

Figura 3.4. Consumo detectado del mesozooplancton sobre los alimentos naturales en los dos sitios de muestreo expresado como tasa de filtración individual (F_i) en escala logarítmica. p 70

Figura 3.5. Índices de selectividad trófica (E^*) del mesozooplancton sobre las presas del fitoplancton y microzooplancton en cada sitio de muestreo. p 76

Figura 4.1. Estructura de los ácidos grasos. p 90

Figura 4.2. Composición porcentual media de ácidos grasos en el material particulado en el MPS, el Fito/Micro y el Meso. p 100

Figura 4.3. Contenido porcentual medio de *SFA*, *MUFA* y *PUFA* en el material particulado en suspensión, el microplancton y el mesozooplancton. p 101

Figura 4.4. Representación del análisis de escalamiento multidimensional no métrico (MDS) considerando a) las muestras, b) los sitios y c) los períodos estudiados. p 103

Figura 4.5. Composición relativa de ácidos grasos en material seco de *Spartina alterniflora*. p 111

Índice de Láminas

Lámina I. Fotografías de la zona industrial y portuaria localizada en la costa norte del Canal Principal del estuario de Bahía Blanca. p 14

Lámina II. Fotografías de los sitios de muestreo. p 15

Lámina III. Fotografías de los trabajos realizados y de los elementos utilizados durante las campañas de muestreo. p 52

Capítulo 1

Introducción general

1.1. Introducción

1.1.1. El zooplancton en los sistemas marinos

Los organismos animales que viven suspendidos en la columna de agua conforman el zooplancton. Este grupo es altamente diverso y desempeña una gran variedad de funciones en los ecosistemas (Richardson 2008). Estos organismos constituyen los consumidores esenciales en las redes tróficas marinas proporcionando la principal ruta de transferencia de materia y energía entre los distintos niveles tróficos (Buskey 1993, Banse 1995). Mediante la alimentación, el zooplancton incorpora parte del carbono secuestrado de la atmósfera por el fitoplancton y lo transporta hacia diferentes profundidades a través de complejas interacciones tróficas. Así, vincula los productores primarios y el bacterioplancton con los niveles tróficos superiores como bivalvos, peces, reptiles y mamíferos marinos, muchos de ellos de interés comercial (Lenz 2000). Además de sostener energéticamente a los mayores componentes del océano, el zooplancton también se relaciona estrechamente con la comunidad microbiana. Mediante la excreción y la deposición de carcasas, exuvias y *pellets* fecales, contribuye a la regeneración de nitrógeno y al flujo de carbono orgánico impulsando la producción bacteriana y fitoplanctónica y promoviendo la actividad de diversos organismos detritívoros (Emerson & Roff 1987, Turner 2002, Frangoulis *et al.* 2011).

El zooplancton se puede clasificar operativamente de acuerdo con el tamaño en pico-, nano-, micro-, meso-, macro- y megazooplancton, abarcando desde minúsculos organismos flagelados hasta gigantescas medusas (Fig. 1.1, Sieburth *et al.* 1978). El picozooplancton (0,2 – 2 μm) comprende a microbios heterotróficos como ciertas cepas bacterianas (Fuhrman & Hagström 2008). El nanozooplancton (2 – 20 μm) comprende a los nanoflagelados heterotróficos consumidores de bacterias. El resto de los protozoos,

especialmente los ciliados como los tintínidos y los flagelados, conforman el siguiente grupo denominado microzooplancton (20 – 200 μm). Este grupo abarca además a los huevos y a los primeros estadios de desarrollo de los crustáceos planctónicos y a las primeras larvas del meroplancton o plancton temporario. El nano- y el microzooplancton constituyen las presas de los consumidores de niveles tróficos superiores relacionando la “trama trófica microbiana” con la “red trófica de los metazoos” (Gifford & Caron 2000). El siguiente grupo operativo, el mesozooplancton (0,2 - 20 mm), incluye a las hidromedusas de pequeño tamaño, los ctenóforos, los quetognatos, las apendicularias, los doliólidos, los huevos y las larvas de los peces, los últimos estadios de desarrollo de los crustáceos planctónicos y las larvas de mayor talla del meroplancton. Los crustáceos copépodos, los cuales están incluidos en esta fracción, son considerados el grupo más numeroso y diverso del zooplancton marino que, según algunos autores, conforma la mayor biomasa animal del planeta (Dürbaum & Künnemann 1997, Schminke 2007). Debido a su dominancia dentro del plancton marino y a su función ecológica, los copépodos constituyen un eslabón fundamental en la trofodinámica de los océanos siendo las principales presas de larvas, juveniles y adultos de predadores pelágicos (Sautour & Castel 1993). A diferencia de las demás categorías de tamaño, las dos últimas agrupan una menor cantidad de especies. El macrozooplancton (2 – 20 cm) incluye a hidromedusas de mayor talla, sifonóforos, scifomedusas, ctenóforos, misidáceos, anfípodos, eufáusidos y salpas; mientras que el megazooplancton (20 – 200 cm) abarca unos pocos organismos como las grandes medusas y los tunicados pelágicos (Lenz 2000).

Por sus múltiples funciones ecológicas, el zooplancton marino y el fitoplancton, del cual gran parte se alimenta, promueven la producción de nueva biota en los sistemas marinos generando velozmente biomasa que sostiene las tramas tróficas en forma recurrente, proceso impulsado por la ocurrencia cíclica de condiciones ambientales favorables (Boero 1994).

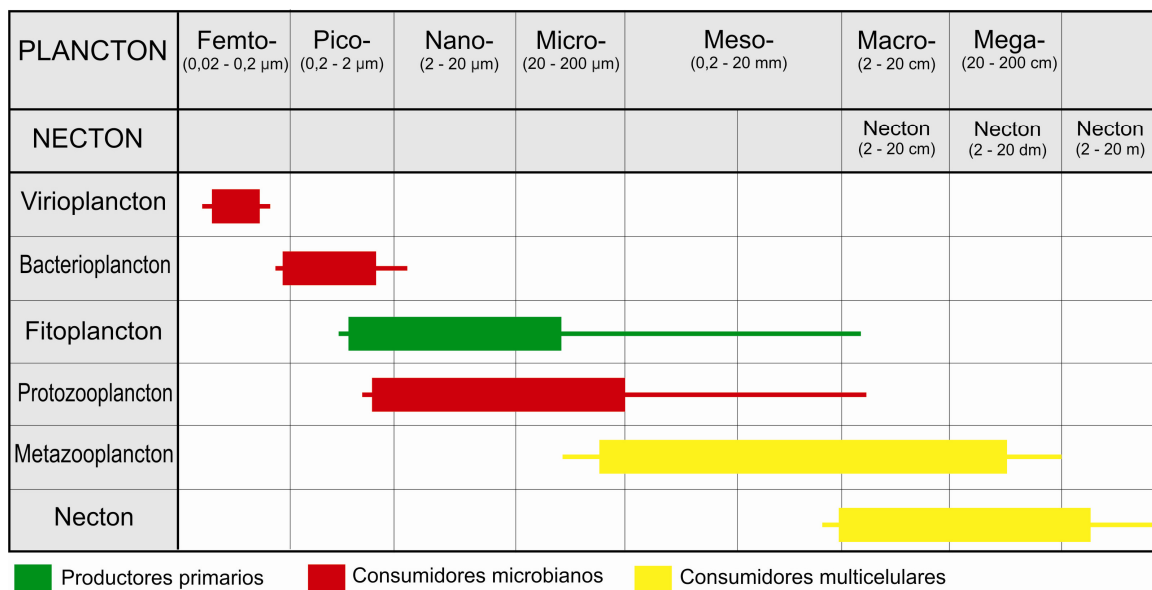


Figura 1.1. Espectro de tamaños de los diferentes grupos taxonómico-tróficos del plancton (organismos suspendidos en la columna de agua) incluyendo el rango de tamaño del necton (nadadores activos). Se observa que el mesozooplancton abarca dos órdenes de magnitud en cuanto al tamaño. Adaptado de Sieburth *et al.* (1978).

1.1.2. La transferencia de energía en los sistemas marinos

Las redes tróficas comprenden las interacciones alimentarias que vinculan a diversos organismos. La incorporación del alimento dentro de las comunidades es la principal vía de transferencia de materia y energía desde los niveles tróficos inferiores hacia los superiores (Båmstedt *et al.* 2000). Al estudiar aspectos tróficos, la cuantificación de los procesos de alimentación, se convierte en un factor fundamental para la comprensión de las interacciones existentes entre los organismos en un determinado ambiente.

El flujo de energía en el ambiente pelágico, como en todo ecosistema, involucra a diferentes componentes bióticos y biogeoquímicos como el detrito, el plancton y numerosas sustancias disueltas, interconectados entre sí a través de diversas vías energéticas. La importancia particular y general de cada uno de estos componentes dependerá del tipo de ecosistema. Por ejemplo, el detrito, constituido por cualquier forma de materia orgánica no viva de origen exógeno (*e.g.* contribución terrestre de los ambientes lindantes) y/o autóctono (*e.g.* partículas provenientes de la actividad biológica en el sistema), conforma una fuente adicional de alimento en los ambientes marinos, siendo el detrito exógeno particularmente relevante en los ecosistemas costeros (Mann 1988, Chanton & Lewis 2002,

Moore *et al.* 2004). La vegetación vinculada a las costas, como las plantas halófilas, generan una gran cantidad de biomasa aérea en forma de hojas que al secarse y caer son colonizadas por hongos y bacterias y degradadas a fragmentos detríticos por los microorganismos, tanto en la superficie de la marisma como en la columna de agua (Teal 1962). En este proceso, el detrito se convierte en un alimento de mejor calidad nutritiva para los consumidores ya que está enriquecido por la biomasa microbiana que le aporta nitrógeno y fósforo orgánicos. La “trama trófica del detrito” revela la importancia de los microbios en el ciclado de la materia orgánica y en el funcionamiento de los sistemas pelágico-marinos (Odum & de la Cruz 1963, Pomeroy 1974).

A partir de los hallazgos que evidenciaron el rol significativo de los microbios heterotróficos en la productividad de los océanos (revisión en Sherr & Sherr 2008), el concepto de la trama trófica marina ha ido evolucionando hacia una visión más compleja que relaciona el “enfoque clásico” (autótrofos-herbívoros-carnívoros), extrapolado de estudios terrestres, con el denominado “anillo microbiano” (*microbial loop*, Azam *et al.* 1983) y la “red trófica microbiana” (Sherr & Sherr 1988). Los componentes multicelulares de las redes tróficas pelágicas son sostenidos por ambas vías energéticas, la ruta clásica, desde el fitoplancton de mayor talla, y la microbiana, de los protistas heterotróficos (Sherr & Sherr 2008, Fig. 1.2).

En la actualidad, la principal teoría sobre el funcionamiento de las redes tróficas involucra al balance entre los controles *top-down* (regulación desde arriba conocido también como “cascada trófica”) y *bottom-up* (regulación desde abajo), según desde dónde provenga mayormente la regulación de la biomasa de todos los niveles tróficos de un sistema. Una comunidad está bajo el control *top-down* cuando la abundancia del predador regula la densidad de la presa (Hairston *et al.* 1960, Carpenter *et al.* 1985); mientras que el control *bottom-up* es impulsado por la disponibilidad de los recursos (*e.g.* nutrientes) que determinan la magnitud de la producción primaria, ejerciendo en consecuencia, una regulación de la biomasa total desde abajo hacia arriba en la trama trófica (McQueen *et al.* 1986). El control *top-down* es frecuentemente detectado en las redes tróficas microbianas, donde los ciliados son los predadores tope, los que a su vez son controlados por los metazoos. Se relaciona así la “red trófica microbiana” con la “clásica”. Ambos tipos de redes tróficas coexisten en todas las áreas oceánicas pero la importancia relativa de cada una varía de acuerdo con la región y la estacionalidad. La “red trófica clásica” generalmente predomina en aguas frías eutróficas y en ecosistemas de *upwelling* mientras que la “red microbiana” parece ser más importante en aguas cálidas oligotróficas (Lenz 2000). Sin embargo, en muchos casos, debido a la complejidad del ambiente marino y a la existencia de oportunidades para las numerosas interacciones de los posibles procesos de control,

desentrañar las alternativas de arriba hacia abajo o de abajo hacia arriba, se vuelve inviable (Valiela 1995).

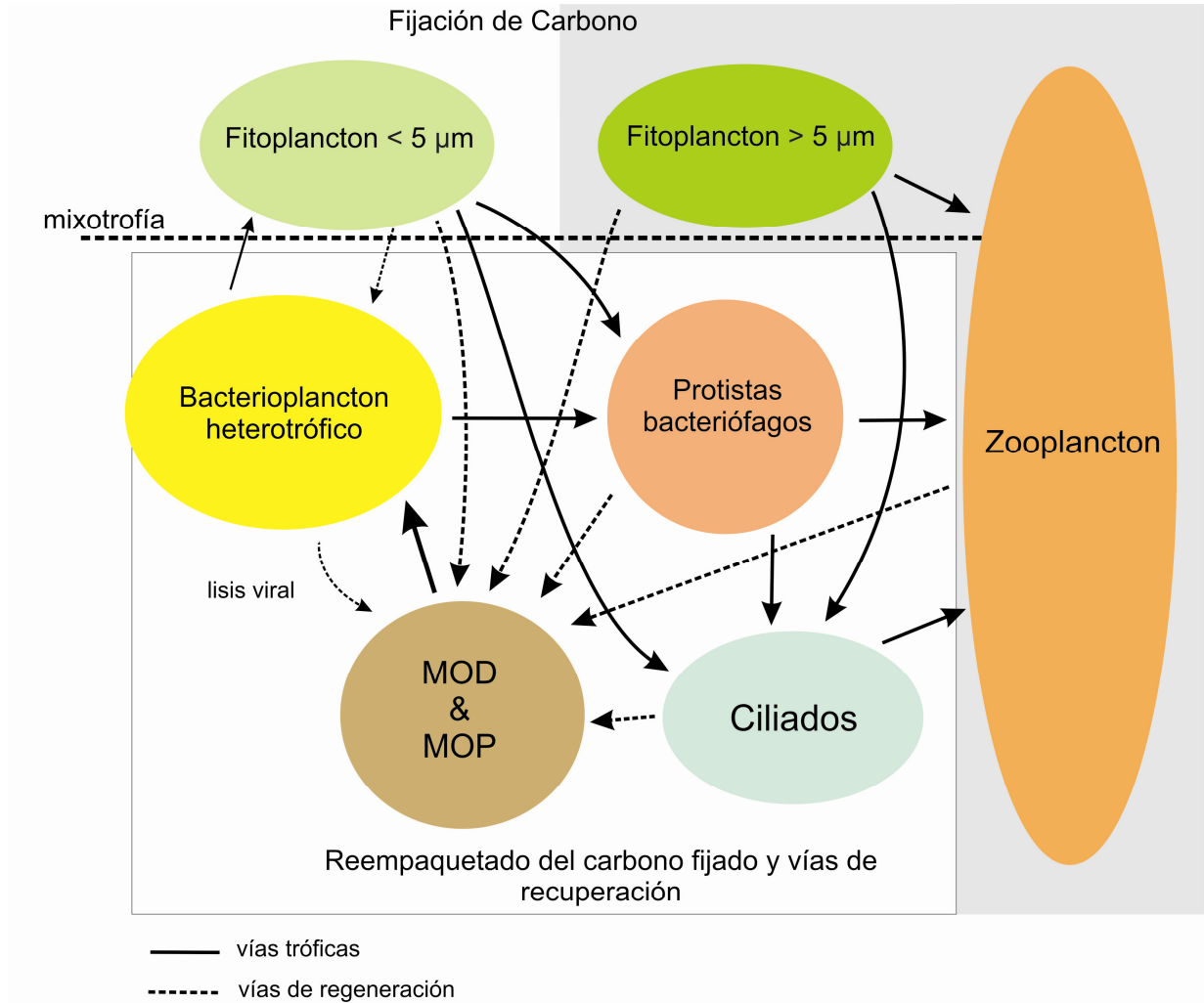


Figura 1.2. Esquema de las redes tróficas planctónicas en el ambiente marino. En gris se representa la red trófica clásica en la que el fitoplancton de mayor talla es consumido directamente por el zooplancton y/o a través de la predación sobre protistas herbívoros. La red trófica microbiana comienza con el consumo del fitoplancton de menor tamaño (< 5 μm) e incluye al anillo microbiano (sustancias disueltas y particuladas-bacterias-ciliados) que a su vez se vincula con la ruta clásica. El fitoplancton < 5 μm es accesible para el zooplancton luego de ser “reempaquetado” en componentes de mayor talla como los protistas. MOD: materia orgánica disuelta, MOP: materia orgánica particulada. Adaptado de Sherr & Sherr (2008).

1.1.3. El ambiente estuarino

Los estuarios son ambientes costeros semicerrados en donde el agua de mar se diluye gradualmente con el agua dulce proveniente del drenaje terrestre constituyendo una región de transición entre la estabilidad ambiental del sistema marino y la inestabilidad del ambiente límnic (McLusky & Elliott 2004). Factores como la marea, el drenaje continental y las fuerzas atmosféricas influyen fuertemente en la dinámica de los estuarios promoviendo una gran variabilidad espacial y temporal en la columna de agua en términos físicos y biogeoquímicos (Marques *et al.* 2006). Por su naturaleza turbulenta que promueve un rápido ciclado de los recursos, el alto contenido de nutrientes y la acción de distintos productores primarios (*e.g.* vegetación emergente, algas bentónicas y planctónicas, perifiton y vegetación sumergida), los estuarios constituyen uno de los ecosistemas naturales más productivos del planeta (Odum 1971, Whittaker & Likens 1975). Esta propiedad se refleja en las altas abundancias y biomásas de su biota planctónica, bentónica y nectónica que los convierte en excelentes ambientes de alimentación y cría para diversas especies animales, muchas de ellas de importancia comercial (Correll 1978, David *et al.* 2006). La combinación de organismos que habitan los ambientes estuarinos dependerá de la compleja interacción entre los factores que actúan en la columna de agua. Particularmente para el plancton, la temperatura y la salinidad son los factores no biológicos más trascendentes en la regulación de su distribución en los estuarios, debido a las significativas fluctuaciones espaciales y temporales a la que estos ambientes están generalmente sometidos (Laprise & Dodson 1994, Cervetto *et al.* 1999, Marques *et al.* 2007). De acuerdo con la adaptabilidad de las especies, se encontrarán a lo largo del continuo mar-continente, formas marinas que entran al estuario desde el mar y están usualmente limitadas a regiones influenciadas por el mismo, especies estuarinas endémicas que pueden vivir en un rango amplio de temperatura y salinidad y especies dulceacuícolas vinculadas a las zonas influenciadas por el drenaje continental.

Además de la complejidad y variabilidad ambiental intrínseca, los estuarios están generalmente expuestos a un fuerte impacto antrópico, lo que añade otra fuente de variación a la dinámica de estos sistemas (Valiela 1995). Una de las consecuencias del desarrollo humano más comúnmente registradas en los sistemas costeros es la adición de nutrientes y materia orgánica o eutrofización, fenómeno considerado uno de los más importantes agentes de cambio en la estructura y el funcionamiento de las comunidades acuáticas costeras (Nixon *et al.* 1986, McClelland *et al.* 1997).

1.1.4. La perturbación antrópica en los sistemas costeros

Los estuarios y otros ambientes costeros representan en el mundo los sitios de descarga de los efluentes provocados por el desarrollo urbano e industrial (Valiela 1995). La comprensión de cómo los ecosistemas costeros responden a las perturbaciones antrópicas es crítica para el manejo de los recursos. Estudios ecológicos recientes que evaluaron el impacto de las actividades antropogénicas en el funcionamiento de los ecosistemas costeros, han identificado al plancton como un indicador útil para evaluar el estado ecológico del ambiente (Conley 2000, Beaugrand 2005). La eutrofización costera ha sido amplificada por las actividades humanas, principalmente por la descarga de los desechos urbanos, y ha afectado a los hábitats pelágicos en forma directa (Nixon & Fulweiler 2009). La promoción de las condiciones de hipoxia, de la turbidez del agua y de la producción primaria han sido los cambios más comúnmente asociados con la eutrofización (Cloern 2001). Las variaciones en la base de la red trófica pueden alterar las interacciones alimentarias y por consiguiente, la transferencia de carbono hacia los niveles tróficos superiores (deYoung *et al.* 2008). El seguimiento de los ambientes costeros proporciona información valiosa para evaluar la vulnerabilidad de los ecosistemas por la pérdida del hábitat acuático como consecuencia directa e indirecta de la actividad humana (Halpern *et al.* 2007). Dado que los organismos zooplanctónicos tienen un papel central en las redes tróficas marinas relacionando la variabilidad ambiental con la ecológica, se los ha postulado como indicadores adecuados de los cambios en el estado de los ecosistemas oceánicos, incluyendo las modificaciones causadas por la eutrofización en los sistemas costeros.

1.1.5. El mesozooplancton del estuario de Bahía Blanca

La comunidad zooplanctónica del estuario de Bahía Blanca ha sido estudiada desde fines de los años 70. Los antecedentes existentes sobre el mesozooplancton, el macrozooplancton y el zooplancton temporario del estuario han sido detallados por Hoffmeyer (2004a), Hoffmeyer & Mianzan (2004) y Hoffmeyer & Cervellini (2004), respectivamente. Ciertas especies de crustáceos copépodos, larvas de cirripedios y zoeas de decápodos constituyen los principales componentes de la fracción mesozooplanctónica del estuario (Hoffmeyer 1994, Hoffmeyer 2004a y b). Dentro de esta fracción, el copépodo calanoideo *Acartia tonsa* es la especie dominante a lo largo del estuario y durante la mayor parte del año (Hoffmeyer 1983, Sabatini 1989, Hoffmeyer 2004a y b, Hoffmeyer *et al.* 2009), registrándose densidades de hasta 37.700

ind. m⁻³ en los meses de mayores temperaturas (Sabatini 1989). Debido a su alta frecuencia de ocurrencia e importancia numérica y a su rol como modulador de la dinámica poblacional fito- y microplanctónica, *A. tonsa* es considerada un componente clave en la trama trófica del estuario (Diodato & Hoffmeyer 2008). Constituye también uno de los ítems más abundantes en la dieta de peces de importancia ecológica como la saraquita (*Ramnogaster arcuata*), así como un ítem trófico relevante para juveniles de peces de importancia económica regional como la pescadilla (*Cynoscion guatucupa*) y la corvina rubia (*Micropogonias furnieri*), entre otros (Sardiña 2004, Sardiña & López Cazorla 2005, López Cazorla *et al.* 2011). Durante los meses fríos, cuando las condiciones ambientales son menos favorables para el desarrollo de *A. tonsa* (Hoffmeyer 2004a), otras especies como el copépodo *Eurytemora americana* y las larvas *nauplii* y *cypris* del cirripedio *Balanus glandula* muestran abundancias importantes en el estuario (Hoffmeyer 2004b, Hoffmeyer & Barría de Cao 2007, Berasategui *et al.* 2009).

Las especies zooplanctónicas presentan una resistencia relativamente alta a diversos estresores ambientales provenientes de fuentes de disturbio antrópico (Hoffmeyer *et al.* 2005, Ferrer *et al.* 2006, Hoffmeyer *et al.* 2008, Fernández Severini *et al.* 2009, 2010, 2013, Biancalana *et al.* 2012). Sin embargo, los efectos vinculados a los impactos antrópicos no han sido investigados en relación con la dinámica trófica del zooplancton.

1.2. Materiales y métodos

1.2.1. Área de estudio

El estuario de Bahía Blanca está situado en una región templada semiárida, al sur de la provincia de Buenos Aires sobre la costa Atlántica entre los 38°42' - 39°25' de latitud Sur y los 61°50' - 62°22' de longitud Oeste (Fig. 1.3). Es un estuario de planicie costera caracterizado por una configuración espacial en triángulo, que se estrecha a medida que se acerca al continente, y por la presencia de una red compleja de canales de marea meandriformes con orientación NO – SE (Cuadrado *et al.* 2004). Abarca una superficie aproximada de 3.000 km² que incluye áreas insulares e intermareales (Melo *et al.* 2008), de la cual un 10 % se encuentra cubierta por vegetación halófila dominada por las especies *Spartina alterniflora*, *S. densiflora* y *Sarcocornia perennis* (Botté *et al.* 2008, Negrin 2011). El principal acceso al estuario lo conforma el mayor canal navegable, el Canal Principal, cuya longitud es de 70 km y su ancho varía desde menos de 50 m en su cabecera a 10 km en su desembocadura (Melo *et al.* 2008). En base a las propiedades geofísicas, el Canal Principal puede dividirse en tres sectores: interno, medio y externo. La zona interna comprende desde el área de Villarino Viejo hasta Ingeniero White. El sector medio continúa hasta la altura de Puerto Belgrano y el sector externo se extiende desde Puerto Belgrano hasta la altura de Punta Tejada (Fig. 1.3). En términos generales, el estuario es turbio y somero (50 - 300 UNT y profundidad media de 10 m), con una columna verticalmente homogénea en términos de salinidad y temperatura por el efecto de la marea y los vientos (Perillo *et al.* 2001a). El volumen de agua dulce que ingresa al sistema es reducido y principalmente aportado por la descarga de los arroyos Sauce Chico y Napostá Grande, con un caudal medio anual de 1,9 y 0,8 m³ s⁻¹, respectivamente (Perillo & Piccolo 1991) y por las descargas cloacales provenientes de los principales núcleos urbanos de la región (caudal promedio estimado de 0,97 m³ s⁻¹) (Heffner *et al.* 2003). El sistema está sujeto a un régimen de marea semidiurno, con una amplitud de marea de entre 2 y 4 m que se incrementa desde la desembocadura hacia el interior del estuario. La marea representa la principal fuente de energía en el estuario y está condicionada por la geometría de los canales y la intensidad de los vientos dominantes (Perillo & Piccolo 1991). La zona interna del estuario presenta una circulación restringida (velocidades de entre 0,69 y 0,77 m s⁻¹) con baja advección y un tiempo de residencia cercano a los 28 días (Perillo *et al.* 2001b). La salinidad varía entre 15,8 y 41,9 (UPS) dependiendo del régimen estacional de precipitaciones, viento y temperatura, registrándose usualmente condiciones de hipersalinidad en los veranos secos y calurosos. La temperatura media anual del agua es de 13 °C, con una media en verano de 23 °C y de 7,1 °C en invierno (Freije & Marcovecchio

2004). La concentración de nutrientes disueltos es elevada durante todo el año, particularmente en la zona interna del estuario (valores medios de nitrito+nitrato, amonio, fosfato y silicato de 7,76, 32,32, 1,85 y 80,22 μM respectivamente), disminuyendo únicamente en la etapa final del florecimiento fitoplanctónico, a fines del invierno-principios de la primavera (Freije *et al.* 2008). La productividad primaria también es alta, registrándose, en la cabecera, valores extremos de productividad primaria neta de hasta 300 $\text{mg C m}^{-3} \text{h}^{-1}$ (Freije & Marcovecchio 2004) y valores de hasta 143 $\text{mg C m}^{-3} \text{d}^{-1}$ en la zona interna-media del estuario (MC López Abbate datos no publicados).

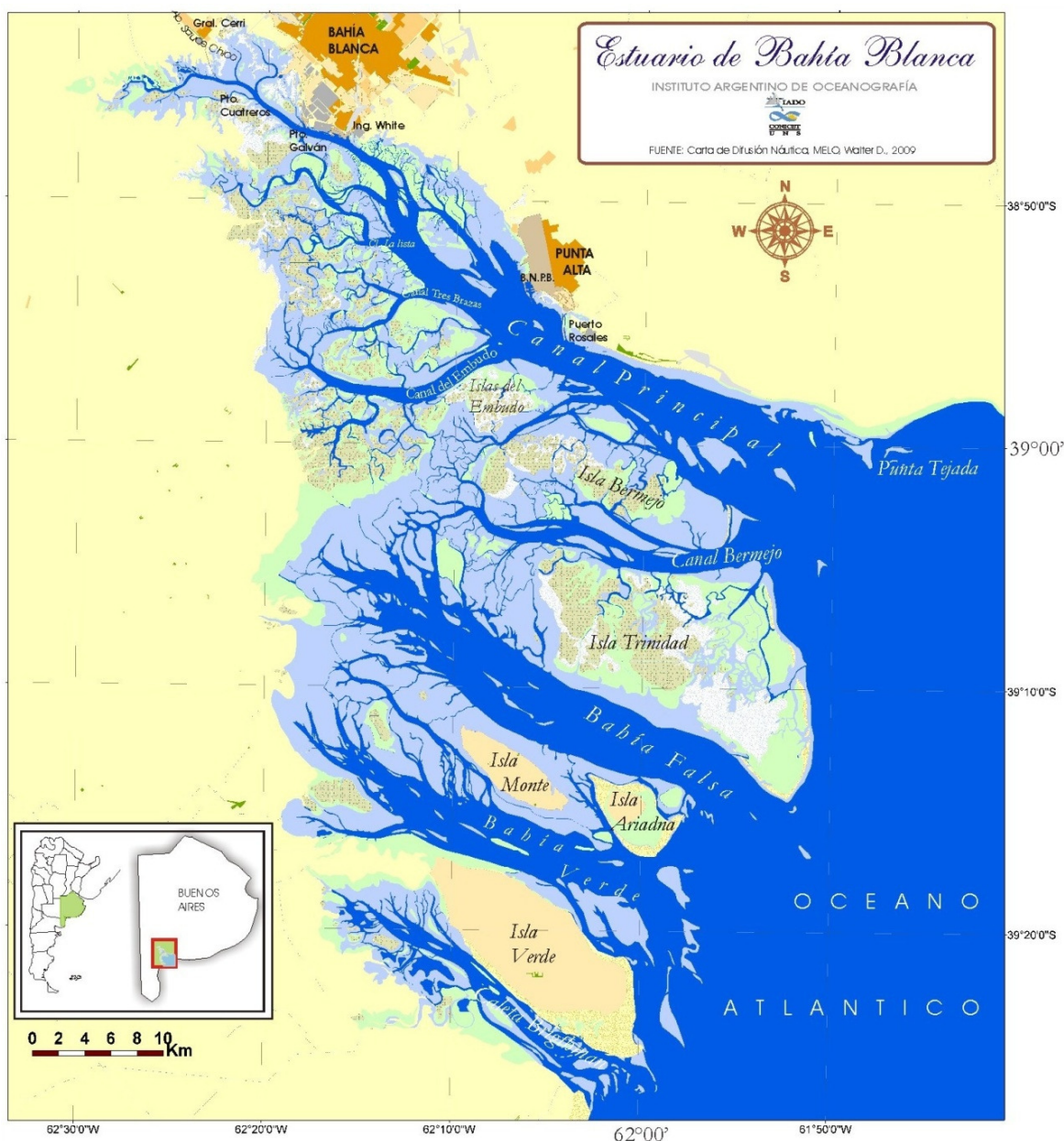


Figura 1.3. Mapa y ubicación geográfica del estuario de Bahía Blanca. Se representan en naranja los centros urbanos asociados al estuario en la costa norte; en celeste, el área de inundación en pleamar y en tonos de verde, las planicies y marismas (Fuente: WD Melo).

El patrón climático típico de la región corresponde a seco y templado, con precipitaciones predominantes en primavera-verano y medias anuales de 489 mm, y temperaturas medias anuales de entre 14 y 20 °C con estaciones térmicas bien diferenciadas. Predominan fuertes vientos del sector N - NO con velocidades medias de 6,7 m s⁻¹ y eventos de 28 m s⁻¹ (Piccolo 2008).

La costa norte del Canal Principal está sometida a una fuerte presión antrópica (Lám. I). Refinerías, industrias petroquímicas y cerealeras, fábricas de plásticos y fertilizantes descargan diariamente sus efluentes al estuario (Arias *et al.* 2010, 2011). Asimismo, los desechos urbanos de la ciudad de Bahía Blanca (301.501 habitantes, INDEC 2010) se vierten al estuario, actualmente sin tratamiento previo, con un caudal medio de 0,75 m³ s⁻¹ (Heffner *et al.* 2003) y aportes estimados de sólidos suspendidos totales de 31 g hab.⁻¹ día⁻¹ y de 450 y 127 mg hab.⁻¹ día⁻¹ de N y P respectivamente (Tombesi *et al.* 2000).

1.2.1.1. Sitios de muestreo

Los sitios de muestreo escogidos fueron Canal Vieja (CV), como el sitio perturbado, y Bahía del Medio (BM), como el sitio control (Fig. 1.4 y Lám. II). Esta elección se basó en investigaciones e informes técnicos cuyos resultados demostraron el impacto negativo del vertido del efluente cloacal insuficientemente tratado sobre las condiciones físicas y bioquímicas del agua del canal receptor (Brezina & Baldini 2008, Tombesi *et al.* 2000, Marcovecchio *et al.* 2004, 2008, 2010); así como la falta de evidencias de la influencia cloacal en Bahía del Medio, sitio señalado como apropiado para el desarrollo de actividades de acuicultura (Baldini *et al.* 1999).

CV es un canal paralelo al Canal Principal en su tramo intermedio, ubicado a los 38° 48' 44" de latitud Sur y a los 62° 13' 18" de longitud Oeste. Tiene 4,7 km de longitud, 300 m de ancho y 6,5 m de profundidad (EO Redondo comunicación personal). CV recibe una de las descargas cloacales municipales de la ciudad de Bahía Blanca y en condiciones de marea bajante, aportes provenientes del arroyo Napostá Grande.

BM está asociado a un sistema particular de canales interconectados, rodeado por grandes extensiones de marismas cubiertas por la espartina perenne *S. alterniflora* (Hoffmeyer & Barría de Cao 2007). Es un canal de marea que se desarrolla en forma sinusoidal de Oeste a Este a los 38° 50' 41" de latitud Sur y a los 62° 16' 35" de longitud Oeste. Tiene 5,7 km de longitud, 70 m de ancho y 4,5 m de profundidad media (WD Melo

comunicación personal). A través de los canales El Alambre y La Lista, BM desemboca en la región media del Canal Principal (Cuadrado *et al.* 2000, Ginsberg *et al.* 2009).

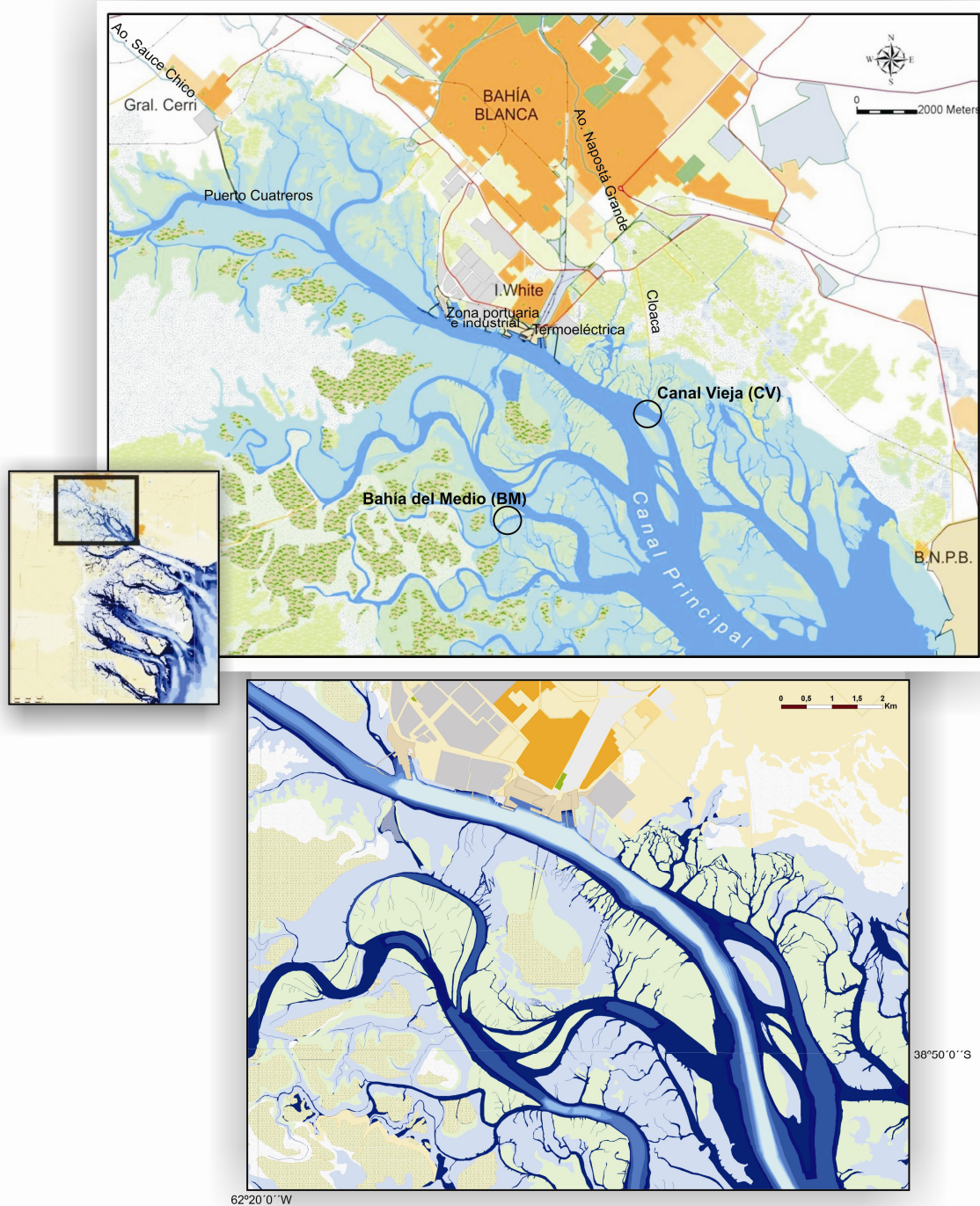


Figura 1.4. Detalle de la zona interna-media del estuario de Bahía Blanca. Arriba, se señalan con círculos los sitios de muestreo: Canal Vieja (CV), receptor de una de las descargas cloacales de la ciudad de Bahía Blanca y Bahía del Medio (BM), canal de marea no impactado por efluentes cloacales o industriales. Abajo, ampliación del área que abarca las dos estaciones de muestreo (Fuente: WD Melo).

1.3. Objetivo general y estructura de la tesis

Teniendo en cuenta el marco conceptual previamente expuesto, el objetivo general de esta tesis fue evaluar si la existencia de una fuente puntual y permanente de nutrientes, metales pesados y materia orgánica alóctona, como es la principal descarga cloacal de la ciudad de Bahía Blanca, condiciona a la comunidad mesozooplanctónica, ya sea en su (i) estructura, (ii) comportamiento trófico y/o (iii) composición de ácidos grasos.

Por otro lado, debido a que la dinámica planctónica del estuario está fuertemente regulada por la estacionalidad climática típica de la región (Hoffmeyer *et al.* 2009; Berasategui *et al.* 2009), el criterio empleado fue el de abarcar dos períodos de estudio contrastantes en términos climáticos: meses cálidos (en adelante, verano) y meses fríos (invierno) (Tabla I Anexo).

Los capítulos desarrollados en esta tesis, se centran en cada uno de los propósitos mencionados, exponiendo los objetivos y la metodología utilizada para cumplirlos, los resultados alcanzados y la discusión generada a partir de estos resultados y los antecedentes disponibles de cada uno de los temas.



Lámina I. Fotografías de la zona industrial y portuaria localizada en la costa norte del Canal Principal del estuario de Bahía Blanca. (Fuentes: MS Dutto y <http://ecomiradas.wordpress.com> foto izquierda arriba).

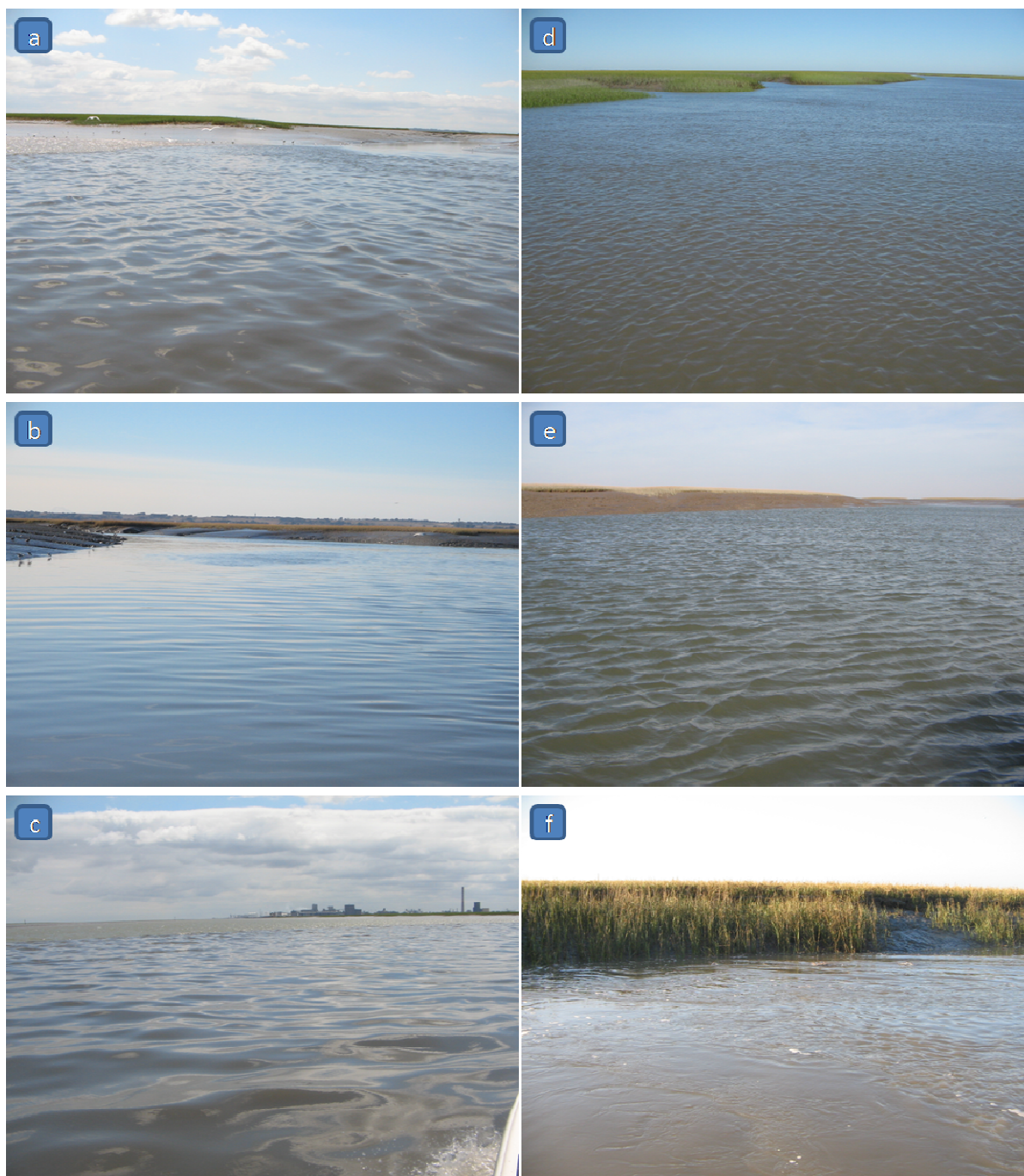


Lámina II. Fotografías de los sitios de muestreo. a), b) y c): Canal Vieja (CV) en verano, invierno y el área periférica, respectivamente; d), e) y f): idem para Bahía del Medio (BM). En las fotografías de CV se observa la pluma cloacal (densidad $< 1 \text{ g ml}^{-1}$) diferenciada del agua estuarina. (Fuente: MS Dutto).

Capítulo 2

Evaluación ambiental y análisis de la comunidad del mesozooplancton

2.1. Hipótesis y objetivos

En el presente capítulo, se plantea el estudio de la calidad ambiental y la comunidad del mesozooplancton en dos sitios del estuario de Bahía Blanca con distinto nivel de impacto antrópico y en dos períodos climáticos contrastantes. En el marco de los antecedentes desarrollados se pretendió testear la siguiente hipótesis:

La contribución alóctona y permanente de materia orgánica y nutrientes altera las condiciones bioquímicas y las asociaciones mesozooplanctónicas en relación con un sitio control y estas modificaciones son detectables en estaciones del año contrastantes a pesar de la variabilidad ambiental promovida por la fuerte influencia climática regional.

Para ello, se propusieron los siguientes objetivos:

(i) Analizar y comparar las características ambientales del canal receptor de una descarga cloacal de la ciudad de Bahía Blanca: Canal Vieja (CV) y de un sitio control, no impactado por efluentes cloacales: Bahía del Medio (BM), en meses cálidos y en meses fríos.

(ii) Detectar variaciones en la estructura de la comunidad del mesozooplancton en los dos sitios de muestreo propuestos y durante los dos períodos climáticos abarcados.

2.2. Materiales y Métodos

2.2.1. Diseño de muestreo

Con el propósito de testear la hipótesis planteada, se realizaron diez campañas de muestreo en los dos sitios propuestos, durante horas diurnas, en verano e invierno del ciclo 2009 en las siguientes fechas: diciembre 2008 (CV: 11, BM: 15/12/08), febrero 2009 (CV: 16, BM: 20/02/09), marzo 2009 (BM: 5, CV: 9/03/09), julio 2009 (CV: 27, BM: 29/07/09) y agosto 2009 (CV: 10, BM: 13/08/09) utilizando las embarcaciones institucionales IADO III “Buen día Señor” e IADO IV. En cada una de las campañas se realizaron mediciones *in situ* y se recolectaron muestras biológicas.

2.2.1.1. Trabajos de campo

Registro de las variables ambientales

Se registraron las variables ambientales (pH, oxígeno disuelto -OD, salinidad -S, temperatura -T y turbidez -Tu) con un sensor multiparámetro Horiba® U-10 y se recolectaron muestras de agua subsuperficial para la posterior determinación de carbono orgánico particulado (COP), nutrientes inorgánicos disueltos [nitrito (NO_2^-), nitrato (NO_3^-), amonio (NH_4^+), fosfato (PO_4^{3-}) y silicato (DSi)], clorofila *a* (Cl *a*) y feopigmentos (Feop). Todas las determinaciones químicas fueron realizadas por personal técnico del Laboratorio de Química Marina del IADO.

Recolección del mesozooplancton

Los organismos mesozooplanctónicos se recolectaron mediante arrastres horizontales subsuperficiales (0 – 2 m) empleando una red de plancton de 200 μm de poro (Lám. III). En cada uno de los sitios se realizaron cuatro arrastres (arrojando dos veces consecutivas dos redes idénticas en simultáneo) de 2 minutos cada uno y a aproximadamente 2 nudos de velocidad. Los arrastres se realizaron durante marea bajante para favorecer la recepción de la pluma cloacal en el sitio impactado y debido a que la abundancia del zooplancton es significativamente mayor en este estado de marea (Menéndez 2009, Menéndez *et al.* 2012). Para estimar el volumen de agua filtrado por las redes, fue colocado un flujómetro *General Oceanics*® en la boca de una

de las redes que conformaron cada par. El volumen (m^3) se calculó de acuerdo con la fórmula establecida:

$$V = a \times d$$

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

Las muestras fueron colocadas en recipientes plásticos de 5 litros de capacidad con agua del lugar (para ser tratadas como se indica en el Cap. 3) y posteriormente trasladadas al laboratorio en conservadoras para evitar cambios bruscos de temperatura, hasta su correspondiente e inmediato procesamiento.

2.2.1.2. Trabajos de laboratorio

Determinación de clorofila *a* y feopigmentos

Las concentraciones de clorofila *a* y feopigmentos ($\mu g\ l^{-1}$) se determinaron según APHA (1998) basado en el método de Lorenzen & Jeffrey (1980), que consiste en la extracción de los pigmentos fotosintéticos con un solvente orgánico y la lectura por espectrofotometría. Las muestras de agua (250 ml) se filtraron a través de filtros Whatman® *GF/F* (47 mm de diámetro y 0,7 μm de tamaño de poro) que fueron inmediatamente almacenados a $-20\ ^\circ C$ hasta su posterior análisis. La extracción de los pigmentos se realizó con acetona al 90 % a temperatura ambiente durante 24 h y las lecturas se efectuaron en un espectrofotómetro UV-visible Beckman DU-2 con celdas de 5 cm de paso óptico a 665 y 750 nm de longitud de onda. Luego, se agregó HCl 0,1 M a la celda de lectura, se dejó reposar 1 minuto y se realizaron nuevamente las lecturas a las mismas longitudes de onda para la determinación de los feopigmentos.

La cuantificación de los pigmentos se realizó a través de los siguientes cálculos:

$$\text{Clorofila } a (\mu g\ l^{-1}) = 26,7 \times v / V \times b (\lambda\ 665 - \lambda\ 665\ a)$$

$$\text{Feopigmentos } (\mu g\ l^{-1}) = 26,7 \times v / V \times b (1,7 \times \lambda\ 665\ a - \lambda\ 665)$$

donde: v = volumen de acetona final; V = volumen de muestra filtrada, b = longitud de la celda (cm), $\lambda\ 665$ = lectura de absorbancia a 665 nm – lectura de absorbancia a

750 nm, λ 665 a = lectura de absorbancia a 665 nm con ácido – lectura de absorbancia a 750 nm con ácido (blanco).

El límite de detección del método es de 0,02 $\mu\text{g l}^{-1}$.

Determinación de nutrientes disueltos

La concentración de los nutrientes inorgánicos disueltos se determinó en muestras de agua procesadas según APHA (1998). Se filtraron 250 ml a través de filtros *GF/F* y 100 ml de la fracción disuelta fueron colocados en envases plásticos previamente acondicionados (Gardolinski *et al.* 2001) y conservados a -18 °C hasta su posterior análisis. Las determinaciones de los nutrientes inorgánicos disueltos se realizaron empleando un Autoanalizador Technicon® AA-II expandido a cinco canales según los siguientes métodos colorimétricos: nitrito (Grasshoff *et al.* 1983), nitrato (Treguer & Le Corre 1975), amonio (Richards & Klestch 1964) descrito por Treguer & Le Corre (1975), fosfato (Eberlein & Kattner 1987) basado en el método original de Murphy & Riley (1962), y silicato (Technicon® 1973). Las lecturas se realizaron a una longitud de onda de 540 nm para la determinación de nitrito, nitrato y amonio (ya que su determinación se realiza sobre nitrito), 885 de longitud de onda para fosfato y 660 nm de longitud de onda para silicato. El límite de cuantificación de los métodos es de 0,02 μM para nitrito, 0,10 μM para nitrato, 0,01 μM para amonio, 0,01 μM para fosfato y 1,00 μM para silicato.

