

Espectro trófico y consumo del microzooplancton en dos áreas con diferente presión antrópica del interior del Estuario de Bahía Blanca, Argentina



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

María Celeste López Abbate

Directora: Mónica S. Hoffmeyer
Codirectora: M. Sonia Barría de Cao

Bahía Blanca
2014

A mamá

Prefacio

Esta Tesis se presenta como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Doctora 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 ámbito del Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia (Dto. BByF – UNS) y del Instituto Argentino de Oceanografía (IADO), dependiente del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), durante el período comprendido entre el 01 de Julio de 2009 y el 31 de marzo de 2014, bajo la dirección de las Doctoras Mónica S. Hoffmeyer (IADO-CONICET) y M. Sonia Barría de Cao (IADO-CONICET).

Lic. María Celeste López Abbate

Junio de 2014

Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

Resumen

El microzooplancton (protistas fagótrofos en el rango de tamaño comprendido entre 20 y 200 μm), es uno de los principales consumidores del fitoplancton en una gran variedad de ambientes marinos. En ambientes costeros, los procesos de eutrofización pueden modificar la regulación *bottom-up* de los productores primarios. Por ello, es importante conocer el rol de los consumidores, ya que éstos establecen en gran medida la acumulación de biomasa fitoplanctónica. Durante este estudio, se analizó la calidad ambiental y el impacto del consumo del microzooplancton en dos sitios dentro del Estuario de Bahía Blanca; un sitio control (BM) y un sitio con mayor grado de eutrofización debido a la contaminación de origen cloacal (CV). El sitio CV mostró una mayor concentración de todos los nutrientes inorgánicos y de materia orgánica particulada, y una menor concentración de oxígeno disuelto y clorofila *a*. Asimismo, la composición planctónica fue marcadamente diferente. En CV, el fitoplancton fue más abundante y estuvo ampliamente dominado por pequeños flagelados mientras que en BM, se encontró una mayor proporción de diatomeas típicas de este ambiente. El microzooplancton fue más abundante en BM, aunque los ciliados mixótrofos fueron más importantes en CV. Si bien la concentración de nutrientes estimuló la productividad primaria en la mayor parte del estudio, en CV, la concentración excesiva de nutrientes tuvo un efecto negativo sobre el desarrollo del plancton. Por medio de la técnica de la dilución, se estableció que el promedio de productividad primaria consumida por el microzooplancton en ambos sitios fue del 87%. En el sitio CV se encontraron varias desviaciones de la linealidad de la respuesta de la tasa de crecimiento del fitoplancton (k) a la concentración de consumidores y a su vez, se encontró un desacople entre la tasa de consumo del microzooplancton y la tasa de crecimiento del fitoplancton a bajos valores de k . Los resultados indican que en CV, la concentración de presas aptas para el consumo del microzooplancton es menor en comparación a BM. Dado que la técnica de la dilución estima el consumo del microzooplancton sobre las presas autótrofas, se buscó identificar vías alternativas de transferencia de carbono dentro de la comunidad microbiana mediante la implementación de la técnica del fraccionamiento por tamaño. Esta técnica, permitió establecer que los nanoflagelados heterótrofos (NFH) también forman parte preferencial de la dieta del microzooplancton. A su vez, los NFH depredaron intensamente sobre las bacterias heterótrofas. En CV, se registró una menor presión de pastoreo del microzooplancton y NFH. Esto sugiere que en el sitio afectado por la contaminación cloacal, la capacidad de los consumidores de controlar la biomasa primaria es menor. Los resultados obtenidos por ambas técnicas mostraron que en el Estuario de Bahía Blanca, gran parte del carbono y nutrientes fluyen a través de la trama trófica microbiana.

Abstract

Microzooplankton (phagotrophic protists in the size range of 20-200 μm), are major grazers of phytoplankton in most marine environments. In coastal areas, eutrophication may modify bottom-up regulation of primary producers. Thus, it is essential to estimate the trophic role of consumers, since they set the magnitude of phytoplankton biomass accumulation. The present study aims to establish the environmental quality and the impact of microzooplankton grazing in two sites within the Bahía Blanca Estuary; a control site (BM) and a site with higher eutrophication level due to sewage pollution (CV). Several differences between sites were detected. In the first place, the sewage-polluted site showed a higher concentration of inorganic nutrients and particulate organic matter and a lower concentration of dissolved oxygen and chlorophyll *a*. Also, planktonic assemblage in both sites was significantly different. In CV, phytoplankton abundance was higher and was dominated by small flagellates while in BM, a higher contribution of typical diatoms was found. Microzooplankton abundance was higher in BM, although mixotrophic ciliates were higher in CV. While nutrients stimulated primary production during most of the studied period, the extreme concentration registered in CV, inhibited plankton development. The dilution technique was applied to assess the impact of microzooplankton grazing on primary production. The results showed that microzooplankton consumed 87% of daily primary production in both sites. In CV, the response of phytoplankton growth rate (*k*) to consumer's density showed nonlinear behavior on several feeding experiments. Also, microzooplankton grazing rate did not respond to phytoplankton growth rate at low values of *k*. Results showed that the concentration of suitable prey for microzooplankton grazers was lower in CV. Since the dilution technique provides estimates of microzooplankton grazing on autotrophic preys, a complementary approach (i.e. size-fractionation method) was used to identify alternative pathways of carbon transfer within the microbial food web. The results showed that heterotrophic nanoflagellates (HNF) represented a preferential food item of microzooplankton. At the same time, HNF grazed heavily on heterotrophic bacteria. However, in CV, grazing pressure of microzooplankton and HNF was significantly lower, suggesting that the ability of consumers to control primary productivity in this site is lower. The data obtained by means of both techniques, suggests that most of the carbon and inorganic nutrients in the Bahía Blanca Estuary, flow through the microbial food web.

Estructura de la Tesis

Capítulo 1. Introduce la clasificación, ecología y diversidad trófica del microzooplancton y su papel en el Estuario de Bahía Blanca. Además se hace referencia al funcionamiento de la trama trófica microbiana y su rol en los flujos de carbono en ambientes costeros y particularmente en estuarios. Se plantean los objetivos e hipótesis de trabajo y a continuación se describe el área de estudio.

Capítulo 2. Describe las características ambientales de los sitios de muestreo, uno localizado en la desembocadura de la descarga cloacal de la ciudad de Bahía Blanca y el otro en un sitio protegido de la actividad antropogénica. Además se analiza en patrón temporal de la comunidad fito- y microzooplanctónica durante los dos años de muestreo y se consideran las diferencias entre los sitios.

Capítulo 3. Se detalla la productividad primaria y las tasas de crecimiento del fitoplancton y de alimentación del microzooplancton durante los dos años de muestreo y en los dos sitios de muestreo, obtenidas mediante la técnica de la dilución. Esta técnica es la más utilizada para estimar el consumo del microzooplancton, sin embargo sólo contempla el consumo sobre ítems autótrofos.

Capítulo 4. Se investigan las tasas de consumo del microzooplancton y del nanoplancton heterótrofo mediante la técnica del fraccionamiento por tamaño. Esta técnica permite establecer el espectro trófico del microzooplancton, abarcando además de los ítems autótrofos, a las presas heterótrofas (nanoflagelados y otros protistas heterótrofos) y a su vez, calcular la tasa de consumo del nanoplancton heterótrofo sobre bacterias y cianobacterias.

Capítulo 5. Expone las principales conclusiones de la tesis. Resume las consecuencias que resultan de la contaminación cloacal a nivel de los cambios ambientales en la columna de agua adyacente y de los cambios en la estructura y funcionamiento trófico de la comunidad microplanctónica. Además presenta una comparación entre las técnicas experimentales utilizadas en esta tesis para el cálculo del consumo del microzooplancton.

Índice general

Capítulo 1. Introducción general

1.1. Introducción	1
1.1.1. El microzooplancton en los sistemas marinos	1
1.1.2. La trama trófica microbiana	5
1.2. Objetivos de la tesis	8
1.3. Hipótesis de trabajo	8
1.4. Área de estudio	9
1.4.1. El Estuario de Bahía Blanca	9
1.4.2. Sitios de muestreo	11

Capítulo 2. Estructura de la comunidad planctónica y su relación con las condiciones ambientales

2.1. Introducción	13
2.2. Objetivos	15
2.3. Hipótesis	15
2.4. Materiales y Métodos	16
2.4.1. Recolección de muestras y mediciones <i>in situ</i>	16
2.4.2. Análisis del plancton	16
2.4.3. Análisis de laboratorio	18
2.4.4. Análisis de datos	19
2.5. Resultados	24
2.5.1. Dinámica temporal de la precipitación en el área del Estuario de Bahía Blanca	24
2.5.2. Condiciones ambientales en los sitios de muestreo	26
2.5.3. Estructura de la comunidad planctónica	33
2.4.5. Relación entre el plancton y las condiciones ambientales	37
2.6. Discusión	40
2.6.1. Teleconexión entre la oscilación del Sur y el régimen interanual de lluvias en el área del Estuario de Bahía Blanca	40
2.6.2. Efectos indirectos del régimen local de lluvias en el ambiente pelágico del estuario	41
2.6.3. Efectos de la calidad ambiental en la estructura de la comunidad planctónica	42
2.6.4. Respuesta del plancton a la interacción de factores ambientales de distinta escala	45

Capítulo 3. Productividad primaria y consumo del microzooplancton

3.1. Introducción	47
3.2. Objetivos	48
3.3. Hipótesis	48
3.4. Materiales y Métodos	49

3.4.1. La técnica de la dilución	49
3.4.2. Diseño experimental	53
3.4.3. Análisis de datos y cálculo de las tasas de crecimiento y alimentación	54
3.5. Resultados	57
3.5.1. Composición de las presas y los consumidores durante los experimentos de alimentación	57
3.5.2. Crecimiento y productividad del fitoplancton	60
3.5.3. Consumo del microzooplancton	63
3.6. Discusión	69
3.6.1. Composición de la comunidad planctónica y productividad del fitoplancton	69
3.6.2. Control del microzooplancton sobre la productividad primaria	71
3.6.3. Tipos de respuesta trófica del microzooplancton	74
3.6.4. Consideraciones metodológicas	78
Capítulo 4. Interacciones tróficas dentro de la comunidad microbiana	
4.1. Introducción	80
4.2. Objetivos	83
4.3. Hipótesis	83
4.4. Materiales y Métodos	84
4.4.1. La técnica del fraccionamiento por tamaño	84
4.4.2. Diseño de muestreo	85
4.4.3. Análisis del picoplancton	86
4.4.4. Análisis del nanoplancton	87
4.4.5. Análisis del microzooplancton	88
4.4.6. Análisis de datos	89
4.5. Resultados	90
4.5.1. Condiciones ambientales	90
4.5.2. Estructura de la comunidad microbiana	90
4.5.3. Crecimiento, consumo y selectividad trófica	93
4.6. Discusión	96
4.6.1. Estructura de la trama trófica microbiana	96
4.6.2. Flujos de materia orgánica y nutrientes	98
4.6.3. Vías de transferencia energética e interacciones tróficas	101
Capítulo 5. Conclusiones generales	103
Bibliografía	105
Anexo	125
Agradecimientos	129

Índice de tablas

Tabla 2.1. Factores de conversión del volumen celular utilizados para el cálculo de biomasa de los diferentes grupos taxonómicos, p. 17.

Tabla 2.2. Valor medio y desvío estándar de las variables ambientales registradas durante 2008-2010 en los sitios de muestreo, p. 27.

Tabla 3.1. Valor medio y desvío estándar de la abundancia de presas al inicio de los experimentos de alimentación realizados en los sitios de muestreo, p. 58.

Tabla 3.2. Valor medio y desvío estándar de la abundancia de consumidores al inicio de los experimentos de alimentación realizados en los sitios de muestreo, p. 59.

Tabla 3.3. Relación entre la concentración de N, P y Si y la concentración de C de origen fitoplanctónico al inicio de los experimentos de alimentación realizados en los sitios de muestreo, p. 60.

Tabla 3.4. Índices de crecimiento y alimentación en los sitios de muestreo, p. 61.

Tabla 3.5. Análisis de regresión múltiple de la tasa de crecimiento del fitoplancton (variable dependiente) en función de las variables ambientales en los sitios de muestreo, p. 63.

Tabla 3.6. Valores del índice de error y el coeficiente de correlación al cuadrado de los modelos lineal y no lineal en los experimentos en los que se detectó consumo saturado, p. 66.

Tabla 3.7. Análisis de regresión múltiple de la proporción de la productividad primaria consumida por el microzooplancton (variable dependiente) en función de las variables ambientales y bióticas en los sitios de muestreo, p. 67.

Tabla 3.8. Tipos de respuesta funcional del microzooplancton en experimentos de alimentación realizados en ambientes estuariales, p. 75.

Tabla 4.1. Valores medios y desvíos estándar de las variables ambientales en los sitios de muestreo durante los experimentos de alimentación realizados el 06/03/2012, p. 90.

Tabla 4.2. Valores medios y desvío estándar de la biomasa del fitoplancton, bacterias y cianobacterias y la concentración ambiental de nitrógeno inorgánico disuelto, fosfato y silicato, p. 91.

Tabla 4.3. Valor medio y desvío estándar de la abundancia del nanoplancton al inicio de los experimentos y coeficiente de selectividad trófica del microzooplancton, p. 92.

Tabla 4.4. Valores medios y desvío estándar de las tasas de crecimiento y producción del plancton en los sitios de muestreo, p. 94.

Tabla 4.5. Valores medios y desvío estándar de las tasas de alimentación del plancton en los sitios de muestreo, p. 95.

Índice de figuras

- Figura 1.1.** Modelo idealizado de la trama trófica microbiana, p. 6.
- Figura 1.2.** Mapa y ubicación geográfica del Estuario de Bahía Blanca, p. 11.
- Figura 2.1.** Dinámica interanual de la precipitación y la señal del ENSO durante el período 1998-2011 en el Estuario de Bahía Blanca, p. 25.
- Figura 2.2.** Dinámica de la precipitación en el período de estudio (2008-2010) en el Estuario de Bahía Blanca, p. 26.
- Figura 2.3.** Dinámica temporal de las variables ambientales en los sitios de muestreo, p. 28.
- Figura 2.4.** Dinámica temporal de los nutrientes en ambos sitios de muestreo durante el período de estudio, p. 29.
- Figura 2.5.** Diferencias entre los valores medios transformados ($\log[x+1]$) de las variables ambientales en los sitios de muestreo, p. 30.
- Figura 2.6.** Diferencias entre los valores medios transformados ($\log[x+1]$) de las variables ambientales en las cuatro estaciones climáticas del año, p. 31.
- Figura 2.7.** Diferencias entre los valores medios transformados ($\log[x+1]$) de las variables ambientales que mostraron interacción entre los factores “sitio” y estación climática”, p. 32.
- Figura 2.8.** Análisis de componentes principales de la matriz de datos ambientales en los sitios de muestreo, p. 33.
- Figura 2.9.** Dinámica del fitoplancton durante el período de estudio, p. 34.
- Figura 2.10.** Dinámica del microzooplancton durante el período de estudio en los sitios de muestreo, p. 35.
- Figura 2.11.** Análisis MDS de la composición del fitoplancton y del microzooplancton estableciendo como factor de discriminación las estaciones climáticas del año, p. 36.
- Figura 2.12.** Análisis MDS de la composición del fitoplancton y del microzooplancton estableciendo como factor de discriminación los sitios de muestreo, p. 37.
- Figura 2.13.** Relación entre la tendencia general de la biomasa del plancton y la temperatura en los sitios de muestreo, p. 38.
- Figura 2.14.** Relación entre la proporción relativa de las fracciones de tamaño del fitoplancton y el índice trófico, p. 38.
- Figura 2.15.** Relación entre la tendencia general de la biomasa del plancton y el índice trófico y la concentración transformada ($\log[x]$) del amonio en los sitios de muestreo, p. 39.
- Figura 3.1.** Gráfico de superficie mostrando la relación entre las principales variables que explican la dinámica de la productividad primaria en los sitios de muestreo, p. 62.
- Figura 3.2.** Tasa aparente de crecimiento vs. el factor de dilución durante el período 2008-2010 en el sitio BM, p. 64.
- Figura 3.3.** Tasa aparente de crecimiento vs. el factor de dilución durante el período 2008-2010 en el sitio CV, p. 65.
- Figura 3.4.** Concentración de saturación de consumo en función de la concentración media de clorofila a durante los experimentos en los que se detectó consumo saturado, p. 66.
- Figura 3.5.** Relación entre la tasa de crecimiento del fitoplancton y la tasa de consumo del microzooplancton en los sitios de muestreo, p. 68.
- Figura 4.1.** Esquema simplificado del modelo de la respuesta de la trama trófica en función del gradiente trófico, p. 81.
- Figura 4.2.** Análisis MDS de la composición del plancton estableciendo como factor de discriminación los sitios de muestreo, p. 93.
- Figura 4.3.** Modelo de las vías de transferencia trófica en los sitios de muestreo, p. 100.

Capítulo 1.

Introducción general

1.1. Introducción

1.1.1. El microzooplancton en ambientes marinos

Clasificación. Según la clasificación del plancton establecida por Sieburth et al. (1978), la mayor parte de los protistas heterótrofos están incluidos dentro del microzooplancton, el cual se define por el rango de tamaño comprendido entre 20 y 200 μm . Sin embargo, esta fracción de microorganismos marinos, reúne un grupo heterogéneo de protistas heterótrofos y mixótrofos incluyendo ciliados desnudos, tintínidos, dinoflagelados, foraminíferos, radiolarios y euglenófitos, así como también algunos metazoos pequeños como rotíferos y larvas de crustáceos. Los primeros taxónomos, crearon una clasificación de los protistas que estaba basada en caracteres morfológicos (como la presencia de flagelos o ciliias, estructuras esqueléticas o el modo de natación) y en el modo de nutrición (autótrofo vs. heterótrofo). Sin embargo, luego de la década de 1980, con la aparición de nuevas técnicas moleculares, se reconoció que este grupo abarca una amplia radiación filogenética que se encuentra entremezclada con formas multicelulares del dominio "Eucaria" (Woese et al. 1990). Hoy en día, se sabe que los protistas incluyen organismos con una gran variedad de tamaños, morfotipos y hábitos tróficos, y que representan la mayor parte de la diversidad eucariota (Moreira y López-García 2002, Caron et al. 2012). (Por simplicidad, en esta tesis se utiliza el término *microzooplancton* para incluir a todos los protistas fagótrofos y mixótrofos y a los metazoos entre 20 y 200 μm .)

Hábitos tróficos. Los protistas heterótrofos y mixótrofos son los principales representantes del microzooplancton marino y juegan un rol trascendental en la transferencia del carbono (de aquí en adelante referido como "C") desde los componentes microbianos y productores primarios hacia los eslabones superiores de la cadena trófica (Calbet 2008). Poseen una alta tasa metabólica lo que les permite crecer al mismo ritmo que el fitoplancton (Fenchel y Finlay 1983) y aprovechar pulsos de recursos adaptándose rápidamente a los cambios en el ambiente (Holt 2008). Los

protistas heterótrofos presentan una gran variedad de estrategias de alimentación, lo cual les permite depredar sobre una amplia gama de ítems tróficos desde bacterias hasta grandes cadenas de fitoplancton u otros protistas heterótrofos (Capriulo 1990, Hansen et al. 1994, Caron et al. 2012).

Por ejemplo, los ciliados, foraminíferos y muchos dinoflagelados, principalmente de los géneros *Gyrodinium*, *Gymnodinium* y *Noctiluca*, engullen sus presas directamente y la digieren dentro de la célula (Bowser et al. 1985, Verni y Gualtieri 1997, Hansen y Calado 1999). La digestión de presas también puede ser extracelular por medio de una extensión celular o palio (dinoflagelados de los géneros *Protoperidinium*, *Diplopsalis*, *Diplopelta* y *Oblea*) o por medio de tubos o pedúnculos (dinoflagelados de los géneros *Amphidinium*, *Gyrodinium*, *Gymnodinium* y *Dinophysis*) lo que a su vez les permite tomar presas enteras o fracciones de las mismas (Hansen y Calado 1999). Asimismo, algunas especies pueden percibir las señales químicas de sus presas y de ese modo aumentar las chances de encuentro (Harvey et al. 2013).

En conjunto, estas características les confieren una ventaja importante frente a los depredadores del mesozooplancton cuya dieta suele ser más específica en cuanto a grupos taxonómicos y estructura de tallas y cuya respuesta a los pulsos de los productores primarios es mucho más lenta (Calbet 2001). De hecho, el microzooplancton, ingiere en promedio entre un 49 y un 77% de la productividad primaria consumida por día en ambientes costeros y mar abierto respectivamente, mientras que el promedio de consumo del mesozooplancton es del 10 % (Calbet 2001, Schmoker et al. 2013). Además, los protistas heterótrofos representan uno de los principales consumidores del bacterioplancton en ambientes pelágicos (Christaki et al. 1998, Pernthaler 2005).

Por otra parte, muchos ciliados y dinoflagelados contienen cloroplastos funcionales, lo cual les confiere una ventaja adicional bajo ciertas condiciones ambientales (Cuadro 1). En el océano Atlántico, se presume que los protistas mixótrofos pueden superar la biomasa de los protistas fagótrofos, y por ende pueden ejercer un mayor control sobre la productividad de sus presas (Hartmann et al. 2012). Más aun, la presencia de protistas mixótrofos puede mejorar la eficiencia de transferencia energética hacia los niveles tróficos superiores (Ptacnik et al. 2004).

Microzooplancton como presa. Los protistas heterótrofos representan un componente importante en la dieta de los copépodos (Kleppel 1993). En general, el mesozooplancton suele depredar preferentemente sobre el microzooplancton, aunque su concentración sea significativamente menor a la de las diatomeas (Calbet y Saiz 2005). Esto se debe a ciertas características específicas como el tamaño del cuerpo, el modo de natación y la calidad nutritiva

(Stoecker y Capuzzo 1990). Los ciliados representan entre un 3 y un 55% de la dieta del mesozooplankton, mientras que la contribución de los dinoflagelados varía entre un 4% y un 19% (Calbet y Saiz 2005, Saiz y Calbet 2011). En general, la contribución del microzooplankton a la dieta del mesozooplankton suele ser mayor en ambientes oligotróficos, mientras que en ambientes productivos, las diatomeas representan el principal ítem trófico (Saiz y Calbet 2011).

Además, los protistas heterótrofos pueden mejorar la calidad bioquímica de la dieta del mesozooplankton ya que suelen tener mayor valor nutricional que las algas (*e.g.* Park et al. 2003, Tang y Taal 2005). Más aun, recientemente se ha demostrado que los protistas heterótrofos poseen la habilidad de detoxificar la clorofila de sus presas (Kashiyama et al. 2012). La mayoría de las especies marinas fotosintéticas tienen la capacidad de generar oxígeno atómico en un estado excitado, lo cual puede resultar perjudicial para los consumidores. La detoxificación por parte de los protistas resulta fundamental para una transferencia eficiente del C hacia los eslabones superiores.

El microzooplankton y los cambios ambientales. La dinámica del microzooplankton, suele estar estrechamente acoplada a las variaciones del ambiente (Hays et al. 2005), sin embargo, las respuestas a estos cambios suelen ser complejas y varían según la interacción entre las condiciones ambientales locales y los fenómenos climáticos globales (Caron y Hutchins 2013).

Algunas especies de ciliados y dinoflagelados pueden responder directamente a los cambios climáticos, mediante una modificación en su rango de distribución geográfica (Hallegraeff 2010, Hinder et al. 2011). No obstante, en muchos casos la respuesta del microzooplankton es indirecta (Boyd et al. 2010). Por ejemplo, el aumento de temperatura en los océanos puede afectar la dinámica del microzooplankton mediante la modificación de la concentración, composición taxonómica y tamaño de las presas (Sommer y Lengfellner 2008, Daufresne et al. 2009, Morán et al. 2010) y la distribución geográfica de los depredadores (Beaugrand et al. 2002, Richardson 2008). Del mismo modo, los cambios en la $p\text{CO}_2$ repercuten en la concentración y composición del microzooplankton, a través de la modificación de la disponibilidad de presas (Rose et al. 2009).

En el Estuario de Bahía Blanca, la temperatura es una de las variables que explica la mayor parte de la dinámica estacional del microzooplankton (Barría de Cao et al. 2005). La temperatura es un factor clave en la modulación de la tasa de crecimiento de los protistas en ambientes marinos (Eppley 1972). En particular, el microzooplankton suele tener un amplio rango de tolerancia térmica (Martinez 1980), aunque los mecanismos de las respuestas ecofisiológicas específicas no han sido adecuadamente descritos hasta el momento (Caron y Hutchinson 2013). Por otro lado,

la temperatura, afecta de diferente manera la tasa de crecimiento del fitoplancton y del microzooplancton (Rose y Caron 2007), por lo que un aumento de la temperatura puede generar una modificación en la relación entre la heterotrofia y la productividad primaria (Wohlers et al. 2009). En ambientes eutróficos, se espera que el aumento de la temperatura genere una mayor pérdida de biomasa fitoplanctónica como consecuencia de una mayor presión de pastoreo por parte del microzooplancton (Aberle et al. 2007, Gaedke et al. 2009, Chen et al. 2012).

Cuadro 1. Cambios de paradigma en la ecología trófica del plancton

Los cambios de paradigma ocurren cuando las viejas creencias son reemplazadas por nuevos modelos que se ajustan mejor a la realidad como resultado de uno o varios hallazgos (Kuhn 1970).

El clásico paradigma de la red trófica marina establecía que el fitoplancton es transferido eficazmente hacia los eslabones superiores vía copépodos, pasando por un pequeño número de consumidores intermediarios (Steele 1947). Sin embargo, esta perspectiva ha sido modificada luego del descubrimiento de la enorme complejidad microbiana (Doney et al. 2004, Pomeroy 2007). El desarrollo reciente de técnicas genéticas ha estimulado la identificación de una enorme diversidad de microorganismos dentro de la trama trófica microbiana (Bench et al. 2007, DeLong 2009, Not et al. 2009, Pawlowski et al. 2011), y se han propuesto nuevos modelos para incluir a estos organismos en la trama trófica marina (Azam et al. 1983, Jiao et al. 2010). Hoy en día, se sabe que los microorganismos dominan la biomasa y el metabolismo del océano (Karl 2007) y que el funcionamiento de la trama trófica microbiana regula la bomba biológica del C (Jiao et al. 2010).

Por otro lado, en los últimos años se ha reconocido que la tradicional dicotomía entre protistas autótrofos y heterótrofos es inadecuada. En realidad, la mayor parte de los organismos que habitan la zona fótica del océano, obtienen energía de diferentes fuentes, combinando distintas estrategias tróficas (Flynn et al. 2012). Estos organismos, están incluidos dentro de la categoría “mixótrofos” (Stoecker 1998), y deben ser considerados como productores primarios y secundarios simultáneamente (Flynn et al. 2012). Por ejemplo, se ha demostrado que la mayor parte del fitoplancton, no es estrictamente fotótrofo sino que es capaz de obtener energía mediante la utilización de moléculas orgánicas (e.g. aminoácidos, vitaminas) o el consumo de otros microorganismos (Maranger et al. 1998, Mulholland et al. 2003, Zubkov y Tarran 2008). Por su parte, una gran proporción de ciliados contienen cloroplastos funcionales (Stoecker et al. 1987) y muchos otros protistas fagótrofos tienen la capacidad de retener los cloroplastos de sus presas (Stoecker et al. 2009). Los hábitos mixótrofos añaden un factor de complejidad adicional al mecanismo funcional de las redes tróficas microbianas, y deberían ser correctamente identificados para lograr un diagrama más detallado de las vías de transferencia del C en los ambientes pelágicos.

Por último, hasta hace unos años se creía que la vasta mayoría de las bacterias marinas eran fotótrofas u osmótrofas estrictas. Sin embargo, esta percepción está cambiando luego de los últimos descubrimientos en el área de la microbiología marina (Moore 2013). Por ejemplo, se ha demostrado que las poblaciones naturales de *Prochlorococcus*, una de las cianobacterias fotosintéticas más abundantes del océano, puede tomar glucosa y aminoácidos del ambiente para suplementar sus requerimientos nutricionales (Michelou et al. 2007, Muñoz Marín et al. 2013). Más aún, se ha detectado la presencia de fotorodopsina, un pigmento fotosintético, en una amplia diversidad de bacterias marinas, incluidas aquellas que utilizan C orgánico del ambiente como fuente de energía (Béjà et al. 2000).

1.1.2. La trama trófica microbiana

Reseña histórica. En los últimos años, varios descubrimientos científicos mejoraron significativamente el entendimiento de la trama trófica microbiana (Cuadro 1). En 1974, Lawrence Pomeroy (1974) expuso nuevas hipótesis sobre el funcionamiento de la red trófica pelágica y resaltó que la respiración de los organismos menores a 30 μm supera en hasta diez veces a la del microplancton, y en general, estos organismos dominan la productividad primaria de los océanos. También resaltó la importancia de la materia orgánica disuelta (MOD) como sustrato de las bacterias heterótrofas, las cuales son responsables de la degradación del ~50% de materia orgánica en el océano.

A partir de 1980 la aparición de nuevas técnicas, como las tinciones especiales para recuento mediante epifluorescencia, la citometría de flujo y la metagenómica, permitió el estudio detallado de las comunidades microbianas. Los estudios moleculares que comparan secuencias génicas de microorganismos han demostrado que la diversidad bacteriana es al menos 100 veces mayor a la que se estimaba mediante el uso de técnicas dependientes del cultivo (Pace 1997). Asimismo, se ha descubierto que existe una extraordinaria diversidad de microorganismos procariontes y eucariontes que habitan los ambientes marinos en bajas concentraciones, lo cual evidencia el enorme potencial adaptativo de las comunidades microbianas frente a distintos escenarios ambientales (*"the rare biosphere"*, Sogin et al. 2006).

En 1983, Azam et al. propusieron el término *"microbial loop"* para definir la trama microbiana como una vía paralela a la vía clásica fitoplancton-copépodos-peces (Steele 1974), donde el microzooplancton actúa como el vínculo conector entre la comunidad microbiana y el zooplancton de mayor tamaño. Hoy en día, se sabe que el microzooplancton depreda sobre bacterias, picoplancton y todas las clases de tamaño de fitoplancton y otros protistas heterótrofos (Sherr y Sherr 1988), y la trama trófica microbiana se define como una compleja red que incluye diversos organismos y hábitos tróficos que dan sustento, junto con el fitoplancton, al resto de la trama trófica pelágica.

El rol de las tramas tróficas microbianas en los ciclos del C. Las comunidades microbianas incluyen bacterias, cianobacterias y protistas (Caron et al. 2009), y poseen un rol clave en los ciclos de materia y energía del océano. Por un lado, conectan la MOD producida por los productores primarios con el resto de la red trófica (Azam et al. 1983, Ducklow 2000) y por el otro, determinan en gran medida el destino del C en los océanos (Jiao et al. 2010).

Las vías de transferencia energética dentro de la trama trófica, dependen en gran medida de la disponibilidad de nutrientes y C orgánico disuelto (COD) (Figura 1.1). En términos generales, el aumento de recursos no compartidos (COD y Si) estimulará el desarrollo de su consumidor específico (bacterias heterótrofas y fitoplancton respectivamente), mientras que el aumento de recursos compartidos (nutrientes inorgánicos) estimulará el desarrollo de todos sus consumidores y dará lugar a diversas relaciones interespecíficas como la competencia y la depredación diferencial (Havskun et al. 2003).

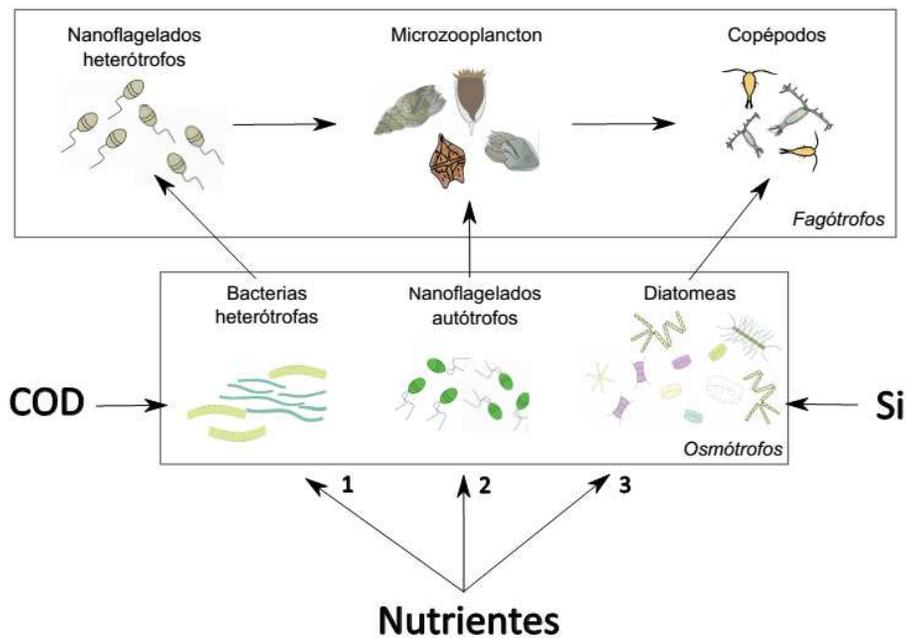


Figura 1.1. Modelo idealizado del funcionamiento de la trama trófica microbiana (adaptado de Havskun et al. 2003). La concentración de recursos compartidos (nutrientes) y no compartidos (C orgánico disuelto [COD] y sílice [Si]), determina en gran medida la importancia de las vías heterótrofa (1) o autótrofas (2 y 3).

En ambientes oligotróficos (vía 1 de la Figura 1.1), las bacterias pueden llegar a superar la biomasa de los productores primarios ya que son más eficientes que las diatomeas en la utilización de nutrientes a bajas concentraciones. Como resultado, gran parte de la materia orgánica proveniente de la zona fótica es remineralizada y retenida en aguas superficiales (Hagstrom et al. 1988). Asimismo, la energía es transferida por un mayor número de elementos hasta los consumidores superiores. En cambio, en ambientes con alta concentración de nutrientes (vía 3 de la Figura 1.1), las diatomeas compiten exitosamente con las bacterias y son consumidas principalmente por copépodos. En este escenario, la mayor parte del C es exportado hacia el

fondo en forma de materia orgánica particulada (Eppley y Peterson 1979). La importancia relativa de cada una de estas vías de transferencia, determina en gran medida el funcionamiento del ecosistema (Azam y Malffati 2007).

Además de su rol en la transferencia de energía a través de la cadena trófica pelágica, las comunidades microbianas intervienen en el mecanismo de almacenamiento del C en el océano. La mayor parte de la MOD en ambientes marinos, es de carácter refractario (MODR) y por lo tanto es resistente a la degradación bacteriana. La MODR puede permanecer en el sistema por miles de años y representa el mayor reservorio de C de los océanos. De hecho, la magnitud de este pool es comparable al reservorio de CO₂ atmosférico (Falkowski et al. 2000). Una parte del C fijado por los productores primarios, es rápidamente devuelta a la atmósfera por respiración o consumida por el zooplancton y exportada al lecho marino como material particulado. Sin embargo, otra parte ingresa a la bomba microbiana del C (Jiao et al. 2010), donde una baja concentración de C orgánico lábil producido por el fitoplancton y el zooplancton es transformado en un gran reservorio de C orgánico recalcitrante. Este C orgánico recalcitrante, es generado principalmente como consecuencia de procesos de producción bacteriana y lisis viral (Kaiser y Benner 2008). De este modo, gran parte del CO₂ atmosférico fijado por los productores primarios es procesado por la comunidad microbiana y almacenado en el océano en forma de MODR. En aquellos ambientes donde la trama trófica microbiana sea más importante que la trama clásica fitoplancton-zooplancton-peces (*i.e.* ambientes oligotróficos), se espera que el ciclo del C sea más lento y que haya una acumulación neta de C (Jiao et al. 2010).

1.2. **Objetivos de la tesis**

Los objetivos generales de esta tesis consisten en:

- ✓ Analizar los principales procesos de transferencia trófico-energética entre el microzooplancton y su alimento: los productores primarios y material particulado en general, en dos sitios con diferente grado de eutrofización.
- ✓ Establecer las diferencias en la calidad ambiental y estructura planctónica entre los dos sitios.
- ✓ Analizar la dinámica espacial y temporal del fitoplancton y del microzooplancton y su relación con las variables ambientales.
- ✓ Establecer el impacto del consumo del microzooplancton sobre los componentes autótrofos en los dos sitios.
- ✓ Detectar las principales vías de transferencia de C y nutrientes inorgánicos dentro de la comunidad microbiana en los dos sitios.

1.3. **Hipótesis de trabajo**

- ✓ La modificación antropogénica de la calidad del agua, debido a la descarga de efluentes con alta carga orgánica y tóxica, producen cambios en la estructura de la comunidad microbiana y en la tasa de consumo del microzooplancton.
- ✓ Las tasas de consumo se ven influenciadas por la variación en la cantidad y composición específica del alimento ofrecido y calidad del material particulado.

1.4. Área de estudio

1.4.1. El Estuario de Bahía Blanca

El Estuario de Bahía Blanca se ubica en el sudoeste bonaerense ($38^{\circ}45'-39^{\circ}20' S$ y $61^{\circ}45'-62^{\circ}30' O$, Figura 1.2) y es uno de los sistemas más productivos de la costa Argentina (Freije et al. 2008). Cubre una superficie que varía entre 400 y 1300 km² según el estado de marea y su profundidad oscila entre 1 y 24 m (Perillo et al. 2001, Cuadrado et al. 2004). El régimen de marea es mesomareal, con una amplitud media de 3,5 m. La energía de la marea combinada con la acción del viento, generan una intensa mezcla vertical en la columna de agua, la cual es homogénea en la mayor parte del estuario (Perillo et al. 2001, Guinder et al. 2009). La temperatura del agua oscila entre 4 y 24°C, y está controlada principalmente por la temperatura del océano y de la atmósfera (Campuzano et al. 2008).

El estuario se sitúa en la región de clima templado, caracterizado por una marcada estacionalidad y bajos niveles de precipitación anual (media anual=613 mm) que se concentran en primavera y otoño (Montecinos et al. 2000, Capelli de Steffens y Campo de Ferreras 2004). A su vez, la precipitación presenta anomalías positivas relacionadas al fenómeno de El Niño durante primavera (Grimm et al. 2000). Durante años neutrales, la precipitación media de primavera es de 227,7 mm, mientras que durante años de El Niño, este valor asciende a 277,4 mm (Barros y Silvestri 2002).

El aporte medio anual de agua dulce al estuario es de aproximadamente $2,7 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ y es provisto principalmente por el Río Sauce Chico y el arroyo Napostá Grande (Piccolo y Perillo 1990). El gradiente de salinidad superficial es inverso al observado en la mayor parte de los ambientes estuariales, es decir que crece desde la boca hacia la cabecera. Esto se debe al escaso aporte de agua dulce, la alta tasa de evaporación y los patrones de circulación restringida en la zona interna del estuario (Piccolo y Perillo 1990). En la zona intermedia, puede existir un mínimo local de salinidad debido a la influencia del Arroyo Napostá Grande y la descarga cloacal de la ciudad (Piccolo y Perillo 1990).

La alta concentración de sedimento en suspensión (media=50 ml l⁻¹) produce una alta turbidez y baja penetración de luz (Cuadrado et al. 2005). La profundidad de la zona fótica aumenta desde la cabecera (0,55 m) hacia la boca (2,04 m) del estuario y la profundidad crítica media (Zeu:Zmix) es de 0,3 m (Popovich y Marcovecchio 2008). El sistema es definido como altamente eutrófico dada

la alta concentración media de materia orgánica (C orgánico particulado=2500 mg C m⁻³) y nutrientes (nitrito=1,77 μM, nitrato=8,02 μM, amonio=32,3 μM, fosfato=1,83 μM) que son aportados desde el continente y por la productividad biológica *in situ* (Freije et al. 2008, Marcovecchio et al. 2008, Guinder et al. 2009).

El amplio intermareal y la geomorfología del área (*i.e.* presencia de numerosas marismas y planicies de marea rodeadas de canales poco profundos) promueven una intensa interacción entre los ambientes pelágico y bentónico (Perillo y Piccolo 1999). La zona intermareal sostiene una amplia extensión de planicies de marea y marismas en la zona interna-intermedia del estuario, las cuales están constituidas de sedimentos limo-arcillosos (Gelós et al. 2004). Las marismas están cubiertas por plantas halófitas, principalmente *Spartina alterniflora*, *Spartina densiflora* y *Sarcocornia perennis* (Isacch et al. 2006), las cuales aportan gran cantidad de nutrientes y detrito a la columna de agua adyacente (González Trilla et al. 2009, Montemayor et al. 2011, Negrin et al. 2011, 2012). A su vez, los procesos de bioturbación se acentúan durante los períodos de mayor actividad de fauna bentónica, la cual está dominada por poliquetos (representados principalmente por la especie *Laeonereis acuta*) y el cangrejo *Neohelice granulata* (Botto et al. 2005, 2006, Escapa et al. 2007). Sin embargo, la presencia de tramas microbianas ayudan a estabilizar temporalmente los sedimentos y compensan la actividad macrobentónica (Parodi y Barría de Cao 2003).

El fitoplancton está caracterizado por pequeñas diatomeas que muestran un patrón anual repetitivo con una floración en invierno dominada por *Thalassiosira curviseriata* y otra en verano dominada por *Thalassiosira minima* (Gayoso 1998, 1999, Guinder et al. 2012). El microzooplancton está representado principalmente por tintínidos (Barría de Cao 1992), ciliados aloricados (Pettigrosso 2003) y rotíferos (Barría de Cao et al. 2011). *Tintinnidium balechi* suele ser el representante más importante del microzooplancton durante la mayor parte del año (Barría de Cao 1981). Los copépodos dominan la biomasa mesozooplanctónica y están representados principalmente por las especies *Acartia tonsa* y *Eurytemora americana*, aunque en determinados momentos del año, los estadios larvales de cangrejos (*Neohelice granulata*) y cirripedios (*Balanus glandula* y *Amphibalanus amphitrite*) también pueden ser importantes (Hoffmeyer 1983, Hoffmeyer 2004a). El mesozooplancton ejerce una importante presión de pastoreo sobre el fitoplancton y el microzooplancton (Diodato y Hoffmeyer 2008, Hoffmeyer et al. 2008, Dutto 2013), sin embargo, la dinámica trófica del microzooplancton ha sido menos estudiada (Pettigrosso y Popovich 2009).

La zona interna e intermedia del estuario, está fuertemente afectada por las actividades antropogénicas que se desarrollan en las costas adyacentes (Marcovecchio et al. 2008). Esta área, recibe los efluentes industriales, agrícolas y urbanos de la región. Sobre el veril norte, se encuentra uno de los polos industriales más importantes del país, el cual incluye empresas petroquímicas, cerealeras y una termoeléctrica. Además, se desarrollan actividades de pesca artesanal y deportiva y un intenso tráfico marítimo y portuario.

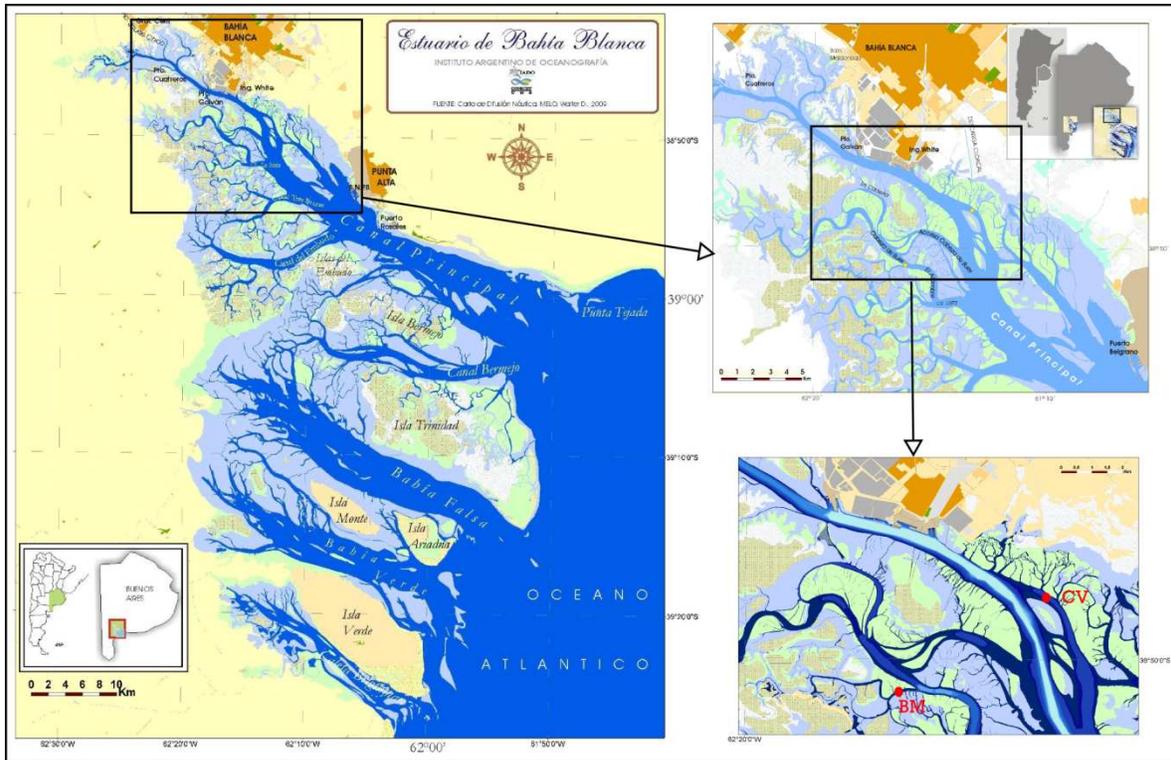


Figura 1.2. Mapa y ubicación geográfica del Estuario de Bahía Blanca. Se representan en naranja los centros urbanos asociados al estuario en la costa norte, en celeste el área de inundación en pleamar y en tonos de verde, las planicies y marismas. En los paneles de la derecha se muestra la ubicación de los sitios de muestreo: Bahía del Medio (BM) y Canal Vieja (CV). Fuente: W.D. Melo.

1.4.2. Sitios de muestreo

Bahía del Medio (BM). Este sitio de muestreo se seleccionó con el objetivo de contrastar los resultados obtenidos en el área afectada (CV) con un sitio protegido de la influencia antrópica (Baldini et al. 1999, Hoffmeyer y Barría de Cao 2007). El sitio seleccionado se ubicó en un canal de marea estrecho (70 m) con una profundidad media de 4,5 m y alejado de la influencia urbana e

industrial (Hoffmeyer y Barría de Cao 2007). El mismo se ubica al sudeste del canal principal (Figura 1.2) y recibe cierta influencia de la plataforma marina adyacente (Piccolo et al. 1987). Está rodeado por extensas marismas cubiertas por plantas halófitas (*Spartina alterniflora*), las cuales exportan material vegetal hacia la columna de agua como resultado del efecto de la marea (Gozález Trilla et al. 2009, Montemayor et al. 2011). El aporte de material desde las marismas adyacentes junto con la gran amplitud de marea y las características morfológicas del canal, promueven la ocurrencia de altas concentraciones de material en suspensión en la columna de agua, la cual puede alcanzar los 175 mg l⁻¹ (Cuadrado et al. 2000).

En este sitio, no se detecta la presencia de bacterias coliformes y ha sido clasificado como apto para el cultivo de especies marinas (Baldini et al. 1999). Asimismo, la diversidad y abundancia de tintínidos (Barría de Cao et al. 2003, Hoffmeyer y Barría de Cao 2007) y del mesozooplancton total (Dutto et al. 2012), suele ser más alta en comparación con CV.

Canal Vieja (CV). Este canal se encuentra al norte del canal principal del Estuario de Bahía Blanca y se conecta con el mismo por ambos extremos (Figura 1.2). Tiene un ancho aproximado de 300 m y una profundidad media de 6,5 m (Tombesi et al. 2000).

Este canal recibe los residuos cloacales de los centros urbanos aledaños, los cuales no reciben ningún tratamiento previo. Según un informe del Comité Técnico Evaluador de la Municipalidad de Bahía Blanca (Heffner et al. 2003), el desagüe principal aporta 0,75 m³ s⁻¹ de efluente cloacal al estuario, lo cual representa el 23,3% del agua dulce total que ingresa al mismo.

El efluente cloacal representa una fuente importante de materia orgánica y nutrientes (Lara et al. 1985, Barría de Cao et al. 2003, IADO 2004, Biancalana et al. 2012, Dutto et al. 2012), y su influencia llega a detectarse hasta 1700 m de distancia desde su desembocadura durante marea bajante (Lara et al. 1985). Asimismo, en el área afectada la concentración de oxígeno disuelto, el pH y la salinidad, son considerablemente menores en comparación al resto del estuario (Barría de Cao et al. 2003, IADO 2004, Dutto et al. 2012). Dependiendo de la época del año, la temperatura y la turbidez también pueden ser significativamente diferentes (IADO 2004). La comunidad zooplanctónica ha demostrado ser susceptible al efecto de la contaminación cloacal. De hecho, en el área afectada se ha registrado una menor concentración de ciliados aloricados y tintínidos (Barría de Cao et al. 2003), y el mesozooplancton total suele ser menos abundante y diverso, con un reemplazo de la comunidad mesozooplanctónica típica (dominada por *A. tonsa*) por especies detritívoras (Biancalana et al. 2012, Dutto et al. 2012).

Capítulo 2.

Estructura de la comunidad planctónica y su relación con las condiciones ambientales

2.1. Introducción

El plancton marino muestra una estrecha relación con el ambiente, por lo cual es considerado un buen indicador de cambios ambientales (Hays 2005). Además, es capaz de responder a ciertas señales débiles del ambiente y amplificarlas a través de la cadena trófica (Taylor et al. 2002). En áreas costeras, donde la eutrofización representa una de las principales problemáticas actuales, las variables asociadas al plancton (abundancia, biomasa, composición, productividad primaria), son frecuentemente utilizadas para establecer la calidad ambiental (Andersen et al. 2006). Sin embargo, el aumento de la incertidumbre climática, dificulta la predicción de la respuesta del plancton al grado de eutrofización (Paerl et al. 2006).

Estudios recientes indican que las modificaciones en las señales climáticas globales como la oscilación del Sur (ENSO de sus siglas en inglés: *El Niño-Southern Oscillations*), pueden aumentar la ocurrencia de eventos meteorológicos extremos y generar profundos cambios en los ambientes pelágicos (Cuadro 2). En estuarios y otras áreas costeras, el aumento de la frecuencia de eventos climáticos extremos (Easterling et al. 2000) puede generar cambios repentinos en el nivel de eutrofización del sistema (*e.g.* Howarth et al. 2000). Por ejemplo, los eventos de lluvias intensas e inundaciones, originan pulsos de nutrientes inorgánicos en la columna de agua, lo cual estimula la productividad primaria y secundaria (Kimmerer 2002, Hoover et al. 2006). Estos pulsos esporádicos de recursos modifican los mecanismos de regulación *bottom-up* de los productores primarios, y de esta forma pueden transmitirse al resto de la cadena trófica (Holt 2008).

En el Estuario de Bahía Blanca, se han identificado cambios en la estructura y fenología del plancton como resultado de la variabilidad climática (Hoffmeyer 2004b, Guinder et al. 2010) y del aumento en

la carga de nutrientes (Barría de Cao et al. 2003, Biancalana et al. 2012, Dutto et al. 2012). En particular, el microzooplancton representa un valioso indicador ambiental ya que es sensible a las oscilaciones ambientales (Caron y Hutchins 2013) y al grado de eutrofización (Park y Marshall 2000). En ambientes estuariales, el microzooplancton suele presentar altas concentraciones (Caron et al. 2002, McMannus y Santoferrara 2012) y una alta capacidad de reestructurarse frente a los cambios ambientales (Vigil et al. 2009). Los estudios que abordan procesos ecológicos en el contexto de la variabilidad climática y ambiental, son fundamentales para entender las respuestas ecosistémicas al aumento en la imprevisibilidad ambiental (Palmer y Räisänen 2002), y al mismo tiempo permiten evaluar la plasticidad fenotípica de las poblaciones y por ende, la resiliencia del sistema (Litchman et al. 2012, Dam 2013).