Determinación de carbono orgánico particulado

La concentración de carbono orgánico particulado (COP) se determinó siguiendo el método descrito por Strickland & Parsons (1968), que se basa en la oxidación húmeda de la materia orgánica por dicromato de potasio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) en medio ácido. El principio de este método radica en medir la disminución en la absorbancia del color amarillo del dicromato (Cr^{+6}) luego de su reducción a Cr^{+3} por el carbono orgánico presente. Se filtraron 250 ml de agua a través de filtros Whatman® *GF/F* previamente muflados a 450 - 500 °C durante 30 minutos. Para conservar la muestra, se le agregaron al filtro 4 ml de sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4) 0,32 M. Posteriormente, los filtros fueron plegados, colocados en sobres de papel de aluminio y almacenados en heladera hasta su análisis. Las lecturas de absorbancia se realizaron mediante un espectrofotómetro UV-visible Beckman DU-2 utilizando celdas

de 1 cm de camino óptico a una longitud de onda de 440 nm. Para la determinación de carbono orgánico, se utilizó una solución estándar de glucosa y blancos de reactivos, tratados del mismo modo que las muestras. El cálculo se realizó en base a la siguiente ecuación:

$$\mu\text{g C} = E \times F \times v$$

donde: E = extinción corregida para la absorbancia del Cr trivalente expresada como: $E = 1,1 \times E_{\text{obs}}$, F = factor dado por la expresión: $F = 120/E_c$; siendo: E_c = extinción media corregida de tres patrones, v = volumen de oxidante usado (ml).

El contenido de carbono se expresó como $\mu\text{g l}^{-1}$. El rango cuantificable del método es de 10 a 4.000 $\mu\text{g l}^{-1}$.

Análisis de las muestras de mesozooplancton

El mesozooplancton recolectado fue analizado cualitativa y cuantitativamente bajo una lupa binocular *Wild M5*. La identificación se realizó utilizando literatura taxonómica específica (e.g. Boltovskoy 1981, 1999, Hoffmeyer 1983, Sabatini 1987, Young 2002) procurando alcanzar el menor nivel taxonómico posible. En los casos en que fue necesaria la disección o la extracción de apéndices para la determinación taxonómica, éstos se montaron en un portaobjetos con glicerina gelatinada y se observaron bajo microscopio Zeiss-Jena *Laboval* y Zeiss *Standard*. La abundancia (ind. m^{-3}) se determinó a través de conteo total o por alícuotas dependiendo de la densidad observada en cada muestra, usando en este último caso, cámaras de recuento de acrílico tipo Bogorov (Harris *et al.* 2000). El recuento por alícuotas consistió en la dilución de la muestra en 250 ml de agua de mar filtrada (a través de filtros *GF/F*) y la extracción de cinco alícuotas de 5 ml cada una (volumen total submuestreado: 10 %) (Boltovskoy 1981). La muestra se homogeneizó previamente a la extracción de cada una de las alícuotas, las que fueron analizadas de a una por vez. La abundancia fue determinada a través de recuentos totales (en el caso de las muestras correspondientes a los meses de marzo, julio y agosto) y de recuentos por alícuotas (en el caso de las muestras de diciembre y febrero), de acuerdo con la densidad observada *a priori* en las mismas.

2.2.2. Análisis estadístico

2.2.2.1. Análisis univariado

Con el propósito de realizar un análisis comparativo exhaustivo, se utilizaron diferentes índices ecológicos para estimar la diversidad específica en los dos sitios de muestreo durante el período estudiado. La diversidad específica es un atributo de la comunidad que resulta de un conjunto de interacciones entre las especies de un lugar y relaciona dos aspectos: riqueza, número de especies presentes en la comunidad, y equitatividad, distribución de la abundancia entre las especies de la misma. La equitatividad será máxima cuando todas las especies presenten abundancias idénticas (perfecta homogeneidad) y mínima, cuando una sola especie domine por sobre las demás (Margalef 1974, Magurran 1988). La riqueza de especies fue calculada con el índice de Margalef (d) (Margalef 1958) que es independiente del tamaño de la muestra, mientras que la equitatividad se midió a través del índice de Pielou (J') (Pielou 1969). La diversidad, como valor único que combina ambos parámetros (riqueza específica y equitatividad), se estimó mediante el índice de Shannon-Wiener (H') (Shannon & Weaver 1949). Este índice mide el grado promedio de incertidumbre en predecir a qué especie pertenecerá un individuo escogido al azar de una muestra en la que todas las especies están representadas. Por lo tanto, tenderá a cero cuando la muestra contenga sólo una especie y será máximo cuando todas las especies estén representadas por el mismo número de individuos, es decir, cuando la comunidad presente una distribución equitativa de las abundancias (Magurran 1988). Estos índices fueron calculados mediante el *software* PRIMER-E® 5, a través de las siguientes fórmulas:

$$d = (S-1) / \log N$$

$$J' = H' / \log S$$

$$H' = -\sum [p_i (\log_2 p_i)]$$

donde: S = número total de especies o taxones, N = número total de individuos observados, p_i = proporción de la especie o taxón i en la muestra.

Todas las variables ambientales y bióticas registradas y los índices calculados fueron graficados y comparados entre los sitios de muestreo y entre los períodos

abarcados. Debido al rechazo de los supuestos de normalidad y homoscedasticidad aún luego de aplicar transformaciones adecuadas [\log_{10} para datos fisicoquímicos y raíz cuarta o $\log_{10}(x + 1)$ para valores de abundancia] (Clarke & Warwick 1994), se aplicó el test no paramétrico de Mann-Whitney (Sokal & Rohlf 1999) con un nivel de significación de 0,05. El *software* estadístico utilizado fue NCSS® 2007.

2.2.2.2. Análisis multivariado

Para detectar relaciones entre las variables ambientales y su asociación con los sitios de muestreo, se aplicó el análisis de ordenación de componentes principales (ACP) utilizando el *software* XLStat Addinsoft 2010®. El principal objetivo que persigue el ACP es la representación de las medidas numéricas de varias variables en un espacio de pocas dimensiones donde se puedan percibir relaciones entre las mismas. Las variables fueron previamente estandarizadas (*z score*) y expresadas en unidades de desviación típica para homogeneizar el conjunto de datos y permitir el análisis adimensional, es decir, independiente de las unidades de cada variable. Para esto, se dividió la diferencia de cada valor con respecto a la media, por su desviación estándar ($z = x - \bar{x} / DE$). Los sitios de muestreo fueron incluidos como una variable suplementaria para determinar su disposición espacial en relación con las variables consideradas. Los índices de diversidad, la abundancia total del mesozooplancton y la abundancia de las principales especies de acuerdo con la abundancia registrada (*Acartia tonsa*, *Neohelice granulata* y *Balanus glandula*) fueron examinados en cuanto a su correlación con las variables ambientales. Se mantuvieron los dos primeros componentes principales (CP1 y CP2) ya que explicaron una proporción significativa de la variación total observada. La distribución de las variables fue representada en un espacio bidimensional. La clorofila *a* fue excluida del análisis debido a su muy baja contribución para los dos primeros ejes.

Con el fin de representar la comunidad estudiada y determinar grupos internamente homogéneos y heterogéneos entre sí, de acuerdo con la abundancia de los taxones mesozooplanctónicos registrados, se aplicó el análisis de conglomerados (*cluster*) por el método jerárquico (Clarke & Warwick 1994). Luego, los grupos hallados fueron dispuestos espacialmente a través de un análisis de escalamiento multidimensional no métrico (*non-metric Multi-Dimensional Scalling, MDS*) de acuerdo con la similitud entre las muestras. La bondad de ajuste de este método de ordenación se calcula mediante un valor de *stress* que es una medida de la distorsión entre las

similitudes y las distancias en el mapa de ordenación. El objetivo de este análisis es construir una configuración de ordenación que minimice el *stress* aproximándolo a cero (ajuste perfecto). Valores de *stress* superiores a 0,2 se asocian con malos ajustes. Ambas técnicas, *cluster* y *MDS*, se basaron en matrices triangulares utilizando el índice de similitud de Bray-Curtis sobre una matriz de datos de abundancia (datos bióticos) (Clarke & Ainsworth 1993) transformada por raíz cuarta con el fin de mejorar la contribución de los taxones menos abundantes (Clarke & Warwick 1994). La abundancia de las especies que contribuyeron a la diferenciación de los sitios fue representada en la ordenación *MDS* con círculos superpuestos de tamaño creciente según la abundancia registrada (a mayor abundancia, mayor diámetro de los círculos). Para examinar la contribución de cada taxón a la similitud dentro de un grupo y a la disimilitud entre los grupos (en la escala temporal), se aplicó el análisis de similitud porcentual (*Similarity Percentages, SIMPER*) utilizando el índice de similitud de Bray-Curtis. Para determinar las variables ambientales que mejor explicaran el patrón de la comunidad, se realizó un análisis *BIOENV* incluyendo las dos matrices: la matriz de similitud de los datos ambientales basada en distancias euclídeas (Clarke & Ainsworth 1993) y la matriz de similitud de los taxones. Los datos ambientales se transformaron mediante logaritmo (Clarke & Warwick 1994). Se aplicó un análisis de similitudes (*Analysis of Similarities, ANOSIM*) para detectar diferencias significativas entre los grupos discriminados. Se utilizó el *software* PRIMER® 5 para realizar estos análisis.

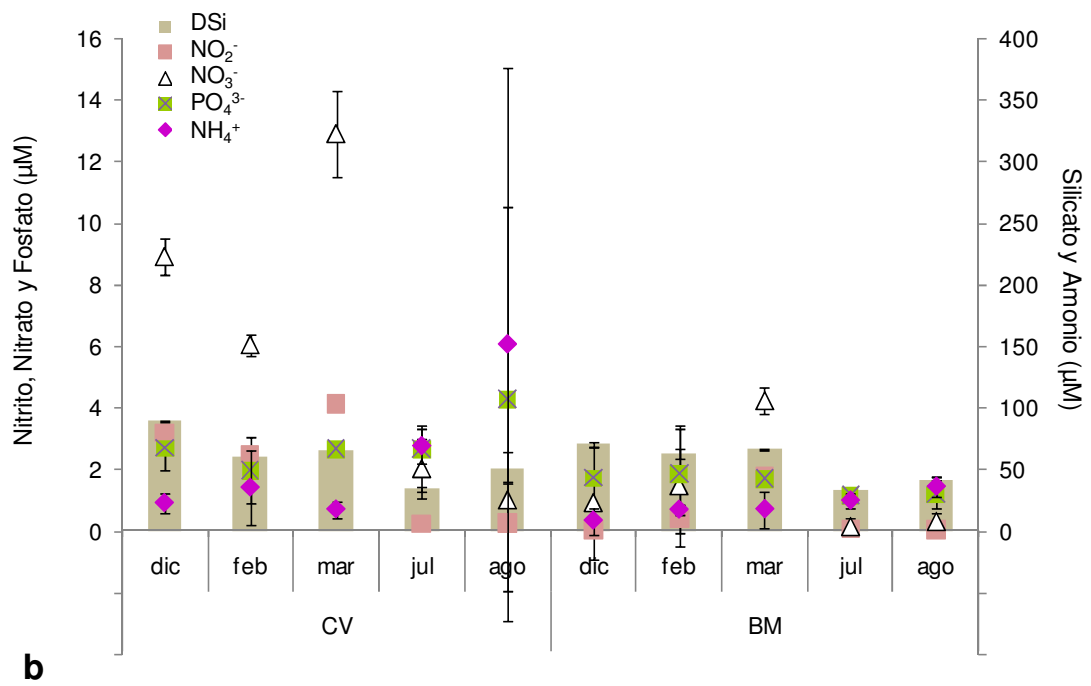
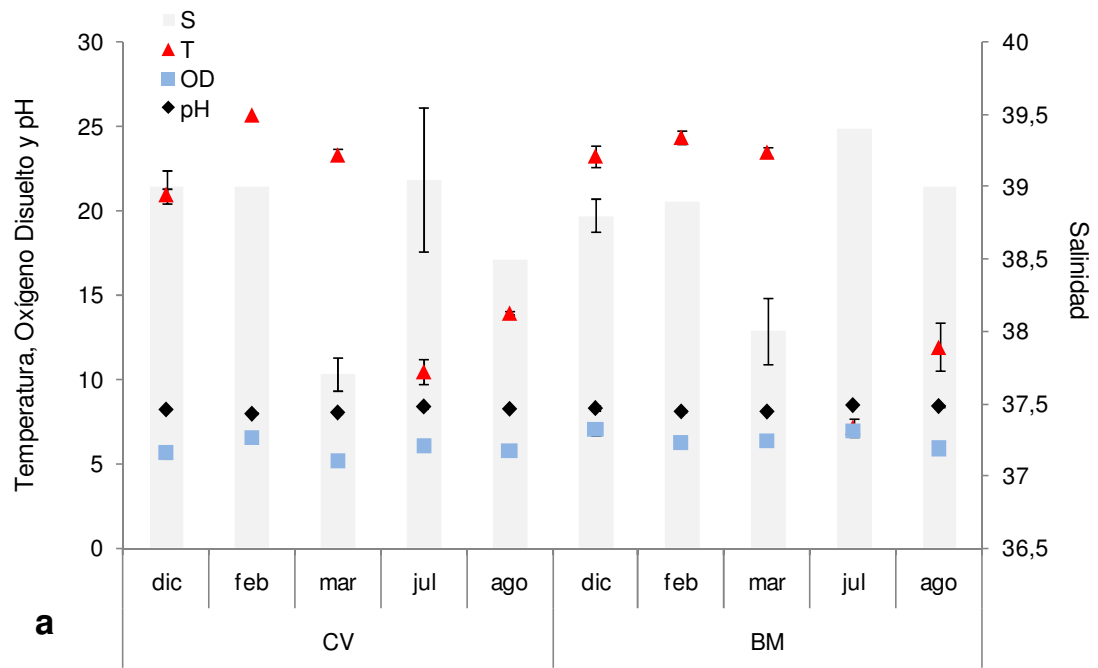
2.3. Resultados

2.3.1. Condiciones ambientales y parámetros bióticos

Los sitios analizados se diferenciaron entre sí en varios aspectos ambientales y bióticos a lo largo de las estaciones climáticas estudiadas. La variación intraestacional en cada sitio de las variables registradas y de los índices calculados se muestran en las Fig. 2.1 y Fig. 2.2, respectivamente; mientras que las comparaciones entre las estaciones climáticas y entre los sitios se detallan en la Tabla 2.1.

Al comparar los sitios entre sí, se detectó en BM durante ambas estaciones climáticas, valores de pH y de concentración de oxígeno disuelto significativamente mayores que en CV (Tabla 2.1). Por otro lado, durante el invierno, la salinidad y la turbidez fueron significativamente mayores en BM, mientras que la temperatura fue significativamente más elevada en CV en comparación con BM (Tabla 2.1). Excepto la concentración de silicato, que presentó valores similares en ambos sitios, la concentración de los demás nutrientes (nitrito, nitrato, fosfato y amonio) fue significativamente más elevada en CV que en BM en las dos estaciones climáticas estudiadas (Tabla 2.1). Durante el verano, la riqueza específica (d) fue significativamente mayor en BM y la equitatividad (J') significativamente menor, en relación a los valores obtenidos para CV. No se observaron diferencias significativas entre los sitios en estos índices durante el invierno. Las concentraciones de silicato, clorofila a , COP, la diversidad (H') y la abundancia del mesozooplancton no presentaron diferencias significativas entre los sitios en ninguna de las dos estaciones climáticas estudiadas. La concentración de feopigmentos fue más elevada en BM y significativamente mayor a lo registrado en CV, en el verano (Fig. 2.1d y Tabla 2.1).

Capítulo 2 – Evaluación ambiental y análisis del mesozooplancton



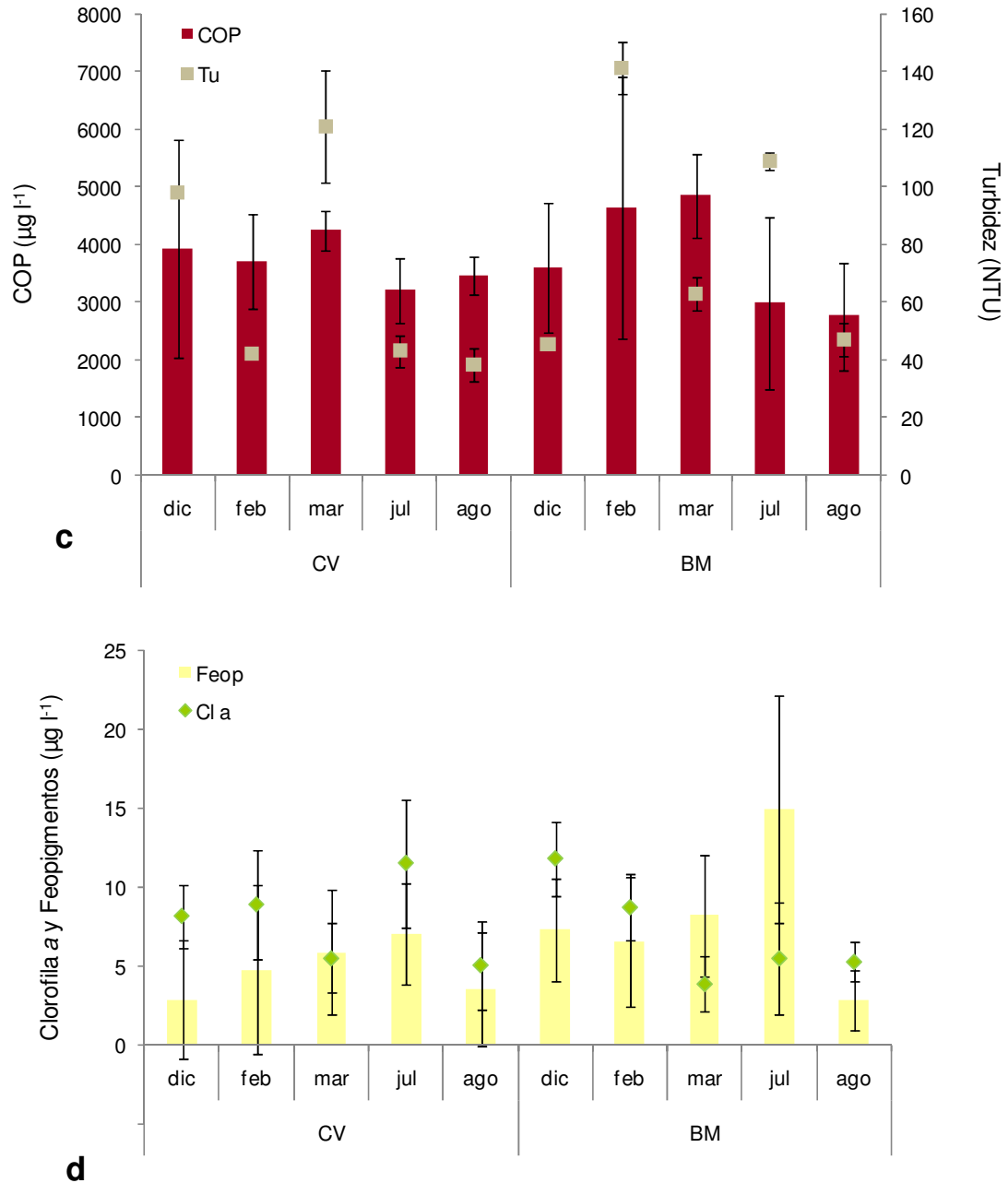


Figura 2.1. Valores medios y desvíos estándares de las variables físicoquímicas y bióticas registradas en los sitios de muestreo durante los meses de verano e invierno. a) temperatura (T, °C), oxígeno disuelto (OD, mg l⁻¹), pH y salinidad (S); b) nutrientes inorgánicos disueltos: nitrito, nitrato, fosfato, silicato y amonio (μM); c) carbono orgánico particulado (COP, μg l⁻¹) y turbidez (Tu, UNT); d) clorofila a (Cl a, μg l⁻¹) y feopigmentos (Feop, μg l⁻¹). CV: Canal Vieja, receptor de la descarga cloacal; BM: Bahía del Medio, sitio control.

Asimismo, se observaron diferencias estacionales en cada sitio de muestreo en particular (Tabla 2.1). El 59 % de las variables estudiadas presentaron diferencias estacionales en ambos sitios. Los valores de pH, la temperatura, las concentraciones de nitrato, silicato, amonio, COP, la abundancia del mesozooplankton y la diversidad (d, H', J') fueron significativamente diferentes entre el verano y el invierno tanto en CV como en BM (Tabla 2.1). De estas variables, el pH, la concentración de amonio y los índices de diversidad fueron más elevados durante el invierno, mientras que las variables restantes lo fueron en el verano (Figs. 2.1a y b, 2.2 y Tabla 2.1).

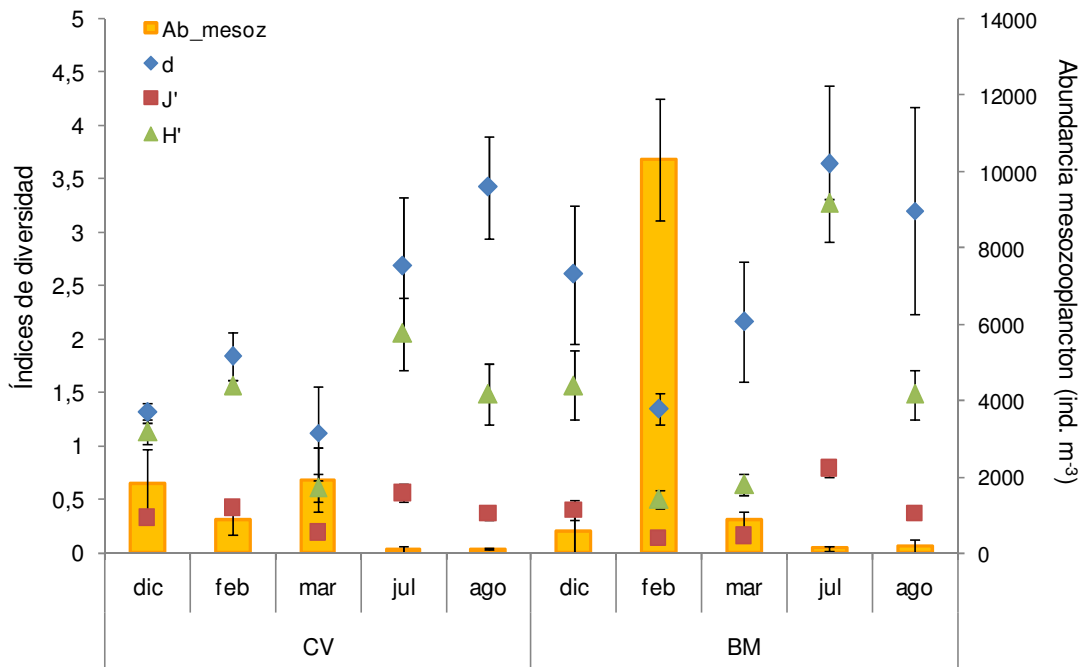


Figura 2.2. Valores medios y desvíos estándares de los índices de diversidad y de la abundancia del mesozooplankton en los sitios de muestreo durante los meses de verano e invierno. Ab_mesoz: abundancia del mesozooplankton (ind. m⁻³), d: índice de Margalef, J': índice de Pielou, H': índice de Shannon-Wiener (bits ind.⁻¹), CV: Canal Vieja, receptor de la descarga cloacal; BM: Bahía del Medio, sitio control.

Por otro lado, en CV, los valores de concentración de nitrito y de turbidez fueron significativamente mayores en el verano; mientras que en BM, se hallaron valores más elevados de fosfato y clorofila *a* en el verano y de salinidad en el invierno.

No se encontraron diferencias significativas entre las estaciones climáticas en CV en la salinidad y en las concentraciones de oxígeno disuelto, fosfato, clorofila *a* y feopigmentos, como así tampoco en la turbidez y en las concentraciones de oxígeno disuelto, nitrito y feopigmentos, en BM (Tabla 2.1).

Tabla 2.1. Variables ambientales registradas (media ± desvío estándar) en los dos sitios de muestreo durante el verano y el invierno.

Variable	ENTRE PERÍODOS				ENTRE SITIOS			
	Canal Vieja		Bahía del Medio		verano		invierno	
	verano	invierno	p	verano	invierno	p	verano	invierno
pH	8,08 ± 0,11	8,32 ± 0,09	0,000	8,17 ± 0,13	8,43 ± 0,06	0,001	0,047	0,004
OD (mg l ⁻¹)	5,77 ± 0,62	5,86 ± 0,20	0,349	6,55 ± 0,39	6,41 ± 0,57	0,295	0,010	0,018
S	38,57 ± 0,65	38,78 ± 0,44	0,266	38,57 ± 0,44	39,2 ± 0,21	0,000	0,500	0,005
Tu (UNT)	87 ± 36	41 ± 6	0,001	83 ± 44	78 ± 33	0,268	0,595	0,004
T (°C)	23,33 ± 2,03	12,20 ± 1,92	0,000	23,71 ± 0,66	9,53 ± 2,73	0,000	0,274	0,029
NO ₂ ⁻ (µM)	3,27 ± 0,71	0,24 ± 0,08	0,000	0,74 ± 0,83	0,06 ± 0,04	0,071	0,000	0,001
NO ₃ ⁻ (µM)	9,28 ± 30,4	1,52 ± 0,92	0,000	2,21 ± 2,07	0,23 ± 0,27	0,032	0,000	0,002
PO ₄ ³⁻ (µM)	2,45 ± 0,76	3,48 ± 4,19	0,198	1,77 ± 0,76	1,18 ± 0,30	0,015	0,030	0,016
DSi (µM)	71,43 ± 3,20	42,76 ± 12,20	0,001	66,42 ± 4,00	37,03 ± 4,42	0,000	0,116	0,186
NH ₄ ⁺ (µM)	25,05 ± 18,25	110,15 ± 153,33	0,001	14,39 ± 10,67	30,23 ± 8,80	0,001	0,028	0,002
Cl a (µg l ⁻¹)	7,49 ± 2,81	8,25 ± 4,70	0,327	8,09 ± 3,88	5,36 ± 2,49	0,045	0,333	0,073
Feop (µg l ⁻¹)	4,45 ± 4,19	5,24 ± 3,66	0,335	7,32 ± 3,46	8,85 ± 8,07	0,311	0,040	0,134
COP (µg l ⁻¹)	3,957 ± 1,110	3,330 ± 449	0,049	4,360 ± 1,491	2,870 ± 1,161	0,019	0,282	0,162
d	1,43 ± 0,41	3,09 ± 0,69	0,000	2,08 ± 0,76	3,43 ± 0,83	0,001	0,009	0,193
J'	0,32 ± 0,10	0,46 ± 0,12	0,005	0,23 ± 0,13	0,59 ± 0,23	0,002	0,049	0,200
H' (bits ind. ⁻¹)	1,10 ± 0,42	1,78 ± 0,42	0,001	0,90 ± 0,53	2,38 ± 0,97	0,002	0,843	0,172
Ab_mesoz (ind. m ⁻³)	1.540 ± 838	111 ± 56	0,000	3.915 ± 4.825	154 ± 114	0,001	0,059	0,263

Comparación de medias entre períodos en los dos sitios y entre sitios en las dos estaciones climáticas (test de Mann-Whitney). Se muestran en negrita los valores significativos ($p < 0,05$). OD: oxígeno disuelto, S: salinidad, Tu: turbidez, T: temperatura, Cl a: clorofila a, Feop: feopigmentos, COP: carbono orgánico particulado, d: índice de Margalef, J': índice de Pielou, H': índice de Shannon-Wiener, Ab_mesoz: abundancia del mesozooplancton.

2.3.2. Composición y abundancia del mesozooplancton

La clasificación taxonómica de los organismos registrados durante todo el período estudiado en ambos sitios de muestreo, se detalla en la Tabla 2.2. Durante el presente estudio, se registraron e identificaron 51.572 organismos que correspondieron a 68 taxones y a 11 filos diferentes (Tabla 2.2). De éstos, 4 taxones fueron citados por primera vez para el mesozooplancton del estuario de Bahía Blanca (señalados con * en la Tabla 2.2).

En términos generales, los crustáceos fueron el grupo dominante abarcando el 99 % de la abundancia total y dentro de éstos, los grupos más diversos fueron los copépodos y los decápodos, representados por 34 y 7 taxones respectivamente. De la totalidad de taxones registrados, 26 (38 %) fueron detectados en los dos sitios, tanto en CV como en BM; mientras que 13 (19 %) fueron exclusivamente registrados en CV y 19 (28 %) en BM. Durante el período estudiado y en los dos sitios de muestreo, unos pocos taxones presentaron abundancias relativas mayores al 1 % (Tabla 2.3). Las especies restantes, cuyas abundancias no superaron el 1 % de la abundancia total registrada, fueron agrupados en “otros taxones” y comprendió principalmente a organismos asociados al fondo como especies de copépodos harpacticoideos, poliquetos y formas meroplanctónicas (Tabla 2.2).

Tabla 2.2. Mesozooplancton registrado en los sitios Canal Vieja y Bahía del Medio del estuario de Bahía Blanca durante el período de estudio.

Phylum Foraminifera	<i>Neomysis americana</i>	<i>Nannopus</i> aff. <i>palustris</i>
Foraminifera nn	Orden Amphipoda	Familia Laophontidae
Phylum Cnidaria	Familia Caprellidae	<i>Heterolaophonte</i> sp.
Clase Hydrozoa	Caprellidae nn	Familia Tachidiidae
Hydrozoa nn	Familia Corophiidae	<i>Microarthridion</i> aff. <i>littorale</i>
Clase Anthozoa	<i>Corophium</i> sp.	Familia Dactylopusiidae
Orden Ceriantharia	Familia Ischyroceridae	<i>Dactylopusia</i> (= <i>Dactylopodia</i>) <i>tisboides</i>
Ceriantharia nn	<i>Jassa</i> sp.	<i>Dactylopusia</i> (= <i>Dactylopodia</i>) sp.
Phylum Cephalorhyncha	Orden Decapoda	Familia Canthocamptidae
Clase Priapulida	Familia Varunidae	<i>Cletocamptus</i> aff. <i>bermudae</i>
Familia Priapulidae	<i>Neohelice granulata</i>	Orden Siphonostomatoida
Priapulidae nn*	<i>Cyrtograpsus altimanus</i>	Familia Pennellidae
Phylum Mollusca	Familia Pinnotheridae	Pennellidae nn
Clase Gastropoda	<i>Austinixa</i> (= <i>Pinnixa</i>) <i>patagoniensis</i>	Orden Cyclopoida
Gastropoda nn	<i>Tumidotherea</i> (= <i>Pinnotherea</i>) <i>maculatus</i>	Cyclopoida nn1
Clase Bivalvia	Familia Epialtidae	Cyclopoida nn2
Bivalvia nn	<i>Libinia spinosa</i>	Familia Oithonidae
Phylum Annelida	Familia Alpheidae	<i>Oithona</i> aff. <i>oswaldocruzi</i> *
Clase Polychaeta	<i>Alpheus puapeba</i>	<i>Oithona nana</i>
Polychaeta nn*	Familia Paguridae	Familia Cyclopidae
Orden Spionida	<i>Pagurixus</i> (= <i>Pagurus</i>) sp.	<i>Microcyclops</i> sp.
Familia Spionidae	Clase Maxillopoda	<i>Halicyclops</i> aff. <i>crassicornis</i>
Spionidae nn	Subclase Thecostraca	Orden Monstrilloida
Orden Phyllodocida	Orden Sessilia	Familia Monstrillidae
Familia Syllidae	Familia Balanidae	<i>Monstrilla</i> sp.
Syllidae nn	<i>Balanus glandula</i> (Darwin 1854)	<i>Monstrilla helgolandica</i>
Familia Aphroditidae	<i>Amphibalanus amphitrite</i>	Phylum Bryozoa
Aphroditidae nn	Subclase Copepoda	Superphylum Lophotrochozoa
Phylum Nematoda	Orden Calanoida	Bryozoa nn
Nematoda nn	Familia Acartiidae	Phylum Echinodermata
Phylum Chaetognatha	<i>Acartia tonsa</i>	Clase Ophiuroidea
Clase Sagittoidea	Familia Temoridae	Orden Ophiurida
Orden Apheroglyphora	<i>Eurytemora americana</i>	Ophiurida nn
Familia Sagittidae	<i>Temora turbinata</i> *	Phylum Cordata
<i>Parasagitta</i> (= <i>Sagitta</i>) <i>friderici</i>	Familia Paracalanidae	Subphylum Tunicata
Phylum Arthropoda	<i>Paracalanus parvus</i>	Clase Ascidiacea
Subphylum Chelicerata	Familia Calanidae	Ascidiacea nn
Clase Arachnida	<i>Calanoides carinatus</i>	Subphylum Vertebrata
Orden Acarina	Familia Pontellidae	Superclase Pisces
Acarí nn	<i>Labidocera fluviatilis</i>	Clase Actinopterygii
Subphylum Crustacea	Familia Clausocalanidae	Orden Clupeiformes
Clase Branchiopoda	<i>Clausocalanus</i> sp.	Familia Clupeidae
Subclase Phyllozoa	<i>Ctenocalanus vanus</i>	<i>Brevoortia aurea</i> (huevos)
Orden Diplostraca	Orden Harpacticoida	
Suborden Cladocera	Familia Porcellidiidae	
Cladocera nn	Porcellidiidae nn	
Familia Daphniidae	Familia Ectinosomatidae	
<i>Daphnia</i> sp.	Ectinosomatidae nn	
Familia Bosminidae	Familia Euterpinidae	
<i>Bosmina longirostris</i>	<i>Euterpina acutifrons</i>	
Clase Malacostraca	Familia Tisbidae	
Subclase Eumalacostraca	Tisbidae nn	
Orden Mysida	<i>Tisbe</i> aff. <i>gracilis</i>	
Familia Mysidae	Familia Tegastidae	
<i>Arthromysis magellanica</i>	<i>Tegastes</i> sp.	
	Familia Longipediidae	
	<i>Longipedia</i> sp.	
	Familia Miraciidae	
	<i>Robertsonia</i> sp.	
	<i>Amphiascus</i> sp.	
	<i>Delavalia</i> (= <i>Stenhelia</i>) aff. <i>palustris</i>	
	Familia Nannopodidae	

* Taxón reportado por primera vez para el mesozooplancton del estuario de Bahía Blanca

(Fuente: *World Register of Marine Species*, www. <http://www.marinespecies.org/>)

En la Figura 2.3 se representa la abundancia relativa de las principales especies registradas en los dos sitios y en las dos estaciones climáticas estudiadas. En el verano, *A. tonsa* dominó en ambos sitios de muestreo y su abundancia fue significativamente mayor en BM (92 % de la abundancia total registrada con un máximo de 10.869 ind. m⁻³) en relación a lo hallado en CV durante ese mismo período (55 % con un máximo de 2.649 ind. m⁻³) (Fig. 2.3a y c, Tabla 2.3). La segunda especie en importancia numérica en el verano fue el decápodo *N. granulata* (zoeas), cuya abundancia fue significativamente mayor en CV donde representó el 33 % de la abundancia total registrada con un máximo de 2.309 ind. m⁻³ (Fig. 2.3a, Tabla 2.3).

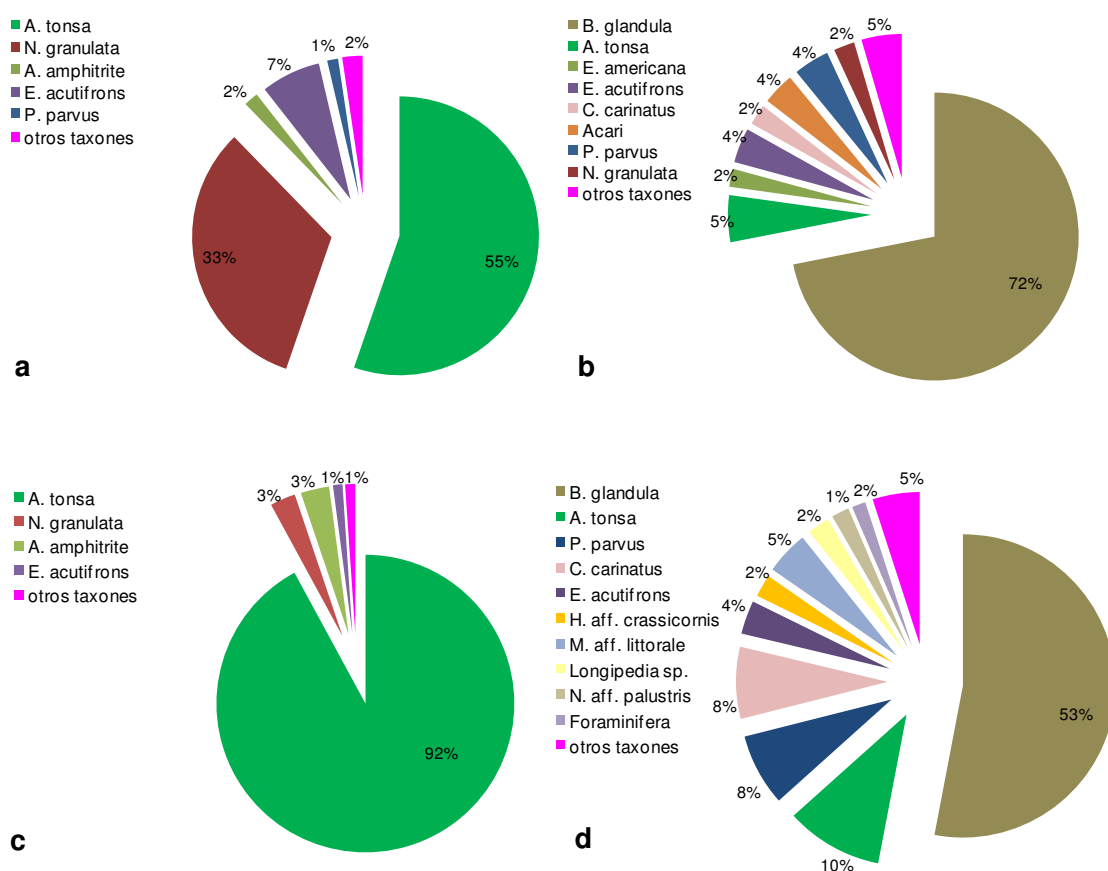


Figura 2.3. Abundancias relativas del mesozooplancton (%). a) Canal Vieja verano, b) Canal Vieja invierno, c) Bahía del Medio verano, d) Bahía del Medio invierno.

Otras especies halladas en ambos sitios durante el verano con abundancias relativas mayores al 1 % fueron el cirripedio *Amphibalanus amphitrite* y el copépodo harpacticoideo *Euterpina acutifrons* (Fig. 2.3a y c, Tabla 2.3). *Amphibalanus amphitrite* fue registrado en mayores abundancias en BM mientras que, en este

período, la abundancia de *E. acutifrons* no fue significativamente diferente entre los sitios. Al igual que en el verano, en el invierno, el patrón de abundancia del mesozooplancton también estuvo regulado por una sola especie dominante (Fig. 2.3b y d). Durante este período, 13 taxones con una abundancia relativa mayor al 1 % fueron registrados en total (Tabla 2.3). El cirripedio *Balanus glandula* dominó en los dos sitios de muestreo, presentando abundancias similares en ambos sitios (Tabla 2.3). La abundancia relativa de este cirripedio fue de 72 % en CV y de 53 % en BM (Fig. 2.3b y d).

Otras especies detectadas en los dos sitios durante el invierno fueron los copépodos *E. acutifrons*, *Paracalanus parvus* y *Calanoides carinatus*, siendo estos dos últimos, significativamente más abundantes en BM que en CV. La abundancia de *E. acutifrons* no fue significativamente diferente entre los sitios durante el invierno. Otros taxones con abundancias relativas mayores al 1 % fueron registrados en el invierno en cada sitio en particular: el copépodo *Eurytemora americana*, el decápodo *N. granulata* y Acari fueron detectados en CV, mientras que Foraminifera y los copépodos *Halicyclops aff. crassicornis*, *Microarthridion aff. littoralis*, *Longipedia sp.*, *Nannopus aff. palustris* fueron observados en BM (Tabla 2.3).

Tabla 2.3. Valores de abundancia (ind. m⁻³) de los principales taxones mesozooplanctónicos registrados durante el verano (panel superior) y el invierno (panel inferior) en los dos sitios de muestreo, Canal Vieja y Bahía del Medio.

Taxón	CV			BM			<i>p</i>
	Media ± DE	Mínimo	Máximo	Media ± DE	Mínimo	Máximo	
<i>A. tonsa</i>	854 ± 785	165	2.649	3.589 ± 4.533	41	10.869	0,031
<i>N. granulata</i>	502 ± 753	11	2.309	108 ± 117	4	340	0,049
<i>A. amphitrite</i>	26 ± 31	0	98	120 ± 150	0	363	0,028
<i>E. acutifrons</i>	107 ± 202	0	695	39 ± 55	0	179	0,312
<i>P. parvus</i>	20 ± 17	0	51	–	–	–	–
<i>B. glandula</i>	80 ± 43	22	146	82 ± 98	11	311	0,231
<i>A. tonsa</i>	6 ± 5	1	16	16 ± 16	3	49	0,172
<i>P. parvus</i>	4 ± 3	2	12	12 ± 7	5	28	0,006
<i>C. carinatus</i>	6 ± 4	1	11	12 ± 6	7	22	0,002
<i>E. acutifrons</i>	4 ± 5	0	15	6 ± 5	1	15	0,200
<i>E. americana</i>	2 ± 3	0	8	–	–	–	–
<i>N. granulata</i>	3 ± 3	0	7	–	–	–	–
<i>H. aff. crassicornis</i>	–	–	–	4 ± 4	0	12	–
<i>M. aff. littorale</i>	–	–	–	7 ± 8	1	25	–
<i>Longipedia</i> sp.	–	–	–	4 ± 5	0	13	–
<i>N. aff. palustris</i>	–	–	–	3 ± 4	0	13	–
Acari	4 ± 3	0	9	–	–	–	–
Foraminifera	–	–	–	2 ± 5	0	14	–

Se detallan las medias ± los desvíos estándares (DE) y los valores mínimos y máximos registrados. Las abundancias fueron comparadas entre los sitios mediante el test de Mann-Whitney. Las comparaciones significativas ($p < 0,05$) se muestran en negrita.

Asimismo, se detectaron diferencias significativas en la abundancia de las especies registradas en cada sitio de muestreo entre las estaciones climáticas estudiadas. Las especies *A. tonsa*, *N. granulata* y *E. acutifrons* presentaron abundancias significativamente mayores en el verano en comparación con el invierno (test de Mann-Whitney $p < 0,05$), mientras que la abundancia de *P. parvus* no fue significativamente diferente entre los períodos abarcados (test de Mann-Whitney $p < 0,05$).

2.3.3. Análisis multivariado: variables ambientales y bióticas

Los dos primeros componentes principales, considerando las variables ambientales y las abundancias de las especies más importantes, explicaron el 61,37 % del total de la variación observada. En el gráfico bidimensional (Fig. 2.4) se visualiza la disposición de las variables y el grado de correlación entre las mismas. En la Tabla 2.4 se detallan los valores de las correlaciones entre las variables analizadas.

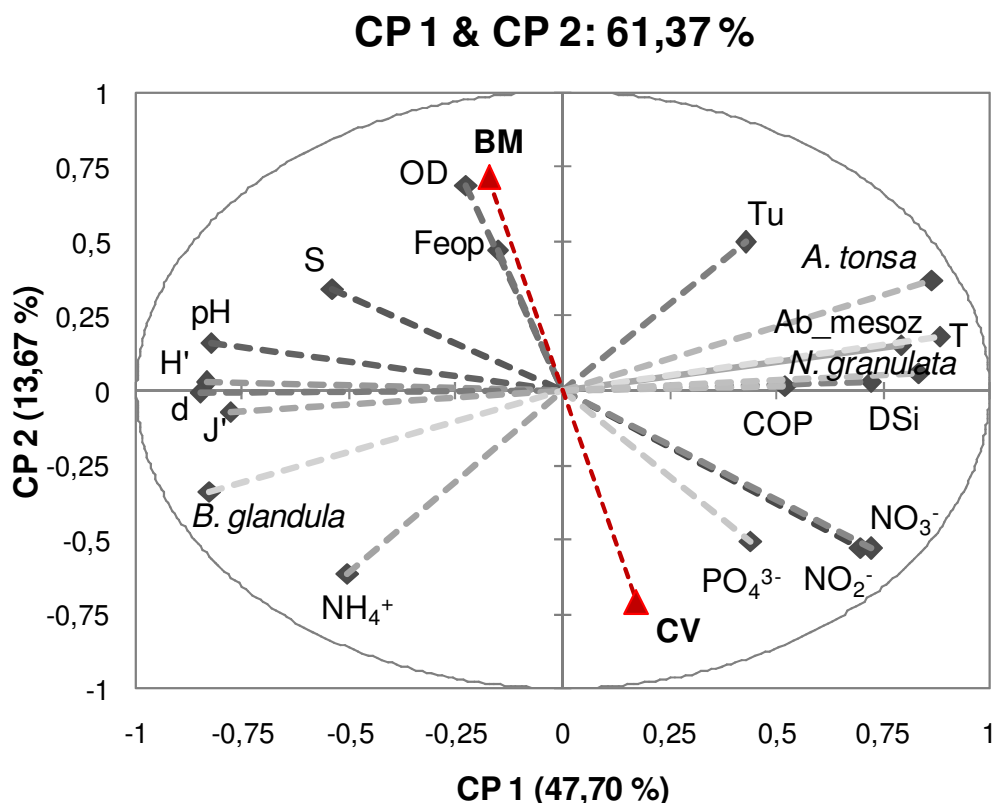


Figura 2.4. Representación bidimensional del ACP en el espacio de los dos primeros componentes principales (CP 1 y CP 2). Entre paréntesis se indica el porcentaje de explicación de la variación total de cada CP.

La abundancia del mesozooplancton y de *A. tonsa*, el índice de Margalef (d), la abundancia de *N. granulata*, el índice de Shannon-Wiener (H'), la abundancia de *B. glandula*, el pH y la temperatura contribuyeron, en ese orden, al mayor porcentaje de contribución al primer eje (CP1: 47,70 %). La abundancia del mesozooplancton correlacionó positivamente con la turbidez, la temperatura, la concentración de nitrito, nitrato, silicato, COP y las abundancias de *N. granulata* y *A. tonsa* (Tabla 2.4); y

negativamente con el pH, la concentración de amonio, la diversidad (H' , d , J') y la abundancia de *B. glandula*. *Acartia tonsa* presentó además de la misma tendencia que el mesozooplancton total, una correlación significativa y negativa con la salinidad (Tabla 2.4). El patrón observado para *N. granulata* fue similar al observado para *A. tonsa*, pero correlacionó positivamente con la concentración de fosfato y no hubo una asociación con la turbidez y la concentración de COP (Tabla 2.4).

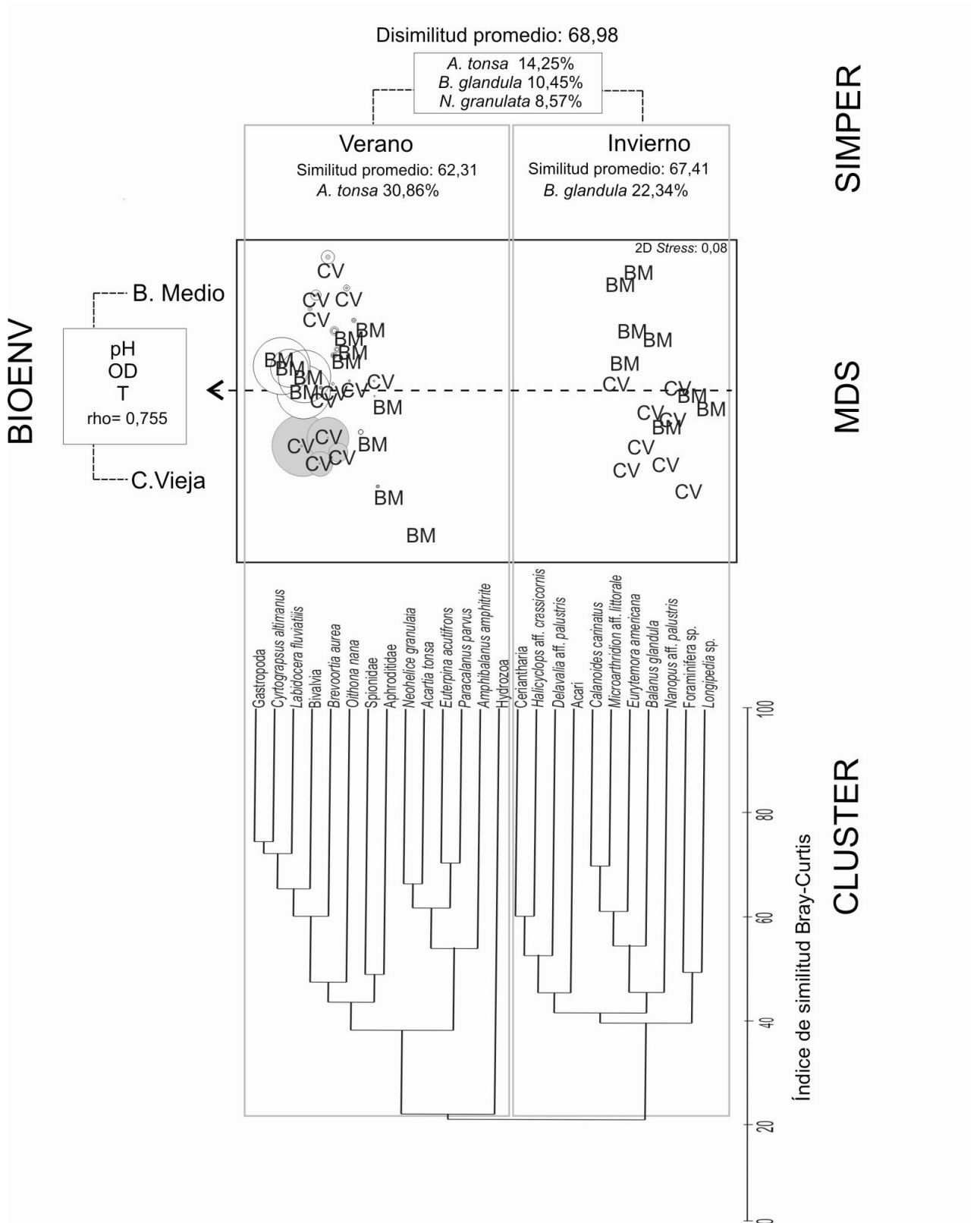
Por otro lado, se detectaron correlaciones positivas entre la abundancia de *B. glandula* y el pH, la salinidad, la concentración de amonio y la diversidad (H' , d , J'); y negativas con la turbidez, la temperatura y las concentraciones de nitrito, nitrato, silicato y COP (Tabla 2.4). La concentración de oxígeno disuelto y el amonio fueron las variables que mejor explicaron la variación absorbida por el segundo eje (CP 2: 13,67 %). Excepto el contenido de silicato, las concentraciones de los demás nutrientes correlacionaron positivamente con CV, ubicado en el cuadrante inferior derecho (Fig. 2.4), mientras que la concentración de oxígeno disuelto y la turbidez correlacionaron en forma inversa con este sitio (Tabla 2.4). La tendencia opuesta presentó BM, localizado en el cuadrante superior izquierdo (Fig. 2.4 y Tabla 2.4).

Tabla 2.4. Matriz de correlación de Spearman del ACP.

Variables	pH	Tu	OD	T	S	NH ₄ ⁺	Feop	NO ₂ ⁻	NO ₃ ⁻	PO ₄ ³⁻	DSi	COP	H'	d	J'	Ab_mesoz	A. tonsa	B. glandula	N. granulata
pH	-0,144																		
Tu	0,169	-0,027																	
OD	-0,795	0,088	0,119																
T	0,511	0,023	0,339	-0,395															
S	0,263	-0,472	-0,281	-0,493	0,092														
NH ₄ ⁺	0,106	0,207	0,333	-0,128	0,068	-0,088													
Feop	-0,663	0,137	-0,458	0,382	-0,381	-0,116	-0,226												
NO ₂ ⁻	-0,642	0,115	-0,451	0,440	-0,393	-0,100	-0,252	0,944											
NO ₃ ⁻	-0,379	0,048	-0,329	0,161	-0,382	0,100	-0,109	0,587	0,626										
PO ₄ ³⁻	-0,433	0,191	-0,120	0,545	-0,341	-0,510	-0,212	0,441	0,490	0,404									
DSi	-0,398	0,147	0,021	0,401	-0,320	-0,320	-0,037	0,444	0,350	0,240	0,351								
COP	0,635	-0,495	0,411	-0,585	0,487	0,317	0,208	-0,490	-0,520	-0,243	-0,537	-0,422							
H'	0,621	-0,506	0,256	-0,570	0,287	0,345	0,151	-0,582	-0,614	-0,393	-0,519	-0,309	0,753						
d	0,554	-0,449	0,335	-0,569	0,498	0,367	0,153	-0,353	-0,408	-0,181	-0,580	-0,442	0,955	0,616					
J'	-0,687	0,513	-0,162	0,674	-0,271	-0,419	-0,093	0,479	0,498	0,239	0,544	0,393	-0,774	-0,838	-0,738				
Ab_mesoz	-0,711	0,592	0,077	0,732	-0,367	-0,572	0,108	0,411	0,431	0,231	0,486	0,432	-0,695	-0,761	-0,673	0,897			
A. tonsa	0,669	-0,433	-0,209	-0,762	0,246	0,680	-0,083	-0,481	-0,519	-0,285	-0,694	-0,411	0,503	0,669	0,475	-0,689	-0,822		
B. glandula	-0,601	0,308	-0,227	0,676	-0,263	-0,424	-0,182	0,473	0,519	0,377	0,762	0,244	-0,616	-0,750	-0,604	0,843	0,711	-0,732	
N. granulata	-0,295	-0,328	-0,576	0,033	-0,227	0,368	-0,295	0,654	0,628	0,472	0,061	0,022	-0,004	-0,230	0,147	0,030	-0,126	0,034	0,208
sitio CV	0,295	0,328	0,576	-0,033	0,227	-0,368	0,295	-0,654	-0,628	-0,472	-0,061	-0,022	0,004	0,230	-0,147	-0,030	0,126	-0,034	-0,208

Los sitios (CV y BM) fueron incluidos como una variable suplementaria. En negrita se muestran las correlaciones significativas ($p < 0.05$).

En cuanto al análisis de *cluster*, dos grupos mesozooplanctónicos correspondientes al verano y al invierno fueron determinados con un nivel de similitud del 22 % (*cluster* Fig. 2.5). *Acartia tonsa* y *B. glandula* fueron las especies que presentaron los mayores porcentajes de contribución al promedio de similitud en el verano y en el invierno, respectivamente (*SIMPER* Fig. 2.5). El porcentaje de disimilitud entre estos grupos fue determinado por *A. tonsa*, *B. glandula* y *N. granulata* (*SIMPER* Fig. 2.5). Los grupos definidos como verano e invierno fueron significativamente diferentes entre sí (*ANOSIM* R global: 0,993 $p < 0,000$) y fueron discriminados visualmente mediante el método *MDS* con un *stress* de 0,08 (Fig. 2.5). *Acartia tonsa* y *N. granulata* contribuyeron a la discriminación de los sitios debido a los diferentes valores de abundancia entre los sitios (*SIMPER* % contrib.: 21,07 y 14,26 respectivamente). La concentración de oxígeno disuelto, el pH y la temperatura fueron las variables que mejor explicaron el patrón espacial observado (*BIOENV* rho: 0,755 Fig. 2.5). Los sitios de muestreo, aunque con un R bajo, difirieron significativamente entre sí al considerarse las variables ambientales estudiadas (*ANOSIM* R global: 0,299 $p < 0,001$ Fig. 2.5).



← **Figura 2.5. Grupos mesozooplanctónicos y variables ambientales asociados a los sitios de muestreo y a las estaciones climáticas estudiadas determinados por los métodos de análisis multivariados.** Los dos grupos mesozooplanctónicos discriminados por el método de *cluster* fueron representados mediante un análisis *MDS* considerando a los sitios como el factor de discriminación. La abundancia de las dos principales especies que diferenciaron los sitios se indicó con círculos superpuestos (*A. tonsa*: círculos blancos, *N. granulata*: círculos grises). Las variables ambientales que mejor explicaron el patrón espacial fueron determinadas por *BIOENV* (distancias euclídeas) utilizando la matriz ambiental (transformada con log) y la de abundancias (transformada con raíz cuarta). Los grupos verano e invierno se muestran al 22 % de similitud (Bray-Curtis), los porcentajes de similitud en cada grupo y de disimilitud entre ellos así como las especies que contribuyeron a su discriminación fueron determinados por *SIMPER*. Se encontraron diferencias significativas entre CV y BM y entre verano e invierno (*ANOSIM* $p < 0,05$).

2.4. Discusión

2.4.1. Variación ambiental entre los sitios

El canal receptor de la descarga cloacal, Canal Vieja, se diferenció del sitio control, Bahía del Medio, por variaciones significativas en el comportamiento de algunas variables fisicoquímicas del agua. Elevadas concentraciones de nutrientes, por sobre los valores naturales (Freije & Marcovecchio 2004), y menores niveles de oxígeno disuelto, en relación con el sitio control, fueron características ambientales de Canal Vieja. Estos resultados coincidieron con estudios locales en los que se asoció la descarga cloacal con incrementos significativos de nutrientes y niveles más bajos de oxígeno en relación al ambiente circundante (Lara *et al.* 1985, Barría de Cao *et al.* 2003, Marcovecchio *et al.* 2004); así como con estudios realizados en ambientes costeros impactados por la descarga de efluentes cloacales (Mateus *et al.* 2008).

Si bien los valores de pH registrados en este estudio estuvieron comprendidos dentro del rango de valores naturales para el estuario (Popovich *et al.* 2008a), fueron sensiblemente más bajos en Canal Vieja, difiriendo estadísticamente de los valores registrados en Bahía del Medio en los dos períodos estudiados. Sin embargo, las variaciones entre los sitios fueron muy pequeñas (del orden de ~0,10 unidades de pH) sin registros de valores por debajo de siete, por lo que, desde el punto de vista químico, no puede hablarse de valores más ácidos de pH en el sitio disturbado, sino solamente de valores menores. No obstante, estas pequeñas variaciones fueron lo suficientemente importantes como para que el pH sea señalado por el análisis *BIOENV* como una de las variables responsables de la diferenciación entre los sitios.

Por otro lado, la temperatura contribuyó a la diferenciación de los sitios en especial en el invierno, indicando posiblemente un impacto localizado considerando una escala temporal corta. La elevada temperatura registrada en Canal Vieja en el invierno, en comparación con la registrada en el mismo período en Bahía del Medio, podría estar directamente asociada con dos procesos actuantes en el canal receptor y sus cercanías: la temperatura del agua del efluente cloacal (Tombesi *et al.* 2000) que contribuye al aumento local de esta variable y el impacto de la descarga de agua sobrecalentada proveniente de la planta termoeléctrica Comandante Piedra Buena (Hoffmeyer *et al.* 2005), ubicada a 1.700 m aguas arriba de Canal Vieja. Aunque estos procesos artificiales de sobrecalentamiento del agua actúan a lo largo de todo el año, no se observó una marcada variación de la temperatura entre los sitios durante el verano, si bien la mayor temperatura del agua fue registrada en Canal Vieja (25,70 °C).

En términos generales, fueron detectados valores altos de turbidez y de concentración de carbono orgánico particulado en relación con otros estuarios (Cloern 1987, Hemminga *et al.* 1993), reflejando la naturaleza turbia y eutrófica de este sistema (Perillo & Piccolo 1991, Freije *et al.* 2008, Popovich & Marcovecchio 2008, Guinder *et al.* 2010). Sin embargo y en contraposición a lo esperado, Canal Vieja no se asoció con incrementos significativos de turbidez y carbono orgánico particulado en comparación con el sitio control. La significativa disminución de la turbidez durante el invierno en Canal Vieja podría responder a cambios locales como los provocados por el aporte continental. Debido a la marcada estacionalidad regional, la contribución de los arroyos disminuye considerablemente en el invierno reduciendo consecuentemente la resuspensión de los sedimentos y la contribución de detrito a la columna de agua con respecto a lo observado en el verano, cuando las lluvias son más frecuentes (Piccolo 2008). Esto se observó específicamente en Canal Vieja que recibe la influencia directa del aporte continental a través del arroyo Napostá Grande localizado en sus inmediaciones, aguas arriba. Este mismo efecto se reflejó en la salinidad, con valores menores durante la época de lluvias y valores mayores en el sitio control, el cual no tiene vinculación con el aporte continental.

Por otro lado, a pesar de que la clorofila es ampliamente reconocida como un indicador de enriquecimiento de nutrientes en los sistemas acuáticos (Valiela 1995, Nixon 1995), la concentración de clorofila *a* no estuvo asociada con el contenido de materia orgánica alóctona y/o con la concentración de nutrientes en este estudio. Este resultado concuerda con lo hallado por Barría de Cao *et al.* (2003) y Marcovecchio *et al.* (2004) que determinaron que el patrón de concentración de clorofila fue equivalente a lo registrado en sitios cercanos a la descarga cloacal. Como ocurre en otros sistemas someros y turbios (Cloern 1987, Kocum *et al.* 2002, Araujo *et al.* 2008, Domingues *et al.* 2011), el fitoplancton no se encuentra limitado por el contenido de nutrientes sino que es la disponibilidad de la luz en la columna de agua el principal factor regulador de la productividad primaria en el estuario de Bahía Blanca (Popovich & Marcovecchio 2008, Guinder *et al.* 2009).

Como se mencionó anteriormente, en comparación con otros estuarios, el estuario de Bahía Blanca es un sistema orgánicamente enriquecido (Freije *et al.* 2008) en el que distintas fuentes autóctonas proporcionan aportes significativos de materia orgánica (Popovich & Marcovecchio 2008, Guinder *et al.* 2009, Negrin *et al.* 2011). El contenido de carbono orgánico particulado mostró un patrón similar al del mesozooplancton, presentando ambos, máximos valores en el verano y reflejando de esta forma, el rol crucial del plancton en el flujo energético de este sistema. En términos de distribución espacial, las concentraciones de los nutrientes nitrogenados y

fosfatados, el contenido de oxígeno disuelto y el pH fueron las variables que mostraron la mayor asociación con el efecto de la descarga cloacal. Asimismo, la concentración de feopigmentos, productos de degradación de la clorofila e indicadores de la actividad de pastoreo del zooplancton (Lorenzen 1967, Helling & Baars 1985, Head & Harris 1992), fue más baja en Canal Vieja, señalando así otra variación detectada entre los sitios estudiados y otro posible efecto de la descarga cloacal.

2.4.2. Variaciones detectadas en el mesozooplancton

Los resultados obtenidos en el presente estudio son consistentes con los hallados en investigaciones previas en las que se reporta la tolerancia efectiva del mesozooplancton del estuario de Bahía Blanca a diferentes tipos de estrés ambiental (Fernández Severini *et al.* 2009, 2010, Biancalana *et al.* 2012). No obstante esto y a pesar de que la influencia climática fue claramente la principal fuerza reguladora de los patrones mesozooplanctónicos observados, algunas variaciones posiblemente asociadas con el impacto de la descarga cloacal fueron registradas.

Si bien la abundancia del mesozooplancton no presentó diferencias estadísticas entre los sitios, fue más elevada en el sitio control exhibiendo un máximo significativo en el verano. *Acartia tonsa*, la principal especie del mesozooplancton del estuario (Hoffmeyer 1994, 2004), presentó el máximo de abundancia en el sitio control. Se conoce que las tasas de crecimiento del zooplancton responden positivamente al enriquecimiento en nutrientes (*e.g.* Gismervik *et al.* 2002). Sin embargo, el desarrollo de *A. tonsa* fue significativamente menor en Canal Vieja. Este resultado podría indicar la contribución por parte de la cloaca de componentes no favorables para la reproducción y el desarrollo de la especie. Ciertamente, estudios previos identificaron a la descarga cloacal de la ciudad de Bahía Blanca como una de las fuentes más relevantes de ingreso de metales pesados al sistema (Marcovecchio *et al.* 2008, 2010). Aunque *A. tonsa* tolera niveles elevados de metales pesados en este sistema (Fernández Severini *et al.* 2009, 2013), estos contaminantes influyen negativamente en la reproducción de ciertos copépodos, entre los que se incluye el género *Acartia*, y subsecuentemente en la viabilidad de sus huevos (Jiang *et al.* 2007, Mohammed *et al.* 2010).

Asimismo, los cambios relacionados con el efecto de la descarga cloacal sobre la calidad del alimento (Pinckney *et al.* 2001) podría estar restringiendo el desarrollo de las especies típicas en Canal Vieja. La diversidad y la disponibilidad del alimento

afectan el éxito reproductivo de los copépodos del género *Acartia* (Keppel & Hazzard 2000, Calliari & Tiselius 2005), por lo que la presencia de grupos planctónicos de talla pequeña en Canal Vieja (Barría de Cao *et al.* 2003) como fuente de alimento para el mesozooplancton podría ser uno de los factores asociados al efecto de la descarga cloacal que limitaría el desarrollo de *A. tonsa* en ese lugar.

Por otro lado, la contribución continua de materia orgánica alóctona podría estimular el desarrollo de poblaciones de organismos detritívoros como el cangrejo *N. granulata*, cuyas larvas fueron encontradas en mayor abundancia en el canal receptor de la descarga cloacal, tanto en el verano como en el invierno. Esto podría indicar que ciertas condiciones ambientales de este sitio serían favorables para la especie. La existencia de planicies de marea asociadas a Canal Vieja beneficiarían el asentamiento de *N. granulata*. En ecosistemas templados, las poblaciones de *N. granulata* presentan un mejor desarrollo en las planicies de marea que en ambientes de marismas (Silva *et al.* 2009), típicos de Bahía del Medio. Por otro lado, y debido a su reconocida resistencia a los contaminantes, *N. granulata* ha sido señalado como un biomonitor útil en este ambiente estuarino (Ferrer *et al.* 2006, Simonetti *et al.* 2011). Sería interesante realizar estudios experimentales que evalúen la supervivencia y el desarrollo de los estadios larvales de esta especie en relación con la contribución de los desechos provenientes de la descarga cloacal con el fin de analizar el nivel de adaptabilidad y la confirmación de su utilidad como especie indicadora de aporte orgánico alóctono.

Como ya se ha mencionado, la pronunciada estacionalidad climática de la región ha sido señalada como el factor principal de la variación ambiental observada. En este sentido, la variación climática dentro de escalas temporales cortas posee un rol relevante en la modulación de la dinámica planctónica en este sistema (Hoffmeyer *et al.* 2009, Berasategui *et al.* 2009). Debido a que el estuario de Bahía Blanca está siendo sometido al aporte continuo de desechos cloacales de la región, se necesitan programas de monitoreo ambiental y biológico a largo plazo para determinar la resistencia del sistema a este impacto antrópico y detectar señales tempranas de disturbio. Asimismo, son necesarias investigaciones que amplíen el espectro planctónico y evalúen las respuestas fisiológicas del zooplancton a contaminantes derivados de la cloaca mediante bioensayos y experimentación *in situ*.

2.5. Conclusiones

Los sitios estudiados presentaron características ambientales diferenciales entre sí. Canal Vieja, el canal receptor de la principal descarga cloacal de la ciudad de Bahía Blanca, se caracterizó por un alto contenido de nutrientes nitrogenados y fosfatados disueltos, por sobre los valores de enriquecimiento natural del estuario, así como por valores menores de oxígeno disuelto y de pH con respecto al sitio control, Bahía del Medio, durante los dos períodos climáticos abarcados (verano e invierno). Estas variables ambientales fueron los principales indicadores de la influencia de la descarga cloacal durante este estudio. Las concentraciones de clorofila *a*, carbono orgánico particulado y silicato mostraron una fuerte variación entre los períodos estudiados, no así entre los sitios, denotando una asociación neutral o una independencia de los efectos de la descarga cloacal en este ambiente naturalmente eutrófico. El efecto de otras fuentes puntuales de variación diferentes a la influencia cloacal, tanto naturales como antrópicas (*e.g.* contribución fluvial, liberación de agua sobrecalentada del sector industrial) parecieron provocar cambios locales en la turbidez, la salinidad y la temperatura en ambas estaciones climáticas estudiadas.

El mesozooplancton estuvo principalmente representado en ambos sitios por el copépodo *A. tonsa*, durante el verano y las larvas *nauplii* del cirripedio *B. glandula* en el invierno, coincidiendo en términos generales con el patrón mesozooplanctónico típico del estuario y mostrando una clara regulación climática por sobre la influencia de la variación espacial. Sin embargo, la dominancia estival típica de *A. tonsa* se observó en el sitio control. El decápodo *N. granulata* (zoeas) presentó abundancias importantes en el sitio impactado indicando que esta especie detritívora podría verse favorecida por la contribución del efluente cloacal así como por la geomorfología de este sitio (*e.g.* presencia de planicies de marea).

Para detectar señales de cambios en las condiciones naturales del estuario, son necesarios estudios de monitoreo prolongados y sostenidos en el tiempo que incluyan en la evaluación ambiental y biológica, a este sitio receptor de una de las principales descargas cloacales sin tratamiento previo de la ciudad de Bahía Blanca.

Capítulo 3

Comportamiento trófico del mesozooplancton

3.1. Hipótesis y objetivos

En el presente capítulo se propone analizar el consumo del mesozooplancton en los dos sitios y períodos ya detallados (Cap. 1 y 2). El comportamiento trófico del mesozooplancton se evaluó en relación con condiciones ambientales diferentes según el tipo y contribución de la materia orgánica disponible y la estacionalidad abarcada. En función de los conocimientos previos y de los antecedentes disponibles en este tema, se propuso testear las siguientes hipótesis de trabajo:

Las condiciones ambientales generadas por la contribución permanente de la cloaca producen una variación significativa en la alimentación del mesozooplancton, tanto en el verano como en el invierno, debido al desarrollo de presas diferentes en ese sitio en comparación con el sitio control.

*Como consecuencia de la variación estacional en la estructura de la comunidad planctónica, el comportamiento trófico del mesozooplancton es cuantificablemente diferente entre el verano (comunidad dominada por *A. tonsa*) y el invierno (comunidad dominada por *E. americana*).*

El detrito representa una fuente alternativa de alimento para el mesozooplancton del estuario y su disponibilidad es alta en los dos períodos y sitios.

La incorporación de detrito a la dieta del mesozooplancton es menor en el canal receptor de la descarga cloacal debido presumiblemente a la baja calidad del mismo para los organismos mesozooplanctónicos.

Para testear las hipótesis planteadas, se propusieron los siguientes objetivos:

(i) Estimar y analizar las tasas de alimentación y el comportamiento de selección del mesozooplancton sobre los ítems tróficos disponibles en el ambiente natural (fitoplancton, microzooplancton y detrito) en el canal receptor de la descarga cloacal y en el sitio control, en los dos períodos climáticos considerados.

(ii) Evaluar comparativamente entre los sitios y entre los períodos considerados el comportamiento trófico del mesozooplancton sobre el alimento natural.

3. 2. Materiales y Métodos

3.2.1. Diseño de muestreo

Con el propósito de testear las hipótesis planteadas, se realizaron 13 campañas de campo en ambos sitios de muestreo del estuario de Bahía Blanca (Cap.1 subsección 1.2.1.1), durante horas diurnas, en los meses fríos y cálidos desde julio de 2008 a agosto de 2009. Las campañas se realizaron en las siguientes fechas: julio 2008 (CV: 15-16, BM: 22-23/07/08), diciembre 2008 (CV: 11-12, BM: 15-16/12/08), febrero 2009 (CV: 16-17, BM: 20-21 y 26-27/02/09), marzo 2009 (BM: 5-6, CV: 9-10/03/09), julio 2009 (CV: 27-28, BM: 29-30/07/09) y agosto 2009 (CV: 10-11, BM: 13-14/08/09) utilizando las embarcaciones institucionales IADO III “Buen día Señor” e IADO IV. En cada sitio de muestreo, se registraron las variables ambientales (pH, oxígeno disuelto -OD, salinidad -S, temperatura -T y turbidez -Tu) con un sensor multiparámetro HORIBA®, tanto al inicio como al final de la experimentación (Lám. III).

Los organismos mesozooplancónicos destinados a los experimentos de incubación *in situ*, se colectaron mediante arrastres horizontales según la metodología detallada en la subsección 2.2.1.1 del Capítulo 2.

3.2.2. Trabajos de campo

3.2.2.1. Método de remoción de partículas

Para estimar las tasas de alimentación de los organismos mesozooplancónicos, se aplicó el método de remoción de partículas con incubación *in situ* por 24 h (Båmstedt *et al.* 2000). Este método consiste en la incubación de organismos consumidores en botellas con alimento por un tiempo determinado, midiendo la disminución de la concentración del alimento en relación con la existente en las botellas controles (sin organismos consumidores) y obteniendo, de esta forma, una tasa de alimentación o tasa de filtración de los organismos incubados (Båmstedt *et al.* 2000).

Esta técnica presenta limitaciones metodológicas potenciales que incluyen el estrés de captura, la manipulación y el confinamiento de los organismos planctónicos, el apiñamiento de los consumidores y la falta de contemplación de las relaciones alimentarias entre los niveles tróficos inferiores, entre otros factores, conocidos como “efectos botella” (Roman & Rublee 1980, Nejstgaard *et al.* 1997, 2001). Sin embargo,

actualmente es el único método que permite la cuantificación directa y simultánea de las tasas de alimentación sobre grupos planctónicos autótrofos y no autótrofos (heterótrofos y mixótrofos). Presenta también la ventaja de que mantiene a los organismos en las condiciones idénticas a las de su ambiente natural ya que son incubados en el mismo medio del que se extraen y alimentados con el seston natural. Por las características mencionadas, es el método más simple y más utilizado en ecología trófica planctónica que permite la cuantificación de la omnivoría (Båmstedt *et al.* 2000).

La técnica consiste en tres tratamientos: Inicial, Control y Experimental.

Inicial: Representa la condición ambiental del medio de incubación en la etapa inicial de la experimentación (t_0). A partir de estas botellas, se obtiene la condición experimental inicial (concentración de pigmentos, nutrientes y materia orgánica) y la concentración inicial del alimento natural (fitoplancton, microzooplancton y detrito). Las botellas Iniciales no contienen organismos mesozooplanctónicos y no son sometidas al período de incubación.

Control: Representa la condición ambiental del medio de incubación en la etapa final de la experimentación (t_{24}). De estas botellas, se obtiene la condición experimental final y la concentración final del alimento que permite calcular, teniendo en cuenta las concentraciones en las botellas Iniciales, el crecimiento del alimento sin la presión de predación. Las botellas Controles no contienen consumidores mesozooplanctónicos y son incubados en el medio natural por 24 h junto con las botellas del siguiente tratamiento.

Experimental: Estas botellas contienen a los organismos consumidores (mesozooplancton) y permiten calcular, junto con lo obtenido a partir de los demás tratamientos, las tasas de alimentación de los organismos mesozooplanctónicos incubados en el medio por 24 h.

Las tasas de alimentación del mesozooplancton se determinan mediante la comparación de los valores de abundancia y biomasa de cada tipo de alimento, entre las botellas Iniciales y Experimentales, teniendo en cuenta el crecimiento del alimento estimado mediante las botellas Controles.

3.2.2.2. Aplicación del método de remoción de partículas

Siguiendo la metodología empleada por Diodato & Hoffmeyer (2008) se extrajeron, mediante un bidón plástico, 40 litros de agua subsuperficial para ser utilizados como alimento natural y medio de incubación (indicado como AN). El agua fue homogeneizada cuidadosamente con un cucharón plástico y utilizada para llenar todas las botellas por filtración reversa a través de una malla de 135 μm y sifoneo por gravedad, con el propósito de evitar adicionar organismos mesozooplanctónicos a las botellas tratadas (Lám. III). Todas las botellas fueron llenadas hasta su máxima capacidad, cerradas y selladas con cinta Parafilm® para evitar la formación de burbujas que pudieran causar turbulencia y afectar negativamente a los organismos microzooplanctónicos delicados como los ciliados desnudos y los flagelados (Båmstedt *et al.* 2000).

Para la realización de esta técnica, se utilizaron 12 botellas de plástico transparente de 3 litros de capacidad con tapa a rosca. Cada tratamiento constó de cuatro réplicas constituyendo cuatro series:

- a) Inicial 1 (I1), Control 1 (C1), Experimental 1 (E1)
- b) Inicial 2 (I2), Control 2 (C2), Experimental 2 (E2)
- c) Inicial 3 (I3), Control 3 (C3), Experimental 3 (E3)
- d) Inicial 4 (I4), Control 4 (C4), Experimental 4 (E4)

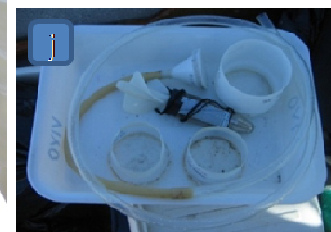
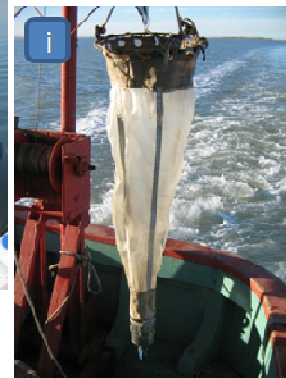
Luego de la puesta a punto del método, se estableció la siguiente secuencia de trabajo (Lám. III) que fue cumplimentada en cada campaña realizada:

- 1- Se realizaron cuatro arrastres de mesozooplancton (uno por cada botella Experimental) de acuerdo con la metodología detallada en el Capítulo 2, subsección 2.2.1.1.
- 2- Para retener el mesozooplancton, se filtró cada arrastre por una serie de tamices de 1,7 mm y 135 μm de poro, descartándose lo retenido por la malla de 1,7 mm y manteniéndose el resto.
- 3- Se transfirió el mesozooplancton retenido a una bandeja con agua previamente filtrada por malla de 135 μm , utilizando para ello una piseta con agua filtrada (< 135 μm).
- 4- El agua de la bandeja, conteniendo el mesozooplancton, se depositó suavemente en una botella Experimental previamente llenada con medio de incubación (AN) hasta un $\frac{1}{4}$ de su capacidad para amortiguar el pasaje de los

organismos. Se repitió esta operación con las tres botellas Experimentales restantes.

- 5- Se completó el volumen total de cada botella Experimental con medio de incubación (AN).
- 6- Se llenaron las demás botellas de la serie (Inicial y Control) con medio de incubación (AN) hasta su capacidad máxima.
- 7- Las botellas Iniciales (I1, I2, I3, I4) fueron transportadas en conservadoras y al resguardo de luz al laboratorio para su procesamiento inmediato, mientras que las botellas Controles (C1, C2, C3, C4) y Experimentales (E1, E2, E3, E4) fueron cerradas y selladas para sumergirlas subsuperficialmente en el sitio de muestreo dentro de una bolsa de red fondeada con boyas para permitir su visualización y recolección transcurridas las 24 h.

→ **Lámina III. Fotografías de los trabajos realizados y de los elementos utilizados durante las campañas de muestreo.** a) registro de las variables ambientales, b) arrastre de mesozooplancton, c) separación y retención del mesozooplancton, d) pasaje del mesozooplancton a la bandeja de contención, e) llenado de las botellas con medio de incubación, f) disposición de las botellas en la red de incubación (con botellas de otro experimento incubadas en simultáneo), g) incubación *in situ*, h) ancla para el fondeo de las muestras, i) red de mesozooplancton, j) elementos utilizados en el método de remoción de partículas (Fuentes: EO Redondo, MC López Abbate y MS Dutto).



3.2.3. Trabajos de laboratorio

Para el recuento del alimento natural (fitoplancton y microzooplancton), se extrajeron 250 ml de agua de cada una de las botellas, conservándolos con solución de Lugol ácida (al 2 %) y al resguardo de la luz hasta su posterior análisis. Asimismo, se extrajeron 250 ml para la determinación de las concentraciones de COP, clorofila *a* (Cl *a*) y feopigmentos (Feop) y 100 ml para la determinación de nutrientes inorgánicos disueltos [nitrito (NO_2^-), nitrato (NO_3^-), amonio (NH_4^+), fosfato (PO_4^{3-}) y silicato (DSi)]. Estas determinaciones fueron realizadas por el personal técnico del Laboratorio de Química Marina del IADO siguiendo el protocolo metodológico detallado en la subsección 2.2.1.2 del Capítulo 2.

Las botellas Iniciales fueron muestreadas de inmediato (t_0) mientras que las restantes (Controles y Experimentales) fueron muestreadas luego del período de incubación (t_{24}). El mesozooplancton incubado fue extraído de cada botella Experimental mediante el pasaje del agua incubada por un filtro de 135 μm de poro y se lo resuspendió en 100 ml de agua de mar filtrada (0,7 μm) para la inmediata cuantificación de la supervivencia. Luego, se procedió a la fijación de la muestra con formaldehído a una concentración final de 4 % (Boltovskoy 1999) para el posterior análisis cualitativo y cuantitativo.

3.2.3.1. Análisis de las muestras de plancton

Mesozooplancton

Se observó el mesozooplancton extraído de cada botella Experimental bajo una lupa estereoscópica *Wild M5* con el objeto de identificar y cuantificar los organismos muertos que fueron luego restados de la cantidad total de individuos registrados. De esta forma, se determinó la cantidad de organismos posibilitados de alimentarse durante todo el período de incubación, a los que se los denominó “consumidores”.

El análisis cualitativo y cuantitativo de las muestras preservadas fue realizado siguiendo la metodología detallada en la subsección 2.2.1.1 del Capítulo 2.

Siguiendo el criterio empleado por Diodato & Hoffmeyer (2008), la biomasa de los consumidores fue estimada multiplicando la cantidad de consumidores hallados en cada experimento por la masa corporal de la especie dominante (> 50 % de la

abundancia total). De esta forma, para la mayoría de los experimentos realizados en los meses de verano, se utilizó la masa corporal individual de *A. tonsa* estimada en 3,255 $\mu\text{g C}$. Este valor fue obtenido a través de la ecuación morfométrica específica para la especie (Muxagata *et al.* 2012) considerando una longitud promedio del prosoma de 825 μm (Hoffmeyer & Torres 2001) y una proporción de carbono del peso seco de 44,21 % (Ara 2001). En el experimento realizado en el mes de diciembre en CV, en el que zoeas I del decápodo *N. granulata* fueron los consumidores dominantes, se utilizó un valor de biomasa individual de 3,594 $\mu\text{g C}$ obtenido de datos de Bas *et al.* (2007). En el mes de febrero en CV, en el que dominó *E. acutifrons*, se utilizó un valor de biomasa individual de 0,456 $\mu\text{g C}$ (Muxagata 2005) empleando un factor de conversión a carbono de 46,04 % (Ara 2001). Para los experimentos realizados en los meses de invierno, en los que dominaron las larvas *nauplii* de *B. glandula*, se utilizó un valor estimado de biomasa individual de 1,720 $\mu\text{g C}$ obtenido mediante la ecuación morfométrica calculada para *B. crenatus* (Muxagata 2005) considerando una longitud corporal promedio de 748,5 μm (MS Hoffmeyer datos no publicados) y un factor de conversión a carbono de 42,03 % (Muxagata *et al.* 2004). En el mes de julio, en BM, donde los consumidores dominantes fueron copépodos, se utilizó el valor de biomasa de *A. tonsa* antes mencionado.

Fitoplancton y Microzooplancton

Para el análisis cualitativo y cuantitativo del fitoplancton y del microzooplancton, se sedimentaron submuestras en una cámara combinada con cilindro durante 24 horas. El volumen de muestra sedimentado para el recuento de fitoplancton dependió de la cantidad de sedimento presente en cada una de las muestras, variando entre 10 y 50 ml; mientras que para el microzooplancton, el volumen sedimentado fue de 50 ml. Los recuentos se realizaron bajo microscopio invertido siguiendo el método de Utermöhl, de acuerdo con Hasle (1978). Se cuantificaron, midieron e identificaron todas las especies encontradas en 1 cm^2 de la cámara de sedimentación (campo acotado) a 10x y en dos transectas a 40x dentro de esta superficie en el caso del fitoplancton y de toda la cámara a 10x y 20x, en el caso del microzooplancton. La abundancia fue expresada en cél. l^{-1} e ind. l^{-1} , respectivamente. La medición de los ejemplares lorizados (tintínidos) se realizó utilizando un ocular micrométrico calibrado *Wild* 10x adicionado al microscopio invertido; mientras que los ciliados alorizados o desnudos fueron medidos utilizando un microscopio invertido Nikon *Eclipse* TE 300 y una cámara digital Nikon *Sight* DS-U2.

La identificación se realizó hasta el menor nivel taxonómico posible utilizando para ello bibliografía general, regional y específica del estuario de Bahía Blanca, entre las que se mencionan para el fitoplancton: Hallegraeff *et al.* (1995), Gayoso (1981, 1988, 1989), Tomas (1997), Guinder (2011) y para el microzooplancton: Berzins (1960a y b), Balech (1964, 1971, 1988), Balech & Souto (1980, 1981), Barría de Cao (1981, 1986, 1992), Barría (2002), Barría de Cao *et al.* (1997, 2005, 2011), Barría de Cao & Piccolo (2008), Lynn *et al.* (1991), Montagnes & Lynn (1991), Rougier *et al.* (2000), Pettigrosso (2001, 2003), Pettigrosso *et al.* (1997), Kogan (2005).

La biomasa de las especies fitoplanctónicas ($\mu\text{g C cé. l}^{-1}$) y microzooplanctónicas ($\mu\text{g C ind. l}^{-1}$) se estimó aplicando el método morfométrico que se basa en el cálculo del volumen celular individual o biovolumen (μm^3) mediante la aproximación de cada especie a una forma geométrica o combinación de formas geométricas simples (Hillebrand *et al.* 1999, Leakey *et al.* 1992, Gilron & Lynn 1989). Los volúmenes celulares se expresaron en contenido de carbono aplicando fórmulas determinadas para grupos o especies. Para las especies de fitoplancton se aplicaron las fórmulas propuestas por Edler (1979) y Menden-Deuer & Lessard (2000), mientras que para el microzooplancton, se aplicaron distintas fórmulas según el grupo taxonómico, a saber: dinoflagelados: Menden-Deuer & Lessard (2000), ciliados aloricados y foraminíferos: Putt & Stoecker (1989), tintínidos: Verity & Langdon (1984), rotíferos: Heinbokel *et al.* (1988), larvas *nauplii* de crustáceos, larvas de bivalvos, larvas de gastrópodos y larvas de poliquetos: Beers & Stewart (1970).

3.2.3.2. Determinación de los alimentos

El análisis de las muestras permitió la determinación de los tres tipos de alimentos naturales considerados: detrito, fitoplancton y microzooplancton. Siguiendo el criterio de Diodato & Hoffmeyer (2008), el contenido de detrito en las botellas de cada tratamiento se obtuvo a través de la diferencia entre la concentración de COP, químicamente determinado, y las biomásas fitoplanctónicas y microzooplanctónicas estimadas con el método morfométrico para cada una de las botellas. La biomasa fitoplanctónica en el medio de incubación se expresó tanto en términos de concentración de clorofila *a* (señalado como FCl_a) como de biovolumen celular en términos de carbono estimado por el método morfométrico (FC). El microzooplancton se expresó en términos de biomasa (biovolumen) como se detalló arriba. La concentración de cada uno de estos alimentos fue empleada en el cálculo de las tasas de alimentación que a continuación se puntualizan.

3.2.4. Análisis de los datos

3.2.4.1. Cálculo de las tasas de alimentación

Como ya se mencionó, una de las limitaciones del método de remoción de partículas es la subestimación del consumo del mesozooplancton sobre el fitoplancton, debido a que no se contempla la presión de pastoreo que ejerce el microzooplancton sobre los componentes autótrofos (Nejstgaard *et al.* 1997, 2001). Con el objetivo de disminuir este sesgo, se corrigió el contenido de fitoplancton utilizando los valores de pastoreo del microzooplancton calculados para las mismas fechas y los mismos sitios de muestreo (MC López Abbate datos no publicados). Así, se sumó al contenido de clorofila *a* y de biomasa fitoplanctónica en términos de carbono de las botellas Control (t_{24}), el valor correspondiente al porcentaje de pastoreo sobre la concentración inicial (t_0) de este ítem trófico expresado de estas mismas dos formas. Luego, siguiendo el criterio de Calbet *et al.* (2009), en los casos en que en las botellas Experimentales se detectó una concentración del alimento significativamente menor a la del Control (Tabla 3.1, test *t* de dos muestras independientes), se calcularon las tasas de alimentación para cada alimento considerado (fitoplancton –FCla y FC-, microzooplancton y detrito) de acuerdo con Frost (1972). El nivel de significación utilizado abarcó valores significativos ($p < 0,05$) y valores levemente o marginalmente significativos ($0,05 \leq p < 0,10$) con el fin de incorporar al análisis aquellos casos en que la disminución del alimento fue evidente pero estadísticamente no detectada. En los casos en que esta diferencia no fue detectada ($p > 0,10$) o la concentración del alimento en las botellas Experimentales fue mayor que en las botellas Controles, se asumió que el consumo del mesozooplancton fue cero.

A continuación se detallan las tasas de alimentación diarias (d^{-1}) calculadas:

- Coeficiente de consumo (*grazing*, en inglés): $g (d^{-1}) = K + [(\ln C_i - \ln C_f) / (\Delta t)]$

donde: C_i y C_f = concentración inicial y final de las presas en las botellas Experimentales ($\mu g C ml^{-1}$), Δt = tiempo de incubación (h), K : tasa de crecimiento del alimento (algal u otro) determinada como $K = [(\ln C_2 - \ln C_1) / (\Delta t)]$ siendo C_2 y C_1 las concentraciones iniciales y finales de las presas en las botellas Controles (sin consumidores).

$$C_f = C_i e^{(k-g)(\Delta t)}$$

$$C_f/C_i = e^{(K-g)(\Delta t)}$$

$$\ln(C_f/C_i) = \ln(e^{(K-g)(\Delta t)})$$

$$\ln C_f - \ln C_i = (K-g)(\Delta t) \ln e$$

$$\ln C_f - \ln C_i / (\Delta t) = K-g$$

$$[(\ln C_f - \ln C_i) / (\Delta t)] - K = -g$$

$$-g(-1) = (-1) [(\ln C_f - \ln C_i) / (\Delta t)] - K$$

$$g = [(-\ln C_f + \ln C_i) / (\Delta t)] + K \quad \Rightarrow \quad \mathbf{g = (\ln C_i - \ln C_f) / (\Delta t) + K}$$

$$C_2 = C_1 e^{K(\Delta t)}$$

$$C_2/C_1 = e^{K(\Delta t)}$$

$$\ln C_2/C_1 = K(\Delta t) \ln e$$

$$\ln C_2 - \ln C_1 = K(\Delta t) \quad \Rightarrow \quad \mathbf{K = (\ln C_2 - \ln C_1) / (\Delta t)}$$

- Tasa de filtración: $F_i \text{ (ml ind.}^{-1} \text{ d}^{-1}) = (V \times g) / n$

donde: V = volumen del frasco de incubación (ml), n: número de consumidores en la botella Experimental

- Tasa de ingestión: $I \text{ (}\mu\text{g C ind.}^{-1} \text{ d}^{-1}) = F_i \times \hat{C}$

donde: \hat{C} = concentración media de presas en el período de incubación ($\mu\text{g C ml}^{-1}$) determinado como $\hat{C} = (C_f + C_i) / 2$

- Tasa de ingestión específica de carbono:

IEC ($\mu\text{g C } \mu\text{g C corporal}^{-1} \text{ d}^{-1}$) = I / biomasa de consumidores mesozooplanctónicos incubados ($\mu\text{g C}$)

- Tasa de predación o de ingestión por metro cúbico:

P ($\mu\text{g C m}^{-3} \text{ d}^{-1}$) = I / volumen filtrado por la red (m^{-3})

- Presión de predación PP (%) = P / [alimento inicial] ($\mu\text{g C m}^{-3}$)

→ **Tabla 3.1. Concentración media \pm desvío estándar de cada alimento en los tres tratamientos (Inicial, Control y Experimental).** Las biomásas de las botellas Controles y Experimentales fueron comparadas con el test t de dos muestras independientes para detectar consumo. F: fitoplancton estimado mediante la clorofila a (Cl a , $\mu\text{g l}^{-1}$) y la biomasa en términos de carbono por el método morfométrico (C, $\mu\text{g C l}^{-1}$), M: microzooplancton ($\mu\text{g C l}^{-1}$), D: detrito ($\mu\text{g C l}^{-1}$). Las tasas de alimentación fueron calculadas en aquellas botellas Experimentales que mostraron un crecimiento de la presa significativamente menor a la del Control (p levemente significativo: $0,05 \leq p < 0,10$; p significativo* $< 0,05$; p altamente significativo** $< 0,01$). $n = 4$ para cada tipo de alimento en todas las fechas.

Fecha	Sitio	Alimento	Biomasa Inicial	Biomasa Control	Biomasa Experimental	T	p	Significación	
dic-08	CV	F	8,13 ± 2,00	24,50 ± 3,71	3,44 ± 2,00	9,9936	0,000029	**	
		C	14,74 ± 5,46	21,14 ± 6,00	5,24 ± 0,95	5,238	0,005980	**	
		M	5,01 ± 0,64	6,56 ± 1,71	0,75 ± 0,59	6,4156	0,000338	**	
	BM	D	3,906,59 ± 1,886,06	4,531,03 ± 1,368,34	3,464,54 ± 1,167,00	1,186	0,140220	ns	
		F	11,74 ± 2,37	25,91 ± 3,41	6,76 ± 2,64	8,2011	0,000089	**	
		C	18,63 ± 9,43	46,27 ± 15,78	28,32 ± 9,41	1,9538	0,049268	*	
	feb-09	CV	M	32,16 ± 10,00	46,31 ± 9,78	19,45 ± 8,71	4,1001	0,003269	**
			D	3,548,35 ± 1,123,87	3,726,98 ± 1,371,68	2,900,90 ± 476,46	1,1378	0,149296	ns
		BM	F	8,86 ± 3,41	28,23 ± 5,11	7,27 ± 2,64	7,2837	0,000171	**
			C	18,37 ± 4,56	19,75 ± 3,67	22,51 ± 8,48	-0,5967	0,713748	ns
mar-09	CV	M	2,86 ± 2,45	2,89 ± 2,10	0,26 ± 0,31	2,4796	0,023915	*	
		D	3,687,62 ± 827,43	3,711,92 ± 515,00	3,336,54 ± 394,79	1,1569	0,145635	ns	
		F	5,47 ± 2,18	5,61 ± 1,62	2,17 ± 0,78	3,8316	0,008005	**	
	BM	C	10,46 ± 1,83	17,07 ± 4,87	12,10 ± 3,07	1,726	0,067554	/s	
		M	4,67 ± 3,47	3,86 ± 1,22	2,15 ± 1,98	1,4694	0,096055	/s	
		D	4,221,18 ± 335,75	5,559,70 ± 1,916,43	6,060,50 ± 1,333,67	-0,429	0,658544	ns	
	jul-09	CV	F	3,87 ± 1,79	7,76 ± 3,26	4,17 ± 2,51	1,745	0,065799	/s
			C	7,71 ± 2,28	9,25 ± 4,90	3,80 ± 2,38	2,0001	0,046209	*
		BM	M	5,50 ± 2,61	9,06 ± 4,42	3,10 ± 1,27	2,5968	0,020418	*
			D	4,830,24 ± 724,94	3,889,13 ± 465,05	4,223,58 ± 1,105,05	-0,5579	0,701454	ns
ago-09	CV	F	11,46 ± 4,03	9,10 ± 3,58	13,09 ± 4,65	-1,359	0,888494	ns	
		C	100,46 ± 65,54	109,78 ± 7,36	74,36 ± 18,82	3,507	0,006359	**	
		M	1,22 ± 0,58	0,31 ± 0,13	0,23 ± 0,29	0,5023	0,31669	ns	
	BM	D	3,102,12 ± 571,81	3,786,13 ± 1,629,62	4,770,73 ± 1,201,65	-0,9726	0,815835	ns	
		F	5,47 ± 3,58	11,38 ± 2,25	12,55 ± 2,91	-0,6356	0,725753	ns	
		C	13,10 ± 8,38	16,04 ± 4,15	18,42 ± 6,09	-0,6448	0,728557	ns	
jul-09	CV	M	0,79 ± 0,42	0,45 ± 0,16	0,27 ± 0,12	1,7534	0,065039	/s	
		D	2,971,03 ± 1,502,42	5,158,81 ± 1,257,08	2,517,51 ± 1,67,81	4,1653	0,011754	*	
	BM	F	5,04 ± 2,81	5,03 ± 2,94	7,17 ± 2,19	-1,1658	0,856029	ns	
		C	2,70 ± 0,45	2,04 ± 0,67	2,76 ± 1,31	-0,9804	0,817616	ns	
ago-09	CV	M	14,76 ± 14,88	5,85 ± 4,84	1,37 ± 1,72	1,7438	0,065905	/s	
		D	3,444,26 ± 331,63	4,856,01 ± 1,885,12	6,514,34 ± 1,698,45	-1,3071	0,880484	ns	
	BM	F	5,25 ± 1,27	9,32 ± 1,99	4,36 ± 1,53	3,9498	0,003770	**	
		C	3,45 ± 0,79	5,40 ± 0,80	4,01 ± 1,79	1,4223	0,102394	ns	
jul-09	BM	M	6,26 ± 0,64	7,60 ± 4,80	2,92 ± 1,32	1,8801	0,072241	/s	
		D	2,746,18 ± 930,32	1,991,82 ± 661,04	4,010,64 ± 1,074,94	-3,1996	0,987946	ns	

3.2.4.2. Cálculo del índice de selectividad trófica

Se aplicó un índice de selectividad trófica para caracterizar el grado de selección de los organismos mesozooplancónicos sobre las distintas presas disponibles en el ambiente y discernir patrones tróficos en los sitios y en los períodos estudiados. La selectividad alimentaria del mesozooplancton fue evaluada en aquellos casos en los que se detectó consumo (Tabla 3.1) aplicando el índice de selectividad E^* de Vanderploeg & Scavia (1979). La selectividad de cada ítem trófico (E_i) fue calculada de acuerdo con:

$$E_i = W_i - (1/n) / W_i + (1/n)$$

donde: n = número total de tipos de presa en cada experimento, W_i = coeficiente de selección definido como $W_i = F_i / \sum F_i$ donde: F_i = tasa de filtración sobre la presa i , $\sum F_i$ = suma de las tasas de filtración sobre todos los tipos de presa disponibles.

Este índice varía entre -1 y +1, indicando valores negativos, evitación del alimento o inaccesibilidad al mismo; valores positivos, selección activa del ítem trófico y cero, ausencia de selección. Este índice es uno de los más útiles en la estimación de la preferencia alimentaria, especialmente en aquellos casos donde la abundancia de los distintos ítems tróficos no es igualitaria (Lechowicz 1982).