Cuadro 2. La señal del ENSO y su influencia sobre las comunidades pelágicas

La oscilación del Sur (ENSO) es uno de los factores que regula el clima global a escala interanual (Philander 1990). La influencia del cambio climático sobre la dinámica del ENSO es difícil de predecir (Collins 2005, Latif y Keenlyside 2009), sin embargo, se espera que pequeños cambios en la hidrografía del Pacífico Central originen profundas modificaciones en el patrón interanual del ENSO, lo que podría generar respuestas a nivel del ecosistema (Latif y Keenlyside 2009).

Los episodios de El Niño, suelen generar profundos cambios ecológicos en el ambiente pelágico, como por ejemplo el aumento de la productividad primaria (Behrenfeld et al. 2001), cambios en la estructura y abundancia del zooplancton y comunidades intermareales (*e.g.* Sagarin et al. 1999, Hidalgo y Escribano 2001, Marinovic et al. 2002, Bollens et al. 2011), colapso de pesquerías (*e.g.* Alamo y Bouchon 1987, Arntz y Tarazona 1990, Arcos et al. 2001) y blanqueo de corales (Hoegh-Guldberg 1999, Glynn et al. 2001).

En Argentina, el cambio en la dinámica del ENSO parece estar asociada a los cambios recientes en el régimen de lluvias (Haylock et al. 2006). En las últimas décadas, la precipitación media anual (Minetti et al. 2003) y los eventos diarios de lluvia extrema (Penalba y Robledo 2010), se han incrementado en la región, paralelamente con la intensificación de la señal del ENSO (Dai et al. 1997). Gonzalez-Silvera et al. (2004), documentaron que la dinámica de los pigmentos en la costa norte del país, estuvo fuertemente acoplada a los eventos de El Niño de los años 1982/1983 y 1997/1998. Más aún, Machado et al. (2013) mostraron que en el área de la plataforma al norte de los 45°S, la concentración de clorofila aumenta considerablemente durante estos episodios.

En la mayoría de los casos, el factor subyacente al cambio en el patrón productivo en respuesta a estos eventos, es el cambio en el ciclo de nutrientes, lo cual termina modificando la dinámica de las cadenas tróficas locales y como consecuencia, el funcionamiento de todo el ecosistema (Cloern 2001). Los episodios de El Niño, generan pulsos de nutrientes tanto en ambientes acuáticos como terrestres (Yang et al. 2008). La ocurrencia de estos episodios estocásticos, representan una fuente de variabilidad extrínseca que desafía la capacidad adaptativa de las especies, y por lo tanto, tienen el potencial de reestructurar las comunidades de forma permanente (Thibault y Brown 2007).

2.2. **Objetivos**

- ✓ Conocer la composición específica de las comunidades fitoplanctónica y microzooplanctónica durante el período 2008-2010 en los dos sitios de muestreo.
- ✓ Analizar la calidad ambiental de los sitios seleccionados.
- ✓ Establecer la influencia del régimen de lluvias sobre las variables fisicoquímicas de la columna de agua.
- ✓ Establecer la influencia de la calidad ambiental y de la variabilidad meteorológica en la estructuración de la comunidad planctónica.

2.3. **Hipótesis**

- ✓ La menor calidad ambiental en CV en comparación con el ambiente menos impactado (BM), proporcionan un ambiente estresante que afectará la configuración y la dinámica del plancton.
- ✓ El régimen de lluvias modificará el patrón temporal de nutrientes en ambos sitios, independientemente de su estado trófico basal.
- ✓ Dado que cada sitio posee una configuración planctónica específica, se esperan distintos tipos de respuesta a la influencia del régimen de lluvias.

2.4. Materiales y Métodos

2.4.1. Recolección de muestras y mediciones *in situ*

Las mediciones *in situ*, la recolección de muestras y los experimentos de alimentación se realizaron durante 14 campañas oceanográficas en cada uno de los sitios (Tabla 1 del Anexo). Las muestras de agua para el análisis de clorofila *a*, nutrientes, C orgánico particulado (COP), fitoplancton y microzooplancton, se obtuvieron del estrato sub-superficial (c.a. 40 cm de profundidad) mediante una botella Van Dorn de 2,5 l. Las muestras destinadas al análisis de clorofila *a*, nutrientes y COP se almacenaron en heladeras hasta llegar al laboratorio.

Las muestras para el análisis de plancton se fijaron a bordo y se almacenaron en condiciones de oscuridad. En cada muestreo, se midió la temperatura, pH, oxígeno disuelto, salinidad y turbidez mediante una sonda multiparámetro Horiba U-10. Las mediciones y la extracción de muestras se realizaron siempre en condiciones diurnas y de refluo.

2.4.2. Análisis del plancton

Para el análisis cualitativo preliminar del fitoplancton y microzooplancton, se realizaron arrastres con red de 30 μm de poro y se conservaron en botellas color caramelo de 250 ml. Las muestras fueron fijadas con 2,5 ml de solución de Lugol (c.f. 10%) y conservadas en oscuridad a temperatura ambiente hasta el momento del análisis. Se colocó una gota de muestra fijada entre porta y cubre y se analizó bajo microscopio óptico (Nikon Eclipse) a una magnificación de 40 y 100X. La identificación se realizó hasta el menor nivel taxonómico posible utilizando las siguientes fuentes bibliográficas: Fitoplancton: Hallegraeff et al. (1995), Gayoso (1981, 1988, 1989), Tomas (1997). Microzooplancton: Balech (1964, 1971, 1988), Balech y Souto (1980a, b), Barría de Cao (1981, 1986, 1992, 2002), Barría de Cao et al. (1997, 2005), Barría de Cao y Piccolo (2008), Berzins (1960a, b), Kogan (2005), Lynn et al. (1991), Montagnes y Lynn (1991), Pettigrosso (2001, 2003), Pettigrosso et al. (1997), Rougier et al. (2000).

Para el análisis cuantitativo, se tomaron 250 ml de agua sub-superficial durante cada uno de los muestreos. En cada campaña, se tomaron de 3 a 4 réplicas, las cuales fueron fijadas con 2,5 ml de solución de Lugol (c.f. 10%) y conservadas en oscuridad a temperatura ambiente hasta el momento del análisis. Para el recuento de microorganismos, se tomó un volumen variable de muestra según la concentración de organismos y sedimento y se dejó sedimentar en cámaras durante 24 h según el

método de Utermöhl (Hasle 1978). Las cámaras fueron analizadas bajo microscopio invertido (Nikon EclipseTE 300) y una cámara digital Nikon Sight DS-U2. Se analizaron entre 2 y 4 réplicas de cada muestreo. Para el recuento del fitoplancton, se sedimentaron entre 5 y 10 ml de muestra y se analizó un área acotada de la cámara bajo una magnificación de 20X para el microfitoplancton (>20 µm) y bajo 40X para el nanofitoplancton (<20 µm). La densidad celular se obtuvo multiplicando el total de células contadas por el siguiente factor (F):

$$F = \frac{AF \times fd}{AO \times VF}$$

donde AF es el área de la cámara (4,91 cm²), fd es el factor de dilución de la muestra en el fijador (1,01 ml), AO es el área de la unidad de recuento (1 cm² para microfitoplancton y 0,14 cm² para el nanofitoplancton) y VF es el volumen de la muestra filtrada (5-10 ml).

Para el recuento del microzooplancton, se sedimentaron entre 25 y 50 ml de muestra y se analizó toda el área de la cámara bajo una magnificación de 20X. El volumen de muestra analizado para ambos grupos resultó adecuado ya que de este modo se evitó el enmascaramiento de organismos.

El cálculo de la biomasa se realizó midiendo la mayor cantidad posible de células de cada especie o grupo identificado (hasta un máximo de 100 organismos) y calculando su volumen celular (V) mediante aproximación a un cuerpo geométrico semejante (Hillebrand et al. 1999). Las medidas de los organismos se obtuvieron con un ocular micrométrico calibrado Wild 10X adicionado al microscopio invertido. La concentración de C (µg l⁻¹) se calculó mediante los factores señalados en la Tabla 2.1.

Tabla 2.1. Factores de conversión del volumen celular (µm³) a C (pg) utilizados para el cálculo de biomasa de los diferentes grupos taxonómicos.

Grupo taxonómico	Factor de Conversión	Referencia
Diatomeas	$C = 0,288 \times V^{0,811}$	Menden-Deuer y Lessard 2000
Dinoflagelados	$C = 0,76 \times V^{0,819}$	Menden-Deuer y Lessard 2000
Cocolitofóridos	$C = 0,642 \times V^{0,899}$	Menden-Deuer y Lessard 2000
Flagelados	$C = 0,22 \times V$	Børsheim y Bratbak 1987
Tintínidos	$C = 0,053 + 444,5 \times V$	Verity y Langdon 1984
Ciliados aloricados	$C = 0,19 \times V$	Putt y Stoecker 1989
Rotíferos	$C = 0,052 \times V$	Heinbokel et al. 1988

2.4.3. Análisis de laboratorio

Determinación de clorofila a y feopigmentos. La concentración de clorofila *a* y feopigmentos ($\mu\text{g l}^{-1}$) se determinó de acuerdo al método descrito por Lorenzen y Jeffrey (1980), que consiste en la extracción de los pigmentos fotosintéticos con un solvente orgánico y la lectura por espectrofotometría. Para ello, se filtraron 250 ml de agua de mar a través de filtros Whatman® GF/F (47 mm de diámetro y 0,7 μm de poro) los cuales fueron inmediatamente almacenados a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 una gota de HCl 0,1 N 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 ($\mu\text{g l}^{-1}$) se realizó a través de los siguientes cálculos:

$$\text{Clorofila } a = \frac{26,7 \times v}{V \times b(\lambda_{665} - \lambda_{665} a)} \quad \text{Feopigmentos} = \frac{26,7 \times v}{V \times b(1,7 \times \lambda_{665} a - \lambda_{665})}$$

donde *v* es el volumen de acetona final, *V* es el volumen de muestra filtrada, *b* es la longitud de la celda (cm), λ_{665} es la lectura de absorbancia a 665 nm menos la lectura de absorbancia a 750 nm y $\lambda_{665} a$ es la lectura de absorbancia a 665 nm con ácido menos la lectura de absorbancia a 750 nm con ácido. La concentración de estos pigmentos en la fracción menor a 20 μm (clorofila *a* < 20 μm y feopigmentos < 20 μm), se realizó haciendo un prefiltrado de la muestra de agua con una malla de 20 μm . Luego se procedió siguiendo la misma metodología. El límite de detección del método es de 0,02 $\mu\text{g l}^{-1}$.

Determinación de nutrientes disueltos. Para el cálculo de la concentración de los nutrientes inorgánicos disueltos se filtraron 250 ml de agua de mar 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 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su posterior análisis. Las determinaciones se realizaron empleando un Autoanalizador Technicon® AA-II expandido a cinco canales siguiendo la metodología descrita por Grasshoff et al. 1983 (nitrito), Tréguer y Le Corre 1975 (nitrato), Richards y Klestch 1964 (amonio), Eberlein y Kattner 1987 basado en el método original de Murphy y Riley 1962 (fosfato) y Technicon® 1973 (silicato). 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 nm

para fosfato y 660 nm 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 COP. La concentración de COP se determinó siguiendo el método descrito por Strickland y 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} lo cual depende de la concentración de C orgánico presente en la muestra. 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 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 C 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 es la extinción corregida para la absorbancia del Cr trivalente expresada como $E=1,1 \times E_{\text{obs}}$, F es el factor dado por la expresión $F=120/E_c$, siendo E_c la extinción media corregida de tres patrones y v el volumen de oxidante utilizado (ml). La concentración de COP en la fracción menor a 20 μm , se realizó haciendo un prefiltrado de la muestra de agua con una malla de 20 μm . Luego se procedió siguiendo la misma metodología. El rango cuantificable del método es de 10 a 4000 $\mu\text{g l}^{-1}$.

Todas las determinaciones químicas fueron realizadas por personal técnico del Laboratorio de Química Marina del IADO.

2.4.4. Análisis de datos

Obtención y análisis de datos climáticos. Para establecer una línea de base comparativa con el período de estudio de esta tesis, se analizaron los datos de precipitación mensual del período comprendido entre enero de 1998 y diciembre de 2011. Esta variable fue considerada porque suele estar fuertemente acoplada a la dinámica de los nutrientes en el Estuario de Bahía Blanca (Spetter et al. 2013). Los datos de precipitación fueron suministrados por el Centro de Recursos Naturales

Renovables de la Zona Semiárida (CERZOS, CONICET Bahía Blanca), los cuales fueron obtenidos en una estación fija localizada en la ciudad de Bahía Blanca. Dada la variabilidad de estos datos, se utilizó un filtro pasa bajos Loess de 365 días para extraer la señal anual y de esta manera se pudo analizar la dinámica interanual de la precipitación. Para detectar cambios significativos en los niveles de precipitación durante el período de estudio (2008-2010), se utilizó la distancia generalizada de Mahalanobis (D^2). Este estadístico adimensional permite identificar eventos anómalos en series de tiempo (Ibanez 1981). Una vez detectados los eventos anómalos, éstos fueron comparados con el resto de la serie temporal mediante un test no paramétrico U de Mann-Whitney. Este mismo test fue aplicado para comparar el valor medio de las variables abióticas (temperatura, salinidad, pH, turbidez, oxígeno disuelto y nutrientes) durante el evento anómalo con el valor medio de toda la serie temporal (2008-2010).

Para establecer si el fenómeno de El Niño tuvo alguna influencia sobre el régimen de lluvias en el área del Estuario de Bahía Blanca durante el estudio, se analizó el acoplamiento entre los niveles de precipitación y el índice Niño 3.4 (N3.4). La serie temporal de este índice se obtuvo del *National Oceanic and Atmospheric Administration* (NOAA, <http://www.esrl.noaa.gov/psd/data/timeseries/>). Este índice considera la temperatura del mar en superficie en la zona centro-este del océano Pacífico Tropical (5°N-5°S, 170°O-120°O) como un potencial predictor de la variabilidad de la precipitación a gran escala (Trenberth 1997). La relación potencial entre la precipitación y el N3.4 desde enero de 2008 a diciembre del 2010 se analizó mediante correlación no paramétrica (bootstrap) que involucra muestreo de a pares con reemplazo (Casini et al. 2008). Además, se aplicó un análisis de correlación móvil para analizar la evolución temporal de la relación entre ambas variables en el período de estudio.

Para determinar modos acoplados, la periodicidad dominante y los períodos de coherencia significativa entre la precipitación y el índice N3.4, se aplicó el análisis de *wavelet* (Grinsted et al. 2004). Esta técnica permite identificar variabilidad en fase entre las series de tiempo analizadas y el período en que estas series covarían. Además, se utilizó el método de “*cross wavelet transform*” para detectar la evolución de la relación entre las variables en el tiempo, lo cual permite identificar períodos estacionarios significativos y discontinuidades en los modos acoplados y la periodicidad. Asimismo, se aplicó la técnica de “*wavelet coherence*” para explorar la correlación entre las series de tiempo en el espacio tiempo-frecuencia (Grinsted et al. 2004).

Análisis de datos bióticos y abióticos. La dinámica temporal de las variables abióticas (temperatura, salinidad, pH, turbidez, oxígeno disuelto, COP y nutrientes) durante el período de estudio, se expresó

utilizando sus valores estandarizados (*z-score*, media=0, desvío estándar=1). Para cada sitio de estudio, se calculó un índice trófico, es decir, un índice que sintetiza la variabilidad de la concentración de los nutrientes inorgánicos. Para ello se realizó un análisis de componentes principales (ACP) de las concentraciones estandarizadas del nitrito, nitrato, fosfato y silicato y se seleccionó el primer componente (CP1). El CP1 reúne la mayor proporción de variabilidad de la matriz de datos, y por ende representa la tendencia general de las variables incluidas en el análisis durante el período de estudio. Este CP puede ser utilizado como proxy del nivel de eutrofización o índice trófico. El amonio fue excluido del análisis ya que mostró una dinámica altamente variable durante el período. El índice trófico obtenido durante el período de estudio (2008-2010), se comparó con un índice calculado durante un año que mostró el patrón de variación anual típico de nutrientes en el Estuario de Bahía Blanca. Para construir este último “índice trófico de año típico”, se tomaron los valores mensuales de la concentración de nitrito, nitrato, fosfato y silicato presentados en Guinder et al. (2010), y se obtuvo el índice trófico mensual siguiendo la metodología antes mencionada. Este trabajo contempló el ciclo anual 2006-2008, y se correspondió adecuadamente con la tendencia anual media de nutrientes en el Estuario de Bahía Blanca de los últimos 30 años (Freije y Marcovecchio 2004).

Con el fin de determinar las diferencias en las variables abióticas y bióticas entre los sitios y entre las estaciones climáticas, se realizó un análisis de varianza (ANOVA). Como primer paso, se analizó la existencia de interacción entre los factores “sitio” y “estación climática” y aquellas variables que presentaron interacción significativa ($p < 0,05$) fueron comparados entre todos los niveles de los factores. Las variables que no mostraron interacción significativa ($p > 0,05$) fueron comparadas entre los niveles de cada factor por separado (“sitio” por un lado y “estaciones” por el otro). En todos los casos, las comparaciones de medias fueron realizadas con ANOVA seguido del test LSD de Fisher (*Least Significant Difference*). Todas las variables fueron transformadas por el log ($x+1$), ya que no cumplieron con los supuestos de normalidad y homoscedasticidad (Levene 1960, Shapiro y Wilk 1965, Conover et al. 1981). Se utilizó el software estadístico INFostat® (versión libre, <http://www.infostat.com.ar>) para realizar los análisis mencionados.

Para explorar la relación entre las variables registradas durante este estudio, se obtuvo una matriz de correlaciones utilizando la prueba no paramétrica de Spearman. Además, la relación entre las variables ambientales (temperatura, salinidad, pH, turbidez, oxígeno disuelto, COP, nutrientes, clorofila *a*, clorofila *a* <20 μm , feopigmentos y feopigmentos <20 μm) se analizó mediante un análisis de ordenación de componentes principales (ACP), el cual permite sintetizar la variabilidad de los

datos en un plano bidimensional. Las variables seleccionadas fueron previamente estandarizadas (*z-score*, media=0, desvío estándar=1). Para la realización de este análisis, se utilizó el *software* XLStat Addinsoft 2010®.

Se aplicó el análisis de regresión para explicar parte de la variabilidad planctónica mediante las variables ambientales. Por un lado se calculó la proporción relativa de la abundancia (cél l⁻¹) de las fracciones de tamaño del fitoplancton como el cociente entre el nanofitoplancton y el microfitoplancton (nanofitopl./microfitopl.) durante todos los muestreos y se comparó con las variables ambientales. Además, se identificaron aquellas variables ambientales que explicarían la dinámica de la biomasa del plancton durante el período de estudio. Para ello, se estimó la tendencia general de la biomasa del plancton como el primer componente (CP1) del análisis de componentes principales (ACP) de las siguientes variables estandarizadas: biomasa del nanofitoplancton, biomasa del microfitoplancton y biomasa del microzooplancton (µg C l⁻¹). Las diferencias entre sitios en la composición relativa del fitoplancton y microzooplancton, los índices de diversidad y la riqueza de especies, fue analizada mediante un Test t para muestras independientes (Sokal y Rohlf 1999).

Análisis de la composición planctónica. Las diferencias en la composición taxonómica del plancton en los sitios BM y CV, se analizaron mediante el análisis de conglomerados (cluster) por el método jerárquico (Clarke y Warwick 1994). Las muestras se visualizaron gráficamente a través de un análisis de escalamiento multidimensional no métrico (non-metric Multi-Dimensional Scalling, MDS). La bondad de ajuste de este método de ordenación se calcula mediante un valor de stress. 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 sin transformar (Clarke y Ainsworth 1993). Para detectar diferencias significativas en la composición entre sitios, se aplicó un análisis de similitudes (*Analysis of Similarities*, ANOSIM). La contribución de cada taxón a la similitud dentro de un grupo y a la disimilitud entre los grupos, se estudió mediante el análisis de similitud porcentual (*Similarity Percentages*, SIMPER) utilizando el índice de similitud de Bray Curtis. Se utilizó el software PRIMER® 5 para realizar estos análisis.

También se calculó el índice de diversidad de Shannon Wiener (H', Shannon y Weaver 1949) y el índice de equitatividad de Pielou (J', Pielou 1969) mediante las siguientes ecuaciones:

$$H' = - \sum (p_i [\log p_i]) \qquad J' = \frac{H'}{\log S}$$

donde S es el número total de especies y p_i es la proporción de la especie i en la muestra. El índice de diversidad se calculó a nivel de especies, sin embargo, en los casos en que las especies no fueron claramente diferenciadas (*i.e.* nanoflagelados), se utilizó la fracción de tamaño como factor de discriminación.

2.5. Resultados

2.5.1. Dinámica temporal de la precipitación en el área del Estuario de Bahía Blanca

La serie temporal de la precipitación en el área de Bahía Blanca, evidenció la ocurrencia de un periodo seco que comenzó en verano tardío de 2006 (mar) y se extendió hasta la finalización de la serie analizada (dic-2011) (Figura 2.1A). La precipitación media mensual durante este periodo seco (mar-2006/dic-2011) fue significativamente menor al período anterior de la serie analizada, desde enero de 1998 hasta febrero del 2006 (media=31,74 mm \pm 30,23 y 58,38 mm \pm 47,01, respectivamente. $U=2147$, $p=0,000$). El análisis de “*cross wavelet*” entre la precipitación y el índice N3.4, mostró un modo acoplado dominante y significativo en la banda de los 12 meses durante casi todo el período estudiado, excepto entre 2002 y 2004 (Figura 2.1B). El análisis de coherencia de *wavelet* mostró un patrón discontinuo de covarianza entre las series, la cual fue significativa en los períodos de 2004 a 2008 y a partir del 2010 en adelante en la banda de los 12 meses (Figura 2.1C). Estos períodos coinciden con los valores más altos del índice N3.4.

Durante el periodo de este estudio (2008-2010), los niveles de precipitación fueron significativamente más altos durante la primavera de 2009 y verano de 2010 (Figura 2.2.A y B). La correlación con el índice N3.4, varió entre positiva, negativa y nula (Figura 2.2C). En otoño e invierno de 2009 (abr-oct), el índice N3.4 aumentó mientras que la precipitación mostró anomalías negativas. Luego, las anomalías de la precipitación cambiaron a positivas en primavera tardía del 2009 y verano tardío de 2010 (nov-09 a mar-2010), al mismo tiempo que el índice N3.4 mostró los máximos valores de la serie. Las lluvias de primavera de 2009 llegaron a los 133,6 mm, mientras que en verano de 2010, acumularon 205,2 mm. Los máximos valores mensuales se alcanzaron en febrero de 2010 (90,4 mm). El índice N3.4 comenzó a disminuir en otoño de 2010, y los valores de precipitación permanecieron bajos hasta el invierno de 2010 (abr-sep). Esta relación variable en el tiempo entre la precipitación y el índice N3.4 se mantuvo durante toda la serie de tiempo.

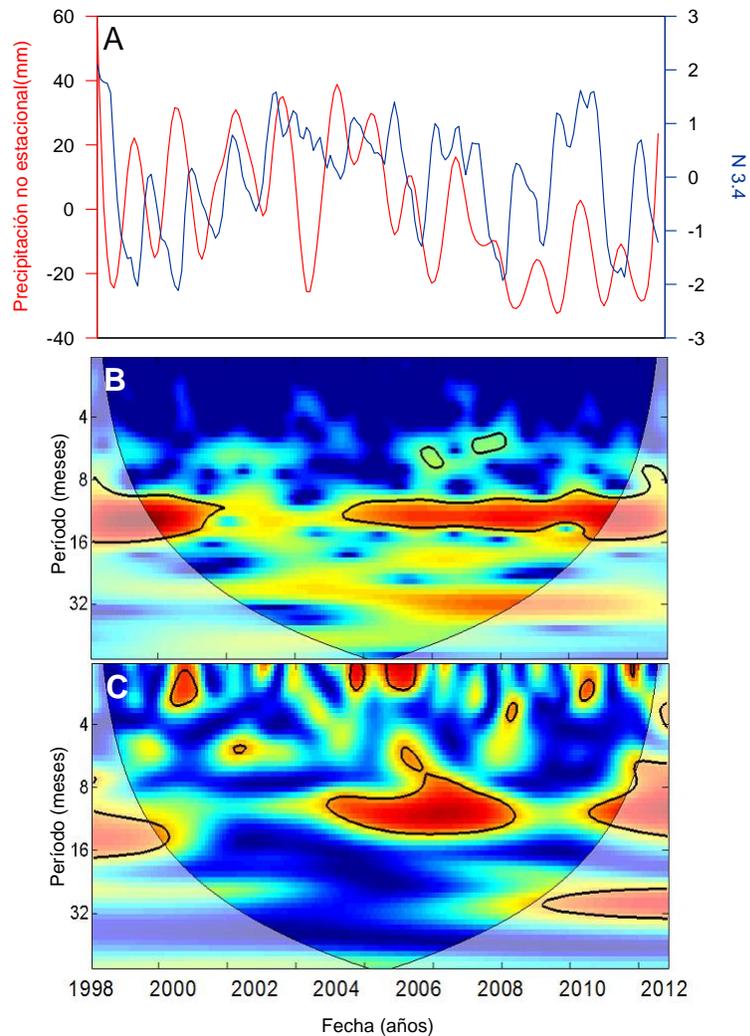


Figura 2.1. Dinámica interanual de la precipitación y la señal de ENSO durante el período 1998-2011 en el Estuario de Bahía Blanca. A) Variabilidad temporal de la precipitación filtrada con un filtro pasa bajos (rojo) y el índice N3.4 (azul) durante el período estudiado. B) Análisis de “cross wavelet transform” mostrando la periodicidad y modo acoplado de varianza ente los datos de precipitación no filtrados y el índice N3.4. La mayor intensidad de covarianza se observó en la banda de los 12 meses (rojo intenso). Las áreas en azul intenso muestran la menor intensidad de covarianza. C) Análisis de “wavelet coherence” mostrando la relación entre la precipitación no filtrada y el índice N3.4. Las áreas en rojo intenso muestran mayor asociación entre variables durante la serie temporal. La coherencia entre las series fue significativa durante períodos intermitentes en la banda de los 12 meses, y estos períodos coincidieron con los valores más altos del índice N3.4. Las líneas de contorno indican el nivel de significancia (5%) contra el ruido rojo, y el área sombreada indica el área influenciada por el efecto de borde. Análisis realizado bajo la supervisión de J.C. Molinero.