El coeficiente de selección (W_i) fue calculado considerando una tasa de filtración promedio (entre las réplicas) para cada una de las presas. Cabe destacar que E^* fue calculado únicamente para aquellas presas fitoplanctónicas y microzooplanctónicas que fueron registradas en al menos el 50 % de las réplicas (considerando las ocho réplicas: Iniciales + Controles) dentro de un mismo experimento. Si habiendo cumplido con el registro mínimo en el 50 % de las réplicas Iniciales + Controles, el ítem trófico no fue registrado en ninguna de las réplicas Experimentales, se consideró como valor de biomasa del ítem trófico a su valor mínimo registrado en el experimento. De esta forma, pudo obtenerse una tasa de filtración (F_i) positiva (en concordancia con la variación de la concentración del ítem trófico en el experimento) y por consiguiente, el índice de selectividad. Cuando las tasas de filtración dieron valores negativos, es decir, cuando la concentración del ítem trófico fue mayor en las botellas Experimentales que en las Controles, se interpretó que el ítem fue evitado ya que se multiplicó en presencia del consumidor. En estos casos se consideró a $E^* = -1$, siguiendo el criterio de Almeda *et al.* (2011).

3.2.4.3. Análisis estadístico

Las tasas de alimentación (F_i , I , IEC , P y PP) sobre cada alimento natural (fitoplancton, microzooplancton y detrito) fueron comparadas dentro y entre los sitios de muestreo. En los casos en los que se rechazó la normalidad y la homoscedasticidad, las tasas fueron transformadas con logaritmo y nuevamente testeadas para confirmar que se cumpliera con los supuestos. El test W de Shapiro-Wilk (Shapiro & Wilk 1965) y el test modificado de Levene (Levene 1960, Conover *et al.* 1981) fueron los empleados para testear la normalidad y la igualdad de varianzas respectivamente. Dentro de un mismo sitio para una misma fecha, las tasas de alimentación sobre cada alimento fueron comparadas entre sí aplicando el test t de muestras apareadas cuando los alimentos a comparar fueron dos (*e.g.* CV en febrero) y ANOVA de muestras repetidas cuando los alimentos fueron más de dos (*e.g.* CV en diciembre) (Sokal & Rohlf 1999). Entre los sitios de muestreo para una misma fecha, se compararon las tasas del mismo alimento, utilizando el test t para muestras independientes. Excepto para los análisis detallados en la Tabla 3.1 en los que se consideraron valores levemente significativos ($1s$: $0,05 \leq p < 0,10$), en los demás análisis el nivel de significación fue de 0,05. Los análisis fueron realizados utilizando el *software* NCSS® 2007.

3.3. Resultados

3.3.1. Aplicación del método de remoción de partículas, condiciones ambientales de la experimentación y composición de los consumidores

Excepto las campañas realizadas en julio de 2008, que sirvieron de puesta a punto de la técnica y las dos campañas realizadas en el mes de febrero en BM, en todas las demás se logró la compleción del método de remoción de partículas (Tabla I Anexo). Los experimentos realizados en el sitio control en el mes de febrero no pudieron ser incluidos en el análisis ya que la totalidad de los organismos mesozooplanctónicos incubados resultaron muertos en el t_{24} . En estas botellas Experimentales se registró la máxima concentración inducida (10.441 ind. l⁻¹), así como también los valores más bajos de oxígeno disuelto (0,27 mg l⁻¹). Debido a la alta mortalidad (100 % de los organismos) no fue posible la estimación de la supervivencia y en consecuencia el cálculo de los consumidores, por lo que para el mes de febrero, se contó sólo con el experimento de alimentación en CV. En el resto de los experimentos, la densidad del mesozooplancton en las botellas Experimentales fue variable de acuerdo con la densidad en la columna de agua, alcanzando el máximo valor en el mes de diciembre (5.818 ind. l⁻¹) en CV y el mínimo en el mes julio en este mismo sitio (65 ind. l⁻¹). Exceptuando los experimentos realizados en BM en el mes de febrero, la supervivencia promedio fue del 73 %.

En la Fig. 3.1 se representa la abundancia relativa de los consumidores mesozooplanctónicos en los experimentos realizados. En los meses de verano, los consumidores estuvieron mayormente representados por el copépodo *A. tonsa* principalmente en BM (61 % de la abundancia total promedio). En CV este patrón fue observado sólo en el mes de marzo (68 % de la abundancia total Fig. 3.1). En el mes de diciembre, las zoeas del decápodo *N. granulata* fueron los consumidores dominantes en CV, alcanzando el 83 % de la abundancia total (Fig. 3.1); mientras que en el mes de febrero en este sitio, el 55 % de los consumidores estuvo representado por el copépodo *E. acutifrons* (Fig. 3.1). En los meses de invierno, las larvas *nauplii* del cirripedio *B. glandula* fueron los consumidores preponderantes (84 % de la abundancia total promedio) excepto en el mes de julio en BM, en donde los copépodos, representados por 11 especies, fueron los consumidores mayoritarios alcanzando el 68 % de la abundancia total registrada en ese mes (Fig. 3.1).

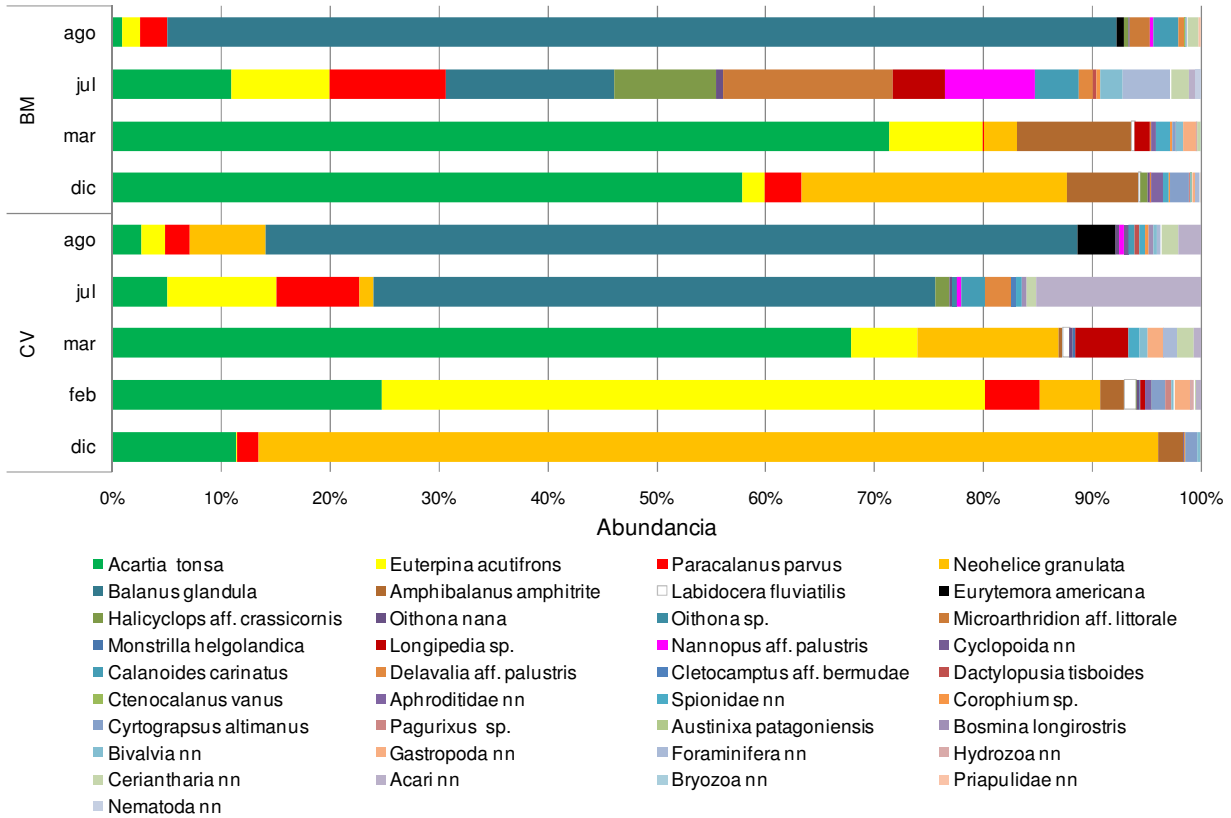


Figura 3.1. Abundancia relativa (%) de los consumidores mesozooplancónicos en los experimentos de alimentación realizados en los dos sitios de muestreo en los meses de verano e invierno. Las especies se graficaron en el orden de la leyenda, comenzando por *Acartia tonsa* y siguiendo hacia la derecha.

Las condiciones ambientales al inicio y al final de la experimentación se muestran en la Tabla II del Anexo. Se observó una leve disminución en el pH al final de la experimentación (botellas Experimentales) en los meses de verano, mientras que no se observaron grandes variaciones de pH en los meses de invierno. La salinidad, la turbidez y la temperatura se mantuvieron aproximadamente constantes entre los tratamientos. Los nutrientes mostraron variaciones entre los tratamientos, especialmente el amonio que aumentó considerablemente al final de la experimentación, siendo particularmente alta su concentración en los experimentos realizados en CV. El oxígeno disuelto presentó consistentemente concentraciones más bajas en CV y disminuyó sensiblemente en las botellas Experimentales principalmente en los meses de verano.

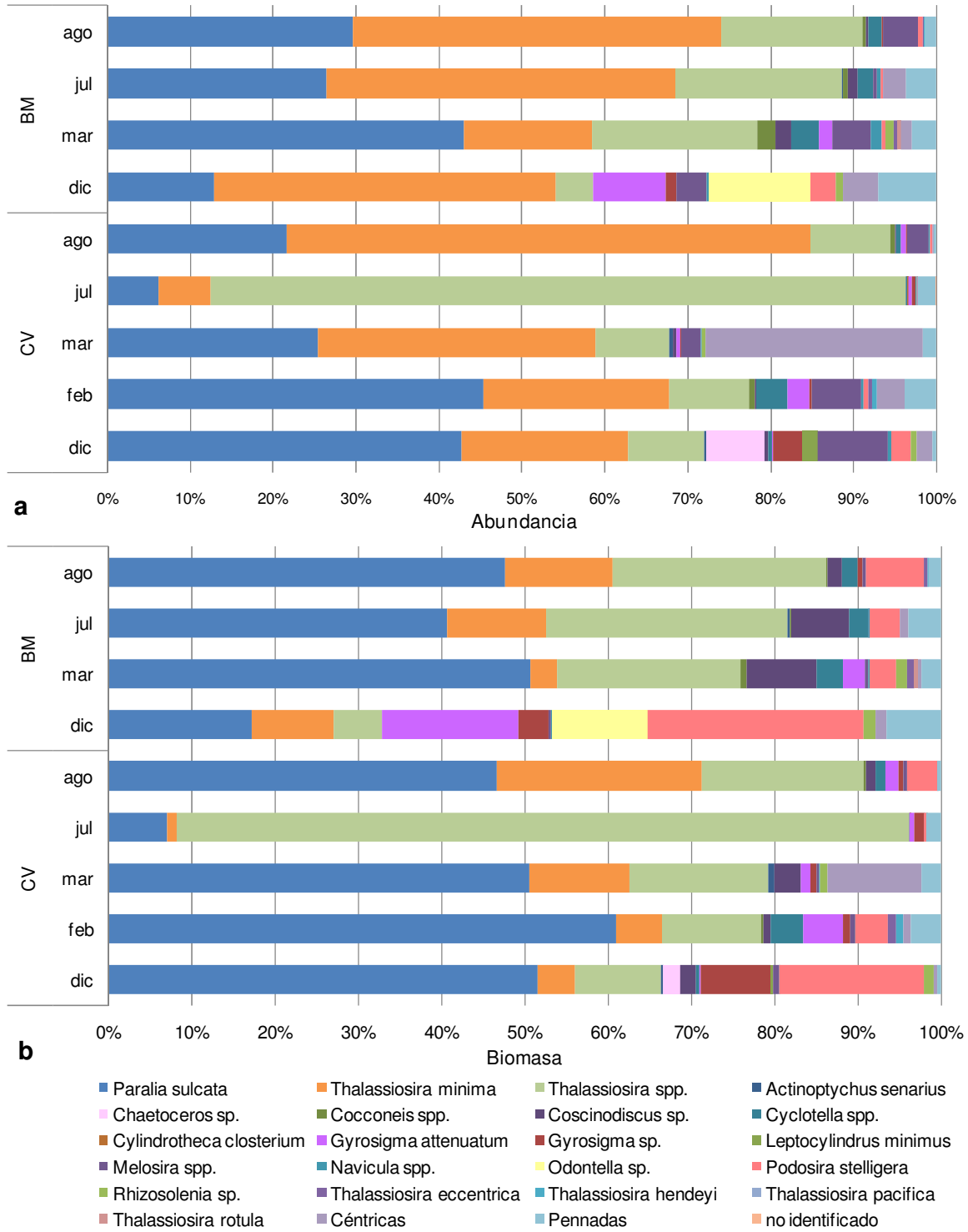
3.3.2. Oferta alimentaria: comunidad microplanctónica y detrito

El contenido de carbono individual, la abundancia y la biomasa natural de los diferentes taxones fitoplanctónicos y microzooplantónicos en los dos sitios y durante el verano y el invierno, se muestran en las Tablas 3.2 y 3.3, respectivamente. Las abundancias y biomasa relativas de estos taxones en los dos sitios y en cada mes en particular se muestran en las Fig. 3.2 y 3.3 para el fitoplancton y el microzooplancton, respectivamente.

Las concentraciones de clorofila *a* y de detrito a lo largo del período estudiado y en los dos sitios de muestreo se detallan en la Tabla 3.1. El contenido promedio de clorofila *a in situ* fue de $7,79 \pm 2,63 \mu\text{g l}^{-1}$ en CV y de $6,58 \pm 3,51 \mu\text{g l}^{-1}$ en BM. Los máximos valores se registraron en julio en CV ($17,23 \mu\text{g l}^{-1}$) y en diciembre en BM ($14,28 \mu\text{g l}^{-1}$). La concentración natural de detrito estuvo siempre por encima de los $2.500 \mu\text{g l}^{-1}$ presentando en los dos sitios de muestreo, valores mayores en los meses de verano ($\sim 4.000 \mu\text{g l}^{-1}$) y valores menores en los meses de invierno ($\sim 3.000 \mu\text{g l}^{-1}$). El máximo y mínimo valor de concentración de detrito fueron registrados en BM en marzo y agosto, respectivamente ($4.830 \mu\text{g l}^{-1}$ y $2.746 \mu\text{g l}^{-1}$ Tabla 3.1).

La abundancia fitoplanctónica promedio fue en CV de $66 \times 10^3 \text{ cél. l}^{-1}$ en el verano y de $185 \times 10^3 \text{ cél. l}^{-1}$ en el invierno, y en BM, de 53×10^3 y de $40 \times 10^3 \text{ cél. l}^{-1}$ en el verano y el invierno, respectivamente. En general, las diatomeas *Paralia sulcata*, *Thalassiosira* spp. y *Thalassiosira minima* fueron las especies preponderantes en los dos sitios de muestreo y en los dos períodos climáticos estudiados (Tabla 3.2 y Fig 3.2). Considerando el verano, la diatomea *T. minima* fue la especie más abundante en BM; mientras que *P. sulcata* dominó en términos de abundancia en CV y en términos de biomasa en ambos sitios de muestreo (Tabla 3.2 y Fig 3.2). En el invierno, las especies de diatomeas del género *Thalassiosira* no identificadas dominaron en CV tanto en abundancia como en biomasa; mientras que en BM la especie más abundante fue *T. minima* y la que presentó mayor biomasa, *P. sulcata* (Tabla 3.2 y Fig 3.2). Los máximos valores absolutos y relativos de abundancia y biomasa de *P. sulcata* y *Thalassiosira* spp. fueron registrados en CV en febrero y julio respectivamente (***P. sul.***: $35 \times 10^3 \text{ cél. l}^{-1}$, 45 % y $11,21 \mu\text{g C l}^{-1}$, 61 %; ***Thal. spp.***: $30 \times 10^4 \text{ cél. l}^{-1}$, 84 % y $88,26 \mu\text{g C l}^{-1}$, 88 %). Los mayores valores absolutos de abundancia y biomasa de *T. minima* fueron registrados en diciembre en BM ($32 \times 10^3 \text{ cél. l}^{-1}$ y $1,86 \mu\text{g C l}^{-1}$) mientras que los mayores valores relativos se registraron en agosto en CV (Ab: 63 % y Biom. 24 % Fig. 3.2). Otras especies de diatomeas como *Podosira stelligera*, *Gyrosigma* spp. y *Odontella* sp. contribuyeron a la biomasa

fitoplanctónica principalmente en BM y particularmente en el mes de diciembre, donde representaron el 58 % de la biomasa total (Fig. 3.2).



← **Figura 3.2. a) Abundancia y b) biomasa relativas (%) de los taxones fitoplanctónicos en el período de estudio y en los dos sitios de muestreo.** Las especies están graficadas en el orden de la leyenda, comenzando por *Paralia sulcata* y siguiendo hacia la derecha. CV: Canal Vieja; BM: Bahía del Medio.

Con respecto al microzooplancton, los valores promedio de abundancia registrados en CV fueron de 1.030 ind. l⁻¹ en el verano y de 1.094 ind. l⁻¹ en el invierno; y en BM, de 3.152 y de 2.377 ind. l⁻¹ en el verano y el invierno, respectivamente. En general y analizando los principales componentes del microzooplancton según su morfología, los tintínidos dominaron en términos de abundancia durante el período de estudio tanto en el sitio impactado, CV (Ab. promedio tintínidos: 714 ± 504, aloricados: 303 ± 215, otros: 39 ± 58 ind. l⁻¹) como en el sitio control, BM (Ab. promedio tintínidos: 2.405 ± 2.035, aloricados: 206 ± 161, otros: 154 ± 244 ind. l⁻¹). El tintínido *Tintinnidium balechi* fue la especie microzooplanctónica preponderante registrándose a lo largo de todo el período de estudio. Esta especie presentó los valores extremos de abundancia y biomasa en BM durante el invierno (Tabla 3.3). El máximo valor de abundancia fue de 4.290 ind. l⁻¹ en el mes de agosto, constituyendo el 95 % de la abundancia total registrada en ese mes (Fig. 3.3). El mínimo valor de abundancia fue de 60 ind. l⁻¹ y se registró en CV en el mes de julio (Tabla 3.3 y Fig. 3.3). Otra especie de tintínido, *Tintinnopsis gracilis*, fue importante en el mes de diciembre representando el 29 % y el 45 % de la abundancia total del microzooplancton en CV y BM, respectivamente (Fig. 3.3). La abundancia de los ciliados aloricados fue aproximadamente constante en los dos sitios de muestreo y en todos los meses, presentando un máximo de 656 ind. l⁻¹ en CV en el mes de febrero (representando *Strombidinopsis* sp. 4, el 69 % de los aloricados) y un mínimo de 29 ind. l⁻¹ en BM en el mes de julio. Las especies más frecuentemente registradas pertenecieron a los géneros *Strombidinopsis*, *Leegaardiella*, *Tontonia* y *Cyrtostrombidium* (Fig. 3.3). Otros organismos microzooplanctónicos como rotíferos, dinoflagelados y larvas de moluscos y crustáceos fueron detectados a lo largo del estudio, principalmente en BM, donde se registró el mayor valor de abundancia de estos organismos en el mes de diciembre (520 ind. l⁻¹) entre los que se destacó el rotífero *Synchaeta* sp.

Tabla 3.2. Abundancia (cél. l⁻¹) y biomasa (µg C l⁻¹) promedio ± desvíos estándares de los taxones fitoplanctónicos registrados en el verano (diciembre 2008, febrero y marzo 2009) y el invierno (julio y agosto 2009) en los dos sitios estudiados.

Taxón	µg C cél. ⁻¹	CV				BM			
		Abundancia (cél. l ⁻¹)		Biomasa (µg C l ⁻¹)		Abundancia (cél. l ⁻¹)		Biomasa (µg C l ⁻¹)	
		verano	invierno	verano	invierno	verano	invierno	verano	invierno
<i>Actinoptychus senarius</i>	0,00026700	128 ± 323	61 ± 173	0,03 ± 0,09	0,02 ± 0,05	0 ± 0	61 ± 173	0,00 ± 0,00	0,02 ± 0,05
<i>Chaetoceros</i> sp.	0,00008000	1.315 ± 2.943	0 ± 0	0,11 ± 0,24	0,00 ± 0,00	0 ± 0	0 ± 0	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
<i>Cocconeis</i> spp.	0,00008260	204 ± 389	49 ± 74	0,02 ± 0,03	0,02 ± 0,04	306 ± 449	221 ± 510	0,03 ± 0,04	0,00 ± 0,01
<i>Coscinodiscus</i> sp.	0,00124000	200 ± 253	12 ± 35	0,25 ± 0,31	0,49 ± 0,83	265 ± 750	392 ± 667	0,33 ± 0,93	0,02 ± 0,04
<i>Cyclotella</i> spp.	0,00024290	1.068 ± 1.502	123 ± 164	0,26 ± 0,36	0,18 ± 0,24	490 ± 786	747 ± 999	0,12 ± 0,19	0,03 ± 0,04
<i>Cylindrotheca closterium</i>	0,00002805	0 ± 0	368 ± 1040	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0 ± 0	0 ± 0	0,00 ± 0,00	0,01 ± 0,03
<i>Gyrosigma attenuatum</i>	0,00045339	764 ± 1.080	723 ± 1889	0,35 ± 0,49	0,00 ± 0,00	3.609 ± 4.062	0 ± 0	1,64 ± 1,84	0,33 ± 0,86
<i>Gyrosigma</i> sp.	0,00063700	779 ± 1.203	870 ± 1240	0,50 ± 0,77	0,01 ± 0,02	530 ± 1.133	12 ± 35	0,34 ± 0,72	0,55 ± 0,79
<i>Leptocylindrus minimus</i>	0,00003120	353 ± 1.224	0 ± 0	0,01 ± 0,04	0,00 ± 0,00	0 ± 0	0 ± 0	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
<i>Melosira</i> spp.	0,00002198	3.625 ± 2.340	245 ± 583	0,08 ± 0,05	0,01 ± 0,01	2.060 ± 2.237	490 ± 600	0,05 ± 0,05	0,01 ± 0,01
<i>Navicula</i> spp.	0,00002840	209 ± 259	135 ± 222	0,01 ± 0,01	0,00 ± 0,01	326 ± 483	123 ± 347	0,01 ± 0,01	0,00 ± 0,01
<i>Odontella</i> sp.	0,00022337	3.578 ± 2.915	0 ± 0	0,80 ± 0,65	0,00 ± 0,00	4.770 ± 6.546	0 ± 0	1,07 ± 1,51	0,00 ± 0,00
<i>Paralia sulcata</i>	0,00031830	25.248 ± 10.875	13.132 ± 15.011	8,04 ± 3,46	3,49 ± 2,69	11.173 ± 3.666	10.976 ± 8.465	3,56 ± 1,17	4,18 ± 4,78
<i>Podosira stelligera</i>	0,00200000	549 ± 1.101	86 ± 169	1,10 ± 2,20	0,37 ± 0,44	1.275 ± 2.390	183 ± 218	2,55 ± 4,78	0,17 ± 0,33
<i>Rhizosolenia</i> sp.	0,00039475	229 ± 263	61 ± 173	0,09 ± 0,10	0,00 ± 0,00	477 ± 466	0 ± 0	0,19 ± 0,18	0,02 ± 0,07
<i>Thalassiosira eccentrica</i>	0,00045133	123 ± 305	0 ± 0	0,06 ± 0,14	0,01 ± 0,02	66 ± 187	12 ± 35	0,03 ± 0,08	0,00 ± 0,00
<i>Thalassiosira hendeyi</i>	0,00032500	163 ± 566	0 ± 0	0,05 ± 0,18	0,00 ± 0,01	0 ± 0	12 ± 35	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
<i>Thalassiosira minima</i>	0,00005770	16.845 ± 9.425	16.727 ± 24.507	0,97 ± 0,54	0,99 ± 0,95	18.279 ± 19.646	17.211 ± 16.442	1,05 ± 1,13	0,97 ± 1,41
<i>Thalassiosira pacifica</i>	0,00026570	0 ± 0	0 ± 0	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0 ± 0	0 ± 0	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
<i>Thalassiosira rotula</i>	0,00035743	0 ± 0	0 ± 0	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	60 ± 169	0 ± 0	0,02 ± 0,06	0,00 ± 0,00
<i>Thalassiosira</i> spp.	0,00029860	6.096 ± 3.345	148.678 ± 209.383	1,82 ± 1,00	2,34 ± 4,40	4.616 ± 2.688	7.852 ± 14.729	1,38 ± 0,80	44,40 ± 62,52
Céntricas	0,00006907	6.901 ± 8.253	196 ± 246	0,48 ± 0,57	0,06 ± 0,08	1.809 ± 1.868	858 ± 1.134	0,13 ± 0,13	0,01 ± 0,02
Pennadas	0,00022328	1.421 ± 1.326	3.883 ± 4.210	0,32 ± 0,30	0,28 ± 0,38	3.147 ± 3.189	1.274 ± 1.684	0,70 ± 0,71	0,87 ± 0,94
no identificado	--	0 ± 0	61 ± 173	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0 ± 0	0 ± 0	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00

Se detallan los factores de conversión a carbono (µg C cél.⁻¹) para cada uno de los taxones. CV: Canal Vieja, receptor de la descarga cloacal; BM: Bahía del Medio, sitio control.

Tabla 3.3. Abundancia (ind. l⁻¹) y biomasa (µg C l⁻¹) promedio ± desvíos estándares de los taxones microzooplanctónicos registrados en el verano (diciembre 2008, febrero y marzo 2009) y en el invierno (julio y agosto 2009) en los dos sitios de muestreo.

Taxón	µg C ind. ⁻¹	CV		BM					
		Abundancia (ind. l ⁻¹)		Biomasa (µg C l ⁻¹)					
		verano	invierno	verano	invierno				
<i>Tintinnidium balechi</i>	0,00131312	358 ± 156	753 ± 751	0,48 ± 0,13	0,99 ± 1,29	785 ± 330	2.193 ± 2.253	1,02 ± 0,40	2,88 ± 3,90
<i>Tintinnopsis gracilis</i>	0,00538767	125 ± 198	0 ± 0	0,67 ± 0,99	0,00 ± 0,00	1.123 ± 1.378	3 ± 7	6,06 ± 8,11	0,01 ± 0,02
<i>Tintinnopsis baltica</i>	0,00125190	12 ± 16	5 ± 9	0,02 ± 0,02	0,01 ± 0,01	135 ± 48	0 ± 0	0,23 ± 0,12	0,00 ± 0,00
<i>Tintinnopsis parva</i>	0,00062429	105 ± 78	10 ± 21	0,06 ± 0,04	0,01 ± 0,01	243 ± 138	8 ± 15	0,15 ± 0,06	0,01 ± 0,01
<i>Tintinnopsis beridea</i>	0,00230434	5 ± 12	0 ± 0	0,01 ± 0,02	0,00 ± 0,00	15 ± 23	8 ± 15	0,03 ± 0,05	0,02 ± 0,02
<i>Tintinnopsis brasiliensis</i>	0,00269278	7 ± 18	0 ± 0	0,02 ± 0,03	0,00 ± 0,00	28 ± 26	8 ± 15	0,07 ± 0,03	0,02 ± 0,03
<i>Tintinnopsis parvula</i>	0,00295363	0 ± 0	0 ± 0	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	60 ± 71	0 ± 0	0,18 ± 0,13	0,00 ± 0,00
<i>Tintinnopsis glans</i>	0,00050635	20 ± 26	0 ± 0	0,01 ± 0,01	0,00 ± 0,00	50 ± 56	5 ± 14	0,03 ± 0,04	0,00 ± 0,00
<i>Tintinnopsis buetschlii</i> var. <i>mortensenii</i>	0,00482909	0 ± 0	0 ± 0	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	23 ± 36	0 ± 0	0,11 ± 0,15	0,00 ± 0,00
<i>Tintinnopsis</i> sp. 2	0,00131312	5 ± 12	0 ± 0	0,01 ± 0,01	0,00 ± 0,00	0 ± 0	0 ± 0	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
<i>Codonellopsis lusitanica</i>	0,00191775	33 ± 29	13 ± 15	0,06 ± 0,05	0,02 ± 0,03	93 ± 76	8 ± 15	0,18 ± 0,03	0,01 ± 0,02
<i>Metacylis</i> aff. <i>mereschkowskii</i>	0,00175140	0 ± 0	0 ± 0	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	23 ± 33	0 ± 0	0,04 ± 0,06	0,00 ± 0,00
<i>Favella taraikaensis</i>	0,03771304	0 ± 0	0 ± 0	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0 ± 0	5 ± 9	0,00 ± 0,00	0,19 ± 0,27
<i>Gyrodinium fusus</i>	0,00536393	0 ± 0	70 ± 97	0,00 ± 0,00	0,38 ± 0,53	0 ± 0	13 ± 15	0,00 ± 0,00	0,07 ± 0,09
<i>Synchaeta</i> sp.	0,02628288	0 ± 0	0 ± 0	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	163 ± 180	0 ± 0	4,27 ± 6,04	0,00 ± 0,00
<i>Trichocerca marina</i>	0,00616923	0 ± 0	0 ± 0	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0 ± 0	8 ± 15	0,00 ± 0,00	0,05 ± 0,07
<i>Globorotalia</i> sp.	0,00827583	3 ± 8	0 ± 0	0,03 ± 0,02	0,00 ± 0,00	0 ± 0	8 ± 15	0,00 ± 0,00	0,06 ± 0,09
<i>Strombidinopsis elongata</i>	0,08140737	0 ± 0	38 ± 106	0,00 ± 0,00	3,05 ± 4,32	0 ± 0	0 ± 0	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
<i>Strombidinopsis</i> aff. <i>spinerum</i>	0,00340458	0 ± 0	0 ± 0	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0 ± 0	13 ± 35	0,00 ± 0,00	0,04 ± 0,06
<i>Strombidinopsis</i> sp. 4	0,00235108	172 ± 301	0 ± 0	0,38 ± 0,59	0,00 ± 0,00	78 ± 133	0 ± 0	0,18 ± 0,26	0,00 ± 0,00
<i>Strombidinopsis</i> sp. 5	0,00685652	0 ± 0	0 ± 0	0,08 ± 0,14	0,00 ± 0,00	53 ± 57	0 ± 0	0,36 ± 0,21	0,00 ± 0,00
<i>Strombidinopsis</i> sp. 9	0,00779147	33 ± 115	0 ± 0	0,26 ± 0,45	0,00 ± 0,00	0 ± 0	0 ± 0	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
<i>Strombidium conicum</i>	0,00291592	0 ± 0	0 ± 0	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0 ± 0	13 ± 35	0,00 ± 0,00	0,04 ± 0,05
<i>Strombidium capitatum</i>	0,00291592	0 ± 0	0 ± 0	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0 ± 0	13 ± 35	0,00 ± 0,00	0,04 ± 0,05
<i>Strombidium acutum</i>	0,00214885	20 ± 48	0 ± 0	0,04 ± 0,04	0,00 ± 0,00	0 ± 0	13 ± 35	0,00 ± 0,00	0,03 ± 0,04
<i>Strombidium dalum</i>	0,00237642	24 ± 56	6 ± 18	0,08 ± 0,15	0,01 ± 0,02	16 ± 44	0 ± 0	0,04 ± 0,05	0,00 ± 0,00
<i>Strobilidium epacrum</i>	0,00242094	0 ± 0	13 ± 35	0,00 ± 0,00	0,03 ± 0,04	0 ± 0	0 ± 0	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
<i>Strombidium</i> sp.	0,00266990	0 ± 0	13 ± 23	0,00 ± 0,00	0,03 ± 0,00	28 ± 53	0 ± 0	0,08 ± 0,01	0,00 ± 0,00
<i>Cyrtostrombidium longisomum</i>	0,00447612	39 ± 59	38 ± 74	0,23 ± 0,09	0,17 ± 0,24	66 ± 130	0 ± 0	0,29 ± 0,18	0,00 ± 0,00
<i>Leegaardiella</i> sp.	0,00233166	12 ± 41	50 ± 60	0,03 ± 0,05	0,12 ± 0,16	38 ± 57	13 ± 35	0,09 ± 0,08	0,03 ± 0,04
<i>Tontonia</i> sp.	0,00093266	12 ± 41	31 ± 37	0,01 ± 0,02	0,03 ± 0,02	41 ± 78	33 ± 71	0,04 ± 0,01	0,03 ± 0,02
<i>Lohmannella</i> sp.	0,01219666	19 ± 44	50 ± 93	0,23 ± 0,40	0,61 ± 0,86	0 ± 0	0 ± 0	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
<i>Balanion</i> sp.	0,00047500	0 ± 0	0 ± 0	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0 ± 0	13 ± 35	0,00 ± 0,00	0,01 ± 0,01
Ciliado no identificado	0,00351954	0 ± 0	6 ± 18	0,00 ± 0,00	0,02 ± 0,03	0 ± 0	0 ± 0	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
Bivalvia (L)	0,05670576	10 ± 13	0 ± 0	0,57 ± 0,57	0,00 ± 0,00	60 ± 66	0 ± 0	3,40 ± 2,41	0,00 ± 0,00
Gastropoda (L)	0,12063716	3 ± 8	0 ± 0	0,40 ± 0,35	0,00 ± 0,00	50 ± 51	0 ± 0	6,03 ± 6,82	0,00 ± 0,00
Crustacea (L)	0,02940536	2 ± 6	0 ± 0	0,05 ± 0,08	0,00 ± 0,00	8 ± 21	0 ± 0	0,22 ± 0,31	0,00 ± 0,00

Se detallan los factores de conversión a carbono (µg C ind.⁻¹) para cada uno de los taxones. L: larva; CV: Canal Vieja, receptor de la descarga cloacal; BM: Bahía del Medio, sitio control.

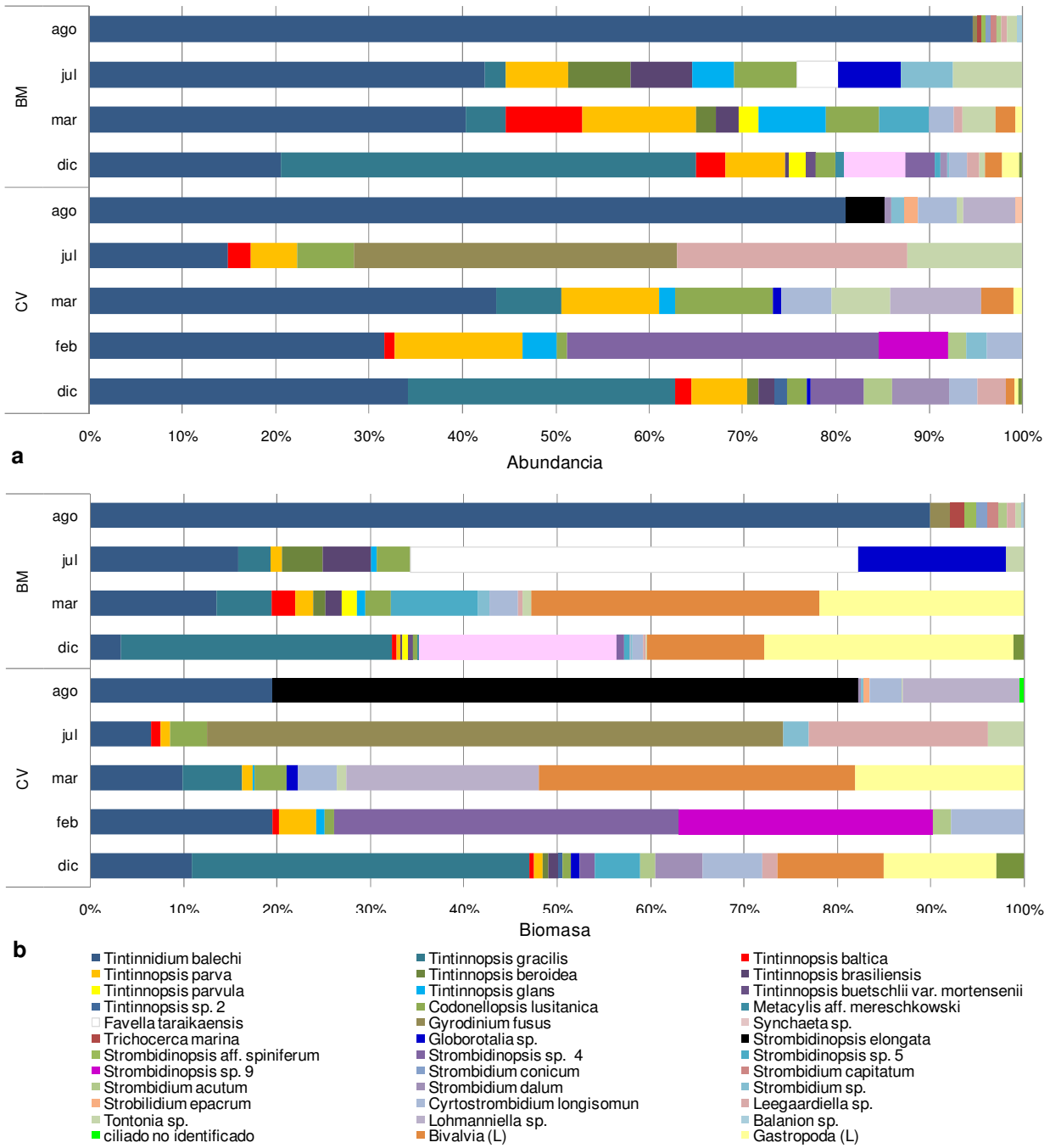


Figura 3.3. a) Abundancia y b) biomasa relativas (%) de los taxones microzooplanctónicos en el período de estudio y en los dos sitios de muestreo. Las especies están graficadas en el orden de la leyenda, comenzando por *Tintinnidium balechi* y siguiendo hacia la derecha. CV: Canal Vieja, receptor de la descarga cloacal; BM: Bahía del Medio, sitio control.

3.3.3. Tasas de alimentación y selectividad trófica del mesozooplancton

El consumo del mesozooplancton sobre al menos un tipo de alimento considerado fue detectado en todos los experimentos realizados (Tabla 3.1 y Fig. 3.4). La disminución de la concentración de detrito debido a consumo fue registrado en 1 de los 9 experimentos realizados, solamente en BM durante el mes de julio (11 % de los experimentos realizados), mientras que la frecuencia de consumo sobre las demás fuentes de alimento fue relativamente mayor (FCIa: 67 %, FC: 56 %, M: 89 % de los experimentos realizados).

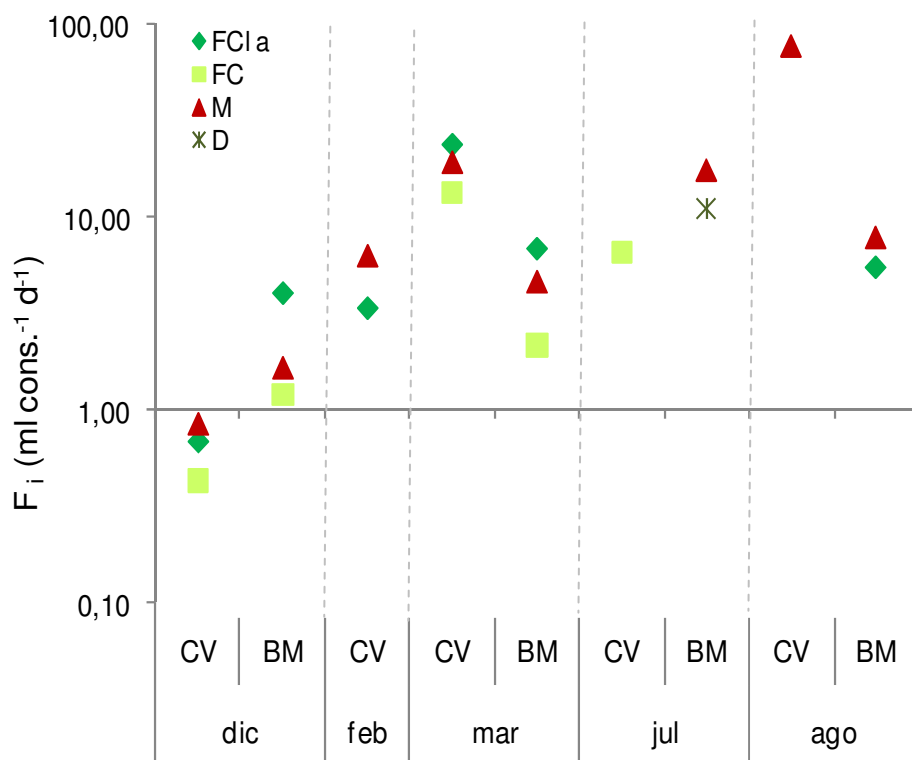


Figura 3.4. Consumo detectado del mesozooplancton sobre los alimentos naturales en los dos sitios de muestreo expresado como tasa de filtración individual (F_i) en escala logarítmica. F: fitoplancton estimado mediante clorofila *a*, FCIa y mediante biomasa celular en términos de carbono, FC, M: microzooplancton, D: detrito.

Los valores de las tasas de alimentación en cada uno de los experimentos en donde se detectó consumo se detallan en la Tabla 3.4. En la Fig. 3.4 se representan

en escala logarítmica los valores de la tasa de filtración sobre cada uno de los alimentos considerados en los experimentos donde se detectó consumo. La tasa de filtración individual (F_i) varió entre 0,43 ml d⁻¹ sobre el fitoplancton (estimado por la biomasa celular, FC) en el verano en el mes de diciembre en CV y 77,87 ml d⁻¹ sobre el microzooplancton durante el invierno en el mes de agosto en este mismo sitio (Tabla 3.4, Fig. 3.4). Los mayores valores de ingestión (I, IEC) y de predación (P) fueron detectados en BM sobre el detrito durante el invierno en el mes de julio (27,81 µg C total cons.⁻¹d⁻¹, 16,17 µg C µg C corp.⁻¹ d⁻¹, 2.265,16 µg C m⁻³ d⁻¹, respectivamente), mientras que el valor más alto de presión de predación (PP) fue registrado sobre el microzooplancton en CV durante el verano en el mes de marzo (1.153,24 % Tabla 3.4).

Al comparar el consumo del mesozooplancton sobre los alimentos en cada uno de los sitios en los meses de diciembre, marzo y agosto, no se encontraron diferencias significativas entre las tasas de alimentación calculadas en ninguno de los dos sitios (ANOVA de muestras repetidas y test *t* de muestras apareadas en el caso de agosto $p > 0,05$ Tabla 3.4). Durante el mes de febrero en CV, las tasas I, IEC y P fueron significativamente mayores sobre la CI *a* que sobre el microzooplancton (I e IEC: $T = 3,0085$ $p = 0,028640$, P: $T = 4,6472$ $p = 0,009393$); mientras que las tasas F_i y PP mostraron la tendencia inversa sin arrojar valores significativos (test *t* de muestras apareadas $p > 0,10$ Tabla 3.4). El incremento de la biomasa fitoplanctónica en las botellas Experimentales (E) en este experimento, se correspondió al crecimiento de *P. sulcata* y *Cyclotella* spp. Estas diatomeas representaron el 66 % y el 10 %, respectivamente, de la biomasa fitoplanctónica total. Las biombras promedio de *P. sulcata* y de *Cyclotella* spp. aumentaron en las botellas Experimentales el 33 % y el 235 % en comparación con las biombras Iniciales (I); y el 40 % y el 567 % en comparación con las biombras Controles (C), respectivamente (***P. sul.*** I: 11,21 µg C l⁻¹, C: 10,64 µg C l⁻¹, E: 14,86 µg C l⁻¹; ***Cycl. spp.*** I: 0,71 µg C l⁻¹, C: 0,36 µg C l⁻¹, E: 2,38 µg C l⁻¹).

Tabla 3.4. Tasas de alimentación calculadas sobre los alimentos naturales en cada experimentación.

Fecha	Sitio	Taxón dominante	Alimento	g (d ⁻¹)	F _i (ml cons. ⁻¹ d ⁻¹)	I _i (µg C cons. ⁻¹ d ⁻¹)	IEC (µg C µg C corp. ⁻¹ d ⁻¹)	P (µg C m ⁻³ d ⁻¹)	PP (%)
dic-08	CV	<i>N. granulata</i> (Z)	Cl a	0,09 ± 0,04	0,69 ± 0,31	0,0037 ± 0,0011	0,0010 ± 0,0003	3,69 ± 1,07	46,62 ± 12,59
			C	0,06 ± 0,02	0,43 ± 0,16	0,0046 ± 0,0030	0,0013 ± 0,0008	4,37 ± 2,03	29,27 ± 6,12
			M	0,13 ± 0,10	0,85 ± 0,43	0,0024 ± 0,0011	0,0007 ± 0,0003	2,52 ± 1,57	49,94 ± 29,93
	BM	<i>A. tonsa</i>	Cl a	0,06 ± 0,02	4,07 ± 4,81	0,035 ± 0,0373	0,0108 ± 0,0115	7,72 ± 2,73	64,39 ± 13,01
			C	0,02 ± 0,01	1,20 ± 0,98	0,0317 ± 0,0296	0,0097 ± 0,0091	7,11 ± 4,42	36,36 ± 8,10
			M	0,04 ± 0,03	1,66 ± 1,08	0,0465 ± 0,0374	0,0143 ± 0,0115	13,00 ± 7,95	41,76 ± 25,32
feb-09	CV	<i>E. acutifrons</i>	Cl a	0,06 ± 0,02	3,40 ± 3,62	0,0222 ± 0,0167	0,0488 ± 0,0366	8,27 ± 1,50	104,91 ± 40,27
			C	0,14 ± 0,10	6,35 ± 5,93	0,0087 ± 0,0082	0,0190 ± 0,0180	2,95 ± 1,45	147,71 ± 101,19
			M	0,04 ± 0,03	24,01 ± 20,93	0,0752 ± 0,0568	0,0231 ± 0,0175	37,18 ± 21,43	758,59 ± 425,34
	CV	<i>A. tonsa</i>	Cl a	0,02 ± 0,02	13,27 ± 12,01	0,1409 ± 0,1182	0,0433 ± 0,0363	65,53 ± 74,97	563,63 ± 575,50
			C	0,06 ± 0,05	19,38 ± 6,82	0,0447 ± 0,0189	0,0138 ± 0,0058	34,76 ± 9,52	1.153,24 ± 883,85
			M	0,05 ± 0,04	6,92 ± 9,76	0,0211 ± 0,0298	0,0044 ± 0,0085	2,60 ± 1,56	79,26 ± 47,38
BM	<i>A. tonsa</i>	Cl a	0,04 ± 0,04	2,16 ± 1,92	0,0126 ± 0,0114	0,0039 ± 0,0035	4,51 ± 4,26	50,58 ± 42,72	
		C	0,04 ± 0,02	4,65 ± 5,26	0,0182 ± 0,0187	0,056 ± 0,0057	3,51 ± 0,46	74,18 ± 30,50	
		M	0,02 ± 0,01	6,51 ± 1,66	0,5953 ± 0,2744	0,3461 ± 0,1595	71,97 ± 73,83	73,75 ± 38,38	
jul-09	BM	mix copépodos	Cl a	0,05 ± 0,01	17,65 ± 5,16	0,0115 ± 0,0026	0,0067 ± 0,0015	0,84 ± 0,31	73,51 ± 27,81
			C	0,03 ± 0,01	11,03 ± 5,92	27,81 ± 12,43	16,17 ± 7,23	2.265,16 ± 386,74	85,39 ± 28,20
			M	0,22 ± 0,35	77,87 ± 135,30	0,2148 ± 0,3770	0,1249 ± 0,2192	25,13 ± 44,47	488,01 ± 782,18
	CV	<i>B. glandula</i> (LN)	Cl a	0,03 ± 0,02	5,54 ± 4,64	0,0269 ± 0,0250	0,0156 ± 0,0145	3,26 ± 1,97	59,17 ± 24,18
			C	0,06 ± 0,02	7,90 ± 4,50	0,0337 ± 0,0174	0,0196 ± 0,0101	5,08 ± 1,93	81,78 ± 34,88
			M						

Se detalla el taxón dominante (> 50 % de la abundancia total) en cada uno de los experimentos. Z: zoetas, LN: larvas *nauplii*, F: fitoplancton estimado mediante la clorofila *a* (FCla) y el biovolumen celular en carbono (FC), M: microzooplancton, D: detrito. Para el detalle de las tasas, ver texto.

Con respecto a la comparación del consumo del mesozooplancton entre los sitios dentro de un mismo mes, se observó que durante el verano en el mes de diciembre, el consumo de fitoplancton (estimado mediante la clorofila *a* y la biomasa celular en carbono) y de microzooplancton fue significativamente superior en BM; mientras que en marzo estas mismas fuentes de alimento fueron consumidas mayormente en CV. Los valores de las tasas de alimentación sobre el microzooplancton detectadas en agosto no se diferenciaron entre los sitios (test *t* de muestras independientes $p < 0,05$ Tabla 3.5).

Tabla 3.5. Comparación entre los dos sitios de muestreo de las tasas de alimentación sobre los mismos alimentos consumidos en los meses de diciembre, marzo y agosto.

Tasas de alimentación	dic-08		mar-09		ago-09	
	FCI a	FC	FCI a	FC	M	M
F (ml cons. ⁻¹ d ⁻¹)	0,127272	0,107694	0,108552	> CV; 0,030136*	> CV; 0,01132*	0,381667
I (µg C cons. ⁻¹ d ⁻¹)	> BM; 0,006640**	> BM; 0,042197*	> BM; 0,039338*	> CV; 0,013432*	> CV; 0,042056*	0,472265
IEC (µg C µg C corp. ⁻¹ d ⁻¹)	> BM; 0,005329**	> BM; 0,035909*	> BM; 0,007327**	> CV; 0,013432*	> CV; 0,042056*	0,472265
P (µg C m ⁻³ d ⁻¹)	> BM; 0,026390*	0,159914	> BM; 0,037635*	> CV; 0,032674*	> CV; 0,014697*	0,320683
PP (%)	> BM; 0,048666*	0,107637	0,345657	> CV; 0,024174*	0,084325	0,354369

Se detallan los valores de *p* del test *t* para muestras independientes y el sitio donde el valor de la tasa fue significativamente mayor (* *p* < 0,05; ** *p* < 0,01). F: fitoplancton estimado mediante clorofila *a* (FCIa) y biomasa celular en términos de carbono (FC), M: microzooplancton, CV: Canal Vieja, receptor de la descarga cloacal, BM: Bahía del Medio, sitio control.

En invierno, en el mes de julio, las fuentes de alimentación sobre las que se detectó consumo fueron el fitoplancton estimado mediante la biomasa celular (FC) en CV, y el microzooplancton y el detrito en BM (Tabla 3.1, Tabla 3.4 y Fig. 3.4). En BM, las tasas I, CSI y P fueron significativamente mayores sobre el detrito que sobre el microzooplancton (test de muestras apareadas $p < 0,05$ Tabla 3.4). En agosto, el consumo se detectó sobre el microzooplancton en CV, y sobre la clorofila *a* y el microzooplancton en BM, no encontrándose diferencias significativas entre las tasas de consumo sobre estos dos alimentos (test de muestras apareadas $p < 0,05$ Tabla 3.4 y Fig. 3.4). Cabe destacar que se detectaron incrementos de la biomasa fitoplanctónica (FC) en las botellas Experimentales (E) en los experimentos realizados en BM en el invierno (Tabla 3.1). En julio, este incremento se debió al crecimiento de *P. sulcata* que representó el 62 % de la biomasa total, mostrando un incremento comparado con la biomasa Inicial y Control de 113 % y 13 % respectivamente (***P. sul.*** I: 5,34 $\mu\text{g C l}^{-1}$, C: 10,02 $\mu\text{g C l}^{-1}$, E: 11,35 $\mu\text{g C l}^{-1}$). En agosto, el incremento de la biomasa fitoplanctónica (FC) en las botellas Experimentales (E), se debió al crecimiento de *Thalassiosira* spp. que representó el 37 % de la biomasa total, mostrando un aumento comparado con la biomasa Inicial y Control de 92 % y 162 %, respectivamente (***Thal. spp.*** I: 0,53 $\mu\text{g C l}^{-1}$, C: 0,51 $\mu\text{g C l}^{-1}$, E: 1,02 $\mu\text{g C l}^{-1}$).

Los índices de selectividad trófica (E^*) variaron dependiendo de la presa, del mes abarcado y del sitio de muestreo (Fig. 3.5). En términos generales, las presas positivamente seleccionadas por el mesozooplancton en CV fueron el tintínido *T. balechi* y las diatomeas *Rhizosolenia* sp., *Chaetoceros* sp. y *Odontella* sp, entre otras; mientras que las diatomeas *P. sulcata*, *Melosira* spp., *Navicula* spp., los tintínidos *Tintinnopsis baltica*, *Tintinnopsis glans*, el ciliado aloricado *Cyrtostrombidium longisomun* y las larvas de Bivalvia, fueron evitadas o no consumidas (Fig. 3.5a). En este sitio, el mesozooplancton mostró selectividad variable (entre valores positivos y negativos) sobre la diatomea *T. minima* y los tintínidos *T. gracilis*, *Tintinnopsis parva* y *Codonellopsis lusitanica* (Fig. 3.5a). El mayor valor registrado de selectividad positiva fue sobre *Strombidinopsis* sp. 4 en febrero ($E^* = 0,5043$ Fig. 3.5a).

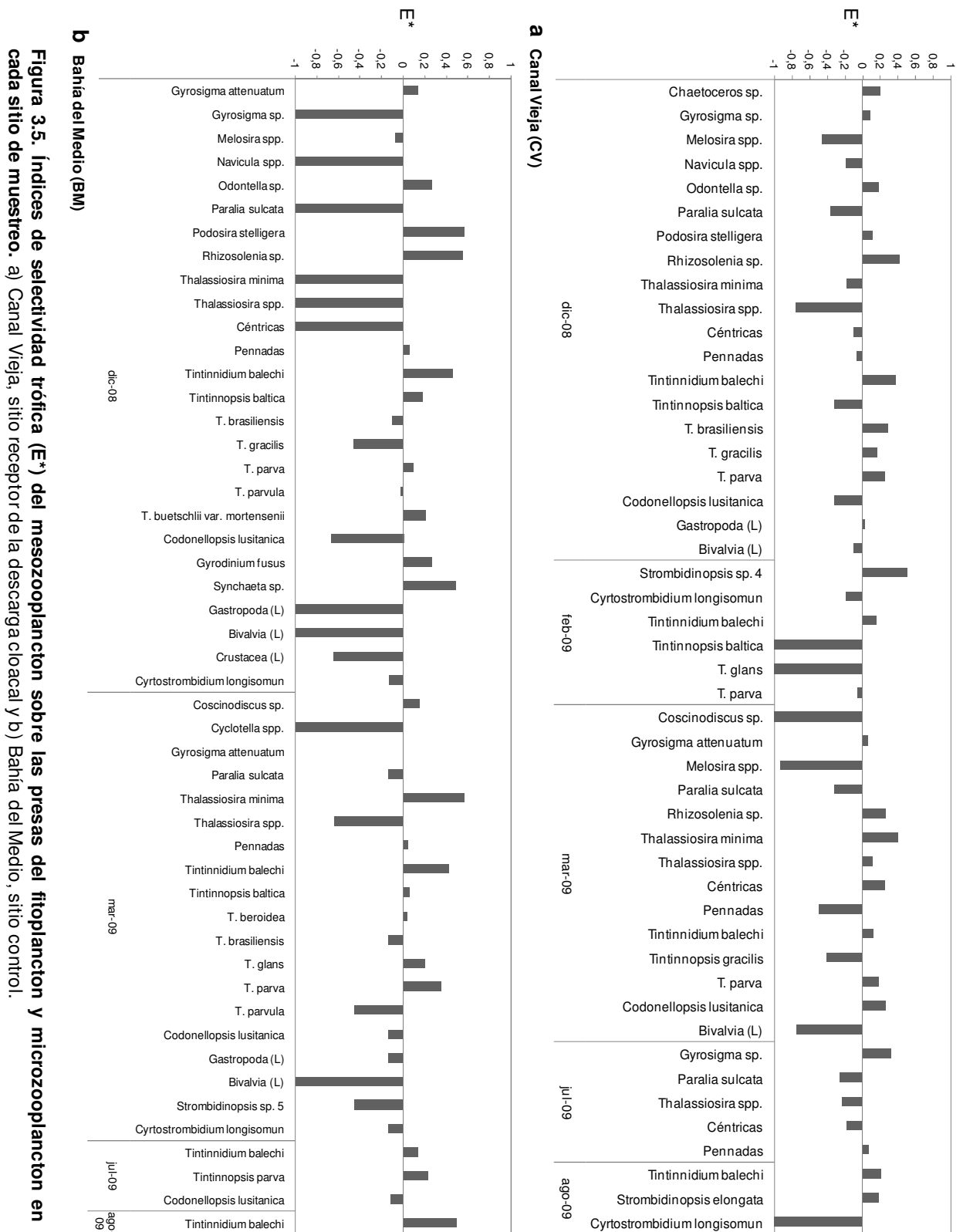


Figura 3.5. Índices de selectividad trófica (E*) del mesozooplankton sobre las presas del fitoplankton y microzooplankton en cada sitio de muestreo. a) Canal Vieja, sitio receptor de la descarga cloacal y b) Bahía del Medio, sitio control.

En BM, el mesozooplancton mostró una selección positiva sobre los tintínidos *T. balechi*, *T. parva*, las diatomeas *Rhizosolenia* sp., *Podosira stelligera*, *Odontella* sp., el rotífero *Synchaeta* sp. y el dinoflagelado *Gyrodinium fusus*, entre otros (Fig. 3.5b). Las presas evitadas o no consumidas fueron las diatomeas *P. sulcata*, *Navicula* spp., *Cyclotella* spp., los tintínidos *Tintinnopsis parvula*, *Tintinnopsis brasiliensis*, *C. lusitanica*, el aloricado *C. longisomun* y las larvas de Gastropoda y Bivalvia (Fig. 3.5b). La selectividad sobre la diatomea *T. minima* fue variable (evitada en diciembre y seleccionada en marzo) y los mayores valores detectados de selectividad fueron sobre esta diatomea ($E^* = 0,5624$) y sobre *P. stelligera* ($E^* = 0,560$ Fig. 3.5b)

3.4. Discusión

3.4.1. Aplicación del método de remoción de partículas, condiciones ambientales de la experimentación y composición de los consumidores

Uno de los potenciales “efectos botella” del método se debe a las condiciones de confinamiento del mesozooplancton y al aumento artificial de la densidad de éste en comparación con la densidad natural (Bamstedt *et al.* 2000, Nejstgaard *et al.* 2001). Este mismo efecto ha sido señalado en trabajos en los que se emplearon métodos de incubación *in situ* (Bamstedt *et al.* 2000, Schwamborn *et al.* 2004) y debe tenerse en cuenta una posible subestimación de las tasas de alimentación debido al efecto mencionado. Sin embargo, una concentración de consumidores elevada, por encima de la natural, es necesaria para producir un consumo detectable en un período de 24 h (Schwamborn *et al.* 2004). A pesar de los recaudos tomados en esta tesis (arrastrés de corta duración), la densidad del mesozooplancton en las botellas Experimentales fue en promedio aproximadamente 700 veces mayor que la densidad registrada *in situ*. La mayor concentración forzada se registró en los experimentos llevados a cabo en el sitio control en el mes de febrero (1.000 veces mayor que la densidad registrada *in situ*), coincidiendo con el máximo de abundancia de *A. tonsa* (10.869 ind. m⁻³, Cap. 2). El hacinamiento de la gran cantidad de individuos combinado con las altas temperaturas, superiores a los 25 °C, causó la mortalidad de la totalidad de los organismos incubados en esa oportunidad. Sin embargo, en el resto de los experimentos, la mortalidad al final de la experimentación fue baja y el consumo sobre al menos una fuente de alimento fue cuantificable. La examinación con lupa del arrastre mesozooplanctónico y la selección de una determinada cantidad de individuos vivos, previas a la incubación, podrían ser una solución para regular la densidad incubada. Asimismo, la experimentación a gran escala, como los mesocosmos (volúmenes incubados superiores a 1000 litros) sería una buena alternativa para cuantificar la alimentación natural del mesozooplancton minimizando las limitaciones generadas por el confinamiento.

Si bien el patrón de consumidores fue aproximadamente similar en ambos sitios de muestreo y coincidió en términos generales con el patrón composicional típico de la comunidad mesozooplanctónica del estuario de Bahía Blanca (Hoffmeyer 1994, 2004a), se observó una marcada variación entre los sitios en los meses de diciembre y julio. La dominancia de las zoeas del decápodo *N. granulata* en el sitio receptor de la

descarga cloacal por sobre el copépodo *A. tonsa*, principal especie mesozooplanctónica del estuario esencialmente durante los meses cálidos (Hoffmeyer 1983, Sabatini 1989, Hoffmeyer 2004a) fue notoria. En julio, por otro lado, se observaron en el sitio control diversas especies de copépodos de hábitos bentónicos y otras propias de la plataforma (Ramírez 2007), concordando con lo observado por Hoffmeyer & Barría de Cao (2007).

Además de estas variaciones puntuales detectadas en la composición de los consumidores del mesozooplancton fue llamativo el bajo registro en los meses fríos del copépodo herbívoro *E. americana*. Esta especie, posiblemente introducida al estuario a través de agua de lastre a fines de los años 80 (Hoffmeyer *et al.* 2000), ha sido registrada desde entonces en forma continua como el componente numérico dominante del mesozooplancton en el período de junio a octubre (Hoffmeyer 2004b, Berasategui *et al.* 2009). Su distribución espacial abarca desde la zona más interna del estuario, donde anualmente presenta sus máximos poblacionales (abundancia de hasta 18.000 ind. m⁻³, Hoffmeyer 2007), hasta la altura de Puerto Belgrano (BNPB Fig.1.3, Cap.1) incluyendo los dos puntos de muestreo comprendidos por este trabajo de tesis (Hoffmeyer 2004b, Hoffmeyer & Barría de Cao 2007, Hoffmeyer 2007, 2008, Biancalana *et al.* 2012). Por este motivo, se esperaba observar un patrón de dominancia al menos parcial de este copépodo en los meses de invierno y junto con esta tendencia comunitaria, una clara propensión hacia el comportamiento de herbivoría en los experimentos de alimentación de ese período. Aunque la explicación de la dinámica poblacional de *E. americana* excede el propósito y el alcance de esta tesis, el comportamiento de la temperatura (inusualmente elevada durante el invierno abarcado por este estudio, media de 11 °C en contraposición con los 7 °C usuales) ha sido posiblemente el factor determinante del escaso desarrollo de la especie (Berasategui *et al.* 2009, 2012). La desviación estacional de la comunidad mesozooplanctónica reflejada en la composición de los consumidores incubados, aportó una fuente de variación extra en la interpretación de los resultados de los experimentos de incubación (discutidos en la subsección 3.4.4).

3.4.2. Comunidad microplanctónica en los experimentos de alimentación

Las concentraciones de clorofila *a* estuvieron dentro del rango registrado en la zona interna del estuario (Popovich *et al.* 2008a, Guinder *et al.* 2009). El patrón

fitoplanctónico siguió, en términos generales, la tendencia observada en los últimos años en el estuario (Popovich *et al.* 2008b, Guinder *et al.* 2010), con un máximo de abundancia en el invierno producido por diatomeas del género *Thalassiosira* diferentes a la históricamente dominante *T. curviseriata* (Popovich 2004, Popovich & Gayoso 1999) y una importante contribución de *T. minima* (Guinder *et al.* 2010, Guinder 2011, Guinder *et al.* 2012). *Paralia sulcata*, una especie presente a lo largo de todo el año (Popovich *et al.* 2008b, Guinder 2011), también fue relevante en este estudio contribuyendo en forma significativa a la abundancia y a la biomasa total registradas. Aunque no se observaron marcadas diferencias en la composición de especies fitoplanctónicas entre los sitios muestreados, algunas especies de hábitos ticolpelágicos o asociadas al sustrato (*e.g.* *Odontella* y *Gyrosigma* spp.) (Popovich 2004) fueron mayormente registradas en Bahía del Medio debido posiblemente a la mayor resuspensión de los sedimentos del fondo, proceso magnificado por la geomorfología de ese canal (Cuadrado *et al.* 2000, Hoffmeyer & Barría de Cao 2007). Por otro lado, ciertas condiciones ambientales en el mes de julio en Canal Vieja, tales como la menor turbidez y la mayor disponibilidad de nutrientes, particularmente de amonio (Cap. 2), pueden haber promovido el máximo crecimiento fitoplanctónico producido por diatomeas del género *Thalassiosira* concordando con la máxima concentración de clorofila *a*.

La comunidad microzooplanctónica detallada en este estudio fue coincidente con el patrón general de especies observado en la zona interna del estuario de Bahía Blanca (Pettigrosso *et al.* 1997, Barría de Cao *et al.* 2003, Pettigrosso & Barría de Cao 2004, Hoffmeyer & Barría de Cao 2007). Si bien los valores de abundancia de los ciliados aloricados estuvieron abarcados por el rango de valores previamente registrado en el sitio receptor de la descarga cloacal (Barría de Cao *et al.* 2003), se acercaron más a los valores mínimos (~ 250 ind. l^{-1}). La composición de especies de ciliados aloricados fue similar a la observada en el ciclo 1995-1996, destacándose igualmente la abundancia de los ciliados del género *Strombidinopsis* en el sitio de la descarga cloacal (Barría de Cao *et al.* 2003). Cabe señalar que a diferencia del mencionado trabajo en el que los mayores valores de abundancia de aloricados se registraron lejos de la cloaca, en el presente estudio, las mayores abundancias de estos ciliados se detectaron en el canal receptor de la descarga cloacal. El patrón estacional de abundancia y biomasa de los ciliados aloricados fue el mismo que el reportado para la zona interna del estuario (Pettigrosso & Popovich 2009), presentando las abundancias más altas en el verano y los mayores valores de biomasa en el invierno. La tendencia observada por Pettigrosso *et al.* (1997) y

Pettigrosso & Popovich (2009), que vincula los mayores valores de biomasa con los máximos fitoplanctónicos, se observó principalmente en el sitio impactado por la descarga cloacal. Es importante destacar que la biomasa de los aloricados fue siempre superior en Canal Vieja y que el mayor valor fue en agosto aportado por *S. elongata* y *Lohmanniella* sp., especies no halladas en el sitio control. Estos ciliados, que soportan un amplio rango de variación y disturbio ambiental (Urrutxurtua *et al.* 2003, Xu *et al.* 2011, Li *et al.* 2011), han sido previamente registrados en la zona interna del estuario, particularmente en el invierno (Pettigrosso 2003, Pettigrosso & Popovich 2009). La ausencia de estas especies en el sitio control y el mejor desarrollo en el canal receptor de la cloaca podrían sugerir, en este último sitio, una mejor oferta alimentaria para estos ciliados de hábitos heterotróficos y mixotróficos (Pettigrosso & Barría de Cao 2004, Pettigrosso & Popovich 2009). La mayor disponibilidad de presas pico- y nanoplanctónicas aportadas (*e.g.* bacterias heterótrofas terrestres) y favorecidas (*e.g.* bacterias heterótrofas marinas) por la descarga cloacal (Cabezalí & Burgos 1988, Baldini *et al.* 2004) apoyaría esta hipótesis. La similar variación observada en *G. fusus*, un dinoflagelado heterótrofo recientemente citado para el estuario (Barría de Cao & Piccolo 2008), cuya contribución fue particularmente relevante en Canal Vieja a principios del invierno, podría asimismo estar vinculada a estas asociaciones tróficas microbianas.

Por otro lado, la comunidad de tintínidos en ambos sitios de muestreo fue numéricamente más importante que la de ciliados aloricados, siendo las especies de los géneros *Tintinnopsis* y *Tintinnidium* las más relevantes, siguiendo la tendencia general de la comunidad microzooplanctónica del estuario (Barría de Cao *et al.* 1997, Barría de Cao *et al.* 2005). Los máximos de abundancia ocurrieron en Bahía del Medio al comienzo del verano (*T. gracilis*) y a finales del invierno, cuando *T. balechi*, la especie más conspicua de la comunidad microplanctónica, fue la única especie de tintínido registrada. Este fenómeno ocurrió en los dos sitios de muestreo junto con el incremento paulatino de la temperatura del agua, concordando con el comportamiento observado en esta especie (Barría de Cao *et al.* 2005, Hoffmeyer & Barría de Cao 2007). Como se mencionó anteriormente, el patrón de biomasa microzooplanctónica fue muy variable entre los sitios, siendo el aporte de los tintínidos mayor en el sitio control que en el sitio impactado. En Canal Vieja contribuyeron a esa diferenciación, especies comúnmente registradas a lo largo del Canal Principal del estuario, mientras que en Bahía del Medio, además de especies estuarinas típicas (Barría de Cao 1986), fueron observadas especies vinculadas a la influencia oceánica, características de

aguas externas al estuario. Este resultado coincidió con lo reportado por Hoffmeyer & Barría de Cao (2007).

3.4.3. El detrito en la dieta del mesozooplancton

El contenido de detrito en este estudio fue alto y similar a lo hallado por Diodato & Hoffmeyer (2008). Estos autores señalaron la utilización en el estuario del detrito por parte del mesozooplancton y lo sugirieron como una fuente alternativa de alimento debido a la disponibilidad y a la cantidad más que a la calidad nutritiva del mismo. Los resultados de esta tesis reafirman y refuerzan esa idea, añadiendo potenciales condicionantes al concepto de la incorporación del detrito en la dieta natural del mesozooplancton del estuario de Bahía Blanca.

El detrito es uno de los alimentos consumidos por los copépodos (Lenz 1977, Roman 1984) principalmente en los ambientes costeros (Heinle *et al.* 1977, Sautour & Castel 1993, Irigoien & Castel 1995) donde la disponibilidad del mismo en la columna de agua es alta durante todo el año.

Si bien la disponibilidad de detrito fue alta durante todo el período abarcado, el consumo de detrito fue detectado en una sola oportunidad, específicamente en Bahía del Medio en el mes de julio. Esto ocurrió en conjunto con el registro de su menor concentración, la menor concentración de microzooplancton y una asociación mesozooplanctónica diferente a la detectada en el resto de los casos, conformada principalmente por copépodos planctónicos y bentónicos. Además de la oferta alimentaria y el comportamiento trófico del mesozooplancton, la calidad y el origen del detrito también pueden condicionar su aprovechamiento y su función en la trama trófica del ecosistema (Bouillon *et al.* 2000, Chanton & Lewis 2002). Como se mencionó en la descripción del sitio de estudio, Bahía del Medio está rodeado de marismas cubiertas por *S. alterniflora*. La biomasa seca producida por las marismas del estuario es máxima durante el invierno (Negrin 2011) y debido a que la fuerza impulsora de ingreso de detrito orgánico alóctono a la columna de agua la constituyen las mareas diarias y en mayor medida, las mareas extraordinarias (Odum 2000), la contribución de materia orgánica vegetal al detrito estuarino será máximo en los meses fríos. Este proceso, además de ser favorecido por el lavado dos veces al día de las superficies de las marismas, fue promovido por las mareas extraordinarias ocurridas durante el invierno abarcado por esta tesis (ver Anexo). Se sabe que el detrito aportado por *Spartina* spp. puede ser una fuente de energía relevante para el

sostenimiento de un ecosistema (Deegan *et al.* 1990, Currin *et al.* 1995, Botto *et al.* 2011) y su incorporación a la dieta de los copépodos puede tener una fuerte regulación estacional (Maddi *et al.* 2006). La contribución de detrito derivada de la producción primaria y secundaria planctónica es seguramente importante en el estuario de Bahía Blanca y los mayores valores concuerdan con los máximos poblacionales del plancton (*e.g.* en verano cuando la productividad de *A. tonsa* es máxima, Sabatini 1987). Aún así el detrito proveniente de las plantas vasculares de las marismas también sería significativo y podría sustentar parcialmente, en períodos de escasez de otras fuentes de alimento, la trama trófica planctónica del estuario.

Mientras que el detrito de los canales de marea está fuertemente vinculado a la contribución de las marismas circundantes, principalmente en el invierno, el origen del detrito de Canal Vieja puede asociarse más estrechamente con el aporte proveniente de la descarga cloacal. La disponibilidad de detrito en Canal Vieja a lo largo del período estudiado fue alta y constante; sin embargo, su consumo por el mesozooplancton no fue detectado, por lo que la calidad del detrito propio de ese sitio (materia orgánica asociada a contaminantes biológicos y químicos, Baldini *et al.* 2004), puede estar condicionando su utilización como una fuente adicional de alimento. Para confirmar esta hipótesis, serían necesarios estudios bajo condiciones controladas que evalúen el consumo de detrito de distinto origen (incluyendo el cloacal) y la calidad nutricional en una misma comunidad mesozooplanctónica limitando la disponibilidad de otros elementos tróficos.

Durante el resto de los meses, otras fuentes de alimento como organismos microplanctónicos estuvieron disponibles en el ambiente y conformaron la dieta natural del mesozooplancton en los dos sitios estudiados.

Aunque este enfoque experimental resultó útil en la cuantificación del consumo de detrito, es necesario aclarar que la estimación de la concentración de detrito mediante la diferencia entre el carbono orgánico y las biomásas fito- y microplanctónicas puede haber sido muy imprecisa. Por un lado, las biomásas planctónicas pueden estar subestimadas debido a un posible deterioro de las muestras durante el período de almacenamiento (Stoecker *et al.* 1994, Gifford & Caron 2000, Modigh & Castaldo 2005). Por otro lado, la cuantificación del carbono orgánico particulado en las botellas incubadas también incluye el material generado a partir de la misma alimentación y de otras actividades biológicas durante el tiempo de incubación (*e.g.* *pellets* fecales), por lo que el contenido de detrito en la etapa final de la incubación (t_{24}) posiblemente esté sobreestimado. La determinación del detrito a

través de esta metodología, excluyendo los productos de la actividad biológica consecuentes de la alimentación, es prácticamente imposible en las botellas incubadas. Además, el alto contenido de carbono así estimado del detrito, de hasta cuatro órdenes de magnitud mayor que el contenido de carbono de los restantes alimentos (fitoplancton y microzooplancton) generó que las tasas de alimentación cuantificadas en términos de carbono (I, IEC y P) fueran extremadamente superiores sobre este alimento en comparación con el resto. Esto no significa que los resultados no sean válidos sino que deben interpretarse sin perder de vista una posible sobreestimación y deben ser completados con otros enfoques de estudio. El análisis bioquímico, como el de ácidos grasos (Cap. 4), puede ayudar a clarificar el consumo sobre partículas orgánicas heterogéneas, como el detrito, dilucidando así la trofodinámica planctónica de un sistema (Richoux & Froneman 2009).

3.4.4. Consumo y selectividad trófica del mesozooplancton

Las tasas de alimentación del mesozooplancton mostraron una marcada variación durante el período de estudio. Esto implicaría que la dieta del mesozooplancton del estuario presenta un fuerte condicionamiento temporal según las asociaciones mesozooplanctónicas que dominen. En términos generales, puede decirse que a pesar de la existencia de un patrón trófico heterogéneo en cuanto a las tasas de alimentación, la omnivoría fue el comportamiento trófico característico del mesozooplancton del estuario de Bahía Blanca. Este resultado concuerda con el único antecedente sobre la alimentación del mesozooplancton en el estuario (Diodato & Hoffmeyer 2008) y con la tendencia observada en el comportamiento trófico natural del zooplancton en otros sistemas costeros (Stevens *et al.* 2004, Gifford *et al.* 2007).

El consumo sobre el microzooplancton se registró en la mayoría de los casos (89 %) y los mayores valores de filtración y de presión de predación fueron determinados sobre este grupo. Estos resultados indican la importancia que los ciliados planctónicos tienen en el sostenimiento del mesozooplancton de este sistema (Diodato & Hoffmeyer 2008) y a su vez, la regulación de sus poblaciones por parte de los consumidores mesozooplanctónicos (Calbet & Saiz 2005).

El componente autotrófico también fue relevante en la alimentación del mesozooplancton. Exceptuando las tasas sobre el detrito (posiblemente sobreestimadas), las tasas de ingestión sobre el fitoplancton fueron las más altas registradas, en particular, en Canal Vieja a fines del verano y comienzos del invierno.

Es interesante destacar la selectividad trófica de las comunidades mesozooplanctónicas de esos períodos, dominada por *A. tonsa* en marzo y por larvas *nauplii* de *B. glandula* en julio. Las diatomeas *T. minima*, especie que ha mostrado en los últimos años un desarrollo considerable en el estuario (Guinder *et al.* 2010, 2012) y *Gyrosigma* sp. fueron predadas preferencialmente en cada uno de los casos, respectivamente. Si bien son necesarios estudios específicos de la alimentación de estas especies mesozooplanctónicas, este resultado es el primer indicio del consumo y de la selectividad trófica en el estuario de Bahía Blanca sobre las diatomeas mencionadas. Además, es relevante la contribución de este estudio al conocimiento del comportamiento trófico de la comunidad dominada por las zoeas de *N. granulata* y las larvas *nauplii* de *B. glandula*. Las larvas de decápodos y cirripedios constituyen presas importantes para las larvas de especies de peces y otros predadores planctónicos tanto en éste como en otros sistemas marinos (Turner 1984, López Cazorla *et al.* 2011). Sin embargo, la información disponible sobre la ecología trófica de estas larvas en los ambientes naturales, particularmente de cirripedios, es muy escasa. Los resultados de esta tesis son similares a los obtenidos por Turner *et al.* (2001) quienes evaluaron el comportamiento de alimentación de larvas *nauplii* de *Balanus* cf. *crenatus* en la bahía Disko, en la costa oeste de Groenlandia. Estos autores señalaron la preferencia trófica de las larvas *nauplii* sobre el fitoplancton y un menor consumo sobre los ciliados y dinoflagelados. En esta tesis, no se encontraron diferencias significativas en el consumo de los alimentos, pero fue registrada la alimentación y la selectividad trófica sobre el fitoplancton y el microzooplancton por parte de ambos tipos de larvas. Si bien *N. granulata* es un consumidor de restos de *Spartina* sp. y sedimentos blandos (Botto *et al.* 2005), los estadios planctónicos se alimentarían en el estuario de microalgas y ciliados. El consumo efectuado por las zoeas de *N. granulata* y por las larvas *nauplii* de *B. glandula* contribuiría en forma relevante a la regulación del microplancton facilitada asimismo por las altas abundancias que pueden alcanzar estas larvas en el estuario (Cervellini 2001, Hoffmeyer & Cervellini 2004).

El impacto ambiental vinculado a la descarga del efluente cloacal pareciera no determinar las respuestas tróficas del mesozooplancton o al menos no se observó un patrón trófico claramente diferente en la comparación con el sitio control. Los cambios en el consumo pueden explicarse por particularidades observadas en cada situación, como es el caso del experimento realizado en el mes de febrero en Canal Vieja (el que a continuación se analiza en profundidad). Sin embargo, existieron algunos indicios puntuales que podrían estar relacionados con la perturbación cloacal. El consumo

diferencial de detrito, ya analizado, es uno de ellos. El crecimiento fitoplanctónico detectado en julio en Canal Vieja podría haber sido promovido por la alta concentración de nutrientes nitrogenados en ese sitio (Cap. 2), favoreciendo la predación del mesozooplancton sobre el fitoplancton, única fuente de alimento consumida en ese caso. La presión de pastoreo del mesozooplancton ejercida en ese momento, posiblemente haya regulado el crecimiento del fitoplancton (control *top-down*), como lo sugiere la baja concentración fitoplanctónica registrada en el mes siguiente a pesar del elevado contenido de nutrientes disueltos.

La significativa disminución de la concentración de clorofila *a* detectada en el experimento realizado en Canal Vieja en el mes de febrero indicó el consumo del mesozooplancton sobre componentes autotróficos. Sin embargo, este proceso no se reflejó en el patrón de concentración de fitoplancton sino que por el contrario, la concentración de las microalgas aumentó en las botellas Experimentales. El comportamiento trófico del copépodo *E. acutifrons*, el consumidor dominante en este experimento, y la limitación metodológica empleada en los recuentos, podrían explicar este resultado. *Euterpina acutifrons* conformó el 55 % de los consumidores en febrero superando en número a *A. tonsa*. Al igual que otros copépodos harpacticoides (Uye *et al.* 2002), *E. acutifrons* puede preda sobre componentes del nanoplancton (Sautour & Castel 1993, Guisande *et al.* 2000) que incluye formas autótrofas y heterótrofas pequeñas, con diámetros entre 2 y 20 μm (Sieburth *et al.* 1978). Esta fracción planctónica puede haber sido subestimada por la metodología empleada en el recuento microscópico pero su componente autotrófico fue definitivamente cuantificado al determinar la concentración de los pigmentos fotosintéticos, explicando la discrepancia entre los patrones de concentración de fitoplancton y de clorofila *a* para este experimento en particular. El incremento de la biomasa fitoplanctónica se debió principalmente al crecimiento de la diatomea *P. sulcata*, manteniéndose el resto de las especies fitoplanctónicas en valores aproximadamente constantes. Esta especie fue evitada o no consumida por el mesozooplancton permitiendo de esta forma su multiplicación durante el período de incubación y su dominancia en las botellas Experimentales, resultado coincidente con lo hallado por Diodato & Hoffmeyer (2008). La forma rígida de la cadena de paredes silíceas gruesas y resistentes, el tamaño celular (de 8 a 90 μm de diámetro) y la elevada complejidad estructural de las valvas de *P. sulcata* (Crawford 1979, Roelofs 1984) dificultarían la asimilación de esta diatomea por parte del zooplancton herbívoro presente en el experimento.

Además de la clorofila *a*, el consumo de microzooplancton también fue detectado en este experimento con menores tasas de alimentación coincidiendo con

una menor abundancia de los consumidores carnívoros u omnívoros. El copépodo *A. tonsa*, segundo consumidor en importancia numérica en febrero en Canal Vieja, es considerado una especie omnívora de acuerdo con las características morfológicas de la mandíbula y las maxilas (Hoffmeyer 1987, Hoffmeyer & Prado Figueroa 1997, Giesecke & González 2004), aunque con cierta tendencia a la carnivoría (Giesecke & González 2004). Este copépodo presenta un comportamiento trófico muy versátil pudiendo alternar entre la filtración suspensívora, un modo pasivo de alimentación, a la predación raptorial, captura y selección activa de las presas (Jonsson & Tiselius 1990, Jeong 1994, Kiorboe *et al.* 1996). Existe mucha bibliografía que documenta el amplio espectro de presas y el consumo oportunista de *A. tonsa*, aunque con cierta predación preferencial sobre los componentes del microzooplancton como los tintínidos y los ciliados desnudos (Gifford & Dagg 1988, Tiselius 1989, Saiz & Kierboe 1995, Siuda & Dam 2010). Ciertamente, los ciliados del género *Strombidinopsis* fueron las principales presas microzooplanctónicas en este experimento en particular. En coincidencia, estos ciliados fueron positivamente seleccionados por el mesozooplancton alcanzando incluso el mayor índice de selectividad registrado.

3.5. Conclusiones

El enfoque experimental desarrollado en este capítulo permitió profundizar el conocimiento de la trofodinámica planctónica del estuario de Bahía Blanca.

El impacto ambiental vinculado a la descarga cloacal no pareció ser un condicionante categórico del comportamiento trófico del mesozooplancton, aunque se detectaron algunos indicios posiblemente relacionados con su influencia. La variación temporal en la alimentación reflejó la dinámica temporal natural de la comunidad mesozooplanctónica del estuario.

El mesozooplancton del estuario presentó una dieta generalista que abarcó colectivamente todas las fracciones alimentarias consideradas (fitoplancton, microzooplancton y detrito). Esto se observó particularmente en el sitio control, donde el detrito proveniente de las marismas adyacentes (*Spartina alterniflora*) fue incorporado en la dieta del mesozooplancton junto con presas del microzooplancton.

El microzooplancton fue la fracción alimentaria preferencial del mesozooplancton en los dos sitios de muestreo, indicando la importancia que tiene este grupo en el mantenimiento de la comunidad mesozooplanctónica. La fuerte presión de predación sugiere la regulación *top-down* del microzooplancton del estuario. El fitoplancton representó una fuente de alimentación altamente disponible y contribuyó en forma importante a la dieta del mesozooplancton.

La versatilidad en el comportamiento trófico del mesozooplancton del estuario y la disponibilidad de alimentos procedentes de diversas fuentes, parecen ser la clave en el mantenimiento y desarrollo del mesozooplancton en un ecosistema altamente variable en términos ambientales, como el estuario de Bahía Blanca.

Estudios experimentales a gran escala (*e.g.* mesocosmos) de las asociaciones naturales del estuario deben ser realizados para confirmar y completar estos resultados, minimizando las limitaciones que conlleva la incubación en un volumen pequeño.

Capítulo 4

Análisis de los ácidos grasos del plancton

4.1. Introducción

En los ecosistemas acuáticos los lípidos son considerados los factores nutricionales por excelencia que afectan el *fitness* de los organismos (Müller-Navarra *et al.* 2000). Debido a su alto contenido energético (ca. 39 kJ g⁻¹), los lípidos resultan más ventajosos frente a las proteínas y los carbohidratos (ambos ca. 17-18 kJ g⁻¹) sustentando las vías tróficas de un sistema (Lee *et al.* 1971, Kattner & Hagen 2009) y suministrando energía y componentes esenciales para el funcionamiento metabólico general, el crecimiento somático, la supervivencia, la reproducción, la flotabilidad y la inmunocompetencia de los organismos (Lee *et al.* 2006, Kattner *et al.* 2007).

Los lípidos comprenden un gran grupo de biomoléculas estructuralmente heterogéneas y contienen, la mayoría de ellos, ésteres de ácidos grasos en su estructura molecular. Los ácidos grasos consisten en cadenas de 12 a 24 átomos de carbono con 0 a 6 dobles enlaces, con un grupo metilo (-CH₃) en un extremo de la cadena y un grupo polar carboxilo (-COOH) en el otro (Fig. 4.1). La nomenclatura adoptada especifica esta información estructural mencionando en primer lugar la longitud de la cadena, es decir, el número de átomos de carbono, seguido por la cantidad de dobles enlaces y la posición del primer doble enlace en relación al grupo metilo terminal. La insaturación de los ácidos grasos está determinada por la cantidad de dobles enlaces que contienen, mientras menor es el número de dobles enlaces, mayor es la saturación y la rigidez estructural (Iverson 2009). Aquellos que presentan dos o más dobles enlaces se denominan *PUFA* (*polyunsaturated fatty acids*); *MUFA* (*monounsaturated fatty acids*) si tienen solamente un doble enlace y *SFA* (*saturated fatty acids*) si son completamente saturados, es decir, no contienen dobles enlaces en su cadena carbonada. Una alternativa a los dobles enlaces son las ramificaciones. Si

bien los ácidos grasos lineales son los más abundantes también pueden encontrarse ácidos grasos ramificados, muy significativos en bacterias, con grupos metilo en el penúltimo (ramificaciones terminales “iso”, i) y antepenúltimo (“anteiso”, a) carbono (Kaneda 1991). En estos casos, la posición del metilo se indica en la nomenclatura adoptada anteponiendo la “i” o la “a” al número de átomos de carbono (Fig. 4.1).

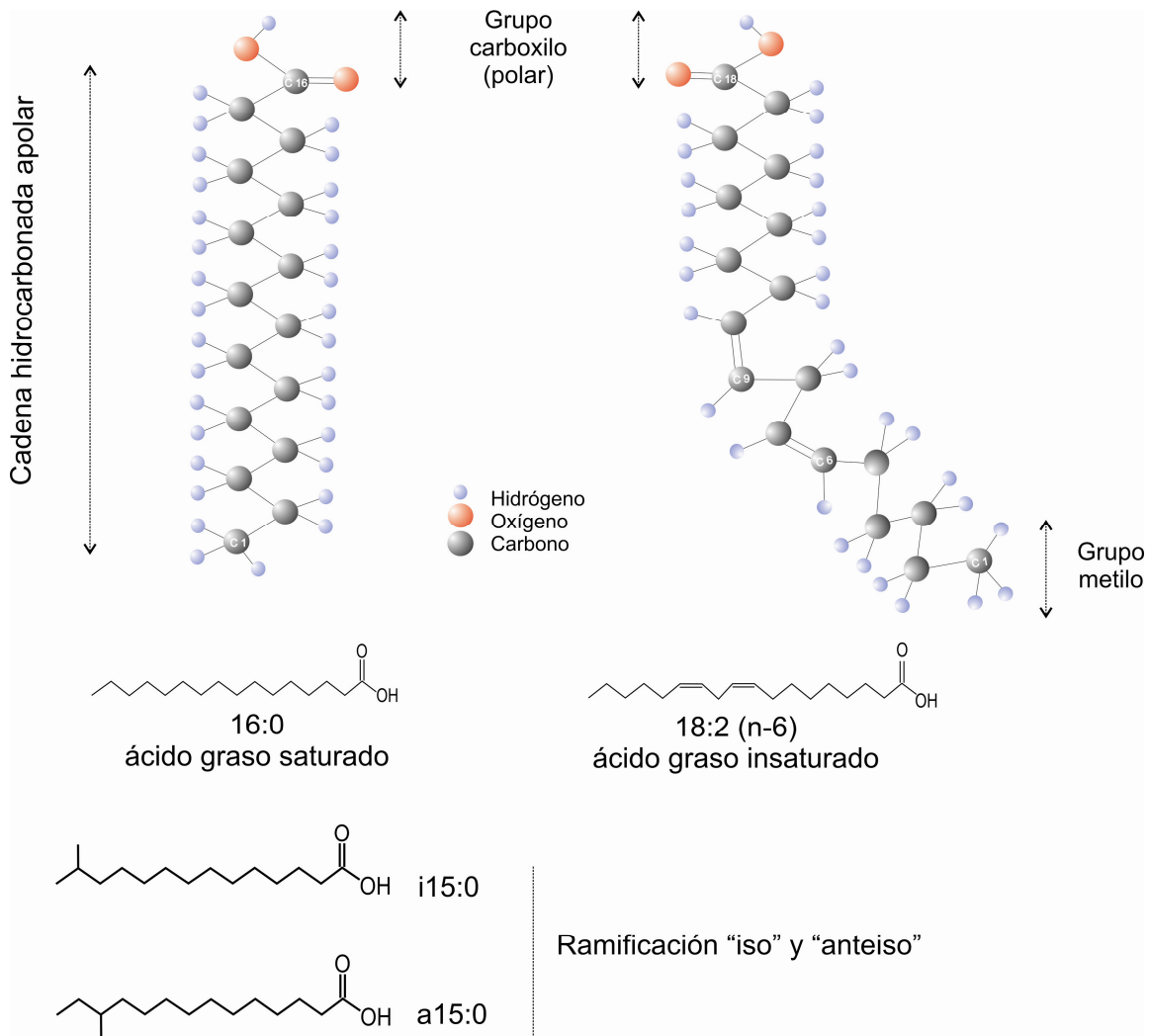


Figura 4.1. Estructura de los ácidos grasos. Se esquematizan el ácido graso saturado 16:0 (ácido palmítico), el ácido insaturado 18:2(n-6) (ácido linoleico) y los marcadores bacterianos i y a 15:0 con sus correspondientes ramificaciones.

Ciertas características de biosíntesis y de almacenamiento que poseen los ácidos grasos los convierten en marcadores adecuados de las dietas de los organismos

y de la estructura de las redes tróficas marinas (Iverson 2009). La especificidad de algunos ácidos grasos combinada con la transferencia conservativa a través de las redes tróficas ha permitido su utilización como biomarcadores tróficos dando lugar al enfoque conceptual denominado *Fatty Acid Trophic Markers (FATM)*, ácidos grasos marcadores tróficos (Dalsgaard *et al.* 2003, Brett *et al.* 2009). Este enfoque ha sido exitosamente empleado para clarificar e interpretar las relaciones tróficas en distintos sistemas acuáticos (revisiones en Dalsgaard *et al.* 2003, Kelly & Scheibling 2012). Aunque los *FATM* no posibilitan la identificación a nivel de especie, proveen la posibilidad de diferenciar grandes grupos planctónicos (Kattner & Hagen 2009), muchos de los cuales han sido identificados y los componentes lipídicos asignados en la vasta literatura existente en este tema (Tabla 4.1). Además, los ácidos grasos pueden variar en respuesta a factores ambientales como la temperatura, la profundidad (Farkas & Herodek 1964, Reinhardt & Van Vleet 1986) y la estacionalidad climática (Kattner & Hagen 1995), por lo que su análisis permite inferir algunas características del nicho ecológico del organismo estudiado. Los *FATM* también pueden emplearse en la evaluación del estado de salud de un sistema identificando el origen bacteriano, marino o terrestre de la materia orgánica y el grado de impacto de fuentes terrígenas o urbanas (Volkman 1986, Seguel *et al.* 2001, Copeman & Parrish 2003).

Debido a que la acumulación y el almacenamiento lipídico son considerablemente más pronunciados en los ambientes extremos, la composición y la dinámica de los ácidos grasos de especies planctónicas han sido intensamente estudiadas en sistemas de regiones templadas y polares (Hagen & Auel 2001, Kattner & Hagen 2009). Aunque como se mencionó, el análisis lipídico y el enfoque *FATM* son herramientas muy valiosas para la comprensión de la ecología trófica acuática de un sistema, el conocimiento de estos componentes está concentrado en el Hemisferio Norte (*e.g.* Arts *et al.* 2009). En el Hemisferio Sur, particularmente en la costa Atlántica, la composición lipídica y los ácidos grasos característicos de las especies planctónicas, han sido escasamente estudiados. La inclusión de esta área geográfica es necesaria para generar una perspectiva más completa de la dinámica trófica planctónica en sistemas marinos de distintas latitudes y sometidos a diferentes tipos de impactos naturales y antropogénicos, que permita realizar comparaciones de carácter global. En Argentina, se ha realizado solamente un trabajo de investigación sobre la composición de ácidos grasos de algunos grupos planctónicos en su ambiente natural (estuario de Bahía Blanca, Napolitano *et al.* 1997).

Tabla 4.1. Ácidos grasos marcadores tróficos utilizados en esta tesis y sus referencias.

Biomarcador	Fuente/Indicador de	Referencia
i15:0 a15:0 i+a15:0/15:0 > 1 i17:0	bacteria	Volkman <i>et al.</i> 1980, White <i>et al.</i> 1980, Morris <i>et al.</i> 1985, Wakeham & Beier 1991, Kaneda 1991, Boschker <i>et al.</i> 1999
16:1(n-7) 16:4(n-1) 20:4(n-6) 20:5(n-3) 16:0/16:1(n-7) < 1 20:5(n:3)/22:6(n-3) > 1	microalgas, diatomeas, herbivoría	Kattner <i>et al.</i> 1983, Sargent <i>et al.</i> 1985, Volkman <i>et al.</i> 1989, Mayzaud <i>et al.</i> 1990, Viso & Marty 1993, Dunstan <i>et al.</i> 1994, Zhukova & Aizdaicher 1995, Parrish <i>et al.</i> 1995, Canuel <i>et al.</i> 1995, Kattner & Hagen 1995, Stübing & Hagen 2003, Scholz & Liebezeit 2012
22:6(n-3) 18:4(n-3)	zooflagelados, dinoflagelados, protozoos	Nichols <i>et al.</i> 1984, Viso & Marty 1993, Zhukova & Kharlamenko 1999, Graeve <i>et al.</i> 1994a, Napolitano <i>et al.</i> 1997, Mansour <i>et al.</i> 1999, Falk-Petersen <i>et al.</i> 2000, Stübing
18:2(n-6) 18:2(n-6)+18:3(n-3) > 2,5	terrestre, plantas vasculares	Budge & Parrish 1998, Napolitano <i>et al.</i> 1997, Canuel <i>et al.</i> 1995, 1997, Budge <i>et al.</i> 2001
18:1(n-9) 18:1(n-7)/18:1(n-9) < 1	metazoos, omivoría, carnivoría	Kattner <i>et al.</i> 1983, Sargent & Henderson 1986, Kattner <i>et al.</i> 2003, Graeve <i>et al.</i> 1994b, 1997, Falk-Petersen <i>et al.</i> 1990, 2000
22:5(n-3)	sedimentos marinos	Budge <i>et al.</i> 2001

4.2. Hipótesis y objetivos

Este capítulo se centra en la caracterización, a través de la composición de los ácidos grasos, de distintas fracciones del plancton (material particulado en suspensión – MPS-, microplancton y mesozooplancton) del estuario de Bahía Blanca con la finalidad de complementar y verificar la información brindada por la experimentación. Se compararon las fracciones planctónicas entre los dos sitios y los dos períodos abarcados por esta tesis y detallados en el Capítulo 1. En el marco de los antecedentes planteados se pretendió testear las siguientes hipótesis

El MPS del estuario se caracteriza por la dominancia de ácidos grasos saturados (16:0 y 18:0), los que también contribuyen en forma relevante a las demás fracciones del plancton debido a la naturaleza turbia y dinámica de este estuario. En el microplancton, los ácidos grasos característicos de diatomeas y de protozoos [20:5(n-3) y 22:6(n-3) respectivamente] conforman esta fracción, siendo la contribución de las diatomeas mayor en el invierno y superior a la de los protozoos. A su vez, el mesozooplancton consiste en ácidos grasos marcadores de diatomeas, protozoos y de aquellos vinculados a detrito o a aporte terrestre (particularmente los ácidos grasos C₁₈).

A pesar de que los organismos planctónicos de regiones templadas no acumulan grandes cantidades de lípidos en comparación con aquellos que habitan en altas latitudes, la estacionalidad climática de la región es lo suficientemente marcada como para producir una variación en la composición de ácidos grasos de los principales grupos planctónicos del estuario.

Las fracciones colectadas en Canal Vieja, en especial el material particulado, presentan ciertos ácidos grasos característicos de bacterias y material alóctono, consecuencia de la influencia de la descarga cloacal en este ambiente, no encontrándose estos ácidos grasos en forma considerable en aquellas fracciones extraídas de Bahía del Medio.

Los objetivos consistieron en:

(i) Caracterizar las fracciones planctónicas de acuerdo con la composición de ácidos grasos presentes en las mismas.

(ii) Analizar y comparar la composición de ácidos grasos de las fracciones planctónicas en dos estaciones del año y en dos sitios de muestreo con diferente nivel de perturbación antrópica.

(iii) Determinar variaciones espaciales y temporales en la composición de ácidos grasos de cada fracción planctónica analizada.

(iv) Identificar marcadores tróficos (FATM) y/o indicadores de impacto antropogénico de acuerdo con las referencias disponibles.

4.3. Materiales y métodos

4.3.1. Área de estudio

El área de estudio y los sitios de muestreo fueron los mismos que en los demás estudios desarrollados en esta tesis y están detallados en el Capítulo 1.

4.3.2. Diseño de muestreo

Con el propósito de testear las hipótesis planteadas se recolectaron muestras de plancton en los dos sitios de muestreo mencionados, en 21 de las 35 campañas de campo realizadas en esta tesis. Los muestreos abarcaron julio y diciembre del año 2008 y los meses de febrero, marzo, julio y agosto de los años 2009 y 2010. Las fechas de las campañas se detallan en la Tabla I del Anexo.

4.3.2.1. Trabajos de campo

El material se recolectó mediante arrastres a 2 nudos de velocidad usando redes de plancton con diferente tamaño de malla. Los muestreos se realizaron en horas diurnas en marea bajante siguiendo la misma metodología en cada campaña en ambos sitios de muestreo y utilizando las embarcaciones institucionales IADO III “Buen Día Señor” e IADO IV. Para la obtención de MPS se recolectó 1 litro de agua subsuperficial utilizando una botella plástica previamente enjuagada con agua del lugar. La fracción microplanctónica (fitoplancton + microzooplancton, señalada como Fito/Micro) se recolectó mediante un arrastre de 3 minutos, con una red de 20 μm de poro. Para la recolección del mesozooplancton (Meso) se usó el mismo método descrito en la subsección 2.2.1.1 del Capítulo 2, aunque el arrastre fue de 5 minutos para lograr una mayor captura de organismos. Cada una de las muestras de plancton fue colocada en recipientes plásticos de 5 litros de capacidad previamente enjuagados con agua del lugar y mantenidas en conservadoras hasta su posterior procesamiento en el laboratorio.