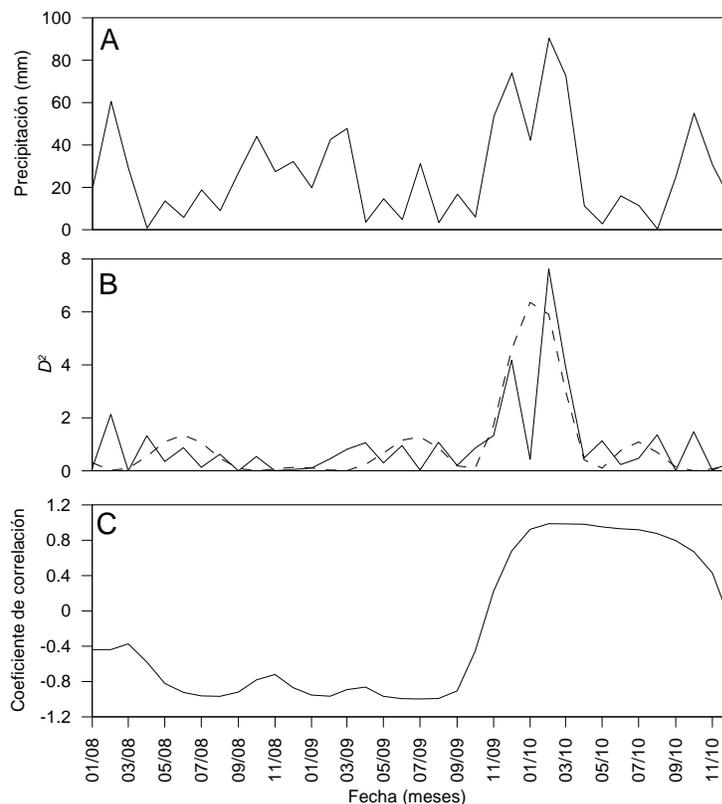


Figura 2.2. Dinámica de la precipitación en el período de estudio (2008-2010) en el Estuario de Bahía Blanca. A) Nivel de precipitación media mensual. B) Discontinuidades significativas en la serie de tiempo identificadas mediante la distancia de Mahalanobis (D^2). Un cambio significativo ocurrió durante el episodio de El Niño de 2009/2010. La línea punteada representa los datos filtrados. C) Correlación móvil obtenida luego de remuestreo “bootstrap” entre la precipitación y el índice N3.4. Nótese la dinámica cambiante de esta relación. Análisis realizado bajo la supervisión de J.C. Molinero.

2.5.2. Condiciones ambientales en los sitios de muestreo

El valor medio de las variables ambientales registradas en los sitios BM y CV durante el período de este estudio (julio de 2008 a noviembre de 2010), se muestra en la Tabla 2.1.

Tabla 2.2. Valor medio y desvío estándar (DS) de las variables ambientales registradas durante 2008-2010 en los sitios BM y CV. Las unidades de medición se muestran entre paréntesis.

Variable	CV		BM	
	Media	DS	Media	DS
Temperatura (°C)	15.51	4.57	14.24	5.51
Salinidad	35.49	7.09	37.99	2.19
pH	8.39	0.41	8.42	0.36
Oxígeno disuelto (mg l ⁻¹)	5.83	1.17	6.38	0.89
Turbidez (UNT)	88.23	69.03	109.14	67.61
Clorofila <i>a</i> (µg l ⁻¹)	5.82	3.45	7.07	3.59
Clorofila <i>a</i> <20 µm (µg l ⁻¹)	2.4	1.67	5.21	3.76
Feopigmentos (µg l ⁻¹)	3.79	5.39	5.81	6.96
Feopigmentos <20 µm (µg l ⁻¹)	2.08	2.42	2.09	2.13
Amonio (µM)	83	93.08	15.02	13.32
Nitrito (µM)	1.38	1.34	0.5	0.8
Nitrato (µM)	4.36	3.74	1.93	3.36
Fosfato (µM)	7.07	9.53	1.76	0.87
Silicato (µM)	71.45	31.48	57.45	20.71
COP (µg l ⁻¹)	2740.04	1153.48	2201.53	1085.87
COP < 20 (µg l ⁻¹)	2601.62	1724.36	2190.45	941.71

La dinámica temporal de las variables abióticas en ambos sitios de muestreo se muestra en la Figura 2.3. El patrón temporal del oxígeno disuelto, la turbidez y el pH, se vio afectado indirectamente por el régimen de lluvias, ya que unos meses después del pico de precipitaciones registrado en primavera de 2009-verano de 2010, se observaron los valores más altos de estas variables en todo el período. Este fenómeno se observó inmediatamente después de la ocurrencia de un pulso significativo de nutrientes en la columna de agua.

En BM, el pH y la turbidez mostraron un aumento conspicuo desde julio hasta noviembre de 2010 que fue significativamente más alto al valor medio de todo el período (pH: U=32, p=0,001; turbidez: U=39,5, p=0,003), mientras que el oxígeno disuelto fue significativamente mayor desde julio a agosto de 2010 (U=12, p=0,012). Este patrón contrastó con lo registrado en el período de otoño-invierno del 2009, en que los valores fueron mucho más bajos (Figuras 2.3C, D, E y F). En CV, se registró una respuesta similar, aunque sólo el incremento de pH desde julio hasta noviembre de 2010 fue significativo (U=81, p=0,030). La temperatura y la salinidad, no mostraron una respuesta significativa luego del evento (Figuras 2.3A y B).

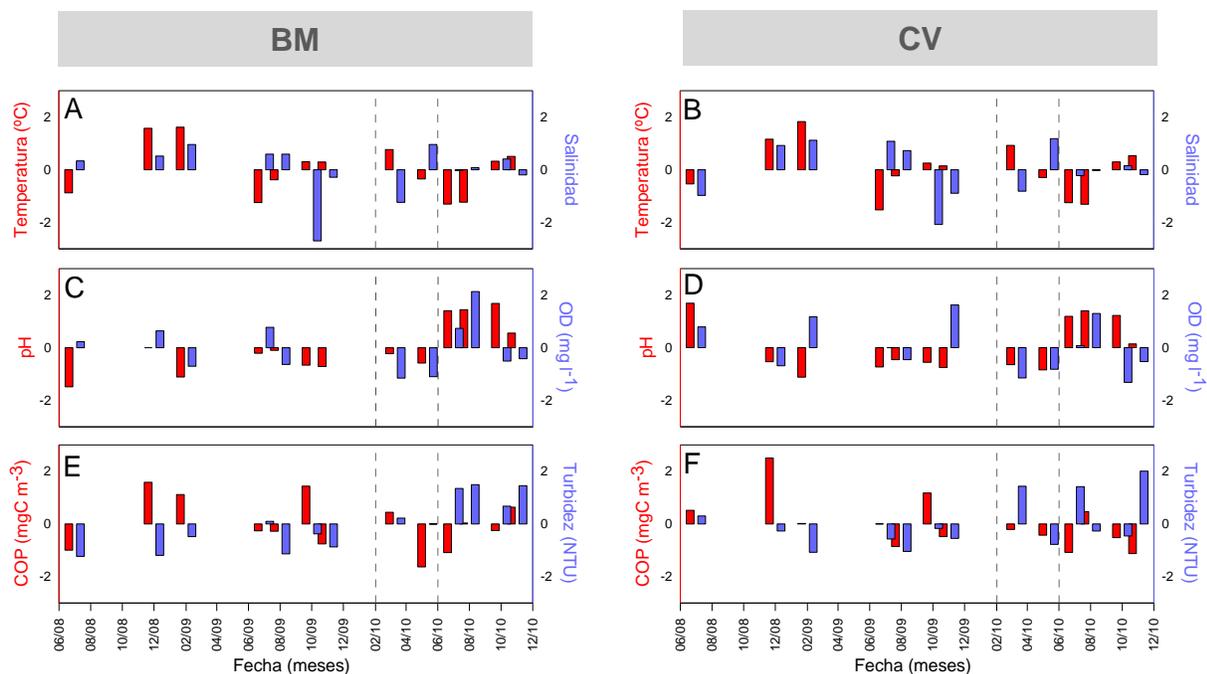


Figura 2.3. Dinámica temporal de las variables ambientales. A y B) temperatura y salinidad. C y D) pH y oxígeno disuelto. E y F) COP y turbidez. A, C y E corresponden a BM. B, D y F corresponden a CV. Las líneas punteadas indican el comienzo y la finalización estimativa del pulso de nutrientes registrado luego del pico de lluvias. Nótese el aumento considerable de las variables pH, oxígeno disuelto y turbidez luego del pulso de nutrientes.

La dinámica de los nutrientes también se vio afectada por las precipitaciones (Figura 2.4A y B). El índice trófico, calculado como el primer componente principal de la matriz de nutrientes (a excepción del amonio), expresó el 85,09 y 63,59% y de la variabilidad de los datos en BM y CV respectivamente. La contribución de cada nutriente al CP1 se muestra en la tabla incluida en la Figura 2.4. Este índice pareció seguir un patrón muy diferente al índice trófico típico del Estuario de Bahía Blanca, el cual expresó el 73,33% de la variabilidad de los datos (Figura 2.4B). Además, los nutrientes mostraron un pulso significativo desde el verano tardío hasta mediados de otoño de 2010, inmediatamente después de la ocurrencia de anomalías positivas de precipitación en primavera/verano de 2009/2010 (Figura 2.4). En BM, los valores máximos fueron detectados en mayo, y la concentración de todos los nutrientes durante el pulso (excepto el amonio) fueron significativamente mayores en comparación a la media de todo el período (nitrito: $U=9,5$, $p=0,026$; nitrato: $U=4,5$, $p=0,011$; fosfato: $U=7,5$, $p=0,019$; silicato: $U=8,5$, $p=0,022$). En CV, se encontró una respuesta similar en todos los nutrientes excepto el fosfato (amonio: $U=9$, $p=0,029$; nitrito: $U=8$, $p=0,021$; nitrato: $U=1$, $p=0,006$; silicato: $U=2$, $p=0,007$).

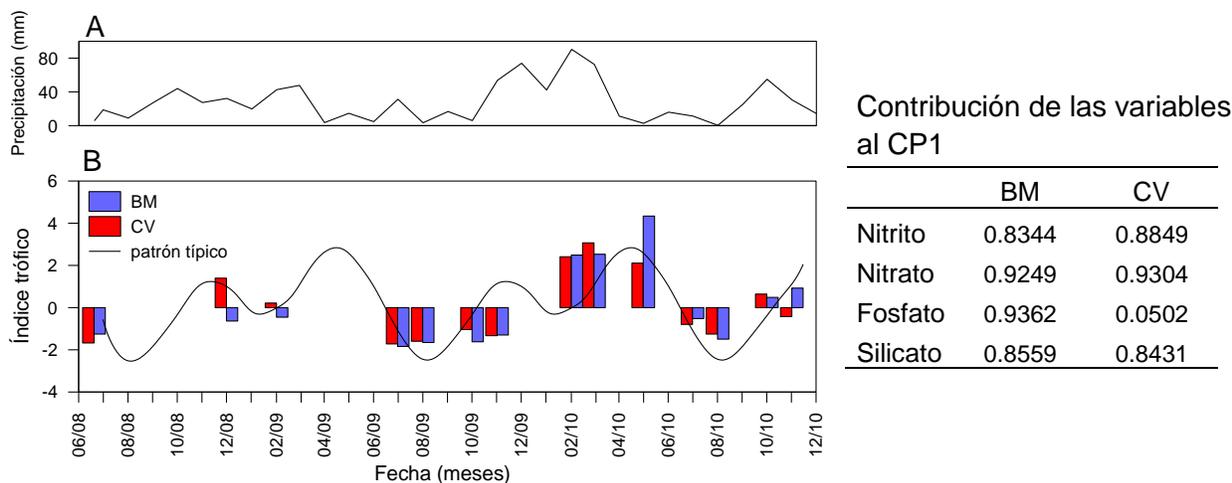


Figura 2.4. Dinámica temporal de los nutrientes en ambos sitios de muestreo durante el período de estudio. A) Valor medio mensual de precipitación durante el período en el área del Estuario de Bahía Blanca. B) Índice trófico registrado en los sitios de muestreo (barras) durante el período de estudio. El índice trófico representa la tendencia general de la concentración de nutrientes estimada como el CP1 del análisis de componentes principales. La contribución de cada nutriente al CP1 se muestra en la tabla de la derecha. La línea sólida representa la tendencia de los nutrientes que comúnmente es registrada en el Estuario de Bahía Blanca.

Los sitios analizados se diferenciaron entre sí en varios aspectos ambientales a lo largo del período estudiado. Para analizar estas diferencias, se testeó la posible interacción entre los factores “sitio” y “estación climática”. La mayoría de las variables se comportaron igual en ambos sitios durante todas las estaciones climáticas (Figuras 2.5 y 2.6) y sólo la variabilidad de la salinidad, el nitrito y el nitrato mostró interacción entre factores (Figura 2.7). La concentración de amonio, fosfato, silicato y COP fue significativamente mayor en CV, mientras que la concentración de clorofila *a*, clorofila *a*<20 μm , feopigmentos, feopigmentos<20 μm fue significativamente menor. La concentración del nitrato y nitrito mostró un patrón variable aunque en general, fue más alta en CV. La salinidad y el oxígeno disuelto fueron considerablemente más altos en BM, aunque estas diferencias no llegaron a ser estadísticamente significativas.

El oxígeno disuelto, la clorofila *a*, los feopigmentos y el COP mostraron una dinámica temporal similar en ambos sitios, con valores estables en la mayor parte del año y un mínimo en otoño (Figura 2.6). La turbidez y el pH no mostraron un patrón claro a lo largo del año, mientras que la temperatura se mantuvo dentro de los valores típicos registrados en el Estuario de Bahía Blanca.

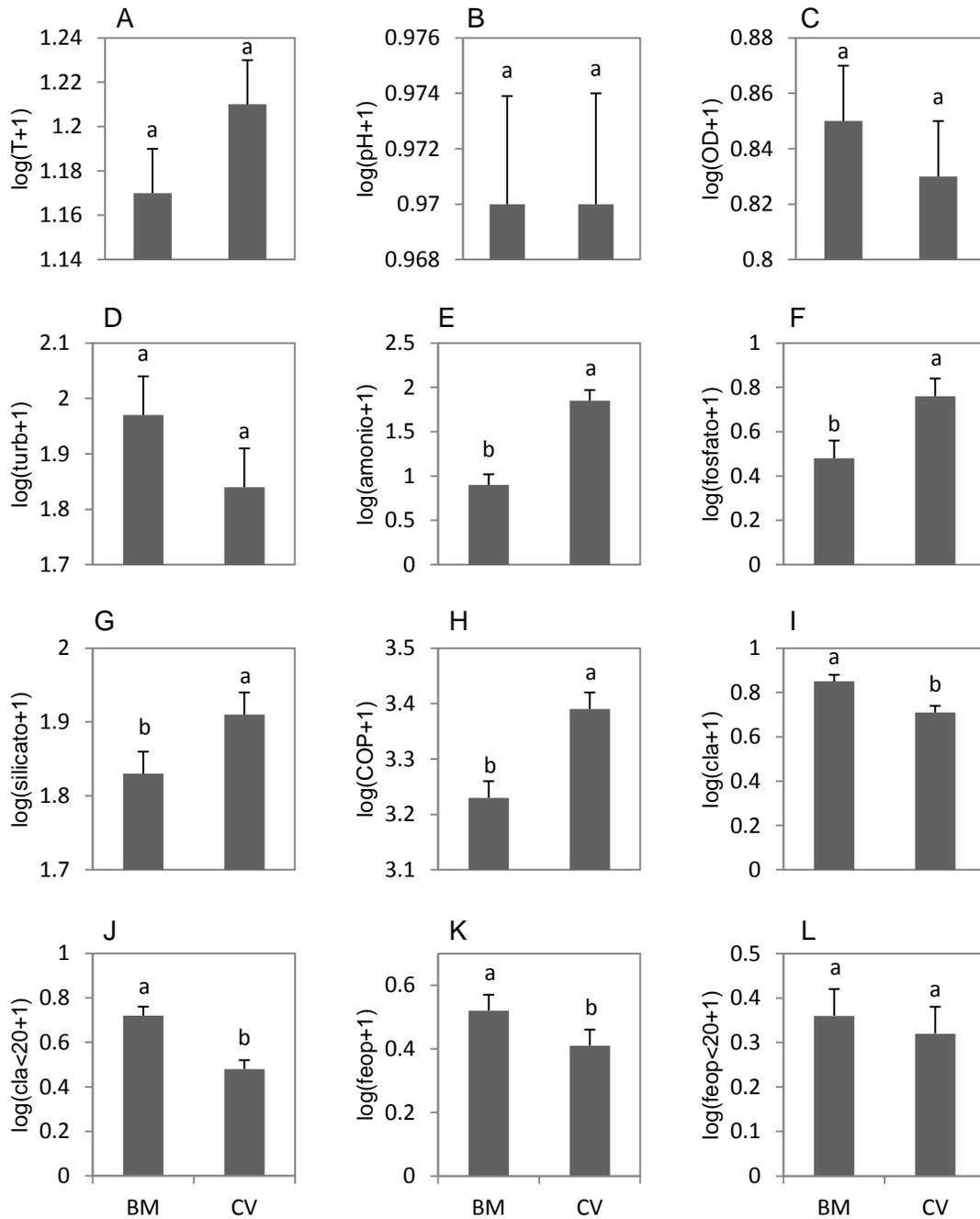


Figura 2.5. Valor medio transformado ($\log[x+1]$) de A) temperatura (T), B) pH, C) oxígeno disuelto (OD), D) turbidez (turb), E) amonio, F) fosfato, G) silicato, H) COP, I) clorofila a total (cia), J) clorofila a menor a 20 μm (cia<20), K) feopigmentos totales (feopigm) y L) feopigmentos menores a 20 μm (feopigm<20) en los sitios de muestreo BM y CV. No se detectó interacción entre los factores, es decir que el comportamiento de las variables en cada sitio es el mismo en todas las estaciones de año. Por lo tanto, se compararon los promedios de cada factor (sitios y estación), por separado. Letras asignadas alfabéticamente de mayor a menor. Dos medias que compartan alguna letra no difieren al 5%.

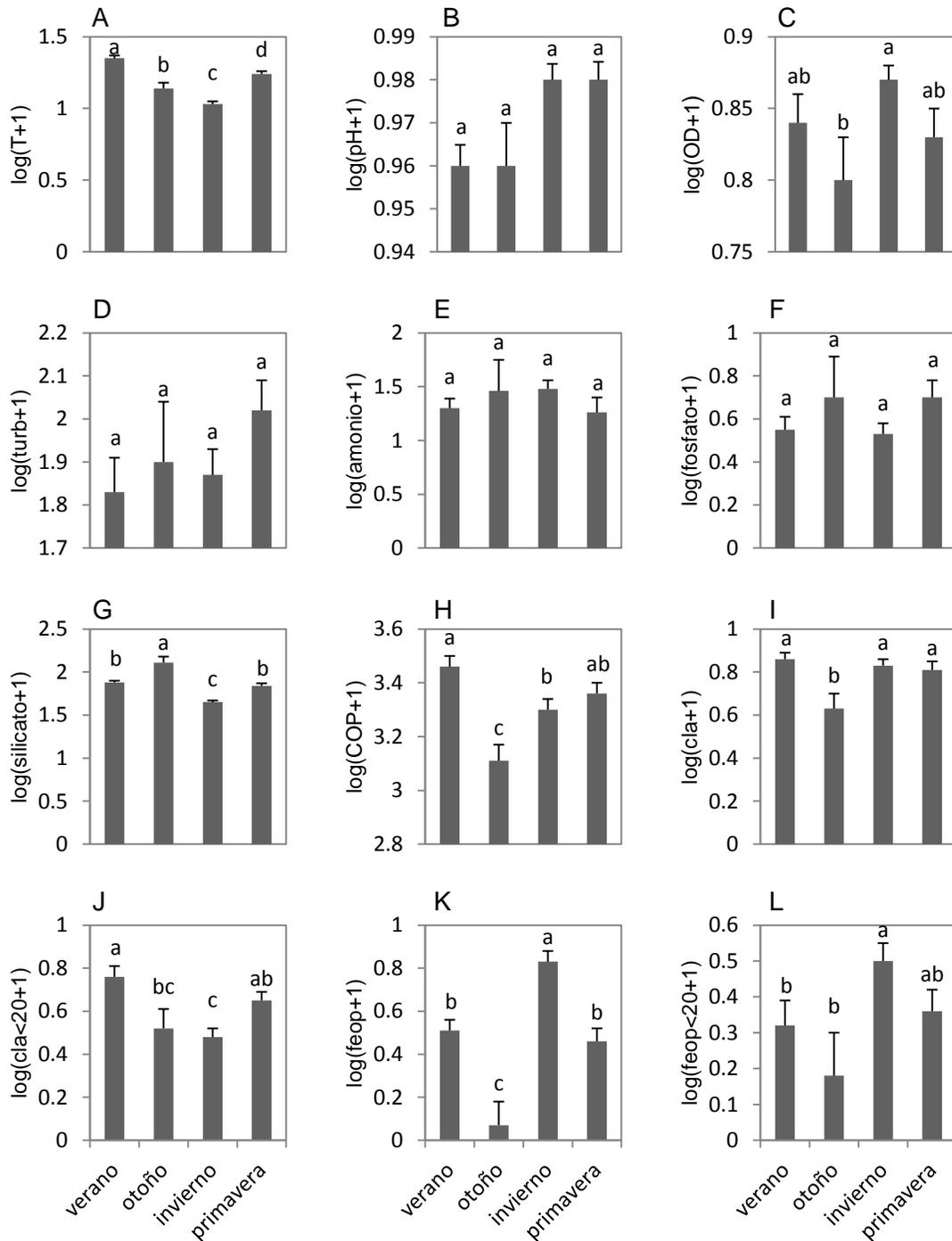


Figura 2.6. Valor medio transformado ($\log[x+1]$) de A) temperatura (T), B) pH, C) oxígeno disuelto (OD), D) turbidez (turb), E) amonio, F) fosfato, G) silicato, H) COP, I) clorofila a total (cia), J) clorofila a menor a 20 μm (cia<20), K) feopigmentos totales (feopigm) y L) feopigmentos menores a 20 μm (feopigm<20) en las cuatro estaciones climáticas. No se detectó interacción entre los factores, es decir que el comportamiento de las variables en cada sitio es el mismo en todas las estaciones de año. Por lo tanto, se compararon los promedios de cada factor (sitios y estación), por separado. Letras asignadas alfabéticamente de mayor a menor. Dos medias que compartan alguna letra no difieren al 5%.

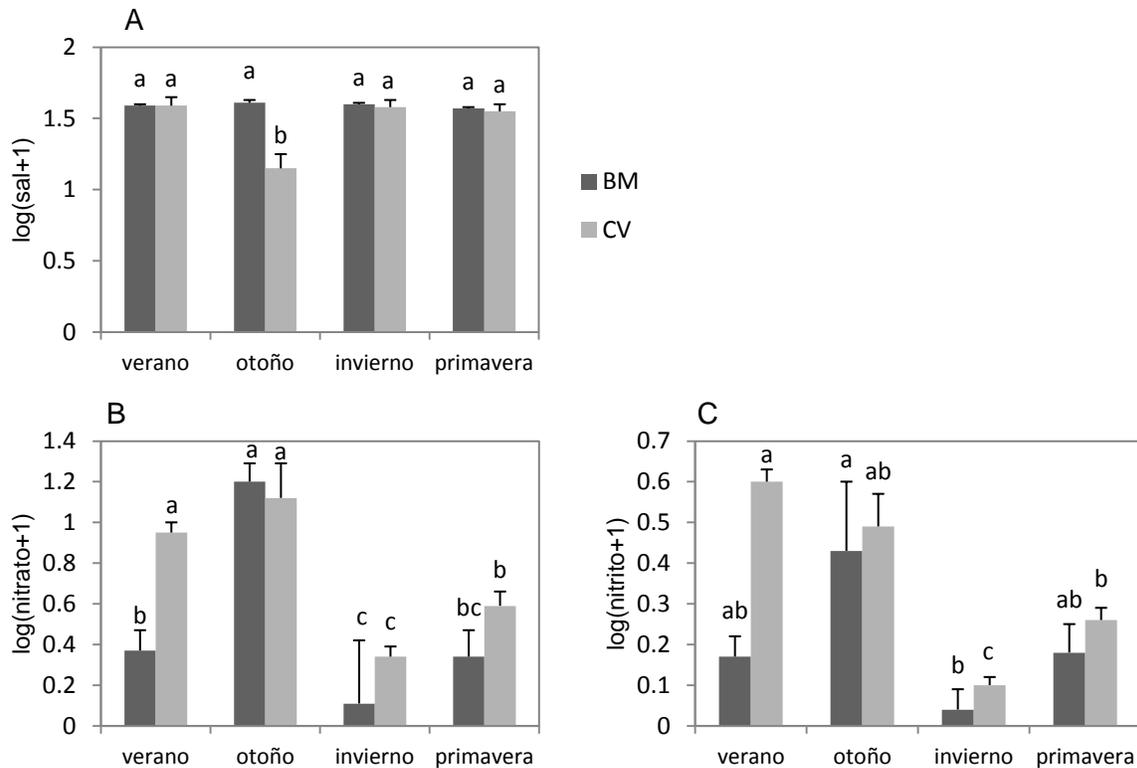


Figura 2.7. Valor medio transformado ($\log[x+1]$) de A) salinidad (*sal*), B) nitrito y C) nitrato en las cuatro estaciones climáticas y en los dos sitios de muestreo. Se detectó interacción entre los factores, es decir que el comportamiento de las variables en cada sitio no es el mismo en todas las estaciones de año. Por lo tanto, se compararon todos los promedios (sitios por estación), entre sí. Letras asignadas alfabéticamente de mayor a menor. Dos medias que compartan alguna letra no difieren al 5%.