Para complementar la información resultante del análisis de los ácidos grasos y obtener datos sobre la composición del detrito aportado por los espartillares, el 7 de octubre de 2011 se recolectaron dos muestras de hojas secas extraídas de *S. alterniflora* de la zona interna del estuario de Bahía Blanca (Balneario Maldonado, 38° 44' 07"S - 62° 19' 05" O). Este material fue procesado y analizado al igual que las muestras de plancton.

4.3.2.2. Trabajos de laboratorio

Cada muestra se filtró con vacío suave a través de filtros *GF/F* previamente muflados. En el caso del MPS, se filtró un volumen de entre 250 y 500 ml, mientras que las muestras micro- y mesoplanctónicas fueron filtradas en su totalidad o bien hasta que se colmató el filtro. Los filtros conteniendo las muestras se colocaron en viales de vidrio de 10 ml, previamente lavados con detergente no iónico y muflados e inmediatamente se almacenaron en el *freezer* (-18 °C). Aquellas muestras (muestreo 2010) empleadas para obtener una referencia cuantitativa (μg de ácidos grasos mg de muestra seca^{-1}), fueron liofilizadas con el fin de deshidratarlas preservando la estructura molecular. Luego fueron pesadas en una balanza analítica. Finalmente, a todos los viales se les incorporó diclorometano:metanol 2:1 (v/v) hasta cubrir totalmente cada muestra depositada cerrándolos bajo N_2 suave. Estos viales se mantuvieron en el *freezer* hasta su posterior análisis.

Originalmente se contó con un tamaño muestral de diez (cinco muestras de verano y cinco de invierno) para cada fracción planctónica de cada sitio. Debido a una falla en el proceso de liofilización, algunas de las muestras destinadas, además de a la cualificación, a la cuantificación del contenido lipídico se arruinaron durante este proceso. Parte del material quedó en las paredes del liofilizador o se mezcló con material proveniente de otras muestras, de manera que no pudieron ser utilizadas para el análisis cuantitativo de ácidos grasos. Por la razón mencionada, de las cuatro muestras de 2010 de MPS, Fito/Micro y Meso para cada sitio (dos de verano y dos de invierno) se perdió una muestra de invierno de MPS de CV, una muestra de verano de MPS de los dos sitios, una muestra de verano de Fito/Micro de CV y de las muestras de Meso solamente una muestra de verano de cada sitio pudieron ser utilizadas para la cuantificación. Sin embargo, algunas muestras de Meso (marzo 2010 de BM y julio 2010 de CV y BM) fueron igualmente analizadas cualitativamente (composición porcentual de ácidos grasos) con el fin último de descartarlas en el caso de que los cromatogramas fueran defectuosos. En resumen, para el análisis cualitativo, se contó con un tamaño muestral de 17 muestras de MPS, 19 de Fito/Micro y 17 de Meso; mientras que para el análisis cuantitativo, 5 de MPS, 7 de Fito/Micro y 2 de Meso.

El procesamiento lipídico consistió en primer lugar, en la adición a cada vial conteniendo la muestra y el solvente de entre 30 y 150 μl de tricosenoato de metilo 23:0 ($1,21 \text{ mg ml}^{-1}$) como estándar interno para la determinación cuantitativa de los ácidos grasos totales. La cantidad de estándar agregado dependió de la estimación visual (por la coloración) del contenido de grasas de cada una de las muestras; a mayor contenido de

grasa, mayor cantidad de estándar. Luego, las muestras fueron homogeneizadas utilizando un homogeneizador Ultra-Turrax® y filtradas con vacío suave a través de filtros GF/F previamente muflados separando así la fase líquida, conteniendo el extracto, del material sólido. La extracción lipídica se realizó según Folch *et al.* (1957) modificado ya que se empleó diclorometano en lugar de cloroformo. Después, previo secado suave bajo N₂, se determinó gravimétricamente el contenido lipídico de las muestras. A continuación, para conferirles una mayor volatilidad que facilite la examinación cromatográfica, los lípidos fueron hidrolizados y transesterificados en metanol conteniendo 3 % de ácido sulfúrico durante un período de 4 h a 80 °C (Kattner & Fricke 1986). Se obtuvieron así los metilésteres de los ácidos grasos (*Fatty Acid Methyl Esters, FAME*) que son los compuestos resueltos por cromatografía. Los *FAME* fueron extraídos con hexano y analizados mediante cromatografía gaseosa utilizando un cromatógrafo Hewlett Packard® 6890 equipado con una columna capilar DB-FFAP (30 m de longitud, 0,25 mm de diámetro interno y 0,25 µm de espesor de film), utilizando el programa de temperatura propuesto por Kattner & Fricke (1986) y helio como gas portador. Los *FAME* fueron determinados por ionización de llama e identificados por comparación de sus tiempos de retención con los de una mezcla estándar. La composición de los ácidos grasos fue calculada como porcentaje del área del pico en relación con la sumatoria de áreas de todos los ácidos grasos detectados. Los picos de cada cromatograma fueron cuidadosamente chequeados y corregidos en el caso de detectarse un error en la identificación del ácido graso. Cada diez muestras analizadas, se realizó un blanco con el fin de detectar posibles ácidos grasos no pertenecientes a la muestra y causados por contaminación durante el proceso analítico.

4.3.3. Análisis estadístico

Para caracterizar cada fracción planctónica estudiada se graficó la composición porcentual de aquellos ácidos grasos que representaron un 1 % o más del contenido total de ácidos grasos. Las muestras de cada fracción se agruparon independientemente del sitio y del período estudiado con el fin de caracterizar las fracciones de plancton de este sistema estuarino, visualizar gráficamente la composición de cada una de ellas y comparar entre sí los principales ácidos grasos según su contribución. El contenido total de ácidos grasos saturados (*SFA*), monoinsaturados (*MUFA*) y poliinsaturados (*PUFA*), expresado en porcentaje, fue también comparado entre las fracciones planctónicas analizadas. Debido a la similitud general en el perfil composicional de las distintas fracciones en los años abarcados, las muestras recolectadas en el verano y el invierno correspondientes a los años mencionados en la sección 4.3.2 fueron consideradas réplicas.

Con el fin de determinar variaciones en la composición de ácidos grasos entre los sitios y entre los períodos dentro de cada fracción planctónica, se realizaron ANOVA considerando la mayoría de los ácidos grasos detectados (concentración $\geq 0,1$ % del total de ácidos grasos) incluyendo los biomarcadores de bacterias (Tabla 4.1). Se analizó primero la existencia de interacción entre los factores (sitio x período) y aquellos ácidos grasos que presentaron interacción significativa ($p < 0,05$) fueron comparados entre todos los niveles de los factores. Los ácidos grasos que no mostraron interacción significativa ($p > 0,05$) fueron comparados entre los niveles de cada factor por separado (CV vs BM, verano vs invierno).

En todos los casos, las comparaciones de medias fueron realizadas con ANOVA seguido del test *LSD* de Fisher (*Least Significant Difference*), luego de chequear los supuestos de normalidad y homoscedasticidad (Levene 1960, Shapiro & Wilk 1965, Conover *et al.* 1981). En el caso de no cumplirse los supuestos para el ANOVA, los datos fueron transformados mediante arcoseno (Sokal & Rohlf 1999). El nivel de significación fue de 0,05. El *software* estadístico utilizado fue INFOSTAT® (versión libre, <http://www.infostat.com.ar>).

El análisis multivariado fue realizado sobre la composición porcentual de ácidos grasos de todas las muestras (concentración ≥ 1 % del total de ácidos grasos detectados en cada muestra) utilizando el software PRIMER-E® 5. Siguiendo los enfoques empleados por Howell *et al.* (2003) y Cook *et al.* (2010), los datos de composición no fueron transformados para evitar, mediante la transformación, una atribución artificial y excesiva a los ácidos grasos que presentaron una baja contribución al perfil de la muestra. Este conjunto de datos fue convertido en una matriz de similitud utilizando el índice de Bray-Curtis. Se realizaron *MDS* con el fin de visualizar los datos y hallar patrones definidos de acuerdo con el tipo de muestra, los sitios y los períodos. Un análisis de similitud porcentual (*SIMPER*) fue realizado para detectar los ácidos grasos que más contribuyeron a cada fracción, sitio y período estudiado. Se aplicó un análisis de similitud (*ANOSIM*) entre los grupos para detectar diferencias globales entre ellos (Clarke & Warwick 1994).

4.4. Resultados

4.4.1. Contenido lipídico de las fracciones de plancton

El MPS presentó en promedio un contenido lipídico de 5,50 μg de ácidos grasos por mg de peso seco (0,55 % del peso seco de la muestra). En la fracción microplanctónica se registraron 2,85 $\mu\text{g mg}^{-1}$ (0,28 %), mientras que se determinaron en promedio 23,35 μg de ácidos grasos por mg de muestra mesozooplanctónica (2,33 %).

4.4.2. Composición de ácidos grasos de las fracciones de plancton

En la Fig. 4.2 se representa la contribución relativa de los ácidos grasos registrados en porcentajes mayores o iguales al 1 % del perfil graso de las fracciones planctónicas estudiadas. El MPS se caracterizó por un menor contenido de ácidos grasos poliinsaturados (*PUFA*) y un alto contenido de ácidos grasos saturados (*SFA*) en relación con las demás fracciones planctónicas (ANOVA test *LSD* $p < 0,05$ Fig. 4.3), entre los que se destacaron los ácidos grasos 16:0 y 18:0 que presentaron niveles significativamente mayores que en el resto de las fracciones (ANOVA test *LSD* test $p < 0,05$ Fig. 4.2.). A éstos los siguió en importancia el ácido graso monoinsaturado (*MUFA*) 18:1(n-9) (Fig. 4.2). Estos tres ácidos grasos constituyeron el 65 % (29 %, 25 % y 11 %, respectivamente) de la totalidad de los ácidos grasos registrados en el MPS y contribuyeron con el 73,8 % al promedio de similitud dentro de esta fracción planctónica (Tabla 4.2).

En el microplancton, los principales ácidos grasos detectados fueron los *SFA* 16:0 y 18:0, los *MUFA* 16:1(n-7) y 18:1(n-9) y el *PUFA* 20:5(n-3) (Fig. 4.2). Estos ácidos grasos representaron el 72 % del total y, exceptuando el 18:1(n-9), todos los demás fueron señalados por el *SIMPER* como los que contribuyeron con un 10 % o más al promedio de similitud dentro de esta fracción planctónica (Tabla 4.2). El contenido del 16:1(n-7) en el microplancton fue significativamente mayor que en el resto de las fracciones del plancton (ANOVA test *LSD* $p < 0,05$ Fig. 4.2).

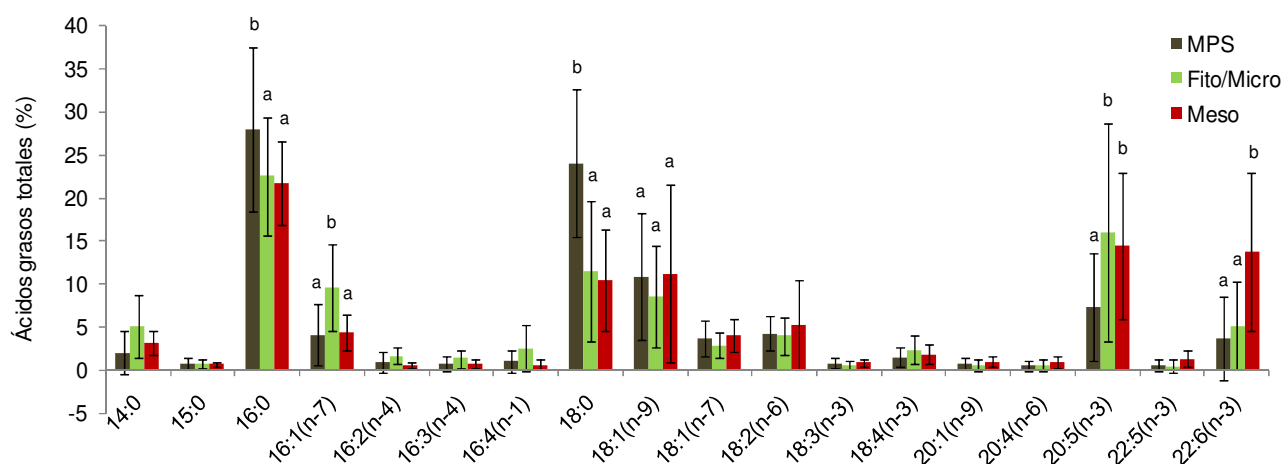


Figura 4.2. Composición porcentual media de ácidos grasos en el material particulado en el MPS, el Fito/Micro y el Meso. Las barras de error representan el desvío estándar. Se representaron los ácidos grasos cuya contribución al total de ácidos grasos registrados fue ≥ 1 %. Los principales ácidos grasos (≥ 10 %) fueron comparados entre las fracciones mediante ANOVA y test *LSD*. Letras asignadas alfabéticamente de menor a mayor media, medias que comparten alguna letra no difieren al 5 %. MPS (material particulado en suspensión): $n = 17$, Fito/Micro (fracción microplanctónica): $n = 19$, Meso (fracción mesozooplanctónica): $n = 17$.

El mesozooplancton presentó una composición de ácidos grasos similar a la del microplancton (Tabla 4.2, Figs. 4.2 y 4.3) aunque se caracterizó por un alto contenido del *PUFA* 22:6(n-3), con niveles significativamente mayores que en el resto de las fracciones planctónicas (ANOVA test *LSD* $p < 0,05$ Fig. 4.3).

El contenido de los *PUFA* totales y particularmente de 20:5(n-3), fue significativamente mayor en el microplancton y en el mesozooplancton con respecto al contenido determinado en el MPS (ANOVA test *LSD* $p < 0,05$ Fig. 4.3).

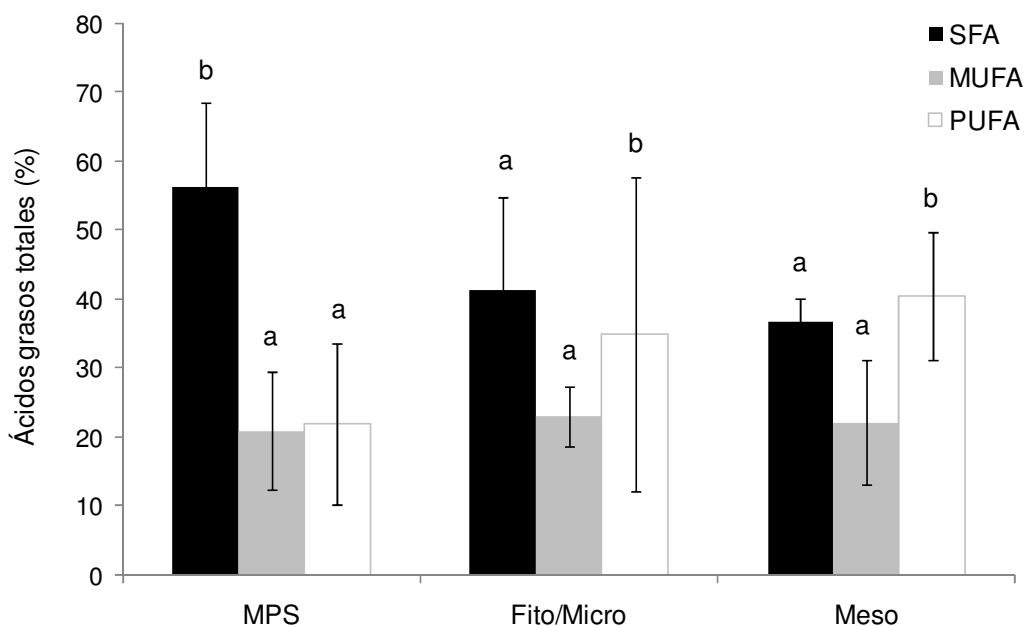


Figura 4.3. Contenido porcentual medio de SFA, MUFA y PUFA en el material particulado en suspensión, el microplancton y el mesozooplancton. Las barras de error representan el desvío estándar. Los grupos de ácidos grasos fueron comparados entre las fracciones de plancton mediante ANOVA y test *LSD*. Letras asignadas alfabéticamente de menor a mayor media, medias que comparten alguna letra no difieren al 5 %. MPS (material particulado en suspensión): $n = 17$, Fito/Micro (fracción microplanctónica): $n = 19$, Meso (fracción mesozooplanctónica): $n = 17$. SFA = ácidos grasos saturados, MUFA = ácidos grasos monoinsaturados, PUFA = ácidos grasos poliinsaturados.

Aunque con un *R* muy bajo, el MPS, el microplancton y el mesozooplancton fueron significativamente diferentes entre sí en la composición global de ácidos grasos debido principalmente a la contribución diferencial de los ácidos grasos que caracterizaron cada fracción (*ANOSIM* $p < 0,05$ Tabla 4.3).

El método *MDS* arrojó un arreglo con escasa diferenciación en la ordenación espacial de los grupos y con un buen ajuste (*stress* = 0,12). De manera general, se pueden visualizar ordenaciones más definidas en grupos, como por ejemplo los dos subgrupos del mesozooplancton correspondientes al verano (agrupación formada en la parte superior derecho de la Fig. 4.4a) y al invierno (agrupación formada en la parte inferior izquierda de la Fig. 4.4a). Su disposición espacial estuvo comprendida entre las otras dos fracciones del plancton, es decir, entre las ordenaciones correspondientes al MPS y el Fito/Micro (Fig. 4.4a). Los arreglos espaciales considerando como factor de diferenciación a los sitios (Fig. 4.4b) y a los períodos (Fig. 4.4c) mostraron un patrón

poco definido aunque se observa una tendencia a la agrupación levemente mayor del conjunto CV y del grupo de verano. Los puntos correspondientes al grupo *S. alterniflora* se ordenaron cerca de la agrupación del mesozooplancton del invierno (Fig. 4.4a y c) y de la correspondiente a la descarga cloacal (Fig. 4.4b).

→ **Figura 4.4. Representación del análisis de escalamiento multidimensional no métrico (MDS) considerando a) las muestras, b) los sitios y c) los períodos estudiados.** MPS: n = 17, Fito/Micro: n = 19, Meso: n = 17, *S. alterniflora*: n = 2; CV: n = 25, BM: n = 28, verano: n = 26, invierno: n = 27.

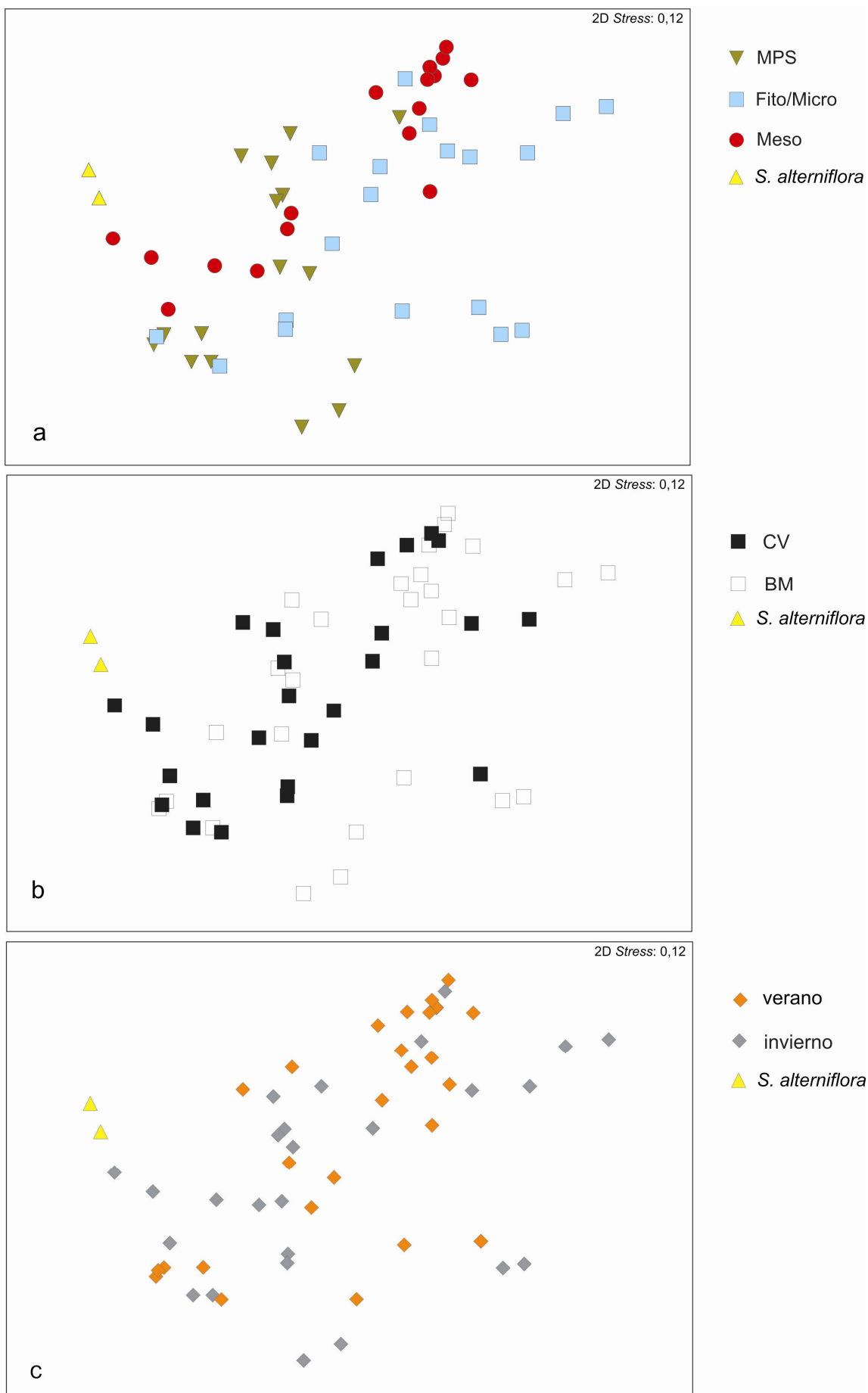


Tabla 4.2. Análisis de similitud SIMPER para cada grupo considerado.

Grupo	Prom. Simil.	SIMPER
		AG - % Contrib.
MPS	68,93	16:0 - 34,70; 18:0 - 29,02; 18:1(n-9) - 10,06
Fito/Microplancton	64,75	16:0 -30,10 ; 20:5(n-3) - 13,88; 18:0 - 11,85; 16:1(n-7) - 11,02
Mesozooplancton	68,32	16:0 - 28,93; 20:5(n-3) - 14,37; 22:6(n-3) - 12,64; 18:0 - 11,22
CV	66,40	16:0 - 30,64; 18:0 -17,25; 18:1(n-9) - 14,17
BM	62,69	16:0 - 33,79; 18:0 - 14,39; 20:5(n-3) - 13,58
Verano	66,80	16:0 - 31,60; 18:0 - 15,19; 18:1(n-9) - 11,95
Invierno	62,13	16:0 - 33,10; 18:0 - 16,41; 18:1(n-9) - 11,86; 20:5(n-3) - 10,53

Se detallan el promedio de similitud (Prom. Simil.) obtenido para cada grupo y los ácidos grasos (AG) junto al porcentaje de contribución ($\geq 10\%$) de cada uno de ellos al promedio de similitud. MPS: material particulado en suspensión, CV: Canal Vieja, sitio impactado por la descarga cloacal, BM: Bahía del Medio, sitio control.

Los ácidos grasos saturados 16:0 y 18:0 fueron los mayores contribuyentes en la formación de los grupos referidos a los sitios (CV y BM) y a los períodos climáticos (verano e invierno), seguidos por el monoinsaturado 18:1(n-9) en el caso de CV. El PUFA 20:5(n-3) fue detectado en BM y en el invierno con una contribución cercana al 10% en ambos grupos (Tabla 4.2). Los sitios no fueron estadísticamente diferentes entre sí en cuanto a la composición de ácidos grasos, mientras que los períodos climáticos sí se diferenciaron estadísticamente (*ANOSIM* $p < 0,010$ Tabla 4.3).

Tabla 4.3. Análisis de similitud SIMPER y ANOSIM

Grupos	Prom. Disim.	SIMPER	ANOSIM	
		AG - % Contrib.	R	p
MPS & Fito/Micro	39,02	18:0 - 19,97; 20:5(n-3) - 16,72; 16:0 - 12,99; 18:1(n-9) - 10,00	0,247	<i>0,002</i>
MPS & Meso	38,82	18:0 - 19,82; 22:6(n-3) - 15,75; 20:5(n-3) - 13,92; 18:1(n-9) - 13,07; 16:0 - 12,09	0,297	<i>0,001</i>
Fito/Micro & Meso	36,71	20:5(n-3) - 17,14; 22:6(n-3) - 15,63; 18:1(n-9) - 12,82; 18:0 - 10,00	0,116	<i>0,022</i>
CV & BM	37,23	20:5(n-3) - 15,92; 18:0 - 15,07; 18:1(n-9) - 13,50; 22:6(n-3) - 11,80; 16:0 - 11,37	0,073	0,063
Verano & Invierno	37,26	20:5(n-3) - 15,96; 18:0 - 15,12; 22:6(n-3) - 13,12; 18:1(n-9) - 12,44; 16:0 - 11,50	0,120	<i>0,010</i>

Se detallan el promedio de disimilitud obtenido entre los grupos y los ácidos grasos (AG) junto al porcentaje de contribución de cada uno de ellos al promedio de disimilitud, el R global y el p del ANOSIM. Se indican en *italica* los p significativos $< 0,05$.

El análisis de los ácidos grasos de cada fracción planctónica reveló interacción significativa entre los sitios y los períodos climáticos en ciertos ácidos grasos del MPS y del mesozooplancton (ANOVA $p < 0,05$). Es decir que el efecto del sitio sobre el

comportamiento de estos ácidos grasos no fue el mismo en los dos períodos climáticos abarcados. Por esta razón, todos los valores promedio de estos ácidos grasos obtenidos en cada nivel de cada factor fueron comparados entre sí (ANOVA test *LSD* Tabla 4.4). Los ácidos grasos de cada fracción planctónica que no revelaron una interacción significativa entre los factores fueron comparados entre los sitios considerando el promedio de ambos períodos y viceversa (Tablas 4.5, 4.6 y 4.7).

Tabla 4.4. Ácidos grasos y/o relaciones que mostraron interacción entre los sitios y los períodos abarcados.

Ácido Graso o Relación	CV		BM	
	verano	invierno	verano	invierno
MPS				
20:5(n-3) / 22:6(n-3)	2,29 ± 0,66 ^{ab}	3,11 ± 1,67 ^{bc}	0,81 ± 0,41 ^a	3,88 ± 0,62 ^c
Mesozooplancton				
i15:0	0,17 ± 0,06 ^{ab}	0,23 ± 0,13 ^{ab}	0,26 ± 0,08 ^b	0,10 ± 0,07 ^a
a15:0	0,11 ± 0,04 ^a	0,28 ± 0,16 ^b	0,20 ± 0,09 ^{ab}	tr ^a
18:2(n-6)	3,92 ± 2,25 ^a	13,21 ± 4,46 ^b	1,41 ± 0,29 ^a	2,99 ± 1,26 ^a
20:4(n-6)	1,40 ± 0,38 ^b	tr ^a	1,05 ± 0,52 ^b	0,84 ± 0,73 ^b
18:2(n-6)+18:3(n-3)	4,88 ± 1,88 ^a	13,76 ± 4,51 ^b	2,68 ± 0,30 ^a	3,54 ± 1,33 ^a
20:5(n-3)/22:6(n-3)	1,01 ± 0,31 ^a	2,49 ± 0,94 ^b	0,99 ± 0,13 ^a	1,26 ± 0,35 ^a

Los resultados se expresan como porcentaje medio ± desvío estándar en relación con el total de ácidos grasos registrados. Se compararon todos los promedios (sitios x períodos) entre sí (ANOVA test *LSD* $p < 0,05$). Letras asignadas alfabéticamente de menor a mayor valor, las medias que comparten una letra no difieren al 5 %.

En el MPS la relación 20:5(n-3)/22:6(n-3) presentó de acuerdo al sitio muestreado, un comportamiento diferente entre los períodos. En CV, los valores de esta relación no variaron significativamente entre el verano y el invierno, mientras que en BM el valor alcanzado en el invierno fue significativamente superior al de verano (Tabla 4.4). En el microplancton no se registraron ácidos grasos que presentaran interacción entre los sitios y los períodos climáticos. En cuanto al mesozooplancton, los ácidos grasos i15:0 y a15:0 se mantuvieron en niveles aproximadamente constantes aunque el primero varió entre los valores registrados en BM siendo significativamente mayor en el verano. El contenido de a15:0 en el mesozooplancton difirió en CV presentando un valor mayor en el invierno (Tabla 4.4). La proporción de 20:4(n-6) en esta fracción disminuyó

considerablemente en el invierno en CV, manteniéndose en niveles constantes en el resto de los casos (Tabla 4.4). Los contenidos de 18:2(n-6), de la sumatoria de éste y el 18:3(n-3) y de la relación 20:5(n-3)/22:6(n-3) fueron significativamente mayores en CV en el invierno en la fracción mesozooplanctónica (Tabla 4.4).

Por otra parte, los ácidos grasos del MPS que se registraron en valores significativamente diferentes entre los sitios y mayores en CV, fueron el 18:2(n-6) y las relaciones i+a15:0/15:0 y 18:2(n-6)+18:3(n-3). En esta fracción planctónica no se registraron ácidos grasos cuyos valores difirieron significativamente entre los períodos climáticos (Tabla 4.5).

Tabla 4.5. Ácidos grasos determinados en el material particulado en suspensión (MPS) en los sitios y los períodos abarcados.

Ácido graso o Relación	MPS			
	CV	BM	verano	invierno
14:0	2,49 ± 3,42	1,58 ± 1,41	1,67 ± 1,08	2,30 ± 3,39
i15:0	0,32 ± 0,38	0,21 ± 0,22	0,25 ± 0,25	0,27 ± 0,36
a15:0	0,31 ± 0,27	0,20 ± 0,22	0,25 ± 0,26	0,26 ± 0,25
15:0	0,62 ± 0,61	0,78 ± 0,70	0,58 ± 0,64	0,81 ± 0,67
16:0	24,19 ± 6,54	31,33 ± 10,84	24,59 ± 6,11	30,98 ± 11,30
16:1(n-7)	5,05 ± 4,88	3,20 ± 1,77	3,64 ± 2,76	4,50 ± 4,30
16:2(n-4)	0,73 ± 0,80	1,14 ± 1,55	1,08 ± 1,70	0,83 ± 0,69
16:3(n-4)	0,94 ± 1,26	0,57 ± 0,32	0,49 ± 0,50	0,97 ± 1,10
16:4(n-1)	0,70 ± 0,80	1,22 ± 1,62	0,99 ± 1,82	0,96 ± 0,70
i17:0	0,28 ± 0,80	0,60 ± 0,94	0,17 ± 0,48	0,71 ± 1,07
18:0	25,14 ± 9,37	22,96 ± 8,15	26,36 ± 9,63	21,87 ± 7,35
18:1(n-9)	12,37 ± 5,77	9,44 ± 8,61	10,68 ± 6,06	10,95 ± 8,70
18:1(n-7)	4,05 ± 1,88	3,22 ± 2,25	3,50 ± 2,19	3,71 ± 2,07
18:2(n-6)	5,41 ± 1,70	3,21 ± 1,82	4,58 ± 2,48	3,95 ± 1,68
18:3(n-3)	0,77 ± 0,70	0,79 ± 0,66	0,94 ± 0,49	0,64 ± 0,77
18:4(n-3)	1,30 ± 0,96	1,63 ± 1,39	1,73 ± 1,39	1,24 ± 0,99
20:1(n-9)	0,48 ± 0,57	0,98 ± 0,80	0,74 ± 0,64	0,75 ± 0,84
20:4(n-6)	0,24 ± 0,44	0,66 ± 0,65	0,51 ± 0,55	0,42 ± 0,64
20:5(n-3)	6,94 ± 6,04	7,58 ± 6,67	6,86 ± 6,94	7,65 ± 5,84
22:5(n-3)	0,54 ± 0,64	0,64 ± 0,71	0,63 ± 0,61	0,56 ± 0,74
22:6(n-3)	2,34 ± 1,93	4,80 ± 6,31	5,46 ± 6,51	2,03 ± 1,75
i+a15:0/15:0	0,98 ± 0,28	0,54 ± 0,26	0,91 ± 0,34	0,61 ± 0,31
16:0/16:1(n-7)	9,46 ± 8,41	12,72 ± 7,21	11,71 ± 9,44	10,72 ± 6,40
18:1(n-7)/18:1(n-9)	0,40 ± 0,23	0,47 ± 0,27	0,45 ± 0,29	0,43 ± 0,22
18:2(n-6)+18:3(n-3)	6,19 ± 1,63	4,00 ± 1,93	5,53 ± 2,93	4,58 ± 1,78
Σ SFA	54,29 ± 8,71	58,27 ± 14,89	54,56 ± 10,74	58,03 ± 13,75
Σ MUFA	24,13 ± 4,51	18,19 ± 10,46	20,67 ± 6,34	21,27 ± 10,52
Σ PUFA	20,67 ± 9,46	23,03 ± 13,86	24,78 ± 12,92	19,38 ± 10,58

Los resultados se expresan como porcentaje medio ± desvío estándar en relación con el total de ácidos grasos registrados. En negrita se señalan aquellos ácidos grasos que al compararlos entre sitios o períodos, presentaron valores mayores y significativos (ANOVA test *LSD* $p < 0,05$). SFA: ácidos grasos saturados, MUFA: ácidos grasos monoinsaturados, PUFA: ácidos grasos poliinsaturados.

En cuanto al microplancton (Fito/Micro), los ácidos grasos 18:1(n-9), 18:2(n-6) y la sumatoria de este último y el 18:3(n-3) se registraron en porcentajes significativamente mayores en CV que en BM, mientras que el ácido graso 16:1(n-7) y la relación 18:1(n-7)/18:1(n-9) mostraron valores significativamente mayores en BM (Tabla 4.6). Cuando se compararon entre sí los períodos climáticos, se observó que los ácidos grasos 18:3(n-3) y 22:5(n-3) fueron significativamente más elevados en el verano, mientras que el 16:4(n-1) y la relación 20:5(n-3)/22:6(n-3) mostraron valores significativamente más altos en invierno (Tabla 4.6).

Tabla 4.6. Ácidos grasos determinados en la fracción microplanctónica (Fito/Micro) en los sitios y los períodos abarcados.

Ácido graso o Relación	Fito/Micro			
	CV	BM	verano	invierno
14:0	3,88 ± 1,86	5,95 ± 4,60	4,38 ± 2,95	5,50 ± 4,25
i15:0	0,28 ± 0,24	0,41 ± 0,45	0,42 ± 0,46	0,28 ± 0,25
a15:0	0,31 ± 0,24	0,25 ± 0,31	0,33 ± 0,35	0,23 ± 0,19
15:0	0,72 ± 0,26	0,84 ± 0,68	0,97 ± 0,63	0,61 ± 0,34
16:0	23,24 ± 8,24	21,76 ± 5,71	24,51 ± 6,43	20,61 ± 7,02
16:1(n-7)	7,22 ± 1,99	11,62 ± 5,95	8,21 ± 4,61	10,73 ± 5,18
16:2(n-4)	1,25 ± 0,63	1,97 ± 1,15	1,32 ± 0,92	1,90 ± 1,01
16:3(n-4)	1,10 ± 0,99	1,52 ± 1,09	1,42 ± 1,46	1,23 ± 0,50
16:4(n-1)	2,48 ± 3,15	2,49 ± 2,34	0,61 ± 0,58	4,17 ± 2,70
i17:0	0,19 ± 0,57	1,11 ± 2,63	0,31 ± 0,75	1,00 ± 2,62
18:0	12,95 ± 5,80	10,12 ± 9,93	14,49 ± 10,24	8,73 ± 4,71
18:1(n-9)	11,38 ± 5,30	5,81 ± 5,27	7,79 ± 5,57	9,04 ± 6,37
18:1(n-7)	3,24 ± 0,99	2,54 ± 1,85	3,07 ± 1,13	2,69 ± 1,83
18:2(n-6)	5,46 ± 1,06	2,55 ± 2,00	4,05 ± 2,13	3,82 ± 2,32
18:3(n-3)	0,53 ± 0,33	0,59 ± 0,64	0,85 ± 0,55	0,30 ± 0,30
18:4(n-3)	2,19 ± 1,58	2,41 ± 1,80	2,30 ± 1,50	2,32 ± 1,87
20:1(n-9)	0,32 ± 0,50	0,78 ± 0,87	0,76 ± 0,53	0,38 ± 0,88
20:4(n-6)	0,39 ± 0,62	0,65 ± 0,81	0,77 ± 0,66	0,31 ± 0,74
20:5(n-3)	15,30 ± 11,84	16,52 ± 14,00	11,54 ± 9,43	19,90 ± 14,34
22:5(n-3)	0,42 ± 0,61	0,47 ± 0,86	0,87 ± 0,88	0,06 ± 0,20
22:6(n-3)	5,12 ± 5,88	5,09 ± 4,61	6,83 ± 6,60	3,55 ± 2,75
i+a15:0/15:0	0,91 ± 0,63	0,66 ± 0,48	0,60 ± 0,50	0,97 ± 0,59
16:0/16:1(n-7)	3,72 ± 2,83	3,61 ± 5,61	5,30 ± 6,06	2,18 ± 0,94
18:1(n-7)/18:1(n-9)	0,32 ± 0,11	0,61 ± 0,36	0,59 ± 0,37	0,37 ± 0,19
18:2(n-6)+18:3(n-3)	5,99 ± 1,16	3,14 ± 2,29	4,89 ± 2,06	4,12 ± 2,57
20:5(n-3)/22:6(n-3)	6,11 ± 5,86	3,98 ± 2,39	2,31 ± 1,39	7,40 ± 4,82
Σ SFA	41,66 ± 14,23	41,32 ± 14,84	46,31 ± 14,32	37,13 ± 13,17
Σ MUFA	23,04 ± 6,20	23,10 ± 7,00	21,71 ± 4,20	24,30 ± 8,00
Σ PUFA	35,33 ± 19,58	34,69 ± 19,48	31,40 ± 17,79	38,22 ± 20,36

Los resultados se expresan como porcentaje medio \pm desvío estándar en relación con el total de ácidos grasos registrados. En negrita se señalan aquellos ácidos grasos que al compararlos entre sitios o períodos, presentaron valores mayores y significativos (ANOVA test *LSD* $p < 0,05$). SFA: ácidos grasos saturados, MUFA: ácidos grasos monoinsaturados, PUFA: ácidos grasos poliinsaturados.

Los ácidos grasos del mesozooplancton mostraron una variación menor entre los sitios que entre los períodos estudiados (Tabla 4.7). El *MUFA* 18:1(n-9) fue el único ácido graso cuyo porcentaje fue significativamente mayor en CV, mientras que los 16:1(n-7), 18:4(n-3) y la relación 18:1(n-7)/18:1(n-9) mostraron valores significativamente mayores en BM (Tabla 4.7). Al comparar los períodos, ciertos ácidos grasos como los saturados 14:0 y 15:0, el 16:1(n-7), el 18:3(n-3), el 18:4(n-3), el 20:5(n-3), el 22:6(n-3), la relación 18:1(n-7)/18:1(n-9) y los poliinsaturados totales, presentaron valores significativamente más elevados en el verano (Tabla 4.7). Los porcentajes de los ácidos grasos 16:4(n-1), 18:0, 18:1(n-7), 18:1(n-9), 20:1(n-9), de las relaciones $i+a$ 15:0/15:0 y 16:0/16:1(n-7) y de los monoinsaturados totales fueron significativamente mayores en el invierno que en el verano (Tabla 4.7).

Tabla 4.7. Ácidos grasos determinados en el mesozooplancton en los sitios y los períodos abarcados.

Ácido graso o Relación	Mesozooplancton			
	CV	BM	verano	invierno
14:0	2,72 ± 0,64	3,45 ± 1,74	3,88 ± 1,33	2,24 ± 0,73
15:0	0,54 ± 0,19	0,70 ± 0,42	0,87 ± 0,26	0,35 ± 0,11
16:0	22,76 ± 5,47	20,77 ± 4,28	20,56 ± 3,84	22,99 ± 5,73
16:1(n-7)	3,26 ± 1,34	5,42 ± 2,21	5,46 ± 1,67	3,22 ± 2,00
16:2(n-4)	0,43 ± 0,31	0,59 ± 0,36	0,59 ± 0,35	0,43 ± 0,33
16:3(n-4)	0,56 ± 0,41	0,96 ± 0,57	0,64 ± 0,49	0,91 ± 0,56
16:4(n-1)	0,39 ± 0,39	0,78 ± 0,65	0,29 ± 0,14	0,95 ± 0,67
i17:0	tr	tr	tr	tr
18:0	10,92 ± 4,52	9,99 ± 7,22	7,33 ± 2,21	13,91 ± 6,98
18:1(n-9)	16,63 ± 10,55	6,29 ± 7,77	5,14 ± 5,07	17,93 ± 10,80
18:1(n-7)	4,61 ± 2,27	3,52 ± 1,49	2,95 ± 0,58	5,25 ± 2,20
18:3(n-3)	0,76 ± 0,35	0,95 ± 0,47	1,13 ± 0,33	0,55 ± 0,25
18:4(n-3)	1,24 ± 0,92	2,26 ± 1,14	2,52 ± 0,97	0,94 ± 0,61
20:1(n-9)	0,83 ± 0,40	1,09 ± 0,84	0,58 ± 0,25	1,40 ± 0,72
20:5(n-3)	10,75 ± 9,56	17,60 ± 6,27	18,81 ± 4,59	9,39 ± 9,33
22:5(n-3)	1,73 ± 0,94	0,92 ± 0,85	1,51 ± 1,06	1,06 ± 0,84
22:6(n-3)	10,24 ± 10,33	16,72 ± 7,24	19,46 ± 5,43	7,16 ± 8,18
i+a15:0/15:0	0,88 ± 0,70	0,52 ± 0,31	0,43 ± 0,09	0,98 ± 0,70
16:0/16:1(n-7)	8,50 ± 4,95	5,52 ± 5,76	4,15 ± 1,81	10,04 ± 6,56
18:1(n-7)/18:1(n-9)	0,37 ± 0,22	0,92 ± 0,44	0,90 ± 0,46	0,40 ± 0,24
∑ SFA	37,91 ± 8,74	36,16 ± 9,34	33,80 ± 6,51	40,57 ± 10,08
∑ MUFA	26,35 ± 10,73	18,63 ± 8,09	16,17 ± 4,40	29,13 ± 10,11
∑ PUFA	35,73 ± 17,10	44,73 ± 14,78	49,57 ± 10,23	30,30 ± 15,72

Los resultados se expresan como porcentaje medio ± desvío estándar en relación con el total de ácidos grasos registrados. En negrita se señalan aquellos ácidos grasos que al compararlos entre sitios o períodos, presentaron valores mayores y significativos (ANOVA test *LSD* $p < 0,05$). SFA: ácidos grasos saturados, MUFA: ácidos grasos monoinsaturados, PUFA: ácidos grasos poliinsaturados, tr: valores traza (< 0,1 %).

El análisis del material seco de *S. alterniflora* arrojó un perfil composicional de pocos ácidos grasos siendo tres los principales componentes: el 18:2(n-6) y los SFA 16:0 y 18:0. Los demás ácidos grasos presentaron valores por debajo del 10 % o bien concentraciones por debajo del 1 %, que fueron agrupados en “otros” (Fig. 4.5).

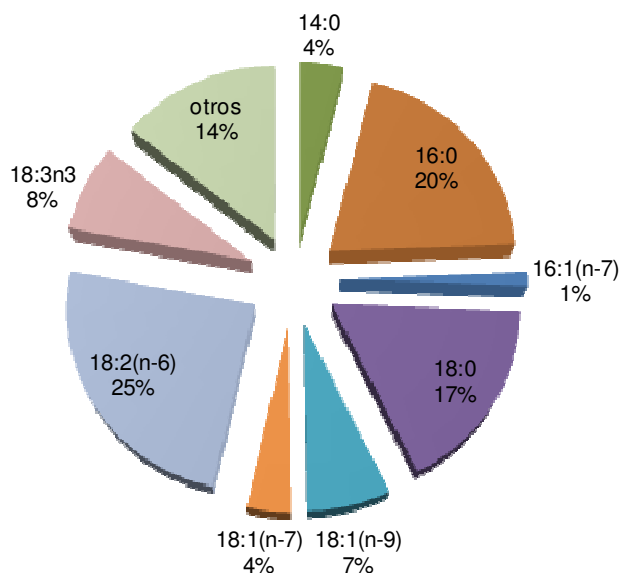


Figura 4.5. Composición relativa de ácidos grasos en material seco de *Spartina alterniflora*. Se señalan los principales ácidos grasos y el porcentaje de cada uno en relación con el total de ácidos grasos determinados. En “otros” se agruparon los ácidos grasos que fueron detectados en concentraciones < 1 % del total de ácidos grasos.

4.5. Discusión

4.5.1. Caracterización de las fracciones planctónicas

Material particulado en suspensión

La composición de ácidos grasos de las fracciones planctónicas analizadas en este estudio coincidió en términos generales con lo reportado por Napolitano *et al.* (1997). El ácido graso saturado 16:0, predominante en los fosfolípidos (Sargent & Henderson 1986, Lee *et al.* 2006), constituyó el principal ácido graso del plancton analizado. Si bien el 16:0 contribuyó considerablemente en la definición de la similitud dentro de cada fracción planctónica, caracterizó principalmente al material particulado en suspensión junto con el 18:0. El contenido de estos ácidos grasos saturados diferenció al MPS del resto de las fracciones planctónicas, en concordancia con numerosas investigaciones en distintos sistemas marinos (Mayzaud *et al.* 1989, Reemtsma *et al.* 1990, Canuel *et al.* 1997, Hama 1999, Lischka & Hagen 2007, Rossi *et al.* 2008, Tiselius *et al.* 2012). Ambos ácidos grasos han sido típicamente asociados a partículas no vivas (Kattner *et al.* 1983, Fahl & Kattner 1993, Hayakawa *et al.* 1997) y reflejarían la naturaleza bioquímica del material particulado en el estuario de Bahía Blanca, indicando la importante cantidad de material detrítico con respecto al contenido de células vivas. Es interesante destacar que estos ácidos grasos saturados conformaron dos de los tres componentes principales detectados en las hojas secas de la halófila *S. alterniflora*, lo que indicaría el aporte de las marismas al material suspendido en la columna de agua. El aprovisionamiento natural de detrito proveniente de las marismas y planicies de marea está impulsado por la inundación de estas áreas dos veces en el día y exacerbado por la acción de los vientos dominantes y de las mareas extraordinarias (Negrin *et al.* 2011). La dinámica natural del estuario, regida por la influencia de la marea y de los vientos que inducen procesos de alta resuspensión y mezcla (Perillo *et al.* 2001b, Cuadrado *et al.* 2005), facilitaría la incorporación de detrito y su recirculación y permanencia en la columna de agua.

La alta susceptibilidad de los ácidos grasos poliinsaturados a la degradación y su elevada asimilación por parte de los crustáceos marinos determina que estos ácidos grasos desaparezcan rápidamente de la columna de agua. Este hecho posibilita que los ácidos grasos saturados se conviertan en los principales constituyentes de los lípidos característicos de las partículas no vivas en los ambientes naturales (Hama 1999). Asimismo, algunos ácidos grasos típicos de organismos planctónicos (Falk-Peterson *et*

al. 1990, Graeve *et al.* 1997, Kattner *et al.* 2003, Lee *et al.* 2006) también fueron encontrados en el MPS. Se puede establecer entonces que el MPS del estuario está conformado principalmente por ácidos grasos saturados, en particular el 16:0 y el 18:0 probablemente provenientes de las marismas, y en menor medida por ácidos grasos derivados de la actividad zooplanctónica como el *MUFA* 18:1(n-9) y otros propios del fitoplancton (diatomeas) como el *PUFA* 20:5(n-3) (Dalsgaard *et al.* 2003). Este resultado confirma la contribución de diversas fuentes de materia orgánica al MPS del estuario de Bahía Blanca.

Es necesario aclarar que la contribución de ácidos grasos saturados al resto de las fracciones planctónicas estudiadas esté posiblemente sobreestimada. Debido al elevado nivel natural de material en suspensión en la columna de agua de este estuario, se acumulan en las redes grandes cantidades de detrito y partículas de sedimento durante los arrastres, provocando que este material quede en las muestras planctónicas. Al compartir los rangos de tamaño con los organismos del fitoplancton y del microzooplancton y con los primeros estadios del mesozooplancton, la separación de detrito y material vivo es muy dificultosa y en los intentos de purificación de las muestras se pierden importantes cantidades del material de interés. Por lo tanto, la diferenciación en el contenido global de ácidos grasos de las fracciones podría ser aún más acentuada.

Microplancton

Además del 16:0, los típicos ácidos grasos marcadores de diatomeas 20:5(n-3) y 16:1(n-7) (Canuel *et al.* 1995, Kattner & Hagen 1995, Stübing & Hagen 2003), prevalecieron en el microplancton caracterizando a esta fracción y diferenciándola principalmente del MPS. La caracterización bioquímica de esta fracción indicó que la proporción de fitoplancton fue mayor que la proporción correspondiente al microzooplancton. Este resultado reafirma la importante contribución de las diatomeas en la comunidad microplanctónica de este estuario (Gayoso 1998, Popovich *et al.* 2008b). Lo observado durante el período abarcado por la experimentación sobre el consumo del mesozooplancton (Cap. 3) concuerda con el patrón microplanctónico derivado del análisis de ácidos grasos y refleja la dominancia de las diatomeas, principalmente de *P. sulcata* y de las del género *Thalassiosira*.