El análisis de componentes principales mostró una ordenación de las variables similar en BM y CV (Figura 2.8A y B). En ambos sitios, los factores 1 y 2 (CP1 y CP2) representaron más del 60% de la varianza acumulada de los datos (BM=62,2% y CV=60,3%). Los nutrientes inorgánicos (excepto el amonio) mostraron una estrecha correlación entre sí y con la temperatura y el COP en ambos sitios. Asimismo, la turbidez y el pH se correlacionaron positivamente, mientras que el oxígeno disuelto y los feopigmentos, mostraron una correlación negativa con los nutrientes. Las variables que mostraron el comportamiento más contrastante entre sitios fueron el amonio y la clorofila $a < 20 \mu\text{m}$. En BM, el amonio se asoció positivamente con la salinidad y negativamente con la turbidez y el resto de los nutrientes inorgánicos, especialmente el silicato, mientras que en CV, se asoció positivamente con el fosfato y la temperatura. La variabilidad de la clorofila $a < 20 \mu\text{m}$, estuvo pobremente representada por los factores 1 y 2 en ambos sitios, aunque en CV se encontró una asociación significativa entre esta variable y el pH y la turbidez.

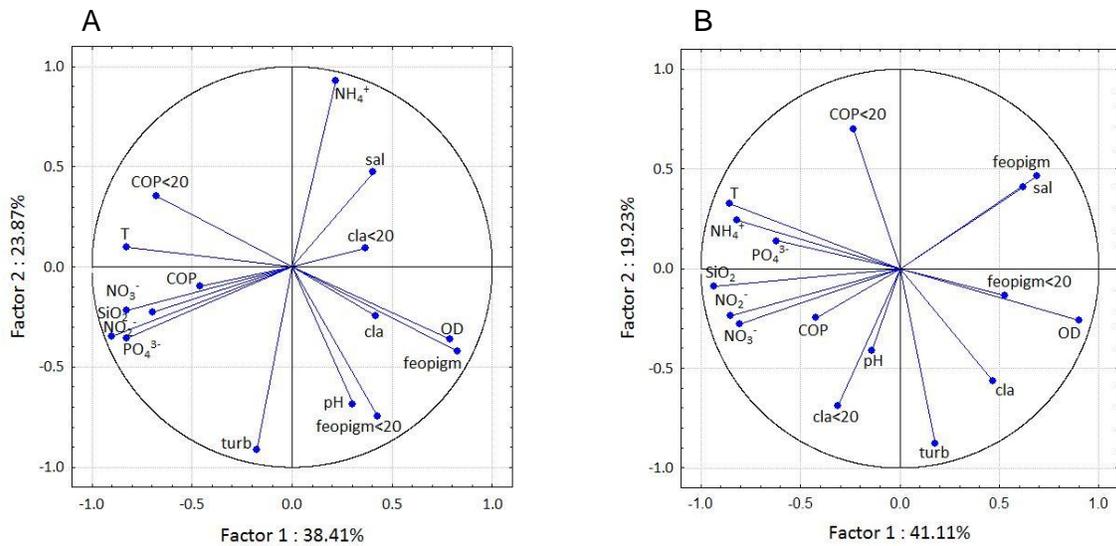


Figura 2.8. Análisis de componentes principales de la matriz de datos ambientales en los sitios BM (A) y CV (B) durante el período de estudio. Se muestran los dos primeros componentes (Factor 1 y 2) y el porcentaje de explicación de cada uno (valores porcentuales junto al eje). Variables utilizadas en el análisis: clorofila a total (cla), clorofila a menor a 20 μm (cla<20), feopigmentos totales (feopigm), feopigmentos menores a 20 μm (feopigm<20), temperatura (T), pH, oxígeno disuelto (OD), turbidez (turb), amonio (NH_4^+), nitrato (NO_3^-), nitrito (NO_2^-), fosfato (PO_4^{3-}) y silicato (SiO_2).

2.5.3. Estructura de la comunidad planctónica

La abundancia del fitoplancton y del microzooplancton durante las estaciones climáticas en los sitios de muestreo se muestra en las Tablas 2 y 3 del Anexo respectivamente. La mayor concentración de fitoplancton se registró en verano y otoño, mientras que en invierno se encontraron densidades intermedias. Asimismo, en primavera se registraron las menores concentraciones del período (ANOVA, test LSD $p < 0,05$, Figura 2.9A y B). La concentración del fitoplancton total fue significativamente mayor en CV (ANOVA, test LSD $p < 0,05$). Esta diferencia, se debió principalmente a la mayor concentración de nanofitoplancton registrada en CV (media=391,35 $\times 10^3$ cél l^{-1}) en comparación a la registrada en BM (media=255,66 $\times 10^3$ cél l^{-1} , ANOVA, test LSD $p < 0,05$). El nanofitoplancton dominó la abundancia del fitoplancton en CV (ANOVA test LSD $p < 0,05$) y representó un 51 y un 78% de la abundancia total en BM y CV respectivamente (Figuras 2.9C y B). Además, la relación entre el contenido de C del nanofitoplancton y la clorofila $a < 20 \mu\text{m}$ (C:Cla), fue significativamente mayor en CV ($t=2,18$, $gl=26$, $p=0,04$).

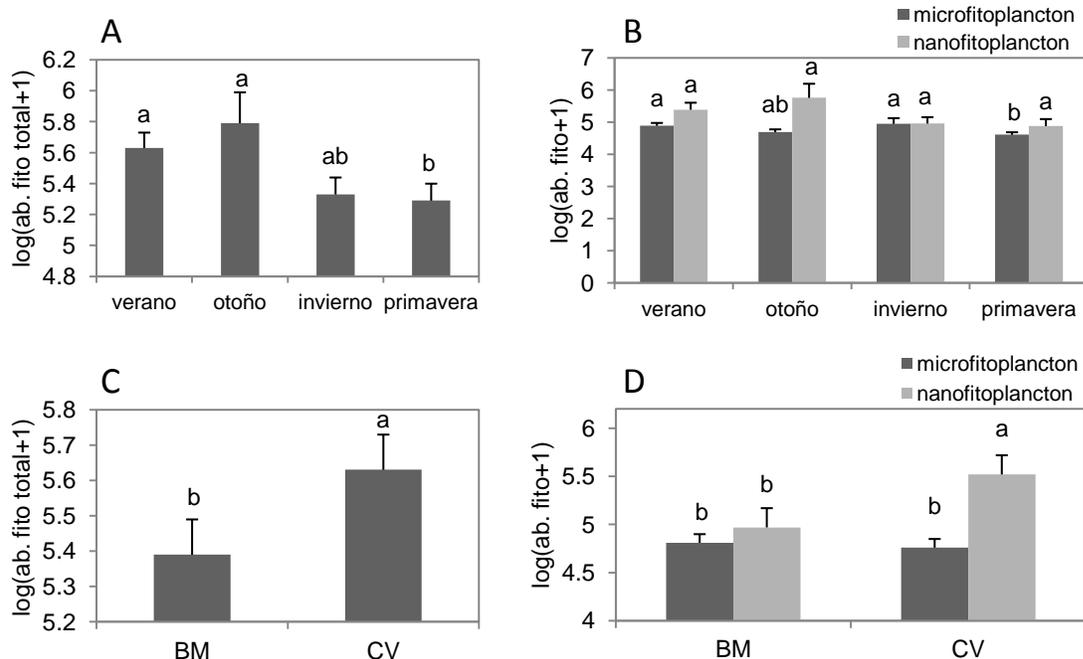


Figura 2.9. Dinámica del fitoplancton durante el período de estudio en los sitios BM y CV. A) Valor medio transformado ($\log[x+1]$) más un desvío estándar de la abundancia del fitoplancton total (ab. fito total) durante las cuatro estaciones climáticas del año. B) Valor medio transformado ($\log[x+1]$) más un desvío estándar de la abundancia del microfitoplancton y nanofitoplancton (ab. fito) durante las cuatro estaciones climáticas del año. C) Valor medio transformado ($\log[x+1]$) más un desvío estándar de la abundancia del fitoplancton total en los sitios de muestreo. D) Valor medio transformado ($\log[x+1]$) más un desvío estándar de la abundancia del microfitoplancton y nanofitoplancton en los sitios de muestreo. Las comparaciones se realizaron entre las categorías “microfitoplancton” y “nanofitoplancton” por separado. No se detectó interacción entre los factores, es decir que el comportamiento de las variables en cada sitio es el mismo en todas las estaciones de año. Por lo tanto, se compararon los promedios de cada factor (sitios y estación), por separado. Letras asignadas alfabéticamente de mayor a menor. Dos medias que compartan alguna letra no difieren al 5%.

El microzooplancton también mostró una clara estacionalidad con valores máximos en verano y mínimos en otoño, mientras que en invierno y primavera se registraron las menores densidades (ANOVA, test LSD $p < 0,05$, Figura 2.10A). A diferencia del fitoplancton, la abundancia del microzooplancton fue significativamente más alta en BM (media=6956 cél l^{-1}) en comparación a CV (media=4817 cél l^{-1} , ANOVA, test LSD $p < 0,05$, Figura 2.10B). Los tintínidos fueron el grupo dominante en ambos sitios y representaron el 87 y el 70% de la concentración del microzooplancton total en BM y CV respectivamente. Asimismo, la concentración de tintínidos fue significativamente más alta en BM (media=5930 cél l^{-1}) en comparación a CV (media=2744 cél l^{-1} , ANOVA, test LSD $p < 0,05$).

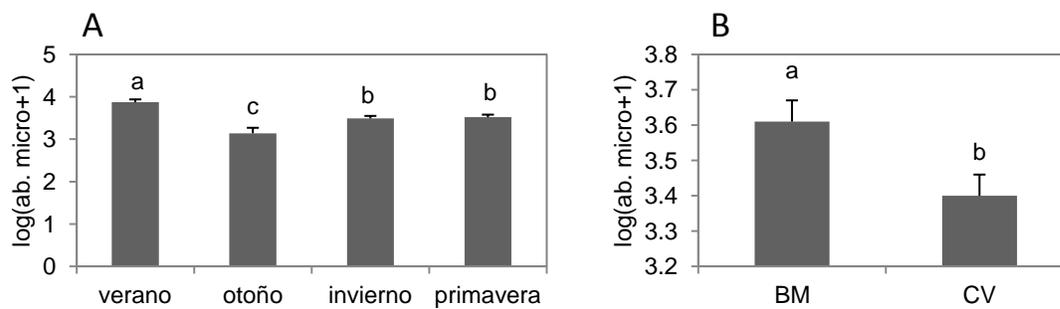


Figura 2.10. Dinámica del microzooplancton durante el período de estudio en los sitios BM y CV. A) Valor medio transformado ($\log[x+1]$) más un desvío estándar de la abundancia del microzooplancton durante las cuatro estaciones climáticas del año. B) Valor medio transformado ($\log[x+1]$) más un desvío estándar de la abundancia del microzooplancton en los sitios de muestreo. No se detectó interacción entre los factores, es decir que el comportamiento de cada sitio es el mismo en todas las estaciones de año. Por lo tanto, se compararon los promedios de cada factor (sitios y estación), por separado. Letras asignadas alfabéticamente de mayor a menor. Dos medias que compartan alguna letra no difieren al 5%.

La composición taxonómica de la comunidad planctónica se muestra en las Tablas 2 y 3 del Anexo. El plancton presentó asociaciones típicas en cada estación climática del año. La composición taxonómica del fitoplancton fue significativamente diferente entre estaciones climáticas (ANOSIM, R global=0,184, $p<0,001$). En invierno y primavera, la diatomea *Thalassiosira* sp. y los nanoflagelados menores a 5 μm (NF<5 μm), fueron los grupos dominantes y contribuyeron con los mayores porcentajes al promedio de similitud de los grupos. En verano, los principales representantes fueron los nanoflagelados mayores a 5 μm (NF>5 μm) y *Thalassiosira* sp., mientras que en el otoño el grupo dominante fue el de los NF<5 μm (SIMPER, Figura 2.11A). El microzooplancton, también presentó asociaciones significativamente diferentes en las estaciones del año (ANOSIM, R global=0,244, $p<0,001$). En invierno las especies que aportaron los mayores porcentajes al promedio de similitud fueron *Tintinnidium balechi* y *Strombidium capitatum*, mientras que en el resto de las estaciones climáticas, los principales contribuyentes fueron *Tintinnidium balechi* y *Lohmanniella oviformis* (SIMPER, Figura 2.11B).

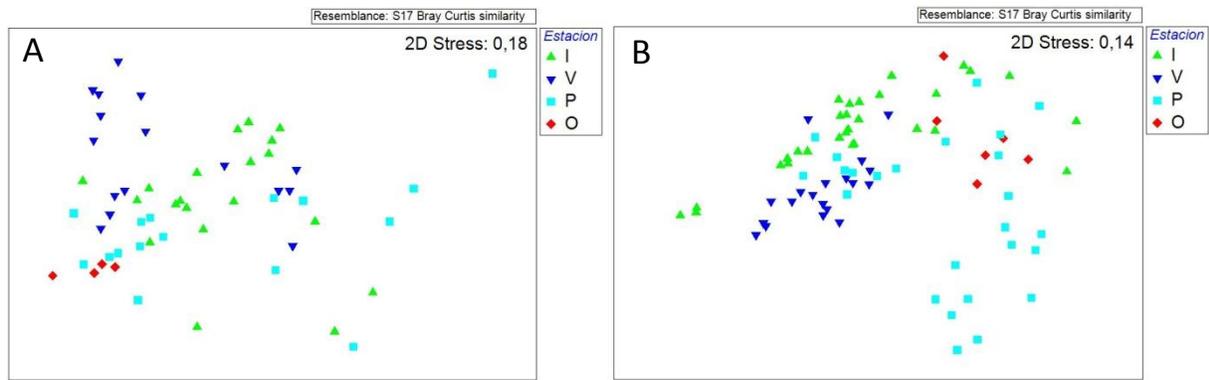


Figura 2.11. Análisis MDS de la composición del fitoplancton (A) y del microzooplancton (B) estableciendo como factor de discriminación las estaciones climáticas del año (I: invierno, V: verano, P: primavera, O: otoño). El análisis está basado en una matriz de similitud calculada mediante el índice de Bray Curtis. En la esquina superior derecha de cada panel se indica el grado de ajuste del método (stress).

La composición taxonómica del fitoplancton en los sitios BM y CV durante el período de estudio fue claramente contrastante (ANOSIM, R global=0,15, $p < 0,001$). El porcentaje de disimilitud entre sitios fue del 75,9%, y los grupos con mayor contribución al promedio de disimilitud fueron *Thalassiosira minima*, NF>5 μm y NF<5 μm . El fitoplancton en BM estuvo caracterizado por la presencia de las diatomeas *Thalassiosira minima* y *Paralia sulcata*, mientras que en CV, los NF>5 μm y NF<5 μm fueron dominantes (SIMPER, Figura 2.12A). Del mismo modo, la composición taxonómica del microzooplancton fue significativamente diferente entre los sitios (ANOSIM, R global=0,127, $p < 0,001$). *Tintinnidium balechi* aportó un 90% al promedio de similitud del grupo en BM, mientras que en CV, las especies con mayor contribución fueron *Tintinnidium balechi* y *Lohmanniella oviformis* (SIMPER, Figura 2.12B). El porcentaje de disimilitud entre BM y CV fue del 69,5%, y las principales especies que contribuyeron a la diferencia entre sitios fueron *Tintinnidium balechi*, *Tintinnopsis parva* y *Lohmanniella oviformis*. Asimismo, la relación media de todo el período entre la abundancia y la biomasa del microzooplancton fue significativamente más alta en CV ($t=3,15$, $gl=26$, $p=0,004$).

La diversidad (H') y equitatividad (J) del fitoplancton y del microzooplancton y la riqueza de especies del microzooplancton no mostraron diferencias significativas entre los sitios (Tablas 2 y 3 del Anexo). En cambio, la riqueza de especies del fitoplancton, fue significativamente superior en BM ($t=2,64$, $gl=26$, $p=0,014$).

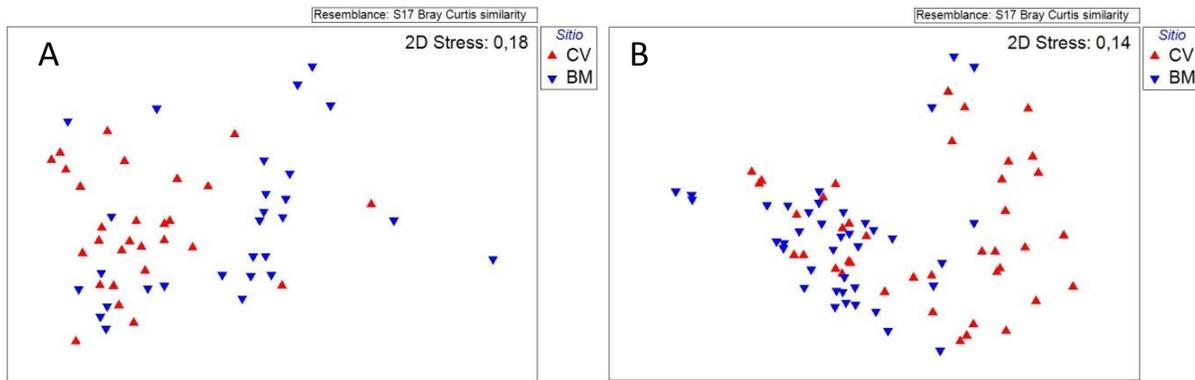


Figura 2.12. Análisis MDS de la composición del fitoplancton (A) y del microzooplancton (B) estableciendo como factor de discriminación los sitios de muestreo (BM y CV). El análisis está basado en una matriz de similitud calculada mediante el índice de Bray Curtis. En la esquina superior derecha de cada panel se indica el grado de ajuste del método (stress).

2.5.4. Relación entre la comunidad planctónica y las condiciones ambientales

La interacción entre las condiciones ambientales y la dinámica del microplancton fue marcadamente diferente en los sitios BM y CV. En BM, no se encontró una relación clara entre la tendencia general de la biomasa del plancton (CP1 del análisis de componentes principales de la biomasa de las distintas categorías del microplancton) y ninguna de las variables ambientales analizadas. La dinámica del microfitoplancton y nanofitoplancton estuvo acoplada durante el período estudiado (coeficiente de correlación de Spearman=0,68, $p < 0,05$). Aunque las fracciones planctónicas no mostraron ninguna asociación mutua, la tendencia general de la biomasa del plancton en CV estuvo significativamente acoplada a la temperatura ($R^2=0,71$, $gl=12$, $p < 0,001$, Figura 2.13). La tendencia general de la biomasa del plancton fue estimada como el CP1 del análisis de componentes principales de la biomasa de las distintas categorías del microplancton y extrajo el 55,9% y el 52,6% y el de la variabilidad de los datos en BM y CV respectivamente.

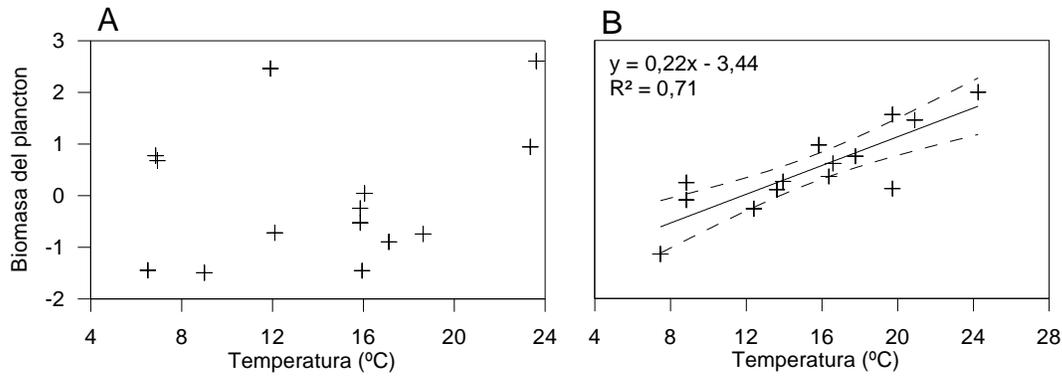


Figura 2.13. Relación entre la tendencia general de la biomasa del plancton (calculada como el CP1 del análisis de componentes principales de la biomasa de las distintas categorías del microplancton) y la temperatura en el sitio BM (A) y CV (B). Las líneas punteadas representan las bandas de confianza del 95%.

La proporción relativa entre el fitoplancton mayor y menor a 20 μm (estimado como el cociente entre la abundancia del nanofitoplancton y el microfitoplancton), respondió de diferente manera a la concentración de nutrientes en los sitios BM y CV. En BM, un aumento en la concentración de todos los nutrientes inorgánicos (a excepción del amonio), generó un aumento lineal en el cociente nanofitoplancton/microfitoplancton. Sin embargo, en CV luego de superado cierto valor umbral en la concentración de nutrientes, dejó de existir una relación clara entre las variables (Figura 2.14).

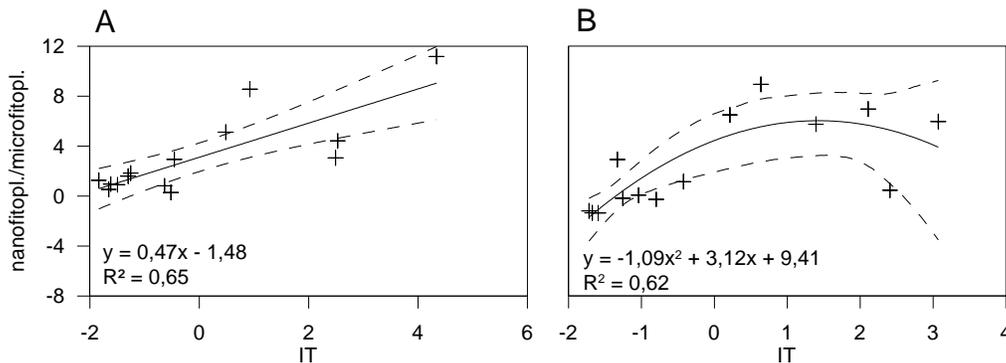


Figura 2.14. Relación entre la proporción relativa de las fracciones de tamaño del fitoplancton (nanofitopl./microfitopl.) y el índice trófico (IT). A) Relación lineal entre variables en el sitio BM. B) Relación polinomial entre variables en el sitio CV. Las líneas punteadas representan las bandas de confianza del 95%.

La biomasa planctónica también estuvo asociada a la concentración de nutrientes inorgánicos, especialmente los nitrogenados. Sin embargo, la concentración y el tipo de nutriente afectaron a la comunidad planctónica de distinta manera según el sitio. En BM, la tendencia general de la biomasa

del plancton no mostró relación con el índice trófico (Figura 2.15A), aunque sí mostró una asociación lineal con la concentración del amonio ($R^2=0,62$, $gl=12$, $p<0,001$, Figura 2.15C). En CV, la relación entre la tendencia general de la biomasa del plancton y el nivel trófico, fue de tipo cuadrática ($R^2=0,58$, $gl=10$, p del modelo cuadrático= $0,013$, p del incremento de $R^2=0,003$, Figura 2.15B) y la concentración de amonio, no mostró ninguna relación con la biomasa del plancton (Figura 2.15D).

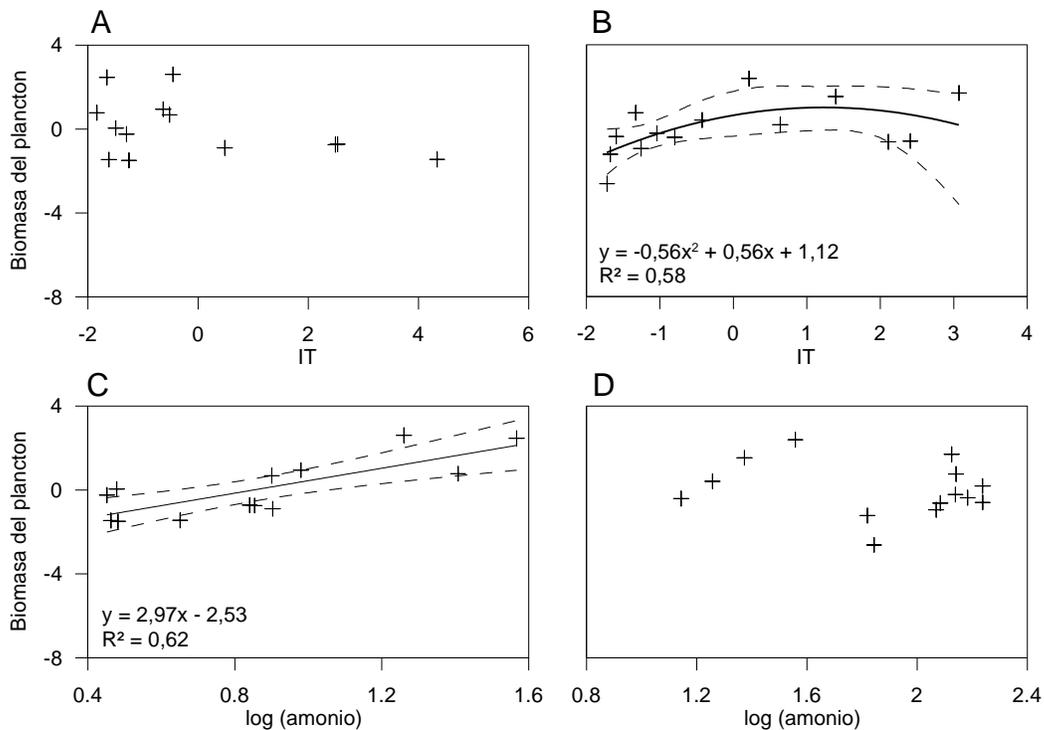


Figura 2.15. Relación entre la tendencia general de la biomasa del plancton (calculada como el CP1 del análisis de componentes principales de la biomasa de las distintas categorías del microplancton) y el índice trófico (IT) en el sitio BM (A) y CV (B) y la concentración transformada ($\log[x]$) del amonio en el sitio BM (C) y CV (D). Las líneas punteadas representan las bandas de confianza del 95%.

2.6. Discusión

2.6.1. Teleconexión entre la oscilación del Sur y el régimen interanual de lluvias en el área del Estuario de Bahía Blanca

El análisis de la serie temporal de la precipitación en el área del Estuario de Bahía Blanca, mostró que parte de la variabilidad interanual de las lluvias de la región es modulada por la oscilación del Sur o ENSO (de sus siglas en inglés: *El Niño-Southern Oscillation*). A su vez, los resultados mostraron que la respuesta de la precipitación a la señal del ENSO es de tipo no estacionaria, ya que las anomalías de precipitación significativas se asocian sólo con las señales más fuertes.

El periodo de estudio de esta tesis estuvo incluido en un período seco que comenzó en el año 2006 y se continuó hasta el 2010. Sin embargo, el evento de El Niño de 2009/2010 logró permearse en el régimen de lluvias locales provocando un pico significativo de precipitación y desencadenando una serie de cambios fisicoquímicos en la columna de agua del estuario. A pesar de que la mayor parte de la variabilidad a largo plazo de la precipitación en el área depende de factores locales (*e.g.* Penalba y Vargas 2004), varios estudios han señalado que una parte de esta variabilidad puede ser explicada por la señal del ENSO (*e.g.* Ropelewski y Halpert 1987, 1989, Grimm et al. 2000). Más aún, la dinámica interanual de los principales ríos que descargan al Océano Sudoccidental, se corresponde con la escala de tiempo del ciclo del ENSO (Mechoso e Iribarren 1992, Robertson y Mechoso 1998, Krepper et al. 2003, Isla 2008).

La revisión realizada por Grimm et al. (2000), detalla la relación interanual entre las anomalías de la precipitación y la señal del ENSO en la región sudeste de Argentina, incluyendo al Estuario de Bahía Blanca. Los autores resumieron la información de diez eventos de El Niño, y encontraron un patrón de asociación bianual consistente entre la señal del ENSO y la precipitación. Este patrón comienza a detectarse el año anterior al evento, como un aumento gradual de la señal del ENSO y anomalías negativas de precipitación. Estas anomalías negativas se continúan durante los primeros meses del año en el que se registra el evento y cambian a positivas en septiembre-diciembre de ese año, junto con las máximas señales del ENSO. Esta relación cambiante entre señales se hizo evidente durante el período en que se realizó el presente estudio. De hecho, el régimen de lluvias en 2009/2010 fue marcadamente diferente al de años anteriores, registrándose una covariación en fase entre la señal de El Niño (estimada a través del índice N3.4) y la precipitación.

La coherencia discontinua entre la señal de El Niño y la precipitación en el área de estudio, sugiere que la respuesta climatológica local sólo es detectable luego de superarse cierto valor umbral de la señal. Dado que esta respuesta climatológica local genera cambios fisicoquímicos en la columna de agua del estuario, y que la magnitud de la respuesta es no estacionaria, los cambios ambientales que ocurren como consecuencia resultan difíciles de predecir y por lo tanto representan un factor adicional que desafía la plasticidad adaptativa de las comunidades pelágicas del estuario.

2.6.2. Efectos indirectos del régimen local de lluvias en el ambiente pelágico del estuario

En estuarios y otras áreas costeras, el régimen de lluvias y el caudal de descarga de tributarios generan modificaciones en el ciclo de nutrientes, lo cual en última instancia afecta la productividad primaria del sistema (Kimmerer 2002 y referencias incluidas). Este fenómeno se hizo evidente a nivel pelágico en el Estuario de Bahía Blanca, ya que una de las principales consecuencias del pico de precipitación en 2009-2010, fue un pulso conspicuo y momentáneo de nutrientes inorgánicos.

La concentración de nutrientes en el Estuario de Bahía Blanca, sigue un patrón estacional típico que se repite la mayor parte del tiempo. Este patrón consiste en valores máximos en otoño y primavera luego de las lluvias estacionales, y mínimos en invierno y verano luego del bloom anual de fitoplancton (Freije et al. 2008, Popovich et al. 2008). Sin embargo, durante el período del presente estudio, este patrón se vio afectado por los cambios en la dinámica de las lluvias y fue marcadamente diferente del patrón típico. A su vez, el pulso de nutrientes generó cambios fisicoquímicos adicionales en la columna de agua como el aumento del pH y la concentración de oxígeno disuelto. Se sabe que el fitoplancton promueve la acumulación de oxígeno disuelto durante la fase exponencial de crecimiento poblacional en el Estuario de Bahía Blanca (Popovich et al. 2008). Por ello, es probable que el aumento en la concentración de oxígeno disuelto sea la consecuencia de la estimulación de la productividad primaria (ver capítulo 3) en respuesta al pulso de nutrientes. Asimismo, una mayor concentración de oxígeno produce un cambio en el equilibrio del sistema buffer del bicarbonato, ya que estimula la formación de ácido carbónico (H_2CO_3), lo cual podría explicar el aumento asociado del pH en la columna de agua.

La turbidez mostró un patrón similar al del pH. Aunque la información recolectada es insuficiente para explicar adecuadamente la relación entre el aumento de la turbidez y el pulso de nutrientes, surgen algunas hipótesis que podrían ayudar a entender este fenómeno. Se ha documentado que el

impacto de las gotas de lluvia puede generar un estrés en la matriz de sedimentos en el área intermareal, promoviendo una transferencia del material del fondo hacia la columna y por lo tanto aumentando la turbidez del agua (Torres et al. 2004). Este efecto, sería particularmente importante en ambientes donde la amplitud de marea y la morfología de la interface costera promovieran la interacción entre la zona intermareal y la columna de agua, como en el caso del Estuario de Bahía Blanca (Perillo y Piccolo 1999). Además, se esperaría que el pulso de nutrientes tenga un efecto paralelo al registrado en la columna de agua en el ambiente bentónico (*i.e.* aumento de la productividad primaria). Un aumento en la productividad primaria bentónica como consecuencia de cambios en la regulación *bottom-up*, tendría el potencial de estimular la actividad de los organismos macrobentónicos. A su vez, la actividad infaunal de estos organismos generaría la erosión de las marismas que habitan promoviendo el aumento de la turbidez de la columna de agua adyacente (Botto et al. 2005, 2006, Escapa et al. 2007).

Los resultados obtenidos reafirman la importancia del régimen de lluvias en el ciclo local de nutrientes del Estuario de Bahía Blanca (Spetter et al. 2013). Asimismo, demuestran que los eventos de lluvia extrema, generan cambios profundos en la concentración de nutrientes inorgánicos y desencadenan una cascada de efectos asociados en ambientes con diferentes condiciones locales dentro del estuario. La naturaleza impredecible de los eventos de precipitación extrema, como el registrado durante este estudio, afectan de manera diferencial la supervivencia de las especies, lo cual podría conducir a cambios estructurales en las comunidades pelágicas (Levinton et al. 2011).

2.6.3. Efectos de la calidad ambiental en la estructura de la comunidad planctónica

La dinámica temporal de la mayor parte de las variables fisicoquímicas analizadas en ambos sitios, se vio afectada por el régimen de lluvias. Sin embargo, se encontraron diferencias significativas entre las condiciones ambientales de los sitios BM y CV.

El sitio que recibe el efluente cloacal (CV), mostró diferencias significativas en la calidad fisicoquímica del agua. Una de las diferencias más importantes entre los sitios estudiados, fue la mayor concentración de todos los nutrientes inorgánicos y del C orgánico particulado (COP) en la zona afectada. La eutrofización de los ambientes marinos, es una de las principales causas del cambio en el balance de producción y metabolismo del plancton (Cloern 2001). La carga de nutrientes suele estimular el crecimiento de los organismos autótrofos, generando distintos tipos de respuesta en la

comunidad zooplanctónica. En el Estuario de Bahía Blanca, el aporte de nutrientes desde el efluente cloacal, estimuló el crecimiento del nanofitoplancton, sin embargo, el microfitoplancton mostró una respuesta nula o negativa en el sitio CV. De hecho, la biomasa media del microfitoplancton fue levemente mayor en BM. Asimismo, la relación entre el contenido de C y clorofila *a* (C:Cl_a) del nanofitoplancton, fue significativamente mayor en CV. Si bien la relación C:Cl_a tiende a aumentar en ambientes con saturación de nutrientes nitrogenados (*e.g.* Berges et al. 1996), la alta concentración de amonio, así como el desbalance del sistema buffer de pH en ambientes afectados por efluentes cloacales, puede generar una inhibición del sistema fotosintético del fitoplancton (Azov y Goldman 1982). De hecho, una concentración de amonio superior a los 100 μM, puede generar un rápido descenso en la concentración de clorofila del fitoplancton (Abeliovich y Azov 1976). El amonio, fue uno de los principales nutrientes aportados por el efluente cloacal, y alcanzó una concentración de hasta 170 μM en el sitio CV. Asimismo, el nanofitoplancton mostró una relación negativa con el pH en CV, el cual mostró una gran variabilidad temporal (aunque la diferencia del valor medio entre sitios no fue significativa). Por ello, la concentración excesiva de amonio en CV y el desbalance del sistema buffer de pH, podrían ser los principales factores que dieron lugar a la mayor relación C:Cl_a del fitoplancton en el sitio afectado.

Podría esperarse que la mayor concentración de fitoplancton en CV estimulara el desarrollo de los microheterótrofos. Más aun, podría suponerse que la calidad nutritiva del alimento en CV fuera óptima, ya que cuando los nutrientes inorgánicos se encuentran en exceso, el crecimiento del fitoplancton no se ve limitado, lo cual se traduce en una adecuada estequiometría intracelular (Goldman et al. 1979). Sin embargo, el microzooplancton mostró una respuesta negativa frente a las condiciones ambientales del sitio CV, ya que su abundancia media fue significativamente más baja. Resultados similares fueron obtenidos anteriormente en el Estuario de Bahía Blanca por Barría de Cao et al. (2003). Estos autores registraron menores concentraciones de tintinidos y ciliados aloricados en el sitio afectado en comparación a un sitio no afectado durante la mayor parte del ciclo anual 1995-1996. Es probable que la concentración excesiva de amonio en este sitio, haya perjudicado el desarrollo de los organismos del microzooplancton, ya que este compuesto puede tener efectos tóxicos sobre ciliados cuando se encuentra en concentraciones elevadas (Xu et al. 2004, Klimek et al. 2012). La menor concentración de oxígeno disuelto registrada en CV, también podría estar asociada a la menor concentración del microzooplancton en este sitio. De hecho, otros estudios han revelado una disminución en la concentración del microzooplancton con el descenso del porcentaje de

saturación de oxígeno en ambientes eutróficos (*e.g.* Godhantaraman y Uye 2003, Kalinowska et al. 2013).

Además de influir sobre la abundancia numérica del plancton, la descarga cloacal también generó profundas modificaciones en la estructura de la comunidad planctónica. Los resultados mostraron un contraste significativo en la composición taxonómica de ambos sitios, beneficiando particularmente a las especies de menor tamaño en el sitio CV. Según estudios realizados en la zona, el efecto del efluente cloacal también puede llegar a modificar la estructura de la comunidad mesozooplanctónica (Biancalana et al. 2012, Dutto et al. 2012).

El nanofitoplancton se vio particularmente beneficiado en el sitio CV. Las características morfológicas de esta fracción del plancton, hacen que sea altamente eficiente en la incorporación de nutrientes, aunque sus requerimientos de nitrógeno por unidad de masa suelen ser mayores (Marañón et al. 2012). Esta característica les confiere una ventaja adaptativa frente al fitoplancton de mayor tamaño en ambientes espacial y temporalmente homogéneos como el Estuario de Bahía Blanca (Perillo et al. 2001, Guinder et al. 2009). De hecho, esta fracción dominó ampliamente la abundancia del fitoplancton en ambos sitios. La menor concentración de microheterótrofos en CV, sería una de los principales factores que benefició al nanofitoplancton en CV, ya que esta fracción es más susceptible al pastoreo que el fitoplancton de mayor tamaño (Pettigrosso y Popovich 2009).

Del mismo modo, la relación entre la abundancia y la biomasa del microzooplancton indica que en CV existe una mayor proporción de organismos de menor tamaño en comparación a la comunidad en BM. La prevalencia de organismos microzooplanctónicos de menor tamaño, también ha sido registrada en el área interna de la Bahía Ushuaia, la cual se encuentra fuertemente afectada por la carga de nutrientes y materia orgánica (Gil et al. 2010, Barría de Cao et al. 2013). A pesar que la disminución del tamaño corporal en respuesta al gradiente trófico ha sido documentada en otros estuarios del mundo (Park y Marshall 2000), las causas subyacentes a la respuesta del tamaño corporal del microzooplancton frente al grado de eutrofización, no ha sido claramente establecida hasta el momento.

2.6.4. Respuesta del plancton a la interacción de factores ambientales de distinta escala

El régimen local de lluvias, representó uno de los factores climáticos más importantes en la estructuración de la comunidad microplanctónica durante este estudio. Sin embargo, el contraste trófico basal entre los sitios, generó distintas respuestas de la comunidad planctónica.

Algunas comunidades marinas disturbadas muestran un mayor acoplamiento con la variabilidad ambiental y una menor capacidad de los mecanismos intrínsecos de regular la dinámica poblacional (Hidalgo et al. 2011). Las condiciones ambientales registradas en CV, parecen haber modificado la configuración típica del microzooplancton, por lo que cabe esperar una menor resistencia cohesiva de la comunidad (como resultado de un debilitamiento de las interacciones interespecíficas) y un mayor acoplamiento con la variabilidad extrínseca (*i.e.* variabilidad ambiental). De hecho, la tendencia general de la biomasa del plancton mostró un respuesta lineal al aumento de la temperatura en CV, mientras que en BM no se observó ninguna relación clara entre el plancton y las variables ambientales (temperatura, salinidad, oxígeno disuelto, pH y turbidez).

En BM, el pulso de los nutrientes registrado luego del pico de lluvias tuvo un efecto lineal en la relación entre las fracciones menor y mayor a 20 μm del fitoplancton; las diatomeas de pequeño tamaño y los flagelados que conforman la fracción menor a 20 μm se vieron beneficiadas, mientras que las diatomeas de mayor tamaño que dominan la fracción mayor a 20 μm , mostraron un efecto negativo o nulo frente al aumento de la concentración de nutrientes. A pesar de que el Estuario de Bahía Blanca es un ambiente altamente eutrófico, los pulsos de nutrientes acoplados a los eventos de lluvias extremas pueden resultar clave en la regulación *bottom-up* estacional del fitoplancton (Yang et al. 2008). En cambio, en el sitio CV, la carga basal de nutrientes fue mucho mayor a la registrada en BM, y el aumento de la concentración de nutrientes luego del pulso, no generó una respuesta proporcional en la concentración nanofitoplanctónica. En cambio, los resultados obtenidos sugieren que el crecimiento del nanofitoplancton es estimulado por el aumento en la concentración de nutrientes, sin embargo, luego de superarse cierto valor umbral, el efecto de la concentración de nutrientes comienza a ser desventajoso.

Las comunidades biológicas de ambientes perturbados como el sitio CV, suelen tener menor capacidad reactiva frente a cambios ambientales por una falta de resistencia entre las conexiones interespecíficas (Snyder 2010). De la linealidad de la respuesta del fitoplancton a la carga de nutrientes en BM, se deduce que la reactividad de la comunidad planctónica frente a cambios

ambientales es mayor que en CV, donde la reactividad de la comunidad se detuvo luego de alcanzarse un umbral. Una respuesta comparable, se observó con la tendencia general de la biomasa del plancton en CV (incluyendo las dos fracciones de tamaño del fitoplancton y el microzooplancton), mientras que en BM, no se observó una respuesta en la biomasa del plancton a la concentración de nutrientes. Por el contrario, la tendencia general de la biomasa del plancton estuvo asociada linealmente a la concentración del amonio. Esto resulta interesante porque sugiere que a diferencia del resto de los nutrientes, el amonio no responde al régimen de lluvias sino que está acoplado a la producción del plancton. Este acoplamiento sería el resultado de la excreción de amonio por parte del zooplancton, y podría representar un factor clave en la productividad del fitoplancton, principalmente cuando la concentración del resto de los nutrientes nitrogenados comienza a hacerse limitante (*i.e.* período post-bloom). Esta idea se ve reforzada por la falta de correlación entre la concentración de amonio y el resto de los nutrientes inorgánicos durante el período de este estudio en BM. Asimismo, Pettigrosso y Popovich (2009), encontraron que la excreción de nitrógeno por parte de los ciliados es particularmente importante en los meses de verano y primavera. Por el contrario, en CV, no se encontró relación entre la biomasa del plancton y la concentración de amonio. En este sitio, el efluente cloacal aporta grandes cantidades de amonio (IADO 2004), por lo que cabría esperar que la concentración de este nutriente esté modulada por la dinámica de descarga del mismo y no por la excreción por parte del zooplancton. Esto sugiere que en BM, la mayor parte del nitrógeno que sostiene a la productividad primaria es aportado por mecanismos intrínsecos de regeneración, mientras que en CV, la mayor parte del nitrógeno proviene de fuentes alóctonas.

Capítulo 3.

Productividad primaria y consumo del microzooplancton

3.1. Introducción

El microzooplancton cumple un rol clave en la trama trófica microbiana ya que conecta a los productores primarios con los niveles tróficos superiores (Sherr y Sherr 2002, Calbet y Saiz 2005). La herbivoría del microzooplancton ha sido extensamente estudiada por medio de la técnica de la dilución (Landry y Hassett 1982). La mayoría de estos estudios concluyen que el microzooplancton es uno de los principales consumidores del fitoplancton en una amplia variedad de ambientes (Calbet y Landry 2004). Asimismo, varios estudios han demostrado que el microzooplancton representa un componente clave en las redes tróficas estuariales (*e.g.* Gallegos 1989, McMannus y Ederington-Cantrell 1992, Dagg 1995, Ruiz et al. 1998, Murrell et al. 2002, Juhl y Murrell 2005, Leising et al. 2005). Una de las ventajas de la técnica de la dilución, es que permite el cálculo simultáneo de las tasas de crecimiento del fitoplancton (k) y de consumo del microzooplancton (g). Esta característica, resulta muy valiosa ya que permite evaluar el grado de acoplamiento entre el microzooplancton y los productores primarios a través de la relación $g:k$ (Calbet y Landry 2004). La relación $g:k$ depende en gran medida del rango de tamaño del fitoplancton (Chen y Liu 2010) y de la temperatura (Rose y Caron 2007). Además, el grado de acoplamiento determina la importancia relativa de la red trófica microbiana en un sistema, y por lo tanto, puede ayudar a comprender los mecanismos de transferencia de la biomasa primaria hacia los niveles tróficos superiores (Sherr y Sherr 1994, Landry et al. 1995, 1998).

La recopilación realizada recientemente por Schmoker et al. (2013), señala que el acoplamiento entre la tasa de crecimiento del fitoplancton y la tasa de consumo del microzooplancton, depende de la capacidad del sistema de alcanzar el estado de equilibrio. En ambientes perturbados donde la comunidad planctónica está sujeta a una alta imprevisibilidad ambiental, se espera que el

acoplamiento sea menor (Schmoker et al. 2013). Aunque la alta tasa de crecimiento del microzooplancton le permite responder rápidamente a los cambios en la disponibilidad de alimento, la ocurrencia de eventos discretos de productividad disminuye el acoplamiento y por ende, la eficiencia con la que el microzooplancton controla la biomasa primaria (Strom 2002).

Por otra parte, la eutrofización de ambientes costeros suele generar un aumento en la magnitud y frecuencia de los blooms fitoplanctónicos (Cloern 2001). En este escenario, el rol compensatorio de los consumidores determinará el grado de acumulación de biomasa fitoplanctónica. Al mismo tiempo, la tasa de consumo del microzooplancton puede ser modificada por el grado de eutrofización (Stoecker et al. 2008, Chen et al. 2009). Por ello, el consumo del microzooplancton en sistemas eutróficos puede afectar directamente la respuesta del fitoplancton a los cambios en la carga de nutrientes (Juhl y Murrell 2005).

3.2. **Objetivos**

- ✓ Conocer la composición específica y contribución relativa de los ítems tróficos en ambos sitios de muestreo.
- ✓ Comparar e identificar los principales grupos de consumidores en ambos sitios de muestreo.
- ✓ Estimar el crecimiento y la productividad del fitoplancton.
- ✓ Calcular la tasa de herbivoría del microzooplancton y comparar el comportamiento trófico de los sitios evaluados.

3.3. **Hipótesis**

- ✓ La mayor disponibilidad de recursos en CV es contrarrestada por una menor calidad ambiental, por lo que la productividad del fitoplancton en este sitio será comparable a la de BM.
- ✓ La menor calidad ambiental en CV, generará una menor capacidad de respuesta del microzooplancton y un menor acoplamiento con el fitoplancton, por lo que gran parte de la biomasa primaria producida en este sitio escapará el consumo en el ambiente pelágico.

3.4. Materiales y Métodos

3.4.1. La técnica de la dilución

La técnica de la dilución (Landry y Hassett 1982) es el método más utilizado para estimar la herbivoría del microzooplancton (Burkill et al. 1993, Landry 1993). Dicha técnica se basa en la reducción de la tasa de encuentro entre el fitoplancton y sus depredadores, el microzooplancton, por medio de la dilución del agua de mar natural con agua de mar libre de partículas. Para ello, se prepara una serie de diluciones (D) con distinta proporción de agua de mar no filtrada, la cual es llevada a incubar durante un período de tiempo. La tasa de cambio de la concentración del fitoplancton durante el período de incubación en la serie de diluciones, es la tasa aparente de crecimiento (k_0). La tasa aparente de crecimiento del fitoplancton (k_0) muestra una relación lineal con la fracción de dilución, y puede calcularse según la siguiente ecuación:

$$k_0 = \frac{1}{t} \ln \frac{P_t}{P_0} = k - gD \quad (1)$$

donde P_0 y P_t son las densidades del fitoplancton al inicio y finalización del experimento respectivamente (estimadas generalmente por medio de la concentración de clorofila *a*), g (d^{-1}) es la tasa de disminución de la concentración algal debido al consumo del microzooplancton (pendiente de la recta), k (d^{-1}) es la tasa de crecimiento del fitoplancton en ausencia de depredadores (intersección de la recta con el eje *y*) y t es el tiempo de incubación.

Una vez obtenido el coeficiente de mortalidad del fitoplancton debido al consumo (g), se pueden calcular las tasas de filtración (μl depredador $^{-1}$ h $^{-1}$) e ingestión (presas depredador $^{-1}$ h $^{-1}$) del microzooplancton mediante las siguientes ecuaciones (Frost 1972, Conover y Huntley 1980):

$$F = \frac{g}{Z} \quad (2)$$

$$I = FP \quad (3)$$

donde Z y P son la concentración media de consumidores y presas durante el experimento respectivamente. Si se asume que la tasa de mortalidad del microzooplancton durante el período de incubación es cero, Z puede estimarse como la concentración inicial de consumidores. La concentración media de presas se calcula como:

$$P = \frac{P_{(t,D1)} - P_{(0,D1)}}{2} \quad (4)$$

donde $P_{(0,D1)}$ y $P_{(t,D1)}$ es la concentración de presas en el tratamiento no diluido (D1) al inicio y finalización del experimento respectivamente. La tasa de ingestión específica de C (IEC, $\mu\text{g C}$ presas $\mu\text{g C depredador}^{-1} \text{h}^{-1}$) se puede obtener mediante la siguiente ecuación:

$$IEC = \frac{I}{\text{Biomasa de consumidores}} \quad (5)$$

La técnica de la dilución posee ciertas restricciones ya que se basa en el cumplimiento de los siguientes supuestos: 1) la tasa de crecimiento específica del fitoplancton no es denso-dependiente, es decir, que el crecimiento del fitoplancton no es una función del factor de dilución, 2) la concentración de nutrientes y la disponibilidad de luz es igual en toda la serie de diluciones y no limitan el crecimiento del fitoplancton, 3) el consumo del fitoplancton es una función lineal de la abundancia de las presas, 4) la densidad de consumidores permanece constante durante el período de incubación y 5) el crecimiento del fitoplancton puede ser representado adecuadamente por la siguiente ecuación exponencial:

$$P_t = P_0 e^{(k-g)t} \quad (6)$$

Para satisfacer los supuestos 1) y 2), muchos investigadores optan por agregar nutrientes en las botellas de incubación de manera que se encuentren en exceso y no lleguen a limitar el crecimiento del fitoplancton en los tratamientos poco diluidos. Esta práctica suele aplicarse especialmente en experimentos realizados en ambientes oligotróficos con bajas concentraciones de clorofila (Dolan et al. 2000). Sin embargo, la adición de nutrientes por sobre el nivel natural genera una estimulación de la tasa de crecimiento del fitoplancton, por lo cual, el valor obtenido experimentalmente podría no representar el valor real de k en la naturaleza (Landry 1993). Asimismo, es difícil establecer la concentración de nutrientes adecuada de manera de no limitar el crecimiento del fitoplancton ni llegar a inhibir la actividad de ciertos protistas (Calbet y Saiz 2013). Uno de los puntos más discutidos de esta técnica, es la dificultad de satisfacer el supuesto 3), dado que en condiciones naturales, la tasa de ingestión del microzooplancton puede exhibir una cinética de consumo no lineal (Gallegos 1989, Evans y Paranjape 1992, Moigis 2006). Algunos autores han

encontrado que cuando la concentración de presas es lo suficientemente baja, la tasa de filtración de los consumidores es cercana a cero (Frost 1975, Rublee y Gallegos 1989, Dolan et al. 2000, Dolan y McKeon 2005). Por otro lado, cuando la concentración de presas supera cierto valor crítico, el consumo del microzooplancton se satura y la tasa de ingestión alcanza un valor máximo y constante. Como resultado, la relación entre k_0 y D muestra una tendencia no lineal y el cálculo de k y g no puede ser resuelto de la forma propuesta inicialmente por Landry y Hassett (1982). Para resolver esta limitación, Gallegos (1989) propuso una modificación de la técnica original; en los tratamientos más diluidos, la concentración de presas puede llegar a ser lo suficientemente baja, de modo que la relación entre k_0 y D se comporta de forma lineal. Extrapolando esta sección de la recta al eje y , se puede hallar k según la siguiente ecuación:

$$k = \frac{D_{(2)}k_{0(1)} - D_{(1)}k_{0(2)}}{D_{(2)} - D_{(1)}} \quad (7)$$

donde los subíndices (1) y (2) indican el primer y segundo tratamiento más diluido respectivamente. Esta metodología se conoce como el método de los 3 puntos, ya que el cálculo de k se basa en la extrapolación al eje y de la recta delimitada entre los dos tratamientos más diluidos. El valor de g se obtiene aplicando la ecuación (1) en esta sección lineal de la recta (Gallegos 1989).