Mesozooplancton

Los ácidos grasos 16:0, 18:0, 20:5(n-3) y el 22:6(n-3), ya mencionados como componentes estructurales de los organismos marinos (Sargent & Henderson 1986, Albers *et al.* 1996, Graeve *et al.* 2001, Lee *et al.* 2006), y el último característico también de flagelados (Zhukova & Kharlamenko 1999, Falk-Petersen *et al.* 2000, Stübing & Hagen 2003), conformaron el mesozooplancton. Tanto el *PUFA* 22:6(n-3) como el *MUFA* 18:1(n-9), también importante en esta fracción, se asocian a una modalidad de alimentación omnívora y/o carnívora (Sargent & Henderson 1986, Falk-Petersen *et al.* 1990, Graeve *et al.* 1994b, 1997, Cook *et al.* 2000, Kattner *et al.* 2003). El mesozooplancton del estuario presentó una proporción significativa de 22:6(n-3) lo que sugiere la inclusión de protozoos en su dieta natural. En concordancia con este resultado, un dinoflagelado (*G. fusus*) y varias especies de ciliados (*T. balechi*, *Tintinnopsis* spp. y *Strombidinopsis* spp.) fueron seleccionados como presas preferenciales y consumidos en los experimentos de alimentación (Cap. 3) indicando que la carnivoría es un comportamiento trófico natural del mesozooplancton del estuario.

4.5.2. Variación espacio-temporal de los ácidos grasos

Material Particulado en Suspensión

En el MPS, el 18:2(n-6), marcador de plantas vasculares terrestres (Canuel *et al.* 1997) y específicamente indicado como un derivado de productos agrícolas en este sistema estuarino (Napolitano *et al.* 1997), presentó una variación significativa entre los dos sitios estudiados mostrando un porcentaje mayor en Canal Vieja. Lo mismo se observó al sumar este ácido graso con el 18:3(n-3), cuyo valor por encima de 2,5 se interpreta como una señal de influencia terrestre considerable sobre el ambiente acuático (Budge *et al.* 2001). Es compleja la interpretación del origen de estos ácidos grasos comunes de ambientes terrestres en el sitio impactado. En concordancia con los resultados de Canuel *et al.* (1997), el detrito derivado de *S. alterniflora* comprendió principalmente a los ácidos grasos C₁₈, particularmente 18:2(n-6). Sin embargo, por la localización y la geomorfología de Canal Vieja, puede interpretarse que la mayor proporción de estos ácidos grasos proviene primordialmente de fuentes diferentes a las marismas. La contribución de la cloaca como así también del arroyo Napostá Grande tendría un papel relevante como suministro de material terrígeno a este sitio. Además, la

cercanía del complejo portuario e industrial facilitaría que derivados de la producción agrícola que se exporta desde el puerto, se dispersen por el Canal Principal de navegación (Napolitano *et al.* 1997). Impulsado por los patrones de circulación residual y por la geomorfología de este estuario, el transporte de las partículas se efectúa paulatinamente hacia el mar por el veril norte del Canal Principal (Perillo *et al.* 2004) permitiendo que el material proveniente de aguas arriba llegue a Canal Vieja. Precisamente, el examen macroscópico de las muestras de plancton recolectadas en ese sitio reveló la presencia de semillas (*e.g.* trigo), cáscaras y otros restos de cereales. A su vez, el cociente indicador de bacterias i+a15:0/15:0 (White *et al.* 1980) también fue significativo en el material particulado del sitio impactado por la descarga cloacal en comparación con el sitio control. Si bien se esperaba encontrar una proporción más elevada de ácidos grasos bacterianos en esta fracción, este resultado constituye una señal clara del impacto cloacal y sugiere la necesidad de realizar análisis específicos del bacterioplancton para completar con más detalle esta información con relevancia ambiental. Todo lo mencionado indicaría la influencia de la cloaca en la conformación del material particulado propio del sitio impactado y sugeriría la disponibilidad de organismos y de material alóctono para ser incorporados en la trama trófica estuarina.

Por otro lado, debido a las características geomorfológicas y de circulación en el área que incluye al sitio control (Cuadrado *et al.* 2000, Ginsberg *et al.* 2009) y a la falta de evidencias de la influencia continental, industrial o urbana (Andrade *et al.* 1996, Baldini *et al.* 1999), se puede interpretar que la proporción encontrada de 18:2(n-6) en el MPS de Bahía del Medio proviene principalmente de las marismas circundantes. Aunque es necesario aclarar, que se esperaba detectar un aumento considerable en el invierno por el mayor aporte de detrito en esa estación climática en la que comúnmente se observa la acumulación de material vegetal seco formando “fardos” en la superficie del agua (A Conte comunicación personal, ver Anexo). Los muestreos de invierno coincidieron en algunas ocasiones con mareas extraordinarias que promovieron la agrupación de restos de gran tamaño derivados de los espartillares sobre la superficie del agua, por lo que el aporte elevado de las marismas en el invierno fue visiblemente confirmado. Sin embargo, la fragmentación de estos restos por el efecto de agentes naturales como el oleaje y la incorporación a la columna de agua no sería inmediata. Esto explicaría por qué, a pesar de observar gran cantidad de restos de *Spartina* sp. en la superficie del agua, no se reflejó en el MPS recolectado.

El análisis de los valores de la relación 20:5(n-3)/22:6(n-3) (Dalsgaard *et al.* 2003) indicó una contribución mayor de diatomeas al MPS de Canal Vieja en relación con el aporte de los protozoos en los dos períodos, mientras que el MPS de Bahía del Medio estuvo principalmente dominado por diatomeas en los meses fríos y presentó un

contenido de protozoos similar al de diatomeas (ya que la relación es cercana a 1) en los meses de verano. En coincidencia con este resultado, la abundancia y la biomasa del microzooplancton, particularmente de los tintínidos, fue muy importante en el sitio control en los meses de verano (*T. gracilis* en diciembre, esta tesis y *T. balechi* en febrero, MC López Abbate datos no publicados). Esto generó que en el material suspendido se detectara el ácido graso 22:6(n-3), característico de ciliados y zooflagelados (Zhukova & Kharlamenko 1999).

Microplancton

En esta fracción se observaron algunas coincidencias con las variaciones encontradas en el MPS debido a que los componentes del microplancton conforman en parte, el material suspendido en la columna de agua. Asimismo, mucho del MPS que no pertenece al fitoplancton o al microzooplancton propiamente dichos, se acumula en las redes de arrastre durante el muestreo porque el tamaño de la malla utilizada para recolectar la fracción microplanctónica es necesariamente de sólo 20 µm. Además de la contribución terrígena aportada por el MPS a esta fracción [señalada por los ácidos grasos 18:2(n-6) y 18:3(n-3)], la concentración del 18:1(n-9) también fue variable entre los sitios y significativamente mayor en Canal Vieja. Este MUFA es escaso en el fitoplancton y común en protozoos como flagelados y ciliados (Sargent & Henderson 1986, Falk-Petersen *et al.* 1990, Kattner *et al.* 2003). De este resultado se desprende que en Canal Vieja, ciertas especies de protozoos se desarrollaron más favorablemente en este sitio impactado por la descarga cloacal que en el sitio control. Efectivamente, los resultados obtenidos durante el período experimental (Cap. 3) indican que los ciliados aloricados fueron siempre más conspicuos, tanto en abundancia como en biomasa, en Canal Vieja que en Bahía del Medio predominando ciertos ciliados aloricados como *Lohmanniella* sp. y otros del género *Strombidinopsis*. El dinoflagelado *G. fusus* también fue importante en la comunidad microzooplanctónica del sitio impactado (Cap. 3). La misma interpretación puede realizarse sobre el patrón observado en el fitoplancton. Así, el mayor contenido de 16:1(n-7), biomarcador de diatomeas (Volkman *et al.* 1989, Dunstan *et al.* 1994), en el microplancton de Bahía del Medio con respecto al detectado en Canal Vieja, puede explicarse por el mejor desarrollo de ciertas especies de diatomeas en el sitio control. Especies como *Gyrosigma* spp., *Odontella* sp. y *P. stelligera* contribuyeron considerablemente a la comunidad fitoplanctónica de Bahía del Medio, mientras que otras especies predominaron en Canal Vieja (*P. sulcata* y *Thalassiosira* spp.). Coincidentemente, este MUFA, 16:1(n-7), fue uno de los principales ácidos grasos hallados en ciertas especies de algas bentónicas y ticopelágicas (Parrish

et al. 1995, Zhukova & Aizdaicher 1995, Scholz & Liebezeit 2012, Popovich *et al.* 2012), por lo que las especies mencionadas podrían contener cantidades importantes de este MUFA. Sin embargo, para confirmar esta presunción son necesarios análisis bioquímicos específicos.

La dinámica estacional de los ácidos grasos 18:3(n-3) y 22:5(n-3), biomarcadores terrestres y este último asociado también a sedimentos marinos (Budge & Parrish 1998, Budge *et al.* 2001), estaría vinculada al mayor aporte continental durante los meses de primavera y verano cuando predominan las lluvias (Capelli de Steffens & Campo de Ferreras 2004, Piccolo 2008), lo que también podría generar mayor resuspensión de los sedimentos del fondo. En el invierno, por otro lado, la mayor proporción del biomarcador de diatomeas 16:4(n-1) (Kattner *et al.* 1983, Sargent *et al.* 1985, Mayzaud *et al.* 1990) y del cociente comúnmente empleado para relacionar diatomeas vs protozoos 20:5(n-3)/22:6(n-3) (Dalsgaard *et al.* 2003), reflejó la elevada contribución de estas microalgas al microplancton del estuario (Gayoso 1998, Popovich *et al.* 2008b). Similarmente a lo hallado en el MPS, el menor valor de este cociente se registró en el verano indicando un favorable desarrollo del microzooplancton en la comunidad microplanctónica.

Mesozooplancton

De todas las fracciones planctónicas analizadas, el mesozooplancton fue la que presentó las mayores variaciones en el contenido de los ácidos grasos principalmente entre los períodos estudiados y en la interacción entre éstos y los sitios.

Aunque en bajas concentraciones, se detectó en ambos sitios de muestreo, la presencia de bacterias indicada por los ácidos grasos i15:0 y a15:0 (Morris *et al.* 1985, Boschker *et al.* 1999) y por la relación i+a15:0/15:0 (White *et al.* 1980). Este aporte microbiano puede deberse a bacterias asociadas al tegumento de los organismos (Nagasawa *et al.* 1985) y/o a restos de materia orgánica vinculados a la actividad biológica de los copépodos y de su alimento (De Troch *et al.* 2010) que hayan sido incluidos durante la recolección de las muestras. Pero se sabe que las bacterias pueden ser abarcadas por la dieta de los copépodos, particularmente harpacticoides, y de otros invertebrados marinos (Rieper 1978). Asimismo, los ácidos grasos bacterianos pueden transferirse directamente a los copépodos a través de la ingestión de ciliados bacteriófagos (Ederington *et al.* 1995). La dinámica estacional de esta relación superior en invierno, podría indicar la incorporación de bacterias en la dieta de los organismos mesozooplanctónicos debido a una menor abundancia de otras presas como los ciliados alorizados (Pettigrosso & Popovich 2009, esta tesis) y a la alta disponibilidad de

bacterias, especialmente heterótrofas terrestres, en el invierno (Cabezalí & Burgos 1988, Baldini *et al.* 1999). La correcta interpretación de estos resultados requiere de un análisis bioquímico específico de individuos mesozooplancónicos limpios, es decir, sin restos de materia orgánica asociada y de experimentación utilizando bacterias como fuente de alimentación. Además, como ya se mencionó, sería conveniente analizar bioquímicamente el bacterioplankton proveniente de cada sitio para poder caracterizar esta fracción y así discernir el origen exacto de estos ácidos grasos.

El aporte terrígeno y fitoplanctónico, indicado por la presencia de ácidos grasos C₁₈ di- y triinsaturados (Parris *et al.* 1995, Canuel *et al.* 1997) y por el balance superior a 1 hacia el 20:5(n-3) con respecto al 22:6(n-3) (Dalsgaard *et al.* 2003), a la dieta del mesozooplankton fue mayor en los meses fríos y significativamente superior en Canal Vieja. Esto sugiere una mayor disponibilidad de diatomeas en el sitio impactado durante el invierno y un mayor aporte detrítico en este período coincidentemente con lo señalado en el Capítulo 3. Si bien los valores fueron bajos, es curiosa la tendencia inversa reflejada por otro típico ácido graso marcador de microalgas, el 20:4(n-6) (Parrish *et al.* 1995), que contribuyó a la dieta del mesozooplankton aunque disminuyó a valores traza en el invierno en Canal Vieja. Observaciones microscópicas más detalladas de la comunidad fitoplanctónica ayudarían a clarificar este resultado ya que los análisis comunitarios realizados en esta tesis no resultan suficientes para explicar esta tendencia.

La variación registrada entre los sitios en las proporciones de 18:1(n-9) y de la relación 18:1(n-7)/18:1(n-9) indicó que en Canal Vieja, el mesozooplankton presentó una dieta en la que el componente animal (*e.g.* protozoos; Dalsgaard *et al.* 2003) fue relevante. Por otro lado, en Bahía del Medio, fue determinada una dieta mixta [18:1(n-7)/18:1(n-9) ~ 1; Falk-Petersen *et al.* 1990, 2000, Graeve *et al.* 1997] comprendida por la contribución de componentes fitoplanctónicos [16:1(n-7); Volkman *et al.* 1989, Dunstan *et al.* 1994] y de flagelados [18:4(n-3); Graeve *et al.* 1994a, Napolitano *et al.* 1997].

El patrón estacional del contenido de los ácidos grasos del mesozooplankton mostró tendencias diferentes en el comportamiento trófico de estos organismos en el verano y el invierno. Durante el verano, cuando el copépodo *A. tonsa* es dominante, la proporción de ácidos grasos característicos de microalgas y de protozoos (Dalsgaard *et al.* 2003) presentaron concentraciones significativas, en coincidencia con la dieta mixta y variada del copépodo *A. tonsa* (Ederington *et al.* 1995, esta tesis). Mientras que la contribución de ácidos grasos C₁₈ y de monoinsaturados, señaló el importante rol que cumple el detrito y los aportes terrígenos en la dieta del mesozooplankton durante el invierno.

4.6. Conclusiones

El análisis de los ácidos grasos proporcionó información relevante para un mejor conocimiento de la trama trófica estuarina. Ratificó el origen diverso del contenido orgánico del material particulado del estuario, indicando una contribución pronunciada del componente detrítico proveniente de las marismas. Evidenció la alta disponibilidad de las diatomeas en la comunidad microplanctónica por encima del componente heterotrófico y confirmó que la omnivoría es un comportamiento trófico natural del mesozooplancton del estuario. Indicó asimismo el importante rol que cumplen el detrito y los aportes terrígenos en la dieta del mesozooplancton en este sistema estuarino, particularmente en el invierno cuando la contribución de las marismas es mayor.

La influencia de la descarga cloacal y de los ambientes circundantes a la misma (polo petroquímico-industrial, arroyo Napostá Grande) se reflejó en Canal Vieja por el mayor aporte al MPS de bacterias y material alóctono como restos de cereales y por ácidos grasos típicos de protozoos que indicarían el desarrollo de ciertas especies en este sitio.

La aparición de los mismos ácidos grasos en las distintas fracciones planctónicas analizadas es un reflejo, en cierto modo, de la naturaleza dinámica de este ambiente. A pesar de esto, se pudieron identificar relaciones tróficas claras.

El análisis de los ácidos grasos y el enfoque de los marcadores tróficos es una herramienta valiosa y útil para el estudio de las relaciones tróficas y la detección de aportes alóctonos y autóctonos en este sistema estuarino.

Conclusiones generales

Los resultados de este estudio evidenciaron el impacto local de una de las descargas cloacales de la ciudad de Bahía Blanca sobre el estuario y brindaron conocimientos elementales de la trofodinámica planctónica del sistema.

La principal variación ambiental entre Canal Vieja, el sitio receptor de la descarga cloacal y Bahía del Medio, el sitio control, fue el contenido elevado de nutrientes nitrogenados y fosfatados que estuvo por encima de los valores de enriquecimiento natural del estuario. Valores menores de oxígeno disuelto y de pH también fueron registrados en el sitio impactado en comparación con el sitio control.

El mesozooplancton pareció adaptarse a la variación ambiental considerada y estuvo principalmente representado en ambos sitios, por el copépodo *Acartia tonsa* durante el verano y las larvas *nauplii* del cirripedio *Balanus glandula* en el invierno, coincidiendo en términos generales con el patrón mesozooplanctónico típico del estuario y mostrando una fuerte regulación climática por sobre la influencia de la variación espacial estudiada. Sin embargo, en el sitio control se observó la dominancia estival típica de *A. tonsa*.

El impacto ambiental vinculado con la descarga cloacal no pareció ser un condicionante categórico del comportamiento trófico aunque se detectaron algunos indicios posiblemente relacionados con su influencia. El mesozooplancton estuarino presentó una dieta generalista que abarcó colectivamente todas las fracciones alimentarias consideradas (fitoplancton, microzooplancton y detrito) y este comportamiento trófico se observó más claramente en el sitio control.

El microzooplancton fue la fracción alimentaria preferencial del mesozooplancton en los dos sitios de muestreo evidenciando la importancia que este grupo tiene en el mantenimiento de la comunidad mesozooplanctónica. La fuerte presión de predación sugiere la regulación *top-down* del microzooplancton del estuario. El fitoplancton representó una fuente de alimentación de alta disponibilidad y contribuyó de manera importante a la dieta del mesozooplancton. El detrito y los aportes terrígenos constituyen una fuente de alimentación alternativa para el mesozooplancton del estuario.

El análisis de los ácidos grasos proporcionó información relevante para un mejor conocimiento de la trama trófica estuarina. Los resultados obtenidos coincidieron con los derivados de la experimentación y con los antecedentes disponibles sobre las

relaciones tróficas de este sistema. Sin duda, ambas metodologías (experimentación y análisis bioquímicos) son enfoques válidos y útiles para dilucidar las relaciones alimentarias en este sistema. Sin embargo, el método analítico es más conveniente ya que brinda mayor precisión y es menos laborioso. Es necesario disponer de datos cuanti- y cualitativos de las fracciones planctónicas para poder realizar una interpretación certera y completa de los resultados obtenidos por una técnica molecular como es el análisis de ácidos grasos.

Para confirmar y completar estos resultados se deben llevar a cabo estudios experimentales a gran escala (*e.g.* mesocosmos) de las asociaciones naturales del estuario minimizando las limitaciones presentadas por la metodología desarrollada en este trabajo de tesis. Asimismo, para detectar señales de cambios en las condiciones naturales del sistema, son necesarios estudios de monitoreo prolongados y sostenidos en el tiempo que incluyan en la evaluación ambiental y biológica, a este sitio receptor de una de las principales descargas cloacales sin tratamiento previo de la ciudad de Bahía Blanca.

Bibliografía

Albers CS, Kattner G, Hagen W (1996) The compositions of wax esters, triacylglycerols and phospholipids in Arctic and Antarctic copepods: evidence of energetic adaptations. *Mar Chem* 55:347-358

Almeda R, Messmer AM, Sampedro N, Gosselin L (2011) Feeding rates and abundance of marine invertebrate planktonic larvae under harmful algal bloom conditions off Vancouver Island. *Harmful Algae* 10:194–206

Andrade S, Marcovecchio J, Pucci A (1996) Dissolved and particulated trace metals in sub-surface waters from the southern area of Bahía Blanca Estuary, in Argentina. En: Marcovecchio J (ed) *Proceeding of the international conference on pollution processes in coastal environments*, 6-12 diciembre Mar del Plata, Argentina. p 267-270

APHA-AWWA-WEF (1998) *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 20th edition, Method 4500Cl B. American Public Health Association and American Water Works Association and Water Environment Federation, Washington, DC, USA

Ara K (2001) Length–weight relationships and chemical content of the planktonic copepods in the Cananéia Lagoon estuarine system, São Paulo, Brazil. *Plankton Biol Ecol* 48:121–127

Araujo HMP, Nascimento-Vieira DA, Neumann-Leitão S, Schwamborn R, Lucas APO, Alves JPH (2008) Zooplankton community dynamics in relation to the seasonal cycle and nutrient inputs in an urban tropical estuary in Brazil. *Braz J Biol* 68:631–637

Arias AH, Marcovecchio JE, Freije RH, Ponce-Vélez G, Vázquez-Botello A (2010) Análisis de fuentes y toxicidad equivalente de sedimentos contaminados con PAHs en el estuario de Bahía Blanca, Argentina. *Hidrobiológica* 20(1):41-56

Arias AH, Pereyra MT, Marcovecchio JE (2011) Multi-year monitoring of estuarine sediments as ultimate sink for DDT, HCH, and other organochlorinated pesticides in Argentina. *Environ Monit Assess* 172:17–32

Arts MT, Brett MT, Kainz MJ (2009) *Lipids in aquatic ecosystems*. Springer, New York, USA

Azam F, Fenchel T, Field JG, Gray JS, Meyer-Reil LA, Thingstad F (1983) The ecological role of water-column microbes in the sea. *Mar Ecol Prog Ser* 10:257-263

- Baldini MD, Cubitto MA, Chiarello MN, Cabezali CB (1999) Water quality for aquaculture development in Bahía Blanca estuary, Argentina. Bacteriological studies. *Rev Argent Microbiol* 31:19–24
- Baldini MD, Cubitto MA, Chiarello MN (2004) Estudios bacteriológicos realizados en aguas y sedimentos del estuario de Bahía Blanca. Programa integral de monitoreo. Subprograma de monitoreo de cuerpos receptores: ría de Bahía Blanca. Comité Técnico Ejecutivo. Municipalidad de Bahía Blanca. p 103-113
- Balech E (1964) El plancton de Mar del Plata durante el período 1961-1962. *Bol Inst Biol Mar* 4:1-49
- Balech E (1971) Microplancton de la campaña "Productividad II". *Rev Mus Argentino Cien Nat "Bernardino Rivadavia" Hidrobiol* 3(1):1-202
- Balech E (1988) Los dinoflagelados del Atlántico Sudoccidental. Publicaciones especiales Instituto Español de Oceanografía
- Balech E, Souto S (1980) Los tintínidos de la campaña oceanográfica "Productividad IV". Parte I. *Physis* A39:1-8
- Balech E, Souto S (1981) Los tintínidos de la campaña oceanográfica "Productividad IV". Parte II. *Physis* A39:41-49
- Båmstedt U, Gifford DJ, Irigoien X, Atkinson A, Roman M (2000) Feeding. En: Harris RP, Wiebe PH, Lenz J, Skjoldal HR, Huntley M (eds) *ICES Zooplankton methodology manual*. Academic Press, London, UK. p 297-399
- Banse K (1995) I. Biomass and production measurements - Zooplankton: pivotal role in the control of ocean production. *ICES J Mar Sci* 52:265-277
- Barría MS (2002) Citología, bioecología y taxonomía de Tintinnida (Ciliophora). Tesis doctoral. Universidad Nacional del Sur, Argentina
- Barría de Cao (1981) Contribución al conocimiento de los Tintinnoideos (Ciliata, Protozoa) de la zona de Bahía Blanca. *Contrib Cien IADO* 61:1-70
- Barría de Cao MS (1986) Contribución al conocimiento de Tintinnina (Protozoa, Ciliophora) de la zona de Bahía Blanca (Argentina) II. *Bol Inst Esp Oceanog* 3(1):143-150
- Barría de Cao MS (1992) Abundance and species composition of Tintinnina (Ciliophora) in Bahía Blanca Estuary, Argentina. *Estuar Coast Shelf Sci* 34:295-303

- Barría de Cao MS, Pettigrosso R, Popovich C (1997) Planktonic ciliates during phytoplankton Bloom in Bahía Blanca Estuary, Argentina. II: Tintinnids. *Oebalia* 23:3-19
- Barría de Cao MS, Pettigrosso RE, Parodi E, Freije RH (2003) Abundance and species composition of planktonic Ciliophora from the wastewater discharge zone in the Bahía Blanca Estuary, Argentina. *Iheringia Sér Zool* 93:229–236
- Barría de Cao MS, Beigt D, Piccolo C (2005) Temporal variability of diversity and biomass of tintinnids (Ciliophora) in a southwestern Atlantic temperate estuary. *J Plankton Res* 27(11):1103–1111
- Barría de Cao MS, Piccolo C (2008) Presencia y variación estacional del dinoflagelado heterótrofo *Gyrodinium fusus* (Meunier) Akselman en el estuario de Bahía Blanca, Argentina. *Atlántica* 30(2):129-137
- Barría de Cao MS, Piccolo MC, Perillo GM (2011) Biomass and microzooplankton seasonal assemblages in the Bahía Blanca Estuary, Argentinean Coast. *J Mar Biol Assoc UK* 91(05):953–959
- Bas CC, Spivak ED, Anger K (2007) Seasonal and interpopulational variability in fecundity, egg size, and elemental composition (CHN) of eggs and larvae in a grapsoid crab, *Chasmagnathus granulatus*. *Helgol Mar Res* 61:225–237
- Beaugrand G (2005) Monitoring pelagic ecosystems using plankton indicators. *ICES J Mar Sci* 62:333–338
- Beers JR, Stewart GL (1970) Numerical abundance and estimated biomass of microzooplankton. En: Strickland JDH (ed) *The ecology of the plankton off La Jolla, California, in the period April through September 1967*. Bull Scripps Inst Oceanogr 17:67-87
- Berasategui AA, Hoffmeyer MS, Biancalana F, Fernández Severini MD, Menéndez MC (2009) Temporal variation in abundance and fecundity of the invading copepod *Eurytemora americana* in Bahía Blanca Estuary during an unusual year. *Estuar Coast Shelf Sci* 85:82–88
- Berasategui AA, Hoffmeyer MS, Dutto MS, Biancalana F (2012) Seasonal variation in egg morphology of the copepod *Eurytemora americana* and its relation to reproductive strategy in a temperate estuary, Argentina. *ICES J Mar Sci* 69(3):380-388
- Berzins B (1960a) Rotatoria I. Order: Monogonta. Sub-order: Ploima. Family: Synchaetidae. Genus *Synchaeta*. *Zooplankton. Cons int Explor mer* 84

- Berzins B (1960b) Rotatoria I. Order: Monogonta. Sub-order: Ploima. Family: Trichocercidae. Genus *Trichocerca*. Zooplankton. Cons int Explor mer 85
- Biancalana F, Menéndez MC, Berasategui AA, Fernández Severini MD, Hoffmeyer MS (2012) Sewage pollution effects on mesozooplankton structure in a shallow temperate estuary. *Environ Monit Assess* 184:3901–3913
- Boero F (1994) Fluctuations and variations in coastal marine environments. *Mar Ecol* 15:3–25
- Boltovskoy D (1981) Atlas del zooplancton del Atlántico Sudoccidental y métodos de trabajo con el zooplancton marino. Publicación especial del INIDEP, Mar del Plata, Argentina
- Boltovskoy D (1999) South Atlantic Zooplankton. Backhuys Publishers, Leiden, The Netherlands
- Boschker HTS, de Brouwer JFC, Cappenberg TE (1999) The contribution of macrophyte-derived organic matter to microbial biomass in salt-marsh sediments: Stable carbon isotope analysis of microbial biomarkers. *Limnol Oceanogr* 44(2):309–319
- Botté S, Negrin V, Pratolongo P, González Trilla G (2008) Salt-marshes: role within the Bahía Blanca Estuary. En: Neves R, Baretta J, Mateus M (eds) Perspectives on integrated coastal zone management in South America. IST Press. Scientific Publishers, Lisboa, Portugal. p 277-286
- Botto F, Valiela I, Iribarne O, Martinetto P, Alberti J (2005) Impact of burrowing crabs on C and N sources, control, and transformations in sediments and food webs of SW Atlantic estuaries. *Mar Ecol Prog Ser* 293:155-164
- Botto F, Gaitan E, Mianzan H, Acha M, Giberto D, Schiariti A, Iribarne O (2011) Origin of resources and trophic pathways in a large SW Atlantic estuary: An evaluation using stable isotopes. *Est Coast Shelf Sci* 92:70-77
- Bouillon S, Chandra Mohan P, Sreenivas N, Dehairs F (2000) Sources of suspended organic matter and selective feeding by zooplankton in an estuarine mangrove ecosystem as traced by stable isotopes. *Mar Ecol Prog Ser* 208:79–92
- Brett M, Müller-Navarra DC, Persson J (2009) Crustacean zooplankton fatty acid composition. En: Arts MT, Brett M, Kainz M (eds) Lipids in aquatic ecosystems. Springer, New York, USA. p 115–146

- Brezina SS, Baldini MD (2008) Detection of somatic coliphages as indicators of faecal contamination in estuarine waters. *Rev Argent Microbiol* 40:72-74
- Budge SM, Parrish CC (1998) Lipid biogeochemistry of plankton, settling matter and sediments in Trinity Bay, Newfoundland. II. Fatty acids. *Org Geochem* 29:1547–1559
- Budge S, Parrish C, McKenzie C (2001) Fatty acid composition of phytoplankton, settling particulate matter and sediments at a sheltered bivalve aquaculture site. *Mar Chem* 76(4):285–303
- Buskey EJ (1993) Annual pattern of micro- and mesozooplankton abundance and biomass in a subtropical estuary. *J Plankton Res* 15(8):907-904
- Cabezalí CB, Burgos MA (1988) Distribución espacial y temporal de bacterias aerobias en el estuario de Bahía Blanca, Argentina. *Rev Argent Microbiol* 20:77–86
- Calbet A, Saiz E (2005) The ciliate–copepod link in marine ecosystems. *Aquat Microb Ecol* 38:157–167
- Calbet A, Atienza D, Henriksen CI, Saiz E, Adey TR (2009) Zooplankton grazing in the Atlantic Ocean: A latitudinal study. *Deep Sea Res II* 56(15):954–963
- Calliari D, Tiselius P (2005) Feeding and reproduction in a small calanoid copepod: *Acartia clausi* can compensate quality with quantity. *Mar Ecol Prog Ser* 298:241–250
- Canuel EA, Cloern JE, Ringelberg DB, Guckert JB, Rau GH (1995) Molecular and isotopic tracers used to examine sources of organic matter and its incorporation into the food webs of San Francisco Bay. *Limnol Oceanogr* 40(1):67-81
- Canuel EA, Freeman KH, Wakeham SG (1997) Isotopic compositions of lipid biomarker compounds in estuarine plants and surface sediments. *Limnol Oceanogr* 42(7):1570-1583
- Capelli de Steffens AM, Campo de Ferreras AM (2004) Climatología. En: Piccolo MC, Hoffmeyer MS (eds) *Ecosistema del estuario de Bahía Blanca*. Instituto Argentino de Oceanografía, Bahía Blanca. p 79-86
- Carpenter SR, Kitchell JF, Hodgson JR (1985) Cascading trophic interactions and lake productivity. *BioScience* 35:634–649

- Cervellini PM (2001) Variabilidad en la abundancia y retención de larvas de crustáceos decápodos en el estuario de Bahía Blanca, Provincia de Buenos Aires, Argentina. *Investig mar* 29(2):25–33
- Cervetto G, Gaudy R, Pagano M (1999) Influence of salinity on the distribution of *Acartia tonsa* (Copepoda, Calanoida). *J Exp Mar Biol Ecol* 239:33–45
- Chanton J, Lewis FG (2002) Examination of coupling between primary and secondary production in a river-dominated estuary: Apalachicola Bay, Florida, USA. *Limnol Oceanogr* 47(3):683–697
- Clarke KR, Ainsworth M (1993) A method of linking multivariate community structure to environmental variables. *Mar Ecol Prog Ser* 92:205-219
- Clarke KR, Warwick RM (1994) Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation. 1st edition, Plymouth Marine Laboratory, Plymouth, UK
- Cloern JE (1987) Turbidity as a control on phytoplankton biomass and productivity in estuaries. *Cont Shelf Res* 7:1367–1381
- Cloern JE (2001) Our evolving conceptual model of the coastal eutrophication problem. *Mar Ecol Prog Ser* 210:223–253
- Conley DJ (2000) Biogeochemical nutrient cycles and nutrient management strategies. *Hydrobiol* 410:87–96
- Conover WJ, Johnson ME, Johnson MM (1981) A comparative study of tests for homogeneity of variances with applications to the outer continental shelf bidding data. *Technometrics* 23(4):351–361
- Cook EJ, Bell MV, Black KD, Kelly MS (2000) Fatty acid composition of gonadal material and diets of the sea urchin, *Psammechinus miliaris*: trophic and nutritional implications. *J Exp Mar Biol Ecol* 255:261–274
- Cook EJ, Shucksmith R, Orr H, Ashton GV, Berge J (2010) Fatty acid composition as a dietary indicator of the invasive caprellid, *Caprella mutica* (Crustacea: Amphipoda). *Mar Biol* 157(1):19–27
- Copeman L A, Parrish CC (2003) Marine lipids in a cold coastal ecosystem: Gilbert Bay, Labrador. *Marine Biology* 143(6):1213–1227

- Correll DL (1978) Estuarine productivity. *BioScience* 28:646-650
- Crawford RM (1979) Taxonomy and frustular structure of the marine centric diatom *Paralia sulcata*. *J Phycol* 15:200-210
- Cuadrado D, Ginsberg S, Gómez E (2000) Características físicas de un canal de marea interior en el estuario de Bahía Blanca (Buenos Aires). *III J Nac Geogr Fis, Santa Fe, Argentina*. p 113-120
- Cuadrado D, Ginsberg SS, Gómez EA (2004) Geomorfología. En: Piccolo MC y Hoffmeyer MS (eds) *Ecosistema del estuario de Bahía Blanca*. Instituto Argentino de Oceanografía, Bahía Blanca, Argentina. p 29-38
- Cuadrado DG, Gómez EA, Ginsberg SS (2005) Tidal and longshore sediment transport associated to a coastal structure *Estuar Coast Shelf Sci* 62:291–300
- Currin CA, Newell SY, Paerl HW (1995) The role of standing dead *Spartina alterniflora* and benthic microalgae in salt marsh food webs: Considerations based on multiple stable isotope analysis. *Mar Ecol Prog Ser* 121:99–116
- Dalsgaard J, St John M, Kattner G, Müller-Navarra D, Hagen W (2003) Fatty acid trophic markers in the pelagic marine environment. *Adv Mar Biol* 46:225–340
- David V, Sautour B, Galois R, Chardy P (2006) The paradox high zooplankton biomass–low vegetal particulate organic matter in high turbidity zones: What way for energy transfer? *J Exp Mar Biol Ecol* 333:202–218
- De Troch M, Cnudde C, Willems A, Moens T, Vanreusel A (2010) Bacterial colonization on fecal pellets of harpacticoid copepods and on their diatom food. *Microb Ecol* 60(3):581-591
- Deegan LA, Peterson BJ, Portier AR (1990) Stable isotopes and cellulase activity as evidence for detritus as a food source for juvenile Gulf Menhaden. *Estuaries* 13:14–19
- deYoung B, Barange M, Beaugrand G, Harris R, Perry RI, Scheffer M, Werner F (2008) Regime shifts in marine ecosystems: detection, prediction and management. *Trends Ecol Evol* 23:402–409
- Diodato SL, Hoffmeyer MS (2008) Contribution of planktonic and detritic fractions to the natural diet of mesozooplankton in Bahía Blanca Estuary. *Hydrobiol* 614:86-90

- Domingues RB, Anselmo TP, Barbosa AB, Sommer U, Galvão HM (2011) Light as a driver of phytoplankton growth and production in the freshwater tidal zone of a turbid estuary. *Estuar Coast Shelf Sci* 91:526–535
- Dürbaum J, Künnemann T (1997) *Biology of copepods: an introduction*. Carl von Ossietzky University of Oldenburg, Germany
- Dunstan GA, Volkman JK, Barrett SM, Leroi JM, Jeffrey SW (1994) Essential polyunsaturated fatty acids from 14 species of diatom (Bacillariophyceae). *Phytochem* 35(1):155-161
- Eberlein K, Kattner G (1987) Automatic method for the determination of orthophosphate and total dissolved phosphorus in the marine environment. *Fresenius Z Anal Chem* 326:354–357
- Ederington MC, McManus GB, Harvey HR (1995) Trophic transfer of fatty acids, sterols, and a triterpenoid alcohol between bacteria, a ciliate, and the copepod *Acartia tonsa*. *Limnol Oceanogr* 40(5):860-867
- Edler L (1979) Recommendations for marine biological studies in the Baltic Sea. Phytoplankton and chlorophyll. *Balt Mar Biolog Publ* 5:1-38
- Emerson CW, Roff JC (1987) Implications of fecal pellet size and zooplankton behaviour to estimates of pelagic-benthic carbon flux. *Mar Ecol Prog Ser* 35:251-257
- Fahl K, Kattner G (1993) Lipid content and fatty acid composition of algal communities in sea-ice and water from the Weddell Sea (Antarctica). *Polar Biol* 13:405-409
- Falk-Petersen S, Hoptkins CCE, Sargent JR (1990) Trophic relationships in the pelagic food web. En: Barnes M, Gibson RN (eds) *Trophic relationships in the marine environment*. Aberdeen University Press, Aberdeen, USA. p 315–333
- Falk-Petersen S, Hagen W, Kattner G, Clarke A, Sargent J (2000) Lipids, trophic relationships, and biodiversity in Arctic and Antarctic krill. *Can J Fish Aquat Sci* 57(3):178–191
- Farkas T, Herodek S (1964) The effect of environmental temperature on the fatty acid composition of crustacean plankton. *J Lipid Res* 5:369-373
- Fernández Severini MD, Botté SE, Hoffmeyer MS, Marcovecchio JE (2009) Spatial and temporal distribution of cadmium and copper in water and zooplankton in the Bahía Blanca Estuary, Argentina. *Estuar Coast Shelf Sci* 85:57–66

Fernández Severini MD, Botté SE, Hoffmeyer MS, Marcovecchio JE (2010) Lead concentrations in zooplankton, water and particulate matter of a southwestern Atlantic temperate estuary (Argentina). *Arch Environ Contam Toxicol* 61(2):243-260

Fernández Severini MD, Hoffmeyer MS, Marcovecchio JE (2013) Heavy metals concentrations in zooplankton and suspended particulate matter in a southwestern Atlantic temperate estuary (Argentina). *Environ Monit Assess* 185(2):1495-1513

Ferrer LDM, Andrade JS, Asteasuain RO, Marcovecchio JE (2006) Acute toxicities of four metals on the early life stages of the crab *Chasmagnathus granulata* from Bahía Blanca Estuary, Argentina. *Ecotox Environ Safe* 65:209–217

Folch J, Lees M, Sloane-Stanley GH (1957) A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226:497–509

Frangoulis C, Skliris N, Lepoint G, Elkalay K, Goffart A, Pinnegar JK, Hecq JH (2011) Importance of copepod carcasses versus faecal pellets in the upper water column of an oligotrophic area. *Estuar Coast Shelf Sci* 92:456-463

Freije RH, Marcovecchio J (2004) Oceanografía química. En: Piccolo MC, Hoffmeyer M (eds) El ecosistema del estuario de Bahía Blanca. Instituto Argentino de Oceanografía, Bahía Blanca, Argentina. p 69-78

Freije RH, Spetter CV, Marcovecchio JE, Popovich CA, Botté SE, Negrin V, Arias A, Delucchi F, Asteasuain RO (2008) Water chemistry and nutrients in the Bahía Blanca Estuary. En: Neves R, Baretta J, Mateus M (eds) Perspectives on integrated coastal zone management in South America. IST Press. Scientific Publishers, Lisboa, Portugal. p 243-256

Frost BW (1972) Effects of size and concentration of food particles on the feeding behaviour of the marine planktonic copepod *Calanus pacificus*. *Limnol Oceanogr* 17:805–815

Fuhrman JA, Hagström A (2008) Bacterial and archaeal community structure and its patterns. En: Kirchman DL (ed) Microbial ecology of the oceans. 2nd edition, Wiley-Blackwell, USA. p 45-90

Gardolinski PCF, Hanrahan G, Achterberg EC, Gledhill M, Tappin AD, House WA, Worsfold PJ (2001) Comparison of sample storage protocols for the determination of nutrients in natural waters. *Water Res* 35(15):3670–3678

Gayoso AM (1981) Estudio de las diatomeas del estuario de Bahía Blanca. Tesis doctoral. Universidad Nacional de La Plata, Argentina

Gayoso AM (1988) Seasonal variations of the phytoplankton from the most inner part of Bahía Blanca Estuary (Buenos Aires province, Argentina). *Gayana Bot* 45:241-247

Gayoso AM (1989) Species of the diatom genus *Thalassiosira* from the coastal zone of the South Atlantic (Argentina). *Bot Mar* 32:331-337

Gayoso AM (1998) Long-term phytoplankton studies in the Bahía Blanca Estuary, Argentina. *ICES J Mar Sci* 55:655-660

Giesecke R, González HE (2004) Mandible characteristics and allometric relations in copepods: a reliable method to estimate prey size and composition from mandible occurrence in predator guts. *Rev chil hist nat* 77(4):607-616

Gifford DJ, Dagg MJ (1988) Feeding of the estuarine copepod *Acartia tonsa* Dana: Carnivory vs. herbivory in natural microplankton assemblages. *Bull Mar Sci* 43(3):458-468

Gifford DJ, Caron DA (2000) Sampling, preservation, enumeration and biomass of marine protozooplankton. En: Harris RP, Wiebe P, Lenz J, Skjoldal HR, Huntley M (eds) *ICES Zooplankton methodology manual*. Academic Press, London, UK. p 193–221

Gifford S, Rollwagen-Bollens G, Bollens S (2007) Mesozooplankton omnivory in the upper San Francisco Estuary. *Mar Ecol Prog Ser* 348:33–46

Gilron GL, Lynn DH (1989) Estimates of in situ population growth rates of four tintinnine ciliate species near Kingston Harbour, Jamaica. *Estuar Coast Shelf Sci* 29:1-10

Ginsberg SS, Aliotta S, Lizasoain GO (2009) Sistema interconectado de canales de marea del estuario de Bahía Blanca, Argentina: evaluación de la circulación de sedimento como carga de fondo por métodos acústicos. *Lat Am J Aquat Res* 37(2):231-245

Gismervik I, Olsen Y, Vadstein O (2002) Micro- and mesozooplankton response to enhanced nutrient input – a mesocosm study. *Hydrobiol* 484:75–87

Graeve M, Kattner G, Hagen W (1994a) Diet-induced changes in the fatty acid composition of Arctic herbivorous copepods: Experimental evidence of trophic markers. *J Exp Mar Biol Ecol* 182:97-110

- Graeve M, Hagen W, Kattner G (1994b) Herbivorous or omnivorous? On the significance of lipid compositions as trophic markers in Antarctic copepods. *Deep Sea Res I* 41:915–924
- Graeve M, Kattner G, Piepenburg D (1997) Lipids in Arctic benthos: does the fatty acid and alcohol composition reflect feeding and trophic interactions? *Polar Biol* 18:53-61
- Graeve M, Dauvy P, Scailteur Y (2001) Combined lipid, fatty acid and digestive tract content analyses: a penetrating approach to estimate feeding modes of Antarctic amphipods. *Polar Biol* 24:853-862
- Grasshoff K, Erhardt M, Kremling K (1983) *Methods of seawater analysis*. 2nd edition, Verlag-Chemie, Weinheim, Germany
- Guinder VA (2011) *Dinámica del fitoplancton en el estuario de Bahía Blanca y su relación con las variables ambientales en el marco del cambio climático global*. Tesis doctoral. Universidad Nacional del Sur, Argentina
- Guinder VA, Popovich CA, Perillo GME (2009) Particulate suspended matter concentrations in the Bahía Blanca Estuary, Argentina: Implication for the development of phytoplankton blooms. *Estuar Coast Shelf Sci* 5:157–165
- Guinder VA, Popovich CA, Molinero JC, Perillo GME (2010) Long-term changes in phytoplankton phenology and community structure in the Bahía Blanca Estuary, Argentina. *Mar Biol* 157:2703-2716
- Guinder VA, Molinero JC, Popovich CA, Marcovecchio JE, Sommer U (2012) Dominance of the planktonic diatom *Thalassiosira minima* in recent summers in the Bahía Blanca Estuary. *J Plankton Res* 34(11):995-1000
- Guisande C, Riveiro I, Maneiro I (2000) Comparisons among the amino acid composition of females, eggs and food to determine the relative importance of food quantity and food quality to copepod reproduction. *Mar Ecol Prog Ser* 202:135–142
- Hagen W, Auel H (2001) Seasonal adaptations and the role of lipids in oceanic zooplankton. *Zoology* 104:313–326
- Hairton NG, Smith FE, Slobodkin LB (1960) Community structure, population control, and competition. *Amer Nat* 94:421-425
- Hallegraeff GM, Anderson DM, Cembella AD (1995) *Manual on harmful marine microalgae*. 2nd edition, IOC Manuals and Guides N° 33. UNESCO, Paris, France

- Halpern B, Selkoe K, Micheli F, Kappel CV (2007) Evaluating and ranking the vulnerability of global marine ecosystems to anthropogenic threats. *Conserv Biol* 21:1301–1315
- Hama T (1999) Fatty acid composition of particulate matter and photosynthetic products in subarctic and subtropical Pacific. *J Plankton Res* 21(7):1355–1372
- Harris R, Wiebe P, Lenz J, Skjoldal HR, Huntley M (2000) ICES Zooplankton methodology manual. Academic Press, London, UK
- Hasle GR (1978) The inverted-microscope method. En: Sournia A (ed) *Phytoplankton manual*. UNESCO, Paris, France. p 88–96
- Hayakawa K, Handa N, Fukuchi M (1997) Changes in the fatty acid composition of sinking particles during a phytoplankton bloom in the austral summer in Breid Bay, Antarctica. *Proc NIPR Symp Polar Biol* 10:39–49
- Head EJH, Harris LR (1992) Chlorophyll and carotenoid transformation and destruction by *Calanus* spp. grazing on diatoms. *Mar Ecol Prog Ser* 86:229–238
- Heffner M, Bodnariuk P, López F, Vaschetti G (2003) Aportes de agua a la ría de Bahía Blanca. Informes medioambientales. Comité Técnico Ejecutivo. Municipalidad de Bahía Blanca
- Heinbokel JF, Coats DW, Henderson KW, Tyler MA (1988) Reproduction rates and secondary production of three species of the rotifer genus *Synchaeta* in the estuarine Potomac River. *J Plankton Res* 10:659–674
- Heinle DR, Harris RP, Ustach JF, Flemer DA (1977) Detritus as food for estuarine copepods. *Mar Biol* 40:341–353
- Helling GR, Baars MA (1985) Changes of the concentration of chlorophyll and phaeopigment in grazing experiments. *Hydrobiol Bull* 19:41–48
- Hemminga MA, Klap VA, van Soelen J, Boon JJ (1993) Effect of salt marsh inundation on estuarine particulate organic matter characteristics. *Mar Ecol Prog Ser* 99:153–161
- Hillebrand H, Dürselen CD, Kirschtel D, Pollinger D, Zohary T (1999) Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *J Phycol* 35:403–424
- Hoffmeyer MS (1983) Zooplankton del área interna de Bahía Blanca (Buenos Aires - Argentina). I- Composición faunística. *Hist Natural* 3:73–94

Hoffmeyer MS (1987) Estudios relativos a la alimentación del copépodo planctónico *Acartia tonsa* Dana en el estuario de Bahía Blanca. Tesis doctoral. Universidad Nacional de La Plata, Argentina

Hoffmeyer MS (1994) Seasonal succession of copepoda in the Bahía Blanca Estuary. *Hydrobiol* 292/293:303-308

Hoffmeyer MS (2004a) Mesozooplankton. En: Piccolo MC y Hoffmeyer MS (eds) Ecosistema del estuario de Bahía Blanca. Instituto Argentino de Oceanografía, Bahía Blanca, Argentina. p 133-141

Hoffmeyer MS (2004b) Decadal change in zooplankton seasonal succession in the Bahía Blanca estuary, Argentina, following introduction of two zooplankton species. *J Plankton Res* 26(2):181-189

Hoffmeyer MS (2007, 2008) Estudio del fitoplancton, micro, meso y macrozooplankton. Programa de monitoreo de la calidad ambiental de la zona interior del estuario de Bahía Blanca. Comité Técnico Ejecutivo. Municipalidad de Bahía Blanca

Hoffmeyer MS, Prado Figueroa M (1997) Integumental structures in the oral field of *Eurytemora americana* and *Acartia tonsa* (Copepoda, Calanoida) in relation to their trophic habits. *Crustaceana* 70(3):257-271

Hoffmeyer MS, Frost BW, Castro MB (2000) *Eurytemora americana* Williams, 1906, not *Eurytemora affinis* (Poppe, 1880), inhabits the Bahía Blanca estuary, Argentina. *Sci Mar* 64:111–113

Hoffmeyer MS, Torres ER (2001) Morphometric variables and individual volumen of *Eurytemora americana* and *Acartia tonsa* females (Copepoda, Calanoida) from the Bahía Blanca estuary, Argentina. *Hydrobiol* 459:73–82

Hoffmeyer MS, Cervellini PM (2004) Zooplankton temporario. En: Piccolo MC y Hoffmeyer MS (eds) Ecosistema del estuario de Bahía Blanca. Instituto Argentino de Oceanografía, Bahía Blanca, Argentina. p 153-161

Hoffmeyer MS, Mianzan HW (2004) Macrozooplankton del estuario de Bahía Blanca y aguas adyacentes. En: Piccolo MC, Hoffmeyer MS (eds) Ecosistema del estuario de Bahía Blanca. Instituto Argentino de Oceanografía, Bahía Blanca, Argentina. p 143-151

- Hoffmeyer MS, Biancalana F, Berasategui AA (2005) Impact of a power plant cooling system on copepod and meroplankton survival (Bahía Blanca estuary, Argentina). *Iheringia Sér Zool* 95:311–318
- Hoffmeyer MS, Barría de Cao MS (2007) Zooplankton assemblage from a tidal channel in the Bahía Blanca estuary. *Braz J Oceanogr* 55(2):97-107
- Hoffmeyer MS, Fernández Severini M, Menéndez MC, Berasategui AA, Biancalana F (2008). En: Neves R, Baretta J, Mateus M (eds) Perspectives on integrated coastal zone management in South America. IST Press. Scientific Publishers, Lisboa, Portugal. p 273-277
- Hoffmeyer MS, Berasategui AA, Beigt D, Piccolo MC (2009) Environmental regulation of the estuarine copepods *Acartia tonsa* and *Eurytemora americana* during coexistence period. *J Mar Biol Assoc UK* 89:355–361
- Howell KL, Pond DW, Billett DSM, Tyler PA (2003) Feeding ecology of deep-sea seastars (Echinodermata: Asteroidea): a fatty-acid biomarker approach. *Mar Ecol Prog Ser* 255:193–206
- Irigoien X, Castel J (1995) Feeding rates and productivity of the copepod *Acartia bifilosa* in a highly turbid estuary; the Gironde (SW France). *Hydrobiol* 311:115–25
- Iverson SJ (2009) Tracing aquatic food webs using fatty acids: from qualitative indicators to quantitative determination. En: Arts MT, Brett MT, Kainz MJ (eds) Lipids in aquatic ecosystems. Springer, New York, USA. p 281-307
- Jeong HJ (1994) Predation effects of the calanoid copepod *Acartia tonsa* on a population of the heterotrophic dinoflagellate *Protoperidinium* cf. *divergens* in the presence of co-occurring red-tide dinoflagellate prey. *Mar Ecol Prog Ser* 111:87–97
- Jiang X, Wang G, Li S, He J (2007) Heavy metal exposure reduces hatching success of *Acartia pacifica* resting eggs in the sediment. *J Environ Sci* 19:733–737
- Jonsson PR, Tiselius P (1990) Feeding behaviour, prey detection and capture efficiency of the copepod *Acartia tonsa* feeding on planktonic ciliates. *Mar Ecol Prog Ser* 60:35–44
- Kaneda T (1991) Iso- and anteiso-fatty acids in bacteria: biosynthesis, function, and taxonomic significance. *Microbiol Review* 55:288-302
- Kattner G, Gerken G, Eberlein K (1983) Development of lipids during a spring plankton bloom in the northern Sea. I. Particulate fatty acids. *Mar Chem* 14:149-162

- Kattner G, Fricke HSG (1986) Simple gas–liquid chromatographic method for the simultaneous determination of fatty acids and alcohol in wax esters of marine organisms. *J Chromatogr* 361:263–268
- Kattner G, Hagen W (1995) Polar herbivorous copepods – different pathways in lipid biosynthesis. *ICES J Mar Sci* 52:329-335
- Kattner G, Albers C, Graeve M, Schnack-Schiel B (2003) Fatty acid and alcohol composition of the small polar copepods, *Oithona* and *Oncaea*: indication on feeding modes. *Polar Biol* 26:666-671
- Kattner G, Hagen W, Lee RF, Campbell D, Deibel S, Falk-Petersen M, Graeve M, Hansen BW, Hirche HJ, Jónasdóttir SH, Madsen ML, Mayzaud P, Müller-Navarra D, Nichols PD, Paffenhöfer GA, Pond D, Saito H, Stübing D, Virtue P (2007) Perspectives on marine zooplankton lipids. *Can J Fish Aquat Sci* 64:1628-1639
- Kattner G, Hagen W (2009): Lipids in marine copepods: Latitudinal characteristics and perspective to global warming. En: Arts MT, Brett MT, Kainz MJ (eds) *Lipids in aquatic ecosystems*. Springer, New York, USA. p 257-280
- Kelly J, Scheibling R (2012) Fatty acids as dietary tracers in benthic food webs. *Mar Ecol Prog Ser* 446:1–22
- Keppel GS, Hazzard SE (2000) Diet and egg production of the copepod *Acartia tonsa* in Florida Bay. II. Role of the nutritional environment. *Mar Biol* 137:111–121
- Kjørboe T, Saiz E, Viitasalo M (1996) Prey switching behaviour in the planktonic copepod *Acartia tonsa*. *Mar Ecol Prog Ser* 143:65–75
- Kocum E, Underwood GJC, Nedwell DB (2002) Simultaneous measurement of phytoplanktonic primary production, nutrient and light availability along a turbid, eutrophic UK east coast estuary (the Colne Estuary). *Mar Ecol Prog Ser* 231:1–12
- Kogan M (2005) Estudio de la composición específica, abundancia y distribución espacial del microzooplancton (Protozoos y Micrometazoos) en el estuario del Río de la Plata (Argentina–Uruguay). Tesis doctoral. Universidad de Buenos Aires, Argentina
- Laprise R, Dodson JJ (1994) Environmental variability as a factor controlling spatial patterns in distribution and species diversity of zooplankton in the St Lawrence Estuary. *Mar Ecol Prog Ser* 107:67–81

- Lara RJ, Gómez EA, Pucci AE (1985) Organic matter, sediment particle size and nutrient distributions in a sewage affected shallow channel. *Mar Pollut Bull* 16:360–364
- Leakey RJG, Burkill PH, Sleigh MA (1992) Planktonic ciliates in Southampton Water: abundance, biomass, production, and role in pelagic carbon flow. *Mar Biol* 114:67-83
- Lechowicz MJ (1982) The sampling characteristics of electivity indices. *Oecol* 52:22–30
- Lee RF, Nevenzel JC, Paffenhöfer GA (1971) Importance of wax esters and other lipids in the marine food chain: phytoplankton and copepods. *Mar Biol* 9:99–108
- Lee RF, Hagen W, Kattner G (2006) Lipid storage in marine zooplankton. *Mar Ecol Prog Ser* 307:273-306
- Lenz J (1977) Seston and its main components. En: Rheinheimer G (ed) *Microbial ecology of Brackish water*. Springer Verlag, Berlin, Germany. p 37-60
- Lenz J (2000) Introduction. En: Harris RP, Wiebe PH, Lenz J, Skjoldal HR, Huntley M (eds) *ICES Zooplankton methodology manual*. Academic Press, London, UK. p 1-32
- Levene H (1960) Robust testes for equality of variances. En: Olkin I (ed) *Contributions to probability and statistics*. Stanford University Press. p 278–292.
- Li WKW, Andersen RA, Gifford DJ, Incze LS, Martin JL, Pilskaln CH, Rooney-Varga JN, Sieracki ME, Wilson WH, Wolff NH (2011) Planktonic microbes in the Gulf of Maine area. *PLoS ONE* 6(6): e20981. doi: 10.1371/journal.pone.0020981
- Lischka S, Hagen W (2007) Seasonal lipid dynamics of the copepods *Pseudocalanus minutus* (Calanoida) and *Oithona similis* (Cyclopoida) in the Arctic Kongsfjorden (Svalbard). *Mar Biol* 150(3):443–454
- López Cazorla A, Pettigrosso RE, Tejera L, Camina R (2011) Diet and food selection by *Ramnogaster arcuata* (Osteichthyes, Clupeidae). *J Fish Biol* 78:2052–2066
- Lorenzen CJ (1967) Vertical distribution of chlorophyll and phaeopigments: Baja California. *Deep Sea Res* 14:735–745
- Lorenzen CJ, Jeffrey SW (1980) Determination of chlorophyll in seawater. *UNESCO Tech Pap Mar Sci* 35:1–20
- Lynn DH, Roff JC, Hopcroft RR (1991) Annual abundance and biomass of aloricate ciliates in tropical neritic waters off Kingston, Jamaica. *Mar Biol* 110:437-448

Maddi P, Carman KR, Fry B, Wissel B (2006) Use of primary production by harpacticoid copepods in a Louisiana saltmarsh food web. En: Kromkamp JC, de Brouwer JFC, Blanchard GF, Forster RM, Créach V (eds) Functioning of microphytobenthos in estuaries. Royal Netherlands Academy of Arts and Sciences, Amsterdam. p 65–81

Magurran AE (1988) Diversidad ecológica y su medición. Ediciones Vedra. Barcelona.