La ecuación (1), establece que el valor de g permanece constante en toda la serie de diluciones, sin embargo, este supuesto no se cumple cuando el consumo del microzooplancton está saturado, es decir, cuando la concentración de presas es lo suficientemente alta como para generar una disminución en la tasa de filtración del microzooplancton. En este caso, k deja de depender de D y por ende el modelo lineal resulta inadecuado. Para establecer la curva que mejor se ajuste a los datos, Moigis (2006) propuso subdividir el intervalo de diluciones en secciones de igual g . Asumiendo que no hay mortalidad de consumidores durante la incubación, la ecuación de crecimiento del fitoplancton en la sección lineal de la curva (tratamientos diluidos), cuando F es máxima, puede ser resuelta según:

$$P_{(t,D)} = P_{(0,D)} e^{[k - F Z_{(D)}]t} \quad (8)$$

donde $P_{(t,D)}$ es la concentración de fitoplancton a la finalización del experimento en la dilución D , $P_{(0,D)}$ es la concentración de fitoplancton al inicio del experimento en la dilución D ($\mu\text{g } \mu\text{l}^{-1}$), F es la

tasa de filtración del microzooplancton ($\mu\text{l depredador}^{-1} \text{ h}^{-1}$) y $Z_{(D)}$, es la concentración del microzooplancton en la dilución D (depredador μl^{-1}).

La ecuación de crecimiento del fitoplancton en la sección de la curva donde F comienza a descender y k_0 es independiente de D (tratamientos no diluidos), se resuelve según la siguiente ecuación:

$$P_{(t,D)} = P_{(0,D)}e^{kt} + \frac{I Z_{(D)}}{k}(1 - e^{kt}) \quad (9)$$

Una vez que se establecieron los valores esperados según los modelos lineal y no lineal, se puede calcular el índice de error de cada uno con la finalidad de seleccionar el modelo con mejor ajuste. Para ello, Moigis (2006) propuso la siguiente ecuación:

$$\sigma^2_{y'} = \sum \frac{(Y-Y')^2}{N} \quad (10)$$

donde $\sigma^2_{y'}$ es la varianza de k_0 en el modelo no lineal, Y es el valor estimado de k_0 , Y' es el valor esperado de k_0 según el modelo no lineal obtenido con las ecuaciones 8 y 9 y N es el tamaño de la muestra. El valor de $\sigma^2_{y'}$ es comparado con la varianza de Y en el modelo lineal. El índice más bajo indica un mejor ajuste y por lo tanto puede ser utilizado como criterio de selección entre modelos. Una manera adicional y definitiva de testear ambos modelos, es la comparación del coeficiente de correlación estimado mediante la siguiente ecuación:

$$r^2_{xy} = \frac{\sigma^2_y - \sigma^2_{y'}}{\sigma^2_{y'}} \quad (11)$$

donde r^2_{xy} es el coeficiente de correlación entre x (D) e y (k_0) y σ^2_y es la varianza de todos los valores estimados de k_0 , la cual se calcula como:

$$\sigma^2_y = [DS(Y)^2] \quad (12)$$

donde DS(Y) es el desvío estándar de Y.

Los modelos lineales pueden llegar a resultar significativos en casos en que los datos claramente se alejan de la linealidad. Por ende, la metodología propuesta por Moigis (2006), permite

identificar el modelo que mejor se ajusta a los valores obtenidos aún cuando el modelo lineal no sea rechazado. Asimismo, el punto de la curva donde k_0 se vuelve independiente de la concentración de microzooplancton, representa el punto de saturación del consumo (D_s). En este punto, es posible estimar la concentración de fitoplancton a la cual el consumo se vuelve saturado (P_s), según la siguiente ecuación (Redden et al. 2002):

$$P_s = \frac{k[P_t - P_0] e^{(kt)}}{gD_s[1 - e^{(kt)}]} \quad (13)$$

El supuesto 4) es otro punto discutido de la técnica, ya que es posible que ocurra mortalidad de consumidores en los tratamientos más diluidos (principalmente de ciliados desnudos) o crecimiento en los no diluidos. De hecho, se ha encontrado que tanto en ambientes oligotróficos como eutróficos, los ciliados muestran altas tasas de mortalidad en los tratamientos más diluidos (Dolan et al. 2000, Dolan y McKeon 2005). Por ello, se recomienda estimar la tasa de mortalidad y crecimiento de consumidores durante el período de incubación para obtener los resultados más realistas posibles.

3.4.2. Diseño experimental

Los experimentos de alimentación se llevaron a cabo en los sitios BM y CV (Fig. 1.1) en 14 campañas realizadas entre 2008 y 2010 (Tabla 1 del Anexo). En octubre de 2010, los resultados de los experimentos realizados en BM no pudieron ser obtenidos por problemas en el análisis de la clorofila a . En cada campaña, se extrajeron ~20 l de agua del estrato superficial de cada sitio, la cual se pasó por una malla de 135 μm de poro mediante filtración reversa, realizando un sifoneo suave para separar los consumidores de mayor tamaño. Previamente, se obtuvo un stock equivalente de agua libre de partículas de cada sitio mediante filtrado con vacío suave a través de filtros GF/F de 0,7 μm . Estas dos soluciones fueron utilizadas para preparar las siguientes diluciones: 25%, 50%, 75% y 100% (donde 100% representa agua de mar sin filtrar). En la primera campaña (jul-08), se estableció un tratamiento adicional altamente diluido (0,05%) para establecer la posible ocurrencia de consumo saturado (Gallegos 1989). Una vez preparadas las diluciones, se procedió rápidamente a colocar de 3 a 5 réplicas de cada dilución en botellas transparentes de 1 l, las cuales fueron llenadas hasta el tope con cuidado de no dejar burbujas y selladas con parafilm. Cada recipiente fue previamente enjuagado con HCl al 1%. Las botellas se llevaron a incubar *in situ*

para mantener las condiciones de temperatura y fotoperíodo. Las mismas se colocaron en una bolsa de red que se mantuvo a flote mediante una boya y se fijó en el lugar de muestreo mediante un ancla. La incubación se realizó durante un período que osciló entre 18 y 24 horas. Una serie idéntica de botellas fue llevada al laboratorio para establecer las condiciones iniciales de clorofila a en cada tratamiento y para separar muestras para el recuento de fitoplancton y microzooplancton. La concentración de clorofila a inicial en el tratamiento no diluido, fue utilizada para calcular la concentración de clorofila a en el resto de la serie de diluciones mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Clorofila } a_{(0,D1)} = \text{Clorofila } a_{(0,Dn)} D_n \quad (14)$$

La concentración final de clorofila a fue estimada en todas las botellas. Dado que el objetivo principal de este estudio fue estimar el impacto del consumo del microzooplancton, se optó por no agregar nutrientes a las botellas experimentales para establecer de manera más precisa la tasa de crecimiento del fitoplancton en condiciones naturales. Además, la concentración de nutrientes en el Estuario de Bahía Blanca suelen encontrarse en exceso la mayor parte del año (Popovich et al. 2008, Guinder et al. 2013, Spetter et al. 2013), por lo que cabría esperar que durante los experimentos, no ocurriría limitación del crecimiento fitoplanctónico.

3.4.3. Análisis de datos y cálculo de las tasas de crecimiento y alimentación

Una vez obtenidos los niveles de clorofila a al inicio y finalización del experimento, se calculó la tasa de crecimiento del fitoplancton (k) y de consumo del microzooplancton (g) de acuerdo a la ecuación 1. En los casos en que la regresión fue no significativa o la pendiente (g) fue positiva, la tasa de consumo se consideró igual a cero. Cuando se detectó un tipo de relación no lineal, se aplicó el método de los 3 puntos (Gallegos 1989) para el cálculo de k y g . En estos casos, k se calculó mediante la ecuación 7 y g , mediante la ecuación 1, considerando sólo la sección lineal de la curva. Asimismo, se calcularon los valores esperados del modelo no lineal mediante las ecuaciones 8 y 9, y se comparó el ajuste entre los modelos lineal y no lineal utilizando los índices de las ecuaciones 10 y 11 (Moigis 2006). En caso de seleccionarse el modelo no lineal, se calculó la concentración de fitoplancton a la cual el consumo del microzooplancton se satura (Ecuación 13,

Redden et al. 2002). En los casos en que las curvas de pendiente negativa mostraron un punto de inflexión, se asumió que el consumo del microzooplancton ocurrió luego de superarse cierto valor crítico en la concentración del alimento (umbral de consumo, Frost 1975). En estos casos, k y g fueron obtenidos utilizando sólo la sección lineal de la curva. El valor de correlación de la sección lineal de la recta y de la recta incluyendo todos los datos fue utilizado como criterio de selección entre modelos (Gifford 1988).

Para calcular las tasas de filtración e ingestión (Ecuaciones 2 y 3), y teniendo en cuenta los resultados de los experimentos descritos en el capítulo 4 (Tabla 4.4), se asumió que la tasa de mortalidad del microzooplancton durante los experimentos fue igual a cero y se utilizó la concentración inicial del microzooplancton como la concentración media durante la incubación.

La estimación de la productividad primaria (PP , $\mu\text{g C l}^{-1} \text{ d}^{-1}$) se realizó a través de la ecuación derivada de la técnica de la dilución sugerida por Moigis y Gocke (2003):

$$PP = \frac{k}{k-g} P_0 [(k-g)t]^{-1} \quad (15)$$

Este cálculo requiere que la estimación de k y g sea realizada a partir de experimentos sin el agregado de nutrientes. El porcentaje de productividad primaria consumida por el microzooplancton, fue estimada como la relación $g:k \times 100$ (Calbet y Landry 2004). Para disminuir el efecto de valores extremos, los datos fueron transformados por el arcotangente. Las diferencias entre sitios de las tasas de crecimiento y alimentación y la abundancia de consumidores, fueron analizadas mediante un Test t para muestras independientes (Sokal y Rohlf 1999).

Para analizar la relación entre las tasas de crecimiento y alimentación con el tipo de presas y consumidor, se establecieron diferentes categorías dentro de cada grupo. (Las especies incluidas dentro de cada grupo se muestran en las Tabla 2 y 3 del Anexo.) El tipo de presas se separó en las siguientes categorías taxonómicas por tamaño y tipo de agregación: diatomeas solitarias mayores a $20 \mu\text{m}$ ($DS > 20$), diatomeas formadoras de cadena mayores a $20 \mu\text{m}$ ($DFC > 20$), diatomeas solitarias menores a $20 \mu\text{m}$ ($DS < 20$), diatomeas formadoras de cadena menores a $20 \mu\text{m}$ ($DFC < 20$), dinoflagelados (Di), cocolitofóridos (C), nanoflagelados mayores a $5 \mu\text{m}$ ($NF > 5$) y nanoflagelados menores a $5 \mu\text{m}$ ($NF < 5$). La mayoría de los dinoflagelados identificados durante este estudio, fueron solitarios y estuvieron incluidos en un rango de tamaño inferior a las $20 \mu\text{m}$. El tipo de consumidor, se separó en categorías según su hábito trófico. Para simplificar la interpretación de los resultados, la mayoría de los tintínidos y ciliados desnudos fueron considerados como

herbívoros. Las especies *Cyrtostrombidium longisomum*, *Lohmaniella oviformis* y *Strombidium capitatum* se consideraron dentro de la categoría mixótrofos (López Morales 2013), mientras que los rotíferos y las larvas nauplii se consideraron como una categoría por separado (micrometazoos) ya que comprendieron una fracción de tamaño diferente a la del resto del microzooplancton, y sus hábitos tróficos no están claramente identificados. El tintínido *Tintinnidium balechi*, se consideró como una categoría separada ya que representó alrededor del 70% de la abundancia total del microzooplancton en ambos sitios y su hábito trófico no ha sido establecido hasta el momento. Para explorar la relación entre los tipos de presas y consumidores con las condiciones ambientales, se obtuvo una matriz de correlaciones utilizando la prueba no paramétrica de Spearman.

La relación entre las variables ambientales y la tasa de crecimiento del fitoplancton, se analizó mediante un análisis de regresión múltiple. Para ello, k fue definida como la variable dependiente y la temperatura, salinidad, oxígeno disuelto, pH, turbidez y la concentración de nutrientes inorgánicos fueron consideradas como las variables independientes. Mediante el método de selección *forward stepwise*, se identificaron las variables más importantes que contribuyeron a explicar la dinámica de k . Todas las variables independientes fueron previamente transformadas por el $\log(x+1)$ para homogeneizar su varianza. El método de selección *forward*, considera como primer paso todos los modelos con una variable. A continuación, se calcula el valor F de adición de cada variable, y se elige el mayor. Éste, corresponde a la variable que más efecto produce al ser incorporada a la anterior. Este proceso se repite hasta que la incorporación de cualquiera de las variables, no produce un aumento significativo en la explicación del modelo.

El mismo análisis fue realizado para identificar las variables asociadas a la dinámica de la productividad primaria y del consumo del microzooplancton. En el caso de la productividad primaria, el modelo de regresión múltiple no fue significativo, por lo tanto se identificaron las variables predictoras mediante análisis individuales de regresión lineal. Las variables seleccionadas como variables independientes fueron la temperatura, salinidad, oxígeno disuelto, pH, turbidez, concentración de nutrientes inorgánicos y el tipo de consumidor. Las variables identificadas como predictoras, fueron representadas en un gráfico de superficie, donde la variable dependiente fue la productividad primaria. Los datos fueron ajustados a un plano 3D mediante la técnica *distance weighted least square*. En el caso del consumo del microzooplancton, se utilizó el análisis de regresión múltiple y la variable dependiente fue el arcotangente de la relación $g:k$, mientras que la temperatura, salinidad, oxígeno disuelto, pH, turbidez, tipo de presas y tipo de consumidor fueron las variables independientes. Estos análisis fueron realizados utilizando el software Statistica 7.

3.5. Resultados

3.5.1. Composición de las presas y los consumidores durante los experimentos de alimentación

La abundancia de las diferentes categorías de presas presentes en los sitios BM y CV durante el período de estudio, se muestra en la Tabla 3.1. Las especies correspondientes a cada categoría se muestran en la Tabla 2 del Anexo. Todas las categorías fueron más abundantes en CV, a excepción de las DS>20 que fueron más importantes en BM. En particular, el nanofitoplancton fue significativamente más abundante en CV que en BM (Figura 2.9D). En ambos sitios, las presas predominantes fueron los NF<5 (BM=150 ± 187, CV=189 ± 158 cél l⁻¹ x 10³). En BM, las DS>20 y las DS<20, también fueron numéricamente importantes (69 ± 57 y 75 ± 116 cél l⁻¹ x 10³ respectivamente). En CV, el segundo y tercer grupo más abundante fueron las DS<20 (130 ± 226 cél l⁻¹ x 10³) y los NF>5 (71 ± 65 cél l⁻¹ x 10³) respectivamente. En BM, la abundancia de los NF>5 estuvo positivamente correlacionada con la abundancia de *T. balechi* (coeficiente de correlación de Spearman=0,58, p<0,05). En CV las DS<20 se correlacionaron positivamente con la abundancia de los ciliados herbívoros (coeficiente de correlación de Spearman=0,58, p<0,05).

La abundancia de las diferentes categorías de consumidores presentes en los sitios BM y CV durante el período de estudio, se muestra en la Tabla 3.2. Las especies incluidas en cada categoría se muestran en la Tabla 3 del Anexo. Aunque la dinámica temporal del microzooplancton fue similar en ambos sitios, la concentración del mismo fue diferente (Figuras 2.10A y B). En BM, la concentración de *T. balechi* fue significativamente superior (BM: 5397 ± 7298 cél l⁻¹, CV: 2783 ± 4111 cél l⁻¹; t=2,15, gl=26, p=0,004), mientras que la concentración de ciliados mixótrofos fue significativamente superior en CV (BM: 165 ± 160 cél l⁻¹, CV: 437 ± 541 cél l⁻¹; t=2,00, gl=26, p=0,05). No se encontraron diferencias significativas en la concentración de ciliados herbívoros (BM: 1335 ± 1462 cél l⁻¹, CV: 1139 ± 1145 cél l⁻¹) y micrometazoos (BM: 43 ± 80 cél l⁻¹, CV: 27 ± 56 cél l⁻¹) entre los sitios. En BM, la concentración de ciliados mixótrofos estuvo correlacionada negativamente con la productividad primaria (coeficiente de correlación de Spearman=-0,55, p<0,05), mientras que en CV, la concentración de ciliados mixótrofos no mostró relación con ninguna de las variables ambientales analizadas en CV.

Tabla 3.1. Valor medio (cél $l^{-1} \times 10^3$) y desvío estándar (DS) de la abundancia de presas al inicio de los experimentos de alimentación realizados en los sitios BM y CV. Las presas fueron separadas en las siguientes categorías: diatomeas solitarias mayores a 20 μm (DS>20), diatomeas formadoras de cadenas mayores a 20 μm (DFC>20), diatomeas solitarias menores a 20 μm (DS<20), diatomeas formadoras de cadenas menores a 20 μm (DFC<20), dinoflagelados (Di), nanoflagelados mayores a 5 μm (NF>5), nanoflagelados menores a 5 μm (NF<5) y cocolitofóridos (C).

Sitio	Fecha	Microfitoplancton				Nanofitoplancton											
		DS>20		DFC>20		DS<20		DFC<20		Di		NF>5		NF<5		C	
		media	DS	media	DS	media	DS	media	DS	media	DS	media	DS	media	DS	media	DS
BM	15-07-08	7	6	0	0	4	3	7	10	0	0	12	13	21	30	0	0
	11-12-08	119	63	5	1	109	103	0	0	1	1	17	24	32	45	0	0
	16-02-09	59	15	0	0	467	560	21	8	0	0	140	198	12	17	0	0
	27-07-09	197	30	9	8	50	1	2	0	0	0	40	43	245	347	1	1
	10-08-09	129	14	0	0	80	20	2	2	0	0	74	94	12	17	0	0
	21-10-09	8	5	3	1	29	28	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1
	02-11-09	95	35	0	0	57	2	0	0	0	0	6	8	152	215	0	0
	11-03-10	69	30	0	0	33	16	144	193	1	1	17	9	164	231	0	0
	16-03-10	25	14	1	1	35	20	70	99	0	0	63	76	70	99	0	0
	26-05-10	25	3	0	0	33	1	0	0	0	0	2	0	568	69	0	0
	27-07-10	23	13	2	2	11	13	0	0	3	4	5	5	1	2	0	0
	10-08-10	127	15	32	1	81	74	15	19	3	0	51	72	14	20	0	0
	21-10-10	59	0	2	3	41	8	2	0	0	0	73	95	444	628	0	0
02-11-10	25	21	0	0	21	15	7	3	9	12	6	7	363	512	0	0	
CV	15-07-08	93	23	0	0	9	6	21	10	0	0	42	0	119	30	0	0
	11-12-08	45	21	0	0	642	518	7	10	0	0	77	50	84	20	0	0
	16-02-09	44	9	0	0	677	106	0	0	0	0	82	17	82	17	0	0
	27-07-09	256	45	11	15	29	9	0	0	1	1	108	145	327	463	2	2
	10-08-09	55	16	27	24	20	1	0	0	0	0	42	0	77	69	0	0
	21-10-09	19	4	0	0	74	50	0	0	0	0	14	20	7	10	0	0
	02-11-09	21	7	0	0	65	23	1	1	0	0	96	3	222	17	0	0
	11-03-10	20	7	0	0	113	7	164	67	0	0	245	116	47	33	0	0
	16-03-10	15	4	0	0	38	21	117	66	0	0	138	36	206	26	0	0
	26-05-10	17	7	0	0	30	10	0	0	35	50	7	8	568	367	0	0
	27-07-10	48	8	4	6	48	24	0	0	1	2	30	38	147	149	2	3
	10-08-10	65	14	12	5	6	6	0	0	0	1	94	34	147	50	0	0
	21-10-10	10	6	0	0	12	8	1	0	0	0	22	29	168	60	0	0
02-11-10	36	12	0	0	61	5	0	0	3	1	2	2	444	132	0	0	

Tabla 3.2. Valor medio (cél l^{-1}) y desvío estándar (DS) de la abundancia de consumidores al inicio de los experimentos de alimentación realizados en los sitios BM y CV. Los consumidores fueron separados en grupos según su hábito trófico. *T. balechi* fue el consumidor más abundante durante la mayor parte del año en ambos sitios y por ende se muestra como una categoría por separado.

Fecha	BM								CV							
	<i>T. balechi</i>		Herbívoros		Mixótrofos		Micrometazoos		<i>T. balechi</i>		Herbívoros		Mixótrofos		Micrometazoos	
	media	DS	media	DS	media	DS	media	DS	media	DS	media	DS	media	DS	media	DS
15-07-08	1760	509	640	170	40	56.6	0	0.0	100	0	775	177	150	141.4	0	0.0
11-12-08	5150	919	2100	283	400	141.4	50	70.7	4383	4125	1075	389	75	106.1	0	0.0
16-02-09	6500	283	1300	424	400	0.0	300	0.0	5550	71	2150	636	600	424.3	150	70.7
27-07-09	2250	191	575	50	0	0.0	50	57.7	933	153	800	100	167	115.5	33	57.7
10-08-09	29200	4176	700	0	0	0.0	33	57.7	4137	955	667	61	0	0.0	0	0.0
21-10-09	2200	1572	727	310	333	305.5	93	11.5	267	115	880	208	1533	289.4	13	23.1
02-11-09	2733	603	1300	300	0	0.0	67	57.7	200	100	1333	153	367	230.9	167	208.2
11-03-10	2967	115	1700	1323	267	305.5	0	0.0	3533	551	667	58	433	152.8	0	0.0
16-03-10	9250	354	1100	707	200	282.8	0	0.0	15467	2043	1433	252	200	173.2	0	0.0
26-05-10	683	189	817	535	333	416.3	0	0.0	367	126	250	0	533	160.7	0	0.0
27-07-10	6360	621	440	346	0	0.0	13	23.1	2760	139	320	106	67	46.2	0	0.0
10-08-10	1649	510	476	348	0	0.0	0	0.0	427	129	280	40	27	46.2	13	23.1
21-10-10	4500	1559	687	280	133	115.5	0	0.0	365	125	618	271	230	196.5	0	0.0
02-11-10	353	301	6127	2816	200	264.6	0	0.0	467	58	4700	1308	1733	896.3	0	0.0

3.5.2. Crecimiento y productividad del fitoplancton

Según la relación inicial entre los nutrientes inorgánicos y el C de origen fitoplanctónico, la concentración de nutrientes no llegó a limitar el crecimiento de los productores primarios durante la mayor parte de los experimentos (Tabla 3.3). No obstante, en los experimentos realizados en noviembre de 2009 y agosto de 2010, el nitrógeno alcanzó concentraciones que según la relación de Redfield et al. (1965), podrían haber limitado en crecimiento del fitoplancton (Tabla 3.3).

Tabla 3.3. Relación entre la concentración de N, P y Si y la concentración de C de origen fitoplanctónico al inicio de los experimentos de alimentación realizados en los sitios BM y CV. Los valores en negrita indican valores mayores a la relación de Redfield. La concentración de nitrógeno se calculó como la suma de las concentraciones de nitrito, nitrato y amonio.

Fecha	BM			CV		
	C:N	C:P	C:Si	C:N	C:P	C:Si
15-07-08	2	3	0	1	6	1
11-12-08	6	32	1	2	21	1
16-02-09	4	39	1	1	31	1
27-07-09	3	65	2	1	35	3
10-08-09	2	53	2	0	7	1
21-10-09	5	11	0	0	2	0
02-11-09	21	30	1	0	10	0
11-03-10	1	12	0	0	3	0
16-03-10	1	6	0	0	3	0
26-05-10	1	6	0	0	4	0
27-07-10	2	5	0	1	9	0
10-08-10	8	41	2	0	1	0
21-10-10	5	13	1	0	0	0
02-11-10	1	8	0	1	14	1

La tasa de crecimiento del fitoplancton y la productividad primaria durante el período de estudio en los sitios BM y CV se muestra en la Tabla 3.4. La tasa media de crecimiento del fitoplancton durante el período de estudio en BM fue de $0,76 \pm 0,66 \text{ d}^{-1}$, mientras que en CV fue de $1,11 \pm 1,13 \text{ d}^{-1}$. La productividad primaria media en BM fue de $15,44 \pm 16,53 \mu\text{g C l}^{-1}\text{d}^{-1}$, mientras que en CV fue de $20,46 \pm 24,22 \mu\text{g C l}^{-1}\text{d}^{-1}$. No se encontraron diferencias significativas en el valor de la tasa de crecimiento del fitoplancton y la productividad primaria entre los sitios ni entre las estaciones climáticas.

Tabla 3.4. Índices de crecimiento y alimentación en los sitios BM y CV. *k*: tasa de crecimiento del fitoplancton (d^{-1}), *PP*: productividad primaria ($\mu g C l^{-1} d^{-1}$), *g*: tasa de consumo del microzooplancton (d^{-1}), *F*: tasa de filtración del microzooplancton ($\mu l ind^{-1} h^{-1}$), *I*: tasa de ingestión del microzooplancton (presas depred $^{-1} h^{-1}$), *IEC*: tasa de ingestión específica de carbono ($\mu g C presas \mu g C consumidor^{-1} d^{-1}$), *Arcotan (g:k)*: relación transformada entre *g* y *k* que representa el impacto del consumo del microzooplancton sobre la productividad primaria diaria (adimensional). Además se indica el coeficiente de determinación (R^2) y los valores de *p* de la regresión lineal. Los asteriscos indican las fechas en las que se registró consumo saturado en los experimentos de alimentación.