Mann KH (1988) Production and use of detritus in various freshwater, estuarine, and coastal marine ecosystems. *Limnol Oceanogr* 33:910-930

Mansour MP, Volkman JK, Jackson AE, Blackburn SI (1999) The fatty acid and sterol composition of five marine dinoflagellates. *J Phycol* 35(4):710–720

Marcovecchio J, Asteasuain R, Botté S, Chiarello MN, Arlenghi J, Freije RH, Martínez AM, Moratto A (2004) Estudio del impacto de la descarga cloacal de la ciudad sobre el estuario de Bahía Blanca. Programa integral de monitoreo. Subprograma de monitoreo de cuerpos receptores: ría de Bahía Blanca. Comité Técnico Ejecutivo. Municipalidad de Bahía Blanca. p 3-102

Marcovecchio JE, Botté SE, Delucchi F, Arias A, Fernández Severini MD, De Marco S, Tombesi N, Andrade S, Ferrer L, Freije RH (2008) Pollution processes in Bahía Blanca estuarine environment. En: Neves R, Baretta J, Mateus M (eds) Perspectives on integrated coastal zone management in South America. IST Press. Scientific Publishers, Lisboa, Portugal. p 301-314

Marcovecchio J, Botté S, Fernández Severini M, Delucchi F (2010) Geochemical control of heavy metal concentrations and distribution within Bahía Blanca Estuary (Argentina). *Aquat Geochem* 16:251–266

Margalef DR (1958) Information theory in ecology. *Gen System* 3:36-71

Margalef R (1974) Ecología. Ediciones Omega, Barcelona, España

Marques SC, Azeiteiro UM, Marques JC, Neto JM, Pardal MA (2006) Zooplankton and ichthyoplankton communities in a temperate estuary: spatial and temporal patterns. *J Plankton Res* 28:297–312

Marques SC, Pardal MA, Pereira MJ, Gonçalves F, Marques JC, Azeiteiro UM (2007) Zooplankton distribution and dynamics in a temperate shallow estuary. *Hydrobiol* 587:213–223

- Mateus M, Baretta J, Neves R (2008) The continuous challenge of managing estuarine ecosystems. En: Neves R, Baretta J, Mateus M (eds) Perspectives on integrated coastal zone management in South America. IST Press. Scientific Publishers, Lisboa, Portugal. p 15-28
- Mayzaud P, Chanut J, Ackman R (1989) Seasonal changes of the biochemical composition of marine particulate matter with special reference to fatty acids and sterols. *Mar Ecol Prog Ser* 56:189–204
- Mayzaud P, Claustre H, Augier P (1990) Effect of variable nutrient supply on fatty acid composition of phytoplankton growth in an enclosed experimental ecosystem *Mar Ecol Prog Ser* 60:123-140
- McClelland JW, Valiela I, Michener RH (1997) Nitrogen-stable isotope signatures in estuarine food webs: A record of increasing urbanization in coastal watersheds. *Limnol Oceanogr* 42(5):930-937
- McLusky DS, Elliott M (2004) *The estuarine ecosystem*. Oxford University Press, Oxford, UK
- McQueen DJ, Post JR, Mills EL (1986) Trophic relationships in freshwater pelagic ecosystems. *Canad J Fish Aquat Sci* 43:1571-1581
- Melo WD, Piccolo MC, Perillo ME (2008) La cartografía de Bahía Blanca en los paradigmas históricos. *GeoActa* 33:57-69
- Menden-Deuer S, Lessard EJ (2000) Carbon to volume relationships for dinoflagellates, diatoms, and of the protist plankton. *Limnol Oceanogr* 45:569-579
- Menéndez MC (2009) Distribución del mesozooplankton y su relación con el ciclo de mareas en la zona interna del estuario de Bahía Blanca (Puerto Cuatros). Tesis doctoral. Universidad Nacional del Sur, Argentina
- Menéndez MC, Dutto MS, Piccolo MC, Hoffmeyer MS (2012) Role of seasonal and semidiurnal tidal cycle on mesozooplankton variability in a shallow mixed estuary (Bahía Blanca, Argentina) *ICES J Mar Sci* 69(3):389-398
- Modigh M, Castaldo S (2005) Effects of fixatives on ciliates as related to cell size. *J Plankton Res* 27:845–849
- Mohammed EH, Wang G, Jiang J (2010) The effects of nickel on the reproductive ability of three different marine copepods. *Ecotoxicology* 19:911–916

Montagnes DJS, Lynn DH (1991) Taxonomy of choreotrichs, the major marine planktonic ciliates, with emphasis on the aloricate forms. *Mar Microb Food Webs* 5:59–74

Moore JC, Berlow EL, Coleman DC, de Ruiter PC, Dong Q, Hastings A, Collins Johnson N, McCann KS, Melville K, Morin PJ, Nadelhoffer K, Rosemond AM, Post DM, Sabo JL, Scow KM, Vanni MJ, Wall DH (2004) Detritus, trophic dynamics and biodiversity. *Ecol Lett* 7:584–600

Morris MJ, Gust G, Torres JJ (1985) Propulsion efficiency and cost of transport for copepods: a hydromechanical model of crustacean swimming. *Mar Biol* 86:283–295

Müller-Navarra DC, Brett MT, Liston AM, Goldman (2000) A highly unsaturated fatty acid predicts carbon transfer between primary producers and consumers. *Nature* 403:74-77

Murphy J, Riley JP (1962) A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal Chim Acta* 27:31-36

Muxagata E (2005) Seasonal and spatial distribution of the mesozooplankton of Southampton Water with particular reference to the contribution of copepods and barnacle larvae to pelagic carbon flux. PhD dissertation, University of Southampton, UK

Muxagata E, Williams JA, Shearer M (2004) Composition and temporal distribution of cirripede larvae in Southampton Water, England, with particular reference to the secondary production of *Elminius modestus*. *ICES J Mar Sci* 61:585-595

Muxagata E, Amaral WJA, Barbosa CN (2012) *Acartia tonsa* production in the Patos Lagoon estuary, Brazil. *ICES J Mar Sci* 69(3):475-482

Nagasawa S, Simidu U, Nemoto T (1985) Scanning electron microscopy investigation of bacterial colonization of the marine copepod *Acartia clausi*. *Mar Biol* 87:61–66

Napolitano GE, Pollero RJ, Gayoso AM, MacDonalds BA, Thompson RJ (1997) Fatty acids as trophic markers of phytoplankton blooms in the Bahía Blanca estuary (Buenos Aires, Argentina) and in Trinity Bay (Newfoundland, Canada). *Biochem Syst Ecol* 25(8):739-755

Negrin VL (2011) El rol de las marismas del estuario de Bahía Blanca en el ciclo biogeoquímico de nutrientes inorgánicos y de materia orgánica. Tesis doctoral. Universidad Nacional del Sur, Argentina

Negrin VL, Spetter CV, Asteasuain RO, Perillo GME, Marcovecchio JE (2011) Influence of flooding and vegetation on carbon, nitrogen, and phosphorus dynamics in the pore water of a *Spartina alterniflora* salt marsh. *J Environ Sci* 23:212–221

Nejstgaard JC, Gismervik I, Solberg PT (1997) Feeding and reproduction by *Calanus finmarchicus*, and microzooplankton grazing during mesocosm blooms of diatoms and coccolithophore *Emiliania huxleyi*. Mar Ecol Prog Ser 147:197–217

Nejstgaard JC, Naustvoll LJ, Sazhin A (2001) Correcting for underestimation of microzooplankton grazing in bottle incubation experiments with mesozooplankton. Mar Ecol Prog Ser 221:59–75

Nichols PD, Jones, G.J., De Leeuw, J.W., and Johns, R.B. (1984) The fatty acid and sterol composition of two marine dinoflagellates. Phytochem 23:1043-1047

Nixon SW (1995) Coastal marine eutrophication: a definition, social causes, and future concerns. Ophelia 41:199–219

Nixon SW, Ovaitt CA, Frithsen J, Sullivan B (1986) Nutrients and the productivity of estuarine and coastal marine ecosystems. J limnol Soc S Afr 12:43-71

Nixon SW, Fulweiler RW (2009) Nutrient pollution, eutrophication and the degradation of coastal marine ecosystems. En: Duarte CM (ed) Global loss of coastal habitats: Rates, causes and consequences. Fundación BBVA, Bilbao, España. p 23–58

Odum EP (1971) Fundamentals of ecology. 3rd edition, Saunders Company. Philadelphia, USA

Odum EP (2000) Tidal marshes as outwelling/pulsing systems. En: Weinstein M, Kreeger DA (eds) Concepts and controversies in tidal marsh ecology. Kluwer Academic Publishing, USA. p 3-7

Odum EP, de la Cruz AA (1963) Detritus as a major component of ecosystems. Bull Amer Inst Biol Sci 13(3):39-40

Parrish CC, McKenzie CH, MacDonald BA, Hatfield EA (1995) Seasonal studies of seston lipids in relation to microplankton species composition and scallop growth in South Broad Cove, Newfoundland. Mar Ecol Prog Ser 129:151-164

Perillo GME, Piccolo MC (1991) Tidal response in the Bahía Blanca Estuary, Argentina. J Coast Res 7(2):437-449

Perillo GME, Piccolo MC, Parodi ER, Freije RH (2001a). The Bahía Blanca Estuary ecosystem: a review. En: Lacerda L, Kjerfve B (eds) Coastal marine ecosystems of Latin America. Seelinger U, Springer Verlag, Heidelberg, Germany. p 205-217

- Perillo GME, Pierini JO, Perez DE, Gomez EA (2001b) Suspended sediment circulation in semienclosed docks Puerto Galván, Argentina. *Terra et Aqua* 83:1-8
- Perillo GME, Piccolo MC, Palma E, Perez D, Pierini J (2004) Oceanografía física. En: Piccolo MC, Hoffmeyer M (eds) El ecosistema del estuario de Bahía Blanca. Instituto Argentino de Oceanografía, Bahía Blanca, Argentina. p 61-67
- Pettigrosso RE (2001) Estudio taxonómico y ecológico de ciliados planctónicos (Ciliophora: Choreotrichida y Strombidiida) del estuario de Bahía Blanca, Argentina. Tesis doctoral. Universidad Nacional del Sur, Argentina
- Pettigrosso RE (2003) Planktonic ciliates Choreotrichida and Strombidiida from the inner zone of Bahía Blanca estuary, Argentina. *Iheringia Sér Zool* 93(2):117-126
- Pettigrosso RE, Barría de Cao MS, Popovich CA (1997) Planktonic ciliates during a diatom Bloom in Bahía Blanca Estuary, Argentina. I. Aloricate ciliates. *Oebalia* 23:21-31
- Pettigrosso RE, Barría de Cao MS (2004) En: Piccolo MC, Hoffmeyer M (eds) El ecosistema del estuario de Bahía Blanca. Instituto Argentino de Oceanografía, Bahía Blanca, Argentina. p 121-131
- Pettigrosso RE, Popovich CA (2009) Phytoplankton-aloricate ciliate community in the Bahia Blanca Estuary (Argentina): seasonal patterns and trophic groups. *Braz J Oceanogr* 57(3):215-227
- Piccolo MC (2008) Climatological features of the Bahía Blanca Estuary. En: Neves R, Baretta J, Mateus M (eds) Perspectives on integrated coastal zone management in South America, IST Press. Scientific Publishers, Lisboa, Portugal. p 231–239
- Pielou EC (1969) An introduction to mathematical ecology. Wiley-Interscience John Wiley & Sons, New York, USA
- Pinckney JL, Paerl HW, Tester P, Richardson TL (2001) The role of nutrient loading and eutrophication in estuarine ecology. *Environ Health Perspect* 109:699–706
- Pomeroy LR (1974) The ocean's food web: a changing paradigm. *BioScience* 24:499–504
- Popovich CA (2004) Fitoplancton. En: Piccolo MC, Hoffmeyer M (eds) El ecosistema del estuario de Bahía Blanca. Instituto Argentino de Oceanografía, Bahía Blanca, Argentina. p 91-100

- Popovich CA, Gayoso AM (1999) Effect of irradiance and temperature on the growth rate of *Thalassiosira curviseriata* Takano (Bacillariophyceae), a bloom diatom in Bahía Blanca estuary (Argentina). *J Plankton Res* 21(6):1101–1110
- Popovich CA, Marcovecchio JE (2008) Spatial and temporal variability of phytoplankton and environmental factors in a temperate estuary of South America (Atlantic coast, Argentina). *Cont Shelf Res* 28:236-244
- Popovich CA, Spetter CV, Marcovecchio JE, Freije RH (2008a) Dissolved nutrient availability during winter diatom bloom in a turbid and shallow estuary (Bahía Blanca, Argentina). *J Coast Res* 24:95-102
- Popovich CA, Guinder VA, Pettigrosso R (2008b) Composition and dynamics of phytoplankton and aloritcate ciliate communities from Bahía Blanca estuary. En: Neves R, Baretta J, Matteus M (eds) *Perspectives on integrated coastal zone management in South America*, IST Press. Scientific Publishers, Lisboa, Portugal. p 255-270
- Popovich CA, Damiani C, Constenla D, Leonardi PI (2012) Lipid quality of the diatoms *Skeletonema costatum* and *Navicula gregaria* from the South Atlantic Coast (Argentina): evaluation of its suitability as biodiesel feedstock. *J Appl Phycol* 24:1–10
- Putt M, Stoecker DK (1989) An experimentally determined carbon: volume ratio for marine oligotrichous ciliates from estuarine and coastal waters. *Limnol Oceanogr* 34:1097–1103
- Ramírez FC (2007) Distribución y alimentación del zooplankton. En: Carreto JI, Bremec C (eds) *El mar argentino y sus recursos pesqueros: el ecosistema marino*. Publicaciones especiales INIDEP 5:45-69
- Reemtsma T, Haake B, Ittekkot V, Nair RR, Brockmann UH (1990) Downward flux of particulate fatty acids in the central Arabian Sea. *Mar Chem* 29:183–202
- Reinhardt SB, Van Vleet ES (1986) Lipid composition of twenty-two species of Antarctic midwater zooplankton and fish. *Mar Biol* 91:149-159
- Richards FA, Kletsch RA (1964) The spectrophotometric determination of ammonia and labile amino compounds in fresh and sea water by oxidation to nitrite. En: Miyake Y, Koyoma T (eds) *Recent researches in the fields of hydrosphère, atmosphère and nuclear geochemistry*. Maruzen Co, Tokyo, Japan. p 65–81

- Richardson J (2008) In hot water: zooplankton and climate change. *ICES J Mar Sci* 65(3):279–295
- Richoux NB, Froneman PW (2009) Plankton trophodynamics at the subtropical convergence, Southern Ocean. *J Plankton Res* 31(9):1059–1073
- Rieper M (1978) Bacteria as food for marine harpacticoid copepods. *Mar Biol* 45(4):337–345
- Roelofs AK (1984) Distributional patterns and variation of valve diameter of *Paralia sulcata* in surface sediments of Southern British Columbia Inlets. *Estuar Coast Shelf Sci* 18:165-176
- Roman MR (1984) Utilization of detritus by the copepod, *Acartia tonsa*. *Limnol Oceanogr* 29(5):949–959
- Roman MR, Rublee PA (1980) Containment effects in copepod grazing experiments: a plea to the end of the black box approach. *Limnol Oceanogr* 25:982–990
- Rossi S, Marsh J, Youngbluth MJ, Jacoby CA (2008) Fatty acid trophic markers and trophic links among seston, crustacean zooplankton and the siphonophore *Nanomia cara* in Georges Basin and Oceanographer Canyon (NW Atlantic) *Sci Mar* 72(2):403-416
- Rougier C, Pourriot R, Lam-Hoai T (2000) The genus *Synchaeta* (rotifers) in a north-western Mediterranean coastal lagoon (Etang de Thau, France): taxonomical and ecological remarks. *Hydrobiol* 436:105–117
- Sabatini ME (1987) Fito y zooplancton de un sector de la Bahía Blanca: especies dominantes, standing stock y estimación de la producción, con particular referencia a *Acartia tonsa* Dana, 1849 (Copepoda: Calanoida). Tesis doctoral. Universidad Nacional del Sur, Argentina
- Sabatini ME (1989) Ciclo anual del copépodo *Acartia tonsa* Dana 1849 en la zona interna de la Bahía Blanca (Provincia de Buenos Aires, Argentina). *Sci Mar* 53:847–856
- Saiz E, Kiørboe T (1995) Predatory and suspension feeding of the copepod *Acartia tonsa* in turbulent environments. *Mar Ecol Prog Ser* 122:147–158
- Sardiña P (2004) Ecología trófica de estadios juveniles de los esciéndidos dominantes en el estuario de Bahía Blanca. Pescadilla de red (*Cynoscion guatucupa*) y corvina rubia (*Micropogonias furnieri*). Tesis doctoral. Universidad Nacional del Sur, Argentina

- Sardiña P, López Cazorla A (2005) Feeding habits of the juvenile striped weakfish, *Cynoscion guatucupa* Cuvier 1829, in Bahía Blanca estuary (Argentina): Seasonal and ontogenetic changes. *Hydrobiol* 532(1):23-38
- Sargent JR, Eilertsen HC, Falk-Petersen S, Taasen JP (1985) Carbon assimilation and lipid production in phytoplankton in northern Norwegian fjords. *Mar Biol* 85:109–116
- Sargent JR, Henderson RJ (1986) Lipids. En: Corner EDS, O'Hara SCM (eds) *The Biological chemistry of marine copepods*. Clarendon Press, Oxford, UK. p 59–164
- Sautour B, Castel J (1993) Feeding behaviour of the coastal copepod *Euterpina acutifrons* on small particles. *Cah Biol Mar* 34:239-251
- Schminke HK (2007) Entomology for the copepodologist. *J Plankton Res* 29(Suppl I):i149–i162
- Scholz B, Liebezeit G (2012) Biochemical characterisation and fatty acid profiles of 25 benthic marine diatoms isolated from the Solthörn tidal flat (southern North Sea). *J Appl Phycol*. doi: 10.1007/s10811-012-9879-0
- Schwamborn R, Bonecker SLC, Galvão IB, Silva TA, Neumann-Leitão (2004) Mesozooplankton grazing under conditions of extreme eutrophication in Guanabara Bay, Brazil. *J Plankton Res* 26(9):983–992
- Seguel CG, Mudge SM, Salgado C, Toledo M (2001) Tracing sewage in the marine environment: altered signatures in Concepción Bay, Chile. *Water Res* 35(17):4166–74
- Shannon CE, Weaver W (1949) *The mathematical theory of communication*. Urbana, University of Illinois Press, USA
- Shapiro SS, Wilk MB (1965) An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika* 52:591–611
- Sherr EB, Sherr BF (1988) Roles of microbes in pelagic food webs: A revised concept. *Limnol Oceanogr* 33:1225-1227
- Sherr E, Sherr B (2008) Understanding roles of microbes in marine pelagic food webs: A brief history. En: Kirchman DL (ed) *Microbial ecology of the oceans*. 2nd edition, Wiley-Blackwell, USA. p 27-44
- Sieburth JM, Smetacek V, Lenz J (1978) Pelagic ecosystem structure: heterotrophic compartments of the plankton and their relationship to plankton size fractions. *Limnol Oceanogr* 23:1256-1263

- Silva PV, Luppi TA, Spivak ED, Anger K (2009) Reproductive traits of an estuarine crab, *Neohelice* (= *Chasmagnathus*) *granulata* (Brachyura: Grapsoidea: Varunidae), in two contrasting habitats. *Sci Mar* 73:117–127
- Simonetti P, Botté SE, Fiori SM, Marcovecchio JE (2011) Heavy-metal concentrations in soft tissues of the burrowing crab *Neohelice granulata* in Bahía Blanca Estuary, Argentina. *Arch Environ Contam Toxicol* 62(2):243-253
- Siuda ANS, Dam HG (2010) Effects of omnivory and predator-prey elemental stoichiometry on planktonic trophic interactions. *Limnol Oceanogr* 55(5):2107–2116
- Sokal RR, Rohlf FJ (1999) *Introducción a la Bioestadística*. Editorial Reverté SA, Barcelona, España
- Stevens CJ, Deibel D, Parrish C (2004) Copepod omnivory in the North Water Polynya (Baffin Bay) during autumn: Spatial patterns in lipid composition. *Deep Sea Res I* 51:1637–1658
- Stoecker DK, Gifford DJ, Putt M (1994) Preservation of marine planktonic ciliates—losses and cell shrinkage during fixation. *Mar Ecol Prog Ser* 110(2–3):293–299
- Strickland JHD, Parsons TR (1968) *A practical handbook of seawater analysis*. 2nd edition, Bull Fish Res Board Can N° 167, Ottawa, Canada
- Stübing D, Hagen W (2003) Fatty acid biomarker ratios – Suitable trophic indicators in Antarctic euphausiids? *Polar Biol* 26(12):774-782
- Teal JM (1962) Energy flow in the salt marsh ecosystem of Georgia. *Ecology* 43:614-624
- Technicon (1973) *Silicates in water and seawater*. Industrial Method N°186–71W. Technicon Instrument Corporation, Tarrytown, New York, USA
- Tiselius P (1989) Contribution of aloricate ciliates to the diet of *Acartia clausi* and *Centropages hamatus* in coastal waters. *Mar Ecol Prog Ser* 56:49–56
- Tiselius P, Hansen B, Calliari D (2012) Fatty acid transformation in zooplankton: from seston to benthos. *Mar Ecol Prog Ser* 446:131–144
- Tomas CR (1997) *Identifying marine phytoplankton*. Academic Press, USA.
- Tombesi NB, Pistonesi MF, Freije RH (2000) Physico-chemical characterisation and quality improvement evaluation of primary treated municipal waste water in the city of Bahía Blanca (Argentina). *Ecol Environ Conserv* 6:147–151

- Tréguer P, Le Corre P (1975) Manuel d'Analyse des Sels Nutritifs dans l'Eau de Mer (Utilisation de l'Autoanalyser II Technicon). 2nd edition, Université de Bretagne Occidentale, Brest, France
- Turner JT (1984) The feeding ecology of some zooplankters that are important prey items of larval fish. NOAA Tech Rep NMFS 7:1–28
- Turner JT (2002) Zooplankton fecal pellets, marine snow and sinking phytoplankton blooms. *Aquat Microb Ecol* 27:57–102
- Turner JT, Levinsen H, Nielsen TG, Hansen BW (2001) Zooplankton feeding ecology: grazing on phytoplankton and predation on protozoans by copepod and barnacle nauplii in Disko Bay, West Greenland. *Mar Ecol Prog Ser* 221:209–219
- Urrutxurtua I, Orive E, de la Sota A (2003) Seasonal dynamics of ciliated protozoa and their potential food in an eutrophic estuary (Bay of Biscay). *Est Coast Shelf Sci* 57:1169–1182
- Uye SI, Aoto I, Onbé T (2002) Seasonal population dynamics and production of *Microsetella norvegica*, a widely distributed but little-studied marine planktonic harpacticoid copepod. *J Plankton Res* 24(2):143-153
- Valiela I (1995) Marine ecological processes. 2nd edition, Springer, New York, USA
- Vanderploeg AH, Scavia D (1979) Two electivity indices for feeding with special reference to zooplankton grazing. *J Fish Res Board Can* 36:362–365
- Verity PG, Langdon C (1984) Relationships between lorica volume, carbon, nitrogen and ATP content of tintinnids in Narragansett Bay. *J Plankton Res* 6(5):859-868
- Viso AC, Marty JC (1993) Fatty acids of 28 marine microalgae. *Phytochem* 34:1521–1533
- Volkman JK (1986) A review of sterol markers for marine and terrigenous organic matter. *Org Geochem* 9:83-99
- Volkman JK, Johns RB, Gillian FT, Perry GJ (1980) Microbial lipids of an intertidal sediment. I. Fatty acids and hydrocarbons. *Geochim Cosmochim Acta* 44:1133–1143
- Volkman JK, Jeffery SW, Nichols PD, Rogers GI, Garland CD (1989) Fatty acids and lipid composition of 10 species of microalgae used in mariculture. *J Exp Mar Biol Ecol* 128:219-240

Wakeham SG, Beier JA (1991) Fatty acid and sterol biomarkers as indicators of particulate matter source and alteration processes in the Black Sea. *Deep Sea Res* 38:S943–S968

White DC, Bobbie JS, Nichols SD, Fazio SD, Davis WM (1980) Nonselective biochemical methods for the determination of fungal mass and community structure in estuarine detrital microflora. *Bot Mar* 23:239-250

Whittaker RH, Likens GE (1975) The biosphere and man. En: Lieth H, Whittaker RH (eds) Primary productivity of the biosphere. Springer Verlag Ecological Studies, Berlin, Germany

Xu H, Jiang Y, Al-Rasheid KA, Al-Farraj SA, Song W (2011) Application of an indicator based on taxonomic relatedness of ciliated protozoan assemblages for marine environmental assessment. *Environ Sci Pollut Res* 18(7):1213-1221

Young CM (2002) Atlas of marine invertebrate larvae. Academic Press, London, UK

Zhukova NV, Aizdaicher NA (1995) Fatty acid composition of 15 species of marine microalgae. *Phytochem* 39(2):351-356

Zhukova N, Kharlamenko V (1999) Sources of essential fatty acids in the marine microbial loop. *Aquat Microb Ecol* 17:153–157

Anexo

Tabla I. Campañas de muestreo realizadas durante el trabajo de tesis.

Fecha	Sitio	Objetivo principal	
15/07/2008	CV	Puesta a punto técnica remoción de partículas	■
16/07/2008	CV	Puesta a punto técnica remoción de partículas	
22/07/2008	BM	Puesta a punto técnica remoción de partículas	■
23/07/2008	BM	Puesta a punto técnica remoción de partículas	
11/12/2008	CV	Experimentos de alimentación (EA)	■ ■ ■
12/12/2008	CV	EA - Recolección bot. incubadas	■ ■ ■
15/12/2008	BM	EA	■ ■ ■
16/12/2008	BM	EA - Recolección bot. incubadas	■ ■ ■
16/02/2009	CV	EA	■ ■ ■
17/02/2009	CV	EA - Recolección bot. Incubadas	■ ■ ■
20/02/2009	BM	EA	■ ■ ■
21/02/2009	BM	EA - Recolección bot. Incubadas	■ ■ ■
26/02/2009	BM	EA - recuperación	
27/02/2009	BM	EA - recuperación	
05/03/2009	BM	EA	■ ■ ■
06/03/2009	BM	EA - Recolección bot. Incubadas	■ ■ ■
09/03/2009	CV	EA	■ ■ ■
10/03/2009	CV	EA - Recolección bot. Incubadas	■ ■ ■
27/07/2009	CV	EA	■ ■ ■
28/07/2009	CV	EA - Recolección bot. Incubadas	■ ■ ■
29/07/2009	BM	EA	■ ■ ■
30/07/2009	BM	EA - Recolección bot. Incubadas	■ ■ ■
10/08/2009	CV	EA	■ ■ ■
11/08/2009	CV	EA - Recolección bot. Incubadas	■ ■ ■
13/08/2009	BM	EA	■ ■ ■
14/08/2009	BM	EA - Recolección bot. Incubadas	■ ■ ■
17/02/2010	BM	Ácidos grasos	■
18/02/2010	CV	Ácidos grasos	■
11/03/2010	CV	Ácidos grasos	■
17/03/2010	BM	Ácidos grasos	■
26/07/2010	CV	Ácidos grasos	■
27/07/2010	CV	Ácidos grasos	■
27/07/2010	BM	Ácidos grasos	■
09/08/2010	CV	Ácidos grasos	■
10/08/2010	BM	Ácidos grasos	■

Se indican con color las campañas que fueron incluidas en cada uno de los estudios desarrollados. Verde: Evaluación ambiental, azul: Alimentación *in situ* del mesozooplankton, naranja: Análisis de ácidos grasos. CV: Canal Vieja, receptor de la descarga cloacal, BM: Bahía del Medio, sitio control.

Tabla II. Condiciones ambientales al inicio y al final de la experimentación *in situ*. Tu: turbidez (UNT), OD: oxígeno disuelto (mg l^{-1}), S: salinidad, T: temperatura ($^{\circ}\text{C}$), Feop: feopigmentos ($\mu\text{g l}^{-1}$), COP: carbono orgánico particulado ($\mu\text{g l}^{-1}$), nutrientes disueltos (μM). CV: Canal Vieja, descarga cloacal; BM: Bahía del Medio, sitio control. Se indica media \pm desvío estándar.

Fecha	Sitio	Variable	Inicial	Control	Experimental
dic-08	CV	pH	8,22 \pm 0,01	8,44 \pm 0,04	7,97 \pm 0,14
		Tu	98	110 \pm 43	133 \pm 18
		OD	5,67 \pm 0,38	7,29 \pm 0,43	3,84 \pm 2,37
		S	39 \pm 0,12	38,40 \pm 0,22	38,28 \pm 0,05
		T	20,98 \pm 0,39	17,95 \pm 3,71	18,53 \pm 1,24
		Feop	2,82 \pm 3,75	1,32 \pm 2,01	0,60 \pm 1,18
		COP	3926,34 \pm 1881,99	4558,73 \pm 1361,85	3470,53 \pm 1166,85
		NO_2^-	3,19 \pm 0,03	2,70 \pm 0,18	1,60 \pm 1,67
		NO_3^-	8,91 \pm 0,58	6,45 \pm 1,70	9,13 \pm 5,27
		NH_4^+	22,61 \pm 7,51	16,97 \pm 8,67	61,55 \pm 15,83
	PO_4^{3-}	2,71 \pm 0,70	1,84 \pm 0,14	3,73 \pm 1,23	
	DSi	88,98 \pm 0,94	74,55 \pm 1,93	86,70 \pm 2,71	
	BM	pH	8,30 \pm 0,17	8,53 \pm 0,05	7,93 \pm 1,00
		Tu	45	40 \pm 7	73 \pm 40
		OD	7,02 \pm 0,32	9,44 \pm 0,27	6,72 \pm 2,83
		S	38,80 \pm 0,12	39,08 \pm 0,05	39,10 \pm 0,08
		T	23,26 \pm 0,66	20,78 \pm 0,75	22,18 \pm 0,39
		Feop	7,28 \pm 3,26	2,80 \pm 3,22	2,16 \pm 2,64
		COP	3599,14 \pm 1133,54	3819,56 \pm 1362,45	2948,69 \pm 481,80
		NO_2^-	0,04 \pm 0,00	0,04 \pm 0,01	0,05 \pm 0,01
NO_3^-		0,93 \pm 1,83	0,21 \pm 0,09	0,33 \pm 0,40	
NH_4^+		8,36 \pm 10,87	9,12 \pm 5,75	12,73 \pm 7,98	
PO_4^{3-}	1,73 \pm 0,07	1,44 \pm 0,05	1,75 \pm 0,30		
DSi	70,34 \pm 1,55	54,43 \pm 2,33	56,14 \pm 5,51		
feb-09	CV	pH	7,98 \pm 0,05	7,83 \pm 0,21	7,85 \pm 0,21
		Tu	42	19 \pm 7	19 \pm 2
		OD	6,5	9,85 \pm 0,79	9,20 \pm 1,66
		S	39	39,75 \pm 0,5	39,75 \pm 0,5
		T	25,7 \pm 0,02	24,18 \pm 0,58	26,28 \pm 0,13
		Feop	4,72 \pm 5,35	10,68 \pm 6,61	5,25 \pm 3,04
		COP	3708,85 \pm 822,13	3734,56 \pm 512,21	3359,31 \pm 401,36
		NO_2^-	2,49 \pm 0,18	0,99 \pm 1,07	2,51 \pm 0,11
		NO_3^-	6,05 \pm 0,34	4,89 \pm 4,20	6,25 \pm 1,02
		NH_4^+	35,13 \pm 30	29,43 \pm 36,31	77,61 \pm 10,97
PO_4^{3-}	1,97 \pm 1,08	4,43 \pm 7,01	3,15 \pm 1,10		
DSi	59,79 \pm 0,45	51,72 \pm 7,52	61,14 \pm 2,12		

(continuación **Tabla II**)

Fecha	Sitio	Variable	Inicial	Control	Experimental
mar-09	CV	pH	8,05 ± 0,04	8,22 ± 0,02	7,90 ± 0,13
		Tu	121 ± 20	119 ± 5	82 ± 14
		OD	5,14 ± 0,06	5,25 ± 0,02	4,35 ± 0,18
		S	37,70 ± 0,12	37,8	37,8
		T	23,30 ± 0,37	22,21 ± 0,08	22,54 ± 0,11
		Feop	8,16 ± 3,88	12,02 ± 2,62	5,54 ± 1,49
		COP	4234,98 ± 338,69	5580,63 ± 1917,82	6074,75 ± 1334,92
		NO ₂ ⁻	4,14 ± 0,05	1,95 ± 1,96	3,62 ± 0,38
		NO ₃ ⁻	12,90 ± 1,40	4,09 ± 4,67	9,43 ± 1,13
		NH ₄ ⁺	17,43 ± 6,63	15,65 ± 3,54	67,57 ± 17,80
		PO ₄ ³⁻	2,67 ± 0,15	1,89 ± 0,34	7,89 ± 3,09
		DSi	65,51 ± 0,46	60,16 ± 0,71	68,88 ± 2,23
	BM	pH	8,10 ± 0,01	8,26 ± 0,05	8,07 ± 0,02
		Tu	63 ± 6	58 ± 9	54 ± 5
		OD	6,37 ± 0,03	5,40 ± 0,06	4,19 ± 0,11
		S	38 ± 0,23	38,2	38,2
		T	23,50 ± 0,28	22,71 ± 0,12	22,60 ± 0,26
		Feop	6,52 ± 4,06	16,05 ± 5,14	10,51 ± 3,49
COP		4843,46 ± 726,67	3907,44 ± 466,80	4230,47 ± 1105,74	
NO ₂ ⁻		1,79 ± 0,04	0,81 ± 0,53	1,87 ± 0,03	
NO ₃ ⁻		4,23 ± 0,42	2,04 ± 1,39	4,60 ± 0,43	
NH ₄ ⁺		17,60 ± 14,45	17,78 ± 8,71	34,32 ± 8,71	
PO ₄ ³⁻		1,71 ± 0,23	1,46 ± 0,22	2,23 ± 0,19	
DSi		66,44 ± 0,35	63,38 ± 0,87	64,99 ± 0,52	
jul-09	CV	pH	8,38 ± 0,09	8,42 ± 0,05	8,46 ± 0,02
		Tu	43 ± 6	50 ± 6	60 ± 9
		OD	6,03 ± 0,15	6,59 ± 0,12	6,38 ± 0,05
		S	39,05 ± 0,50	38	38
		T	10,46 ± 0,74	10,52 ± 0,61	11,70 ± 0,28
		Feop	7,00 ± 3,19	11,74 ± 4,20	11,84 ± 9,47
		COP	3203,80 ± 566,26	3896,22 ± 1637,01	4845,31 ± 1197,69
		NO ₂ ⁻	0,24 ± 0,03	0,20 ± 0,03	0,23 ± 0,04
		NO ₃ ⁻	2,03 ± 0,96	1,79 ± 0,81	3,14 ± 0,35
		NH ₄ ⁺	68,80 ± 13,97	56,62 ± 21,24	52,14 ± 8,96
		PO ₄ ³⁻	2,67 ± 0,78	2,56 ± 0,83	2,25 ± 0,27
		DSi	34,53 ± 1,99	35,12 ± 4,53	32,07 ± 0,81
	BM	pH	8,46 ± 0,03	8,44 ± 0,06	8,46 ± 0,02
		Tu	109 ± 3	116 ± 9	198 ± 36
		OD	6,94 ± 0,12	7,01 ± 0,07	6,99 ± 0,06
		S	39,4	39	39
		T	7,15 ± 0,53	10,19 ± 0,43	10,07 ± 0,38
		Feop	14,89 ± 7,17	4,56 ± 3,11	14,41 ± 5,28
COP		2984,91 ± 1497,02	5175,30 ± 1257,79	2536,20 ± 162,84	
NO ₂ ⁻		0,07 ± 0,05	0,05 ± 0,01	0,11 ± 0,04	
NO ₃ ⁻		0,15 ± 0,28	0,24 ± 0,11	1,83 ± 1,30	
NH ₄ ⁺		24,57 ± 5,98	28,63 ± 2,92	30,56 ± 5,05	
PO ₄ ³⁻		1,16 ± 0,11	1,33 ± 0,24	1,36 ± 0,24	
DSi		33,25 ± 0,19	35,57 ± 4,42	33,94 ± 1,19	

(continuación **Tabla II**)

Fecha	Sitio	Variable	Inicial	Control	Experimental
ago-09	CV	pH	8,25 ± 0,04	8,45 ± 0,09	8,39 ± 0,05
		Tu	38 ± 6	35 ± 5	59 ± 9
		OD	5,69 ± 0,02	6,10 ± 0,41	5,80 ± 0,07
		S	38,5	37,7	37,7
		T	13,94 ± 0,08	16,19 ± 0,64	15,87 ± 0,21
		Feop	3,49 ± 3,59	6,42 ± 3,47	3,04 ± 2,24
		COP	3456,70 ± 327,93	4863,90 ± 1887,05	6518,47 ± 1699,72
		NO ₂ ⁻	0,25 ± 0,12	0,27 ± 0,10	0,37 ± 0,07
		NO ₃ ⁻	1,01 ± 0,60	1,54 ± 0,98	3,34 ± 0,91
		NH ₄ ⁺	151,5 ± 223,83	135,04 ± 206,69	196,15 ± 101,30
		PO ₄ ³⁻	4,29 ± 6,22	5,53 ± 6,59	13,02 ± 2,69
		DSi	50,98 ± 12,78	44 ± 8,16	50,06 ± 3,62
		BM	pH	8,41 ± 0,07	8,44 ± 0,02
	Tu		47 ± 6	48 ± 10	55 ± 7
	OD		5,89 ± 0,13	5,88 ± 0,29	5,71 ± 0,07
	S		39	39	39
	T		11,41 ± 1,41	14,89 ± 0,22	15,46 ± 0,20
	Feop		2,82 ± 1,87	4,92 ± 0,94	5,92 ± 4,54
	BM	COP	2755,89 ± 930,97	2004,82 ± 664,94	4017,57 ± 1076,67
NO ₂ ⁻		0,04 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,08 ± 0,01	
NO ₃ ⁻		0,31 ± 0,26	0,33 ± 0,05	0,33 ± 0,05	
NH ₄ ⁺		35,90 ± 7,71	36,75 ± 14,30	40,81 ± 6,14	
PO ₄ ³⁻		1,20 ± 0,45	1,19 ± 0,18	0,99 ± 0,11	
DSi		40,81 ± 2,73	39,83 ± 1,52	40,93 ± 1,00	

Registro fotográfico I: Fotografías del estuario de Bahía Blanca tomadas en el invierno (julio 2009). Se muestra la acumulación de restos de *Spartina* formando “fardos” en la superficie del agua.



Fuentes: MC López Abbate y F Biancalana.

Registro fotográfico II. Fotografías de Puerto Galván (punto de salida hacia los sitios de muestreo) en un día de marea normal (arriba: 18/02/10) y en un día de marea extraordinaria (abajo: 29/07/09).



Fuentes: MC López Abbate y MS Dutto.

Publicación originada de esta tesis

Dutto MS, López Abbate MC, Biancalana F, Berasategui AA, Hoffmeyer MS (2012) The impact of sewage on environmental quality and the mesozooplankton community in a highly eutrophic estuary in Argentina. *ICES J Mar Sci* 69(3):399-409

Agradecimientos

A mis directoras de tesis Mónica Hoffmeyer y Telma Alonso, por darme la oportunidad de desarrollar el doctorado, por el constante apoyo recibido durante estos años de trabajo, por la confianza depositada y por la calidez humana.

A la Universidad Nacional del Sur (UNS) y en particular al Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia (DBByF) por aceptarme como estudiante de postgrado.

Al Instituto Argentino de Oceanografía (IADO) y al Instituto de Investigaciones Bioquímicas de Bahía Blanca (INIBIBB) por facilitarme sus instalaciones y equipamiento para la realización de esta tesis.

A la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT) y al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por las becas otorgadas para el desarrollo de esta tesis.

Al Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva (MINCyT) y al Servicio Alemán de Intercambio Académico (DAAD) por las estadías y becas concedidas durante el período de estudio.

Al jurado evaluador de este trabajo por su buena predisposición, sus sugerencias y sus observaciones constructivas.

A todo el personal del IADO por la cordialidad que me brindaron desde el primer día de trabajo.

A Luis Kaufman por su ayuda durante las primeras salidas al estuario.

Al personal encargado de las embarcaciones institucionales: Camilo Bernárdez, Enio Redondo y Alberto Conte por toda su ayuda en las campañas y por estar siempre con la mejor predisposición.

Al profesor Gerhard Kattner y todo su equipo de trabajo, fundamentalmente a Dieter Janssen, por facilitarme todo lo necesario para el análisis de ácidos grasos.

A Diana Constenla de la Planta Piloto de Ingeniería Química (PLAPIQUI) por su accesibilidad y por facilitarme el uso del liofilizador.

A Jor Buschiazzo y Vale Gilli por estar siempre dispuestas a ayudarme, por sus consejos y todas las charlas compartidas.

A Carla Spetter por brindarme asesoramiento académico con la mejor predisposición y a Walter Melo por compartir su conocimiento y cederme los mapas del estuario.

A Sole Diodato por brindarme su conocimiento y la ayuda que me hiciera falta en el inicio de este trabajo.

A Rosita Pettigrosso, Sonia Barría de Cao y Yésica Nass por la gran ayuda en los recuentos de micro y fitoplancton; no hubiera podido sin uds: infinitas gracias!

A todos mis compañeras y compañeros de la biblioteca (los presentes y los que ya se mudaron) por crear un clima de trabajo realmente bueno, del que disfruto mucho siendo parte; especialmente quiero agradecer por todo lo compartido a Ceci, Javi, Cele, Vale, Cla, Flor, Meli, Anitas, Pitu, Andre, Fer, Vanes, Noes, Emi, Germán, Andrés, Pía y Santi.

Muy especialmente a Cele, Ana, Javi, Cla, Meli, Flor, Guada y Vale por la ayuda incondicional y por su valiosa amistad.

A Germán Kopprio por acompañarme y ayudarme muchísimo en Alemania con el análisis de ácidos grasos.

A Ricardo Camina por responder a mis consultas cada vez que lo necesité.

A mi profesora de inglés Graciela Ríos, por la motivación permanente y por estar siempre con una sonrisa y mucha energía para dar.

Al grupo colombo-argentino, muy especialmente a Fede y Rola, por los buenos momentos compartidos y por acompañarme en el primer tiempo en Bahía y ser mis guías en la ciudad.

A mis mejores cómplices de tenisterapia: Sole, Romi, Cele, Eli y Ceci por renovar mi energía!

A Luciano Salotto por la asistencia informática cada vez que lo necesité.

A mis amigas y amigos de toda mi vida: Gracias por estar a pesar de los kilómetros!

A mi familia por apoyarme y acompañarme desde el comienzo: papá, mamá y hermanos.

A Rodrigo por acompañarme cada día, por su comprensión y por ser junto con Pepa, mi pequeña gran familia local.