Sitio	Fecha	R^2	<i>p</i>	<i>k</i>	PP	<i>g</i>	<i>F</i>	<i>I</i>	IEC	Arcotan (g:k)
BM	15-07-08*	0.825	0.001	1.972	2.613	4.316	73.76	3.871	0.175	1.142
	11-12-08	0.441	0.001	0.476	14.20	1.433	7.752	2.532	0.087	1.250
	16-02-09	0.702	0.000	1.221	40.99	1.886	9.247	6.624	0.203	0.996
	27-07-09	0.009	0.693	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	10-08-09	0.137	0.118	0.023	1.092	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	21-10-09	0.742	0.000	0.511	3.821	0.704	8.750	0.401	0.052	0.944
	02-11-09	0.103	0.180	0.284	9.653	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	11-03-10	0.542	0.000	1.550	51.84	0.894	7.547	3.244	0.301	0.523
	16-03-10	0.497	0.003	1.606	27.47	1.205	4.760	1.264	0.061	0.644
	26-05-10	0.697	0.000	1.204	19.56	1.161	26.38	16.567	0.899	0.767
	27-07-10	0.001	0.922	0.186	1.695	0.017	0.103	0.005	0.000	0.090
	10-08-10	0.561	0.005	0.497	23.07	0.442	8.668	2.829	0.690	0.727
02-11-10	0.067	0.270	0.301	4.751	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
CV	15-07-08*	0.807	0.006	2.364	24.39	5.204	211.551	60.171	13.00	1.144
	11-12-08	0.006	0.761	0.288	13.34	0.099	0.744	0.642	0.042	0.330
	16-02-09	0.233	0.042	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	27-07-09	0.340	0.007	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	10-08-09	0.397	0.009	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	21-10-09	0.825	0.000	1.528	21.20	1.488	23.02	2.690	0.383	0.772
	02-11-09	0.206	0.078	0.598	9.538	0.938	18.91	7.693	0.354	1.003
	11-03-10*	0.900	0.000	1.750	45.94	2.857	25.69	15.14	1.301	1.021
	16-03-10	0.010	0.707	0.207	3.627	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	26-05-10*	0.805	0.039	2.119	18.35	3.619	120.6	79.26	13.21	1.041
	27-07-10	0.036	0.479	0.356	8.094	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	10-08-10	0.879	0.000	3.829	85.31	3.785	211.2	68.71	13.75	0.780
21-10-10	0.687	0.000	1.380	8.781	0.978	33.61	7.173	0.534	0.617	
02-11-10	0.218	0.038	1.160	47.86	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	

El máximo valor de productividad primaria en BM, se registró en marzo de 2010, luego del pulso de nutrientes ocurrido como consecuencia del pico de lluvias. En cambio en CV, la máxima productividad se registró en agosto de 2010 (Tabla 3.4). Las variables que más contribuyeron a la predicción de la productividad primaria según el análisis de regresión lineal, se muestran en la Figura 3.1. En BM, el amonio ($R^2=0,77$, $p=0,000$) y el silicato ($R^2=0,55$, $p=0,003$) fueron las principales variables que explicaron la variabilidad de la productividad primaria. En cambio, en CV, las principales variables predictoras fueron la turbidez ($R^2=0,45$, $p=0,008$) y la salinidad ($R^2=0,32$, $p=0,044$). Todas las variables mostraron una asociación positiva con la productividad primaria, a excepción de la salinidad que mostró una relación negativa.

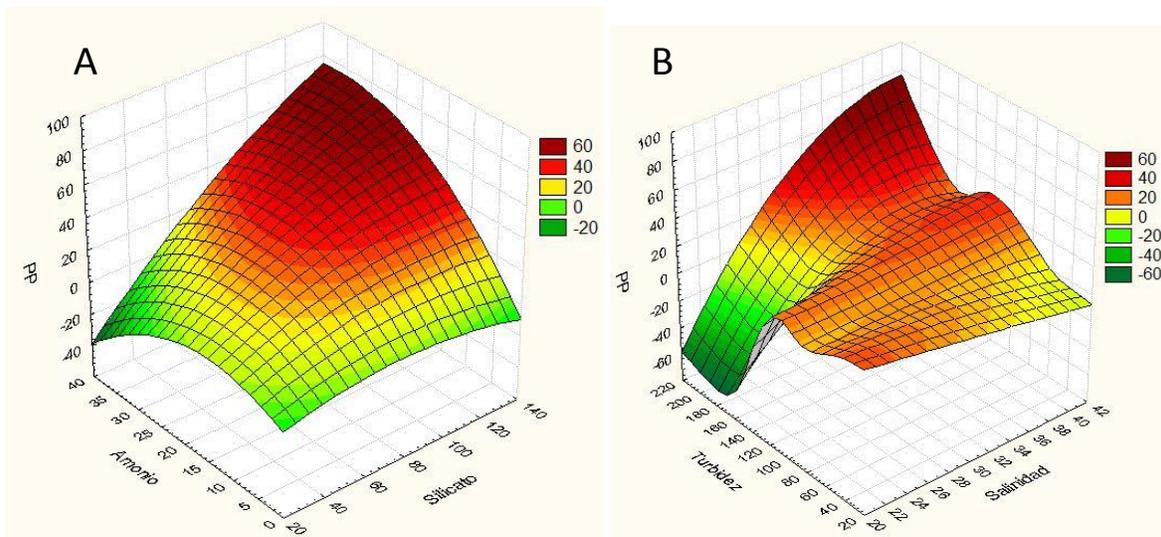


Figura 3.1. Gráfico de superficie mostrando la relación entre las principales variables que explican la dinámica de la productividad primaria (PP, $\mu\text{g C l}^{-1}\text{d}^{-1}$) en los sitios BM (A) y CV (B). En BM, el amonio (μM) y el silicato (μM) fueron las variables que explicaron la mayor parte de dinámica de la PP ($R^2=0,77$ y $R^2=0,55$ respectivamente). En CV, las variables predictoras fueron la turbidez (NTU) y la salinidad ($R^2=0,45$ y $R^2=0,32$ respectivamente). La escala de colores indica la magnitud de la productividad primaria.

La dinámica de la tasa de crecimiento del fitoplancton, pudo ser predicha por variables ambientales según el análisis de regresión múltiple (Tabla 3.5). En el sitio BM, las variables incorporadas al modelo fueron el pH, el fosfato y la concentración de oxígeno disuelto. Tanto la concentración de fosfato como la del oxígeno disuelto, mostraron una asociación positiva con la tasa de crecimiento, mientras que el pH, mostró una relación negativa. En el sitio CV, las variables incorporadas fueron la salinidad, el pH y el fosfato (Tabla 3.5.). En este sitio, el pH, al igual que la

concentración de fosfato, mostró una relación positiva con la tasa de crecimiento del fitoplancton, mientras que la salinidad, mostró una relación negativa.

Tabla 3.5. Análisis de regresión múltiple de la tasa de crecimiento del fitoplancton (variable dependiente) en función de las variables ambientales en los sitios BM y CV. β : coeficiente estandarizado de cada variable independiente (indica la contribución relativa de cada variable a la explicación del modelo), B: pendiente parcial de cada variable independiente. B_0 : valor de la variable dependiente (k) cuando el resto de las variables es igual a cero. R^2_{ajust} : valor del coeficiente de determinación corregido por el número de variables incorporadas al modelo. También se indica el error estándar (ES) de los coeficientes y el nivel de significancia parcial de cada variable (p parcial) y del modelo (p).

		β	ES(β)	B	ES(B)	p parcial	B_0	Modelo	
							R^2_{ajust}	p	
BM	pH	-0.872	0.241	-38.159	10.555	0.006	30.562	0.589	0.011
	Fosfato	0.766	0.241	4.268	1.344	0.011			
	Oxígeno disuelto	0.471	0.281	6.099	3.640	0.128			
CV	Salinidad	-0.608	0.172	-8.203	2.323	0.005	-5.480	0.629	0.005
	pH	0.445	0.192	19.076	8.216	0.043			
	Fosfato	0.299	0.190	0.677	0.430	0.146			

3.5.3. Consumo del microzooplancton

Las tasas de alimentación del microzooplancton se muestran en la Tabla 3.4. La tasa de consumo media en BM fue de $0,93 \pm 1,20 \text{ d}^{-1}$, mientras que en CV fue de $1,35 \pm 1,77 \text{ d}^{-1}$. No se encontraron diferencias significativas en el valor de las tasas de alimentación del microzooplancton entre los sitios ni entre estaciones climáticas. El porcentaje de la productividad primaria consumida por el microzooplancton fue del 87,6% en BM y de 72,3% en CV. Los gráficos de dilución se muestran en las Figuras 3.3 (BM) y 3.4 (CV). En 5 de los 13 experimentos realizados en BM, la tasa de disminución de k_0 en función de D no fue significativamente diferente de cero, por lo cual se consideró que la tasa de consumo, filtración e ingestión del microzooplancton fue igual a cero. En un experimento (jul-08) se detectó consumo saturado, y los datos se ajustaron mejor a un modelo no lineal (Tabla 3.6). La concentración de saturación de clorofila a en los experimentos que mostraron consumo saturado se muestran en la Figura 3.4. En el resto de los experimentos, no se detectaron desviaciones de la linealidad.

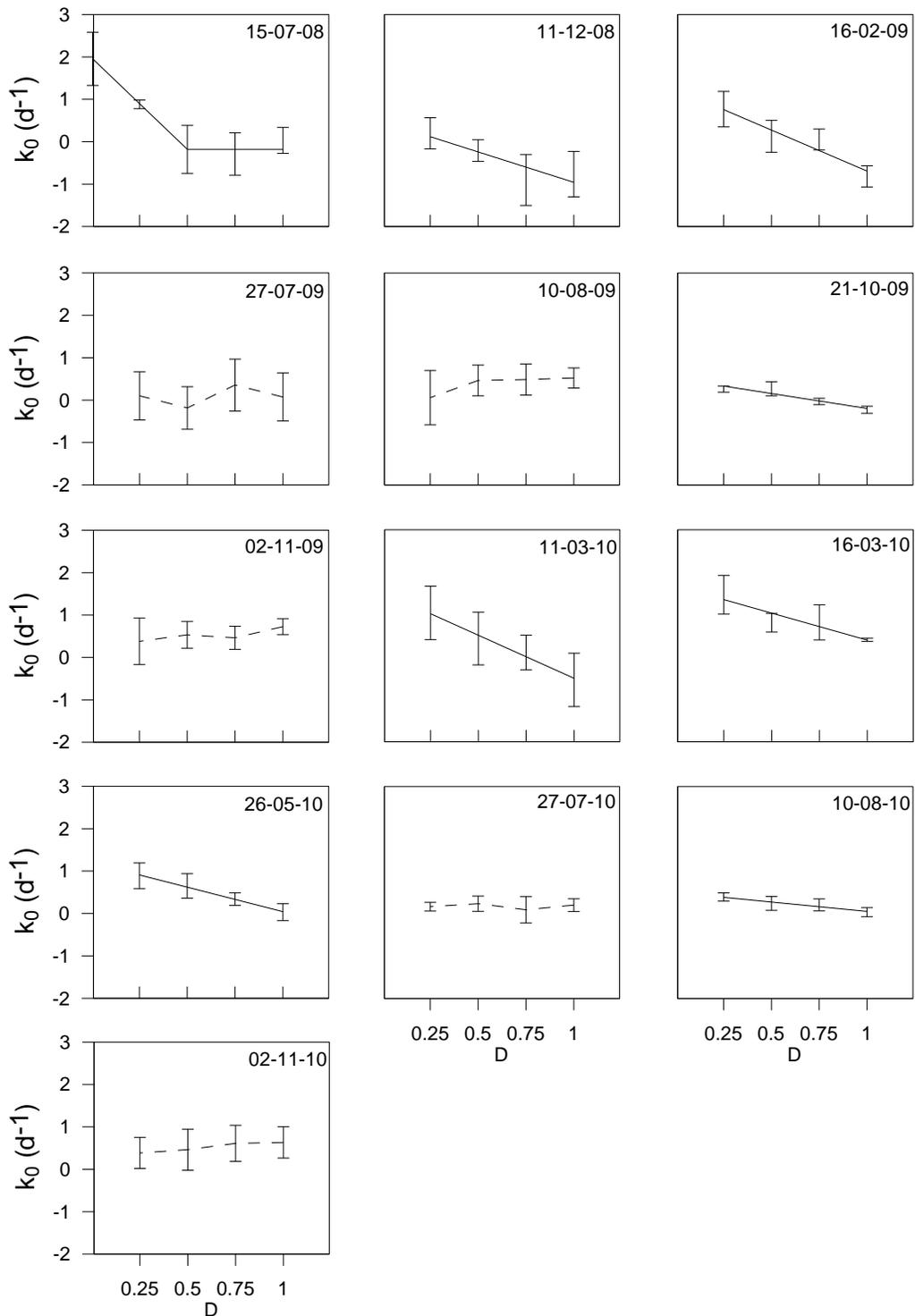


Figura 3.2. Tasa aparente de crecimiento (k_0) vs. el factor de dilución (D) durante el período 2008-2010 en el sitio BM. La fecha de realización de los experimento se indica en la esquina superior derecha de cada gráfico. Las rectas de ajuste punteadas, representan pendientes no significativas en las que se asumió $g=0$. Se detectó consumo saturado el 15-07-08 y por lo tanto los datos se ajustaron a un modelo no lineal utilizando la metodología de los 3 puntos (Gallegos 1989).

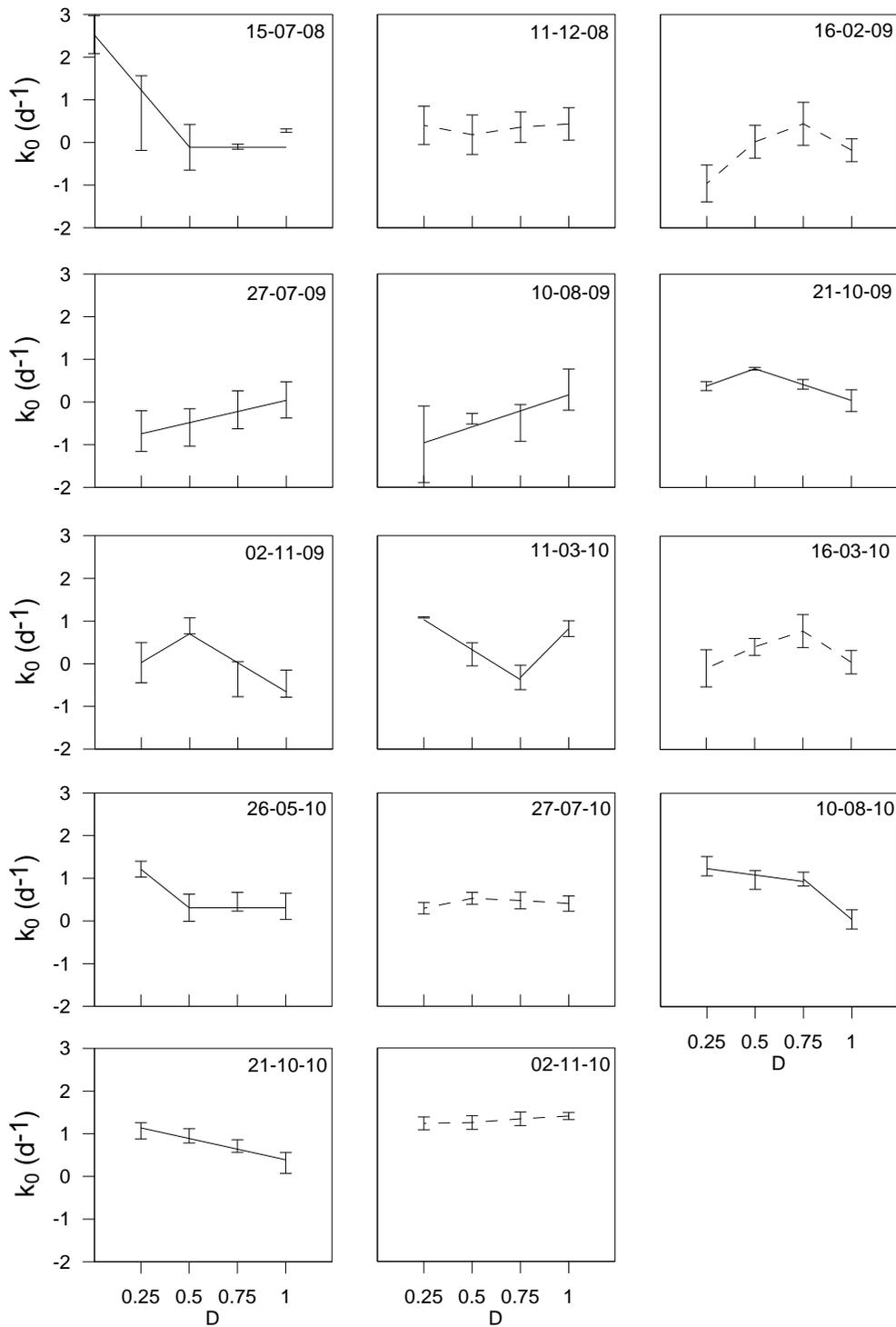


Figura 3.3. Tasa aparente de crecimiento (k_0) vs. el factor de dilución (D) durante el período 2008-2010 en el sitio CV. La fecha de realización de los experimento se indica en la esquina superior derecha de cada gráfico. Las rectas de ajuste punteadas, representan pendientes no significativas en las que se asumió $g=0$. Se detectó consumo saturado el 15-07-08, 11-03-10 y 26-05-10, y por lo tanto los datos se ajustaron a un modelo no lineal utilizando la metodología de los 3 puntos (Gallegos 1989).

Tabla 3.6. Valor del índice de error ($\sigma^2_{y'}$) y el coeficiente de correlación al cuadrado (r^2_{xy}) de los modelos lineal (L) y no lineal (NL) en los experimentos en los que se detectó consumo saturado. También se indica la fracción de dilución (D_s) y la concentración de clorofila a (P_s , $\mu\text{g l}^{-1}$) a la cual el consumo se volvió saturado.

Sitio, fecha	D_s	P_s	$\sigma^2_{y'}(L)$	$\sigma^2_{y'}(NL)$	$r^2_{xy}(L)$	$r^2_{xy}(NL)$
BM, 15-07-08	0.5	1.559	0.424	0.061	0.677	0.995
CV, 15-07-08	0.5	1.978	0.381	0.054	0.494	0.982
CV, 11-03-10	0.75	3.456	0.722	0.026	0.024	0.992
CV, 26-05-10	0.5	1.284	1.190	0.072	0.333	0.957

En CV, 5 de los 14 gráficos de dilución mostraron pendientes no significativas, por lo cual se consideró que la tasa de consumo, filtración e ingestión del microzooplancton fue igual a cero. Asimismo, un total de 8 experimentos no pudieron ser explicados adecuadamente mediante un modelo lineal, y 3 de éstos (jul-08, mar-10 y may-10) se interpretaron mediante un modelo no lineal asumiendo consumo saturado (Tabla 3.6). Por último, en julio y agosto de 2009, se detectaron pendientes positivas, y por ende se consideró que las tasas de alimentación del microzooplancton fueron igual a cero.

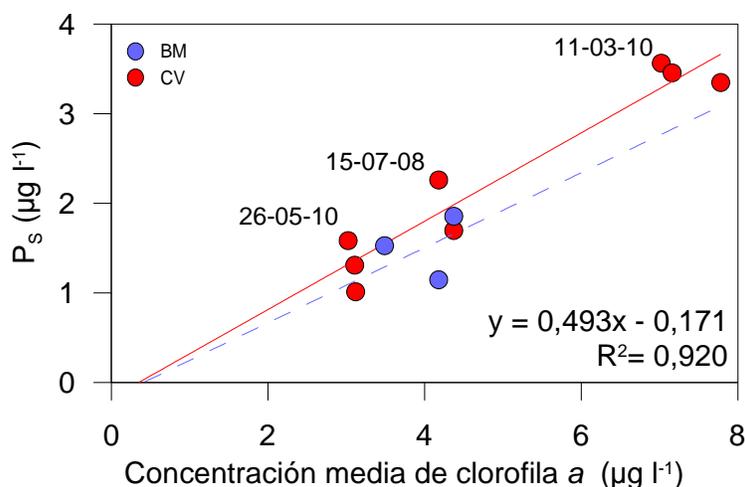


Figura 3.4. Concentración de saturación de consumo (P_s) en función de la concentración media de clorofila a durante los experimentos en los que se detectó consumo saturado. Los círculos rojos corresponden a los tres experimentos realizados en CV, y las fechas en que se realizó cada uno se indican adyacentes a los círculos. La línea roja indica la recta de regresión entre los puntos ($p=0,000$). La ecuación de la recta y el valor del coeficiente de determinación (R^2) se indican en el gráfico. Los círculos azules corresponden al experimento realizado en BM durante julio de 2008. Tomando la misma ordenada al origen obtenida con la recta de regresión en CV, se calculó la recta de ajuste a los datos obtenidos en BM (línea azul punteada).

Un mayor número de variables ambientales contribuyeron a explicar la proporción de la productividad primaria consumida por el microzooplancton (estimada como el arcotangente de la relación g:k) durante el período estudiado (Tabla 3.7). En BM, las variables ambientales que fueron incorporadas al modelo fueron la concentración de oxígeno disuelto y la turbidez. Los tipos de consumidores incorporados fueron los ciliados herbívoros y mixótrofos, mientras que los tipos de presas fueron los NF>5, DFC<20 y DS>20. La concentración de oxígeno disuelto, de ciliados herbívoros y de NF>5, mostraron una relación positiva con la proporción de la productividad primaria consumida por el microzooplancton, mientras que la turbidez, la concentración de ciliados mixótrofos, de DFC<20 y de DS>20 mostraron una relación negativa.

Tabla 3.7. Análisis de regresión múltiple de la proporción de la productividad primaria consumida por el microzooplancton (variable dependiente) en función de las variables ambientales y bióticas en los sitios BM y CV. β : coeficiente estandarizado de cada variable independiente (indica la contribución relativa de cada variable a la explicación del modelo), B: pendiente parcial de cada variable independiente. B_0 : valor de la variable dependiente (Arcotan [g:k]) cuando el resto de las variables es igual a cero. R^2_{ajust} : valor del coeficiente de determinación corregido por el número de variables incorporadas al modelo. También se indica el error estándar (ES) de los coeficientes y el nivel de significancia parcial de cada variable (p parcial) y del modelo (p).

	β	ES (β)	B	ES(B)	p parcial	B_0	Modelo		
							R^2_{ajust}	p	
BM	Herbívoros	1.153	0.192	0.448	0.075	0.002	-1.676	0.819	0.015
	Mixótrofos	-0.436	0.167	-0.661	0.253	0.048			
	OD	0.554	0.153	5.120	1.414	0.015			
	Turbidez	-0.223	0.131	-0.417	0.244	0.149			
	NF>5	0.503	0.229	0.369	0.168	0.080			
	DFC<20	-0.322	0.186	-0.076	0.044	0.144			
	DS>20	-0.303	0.212	-0.308	0.215	0.213			
CV	Salinidad	-0.837	0.100	-0.087	0.010	0.000	0.894	0.946	0.000
	DFC<20	0.128	0.157	0.027	0.034	0.446			
	<i>T. balechi</i>	-0.806	0.080	0.000	0.000	0.000			
	NF>5	0.435	0.094	0.349	0.076	0.004			
	Di	-0.629	0.208	-0.170	0.056	0.023			
	Turbidez	0.251	0.107	0.002	0.001	0.056			
	NF<5	0.244	0.125	0.241	0.123	0.099			

En CV, las variables ambientales incorporadas al modelo fueron la salinidad y la turbidez. *T. balechi* fue el único tipo de consumidor incorporado al modelo, mientras que los tipos de presas incorporados fueron las DFC<20, Di, NF>5 y NF<5. La turbidez y la concentración de DFC<20, NF>5 y NF<5, mostraron una relación positiva con la proporción de la productividad primaria consumida por el microzooplancton, mientras que la salinidad, la concentración de *T. balechi* y de dinoflagelados, mostraron una relación negativa. La tasa de consumo del microzooplancton mostró una relación lineal y positiva con la tasa de crecimiento del fitoplancton en BM, mientras que en CV esta relación fue de tipo cuadrática (Figura 3.5).

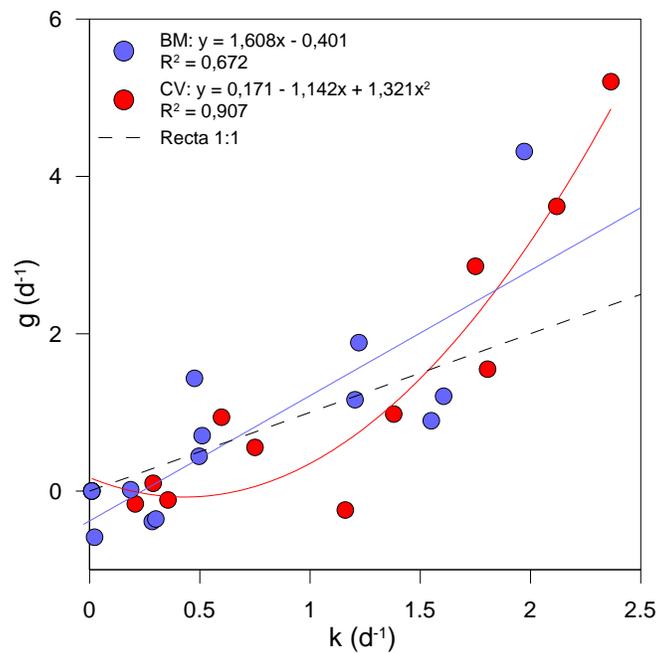


Figura 3.5. Relación entre la tasa de crecimiento del fitoplancton (k) y la tasa de consumo del microzooplancton (g) en los sitios BM y CV. Las líneas sólidas corresponden al ajuste de los datos por el método de los mínimos cuadrados. La línea punteada indica la relación 1:1 entre las tasas. Por encima de la recta 1:1, $g > k$.

3.6. Discusión

3.6.1. Composición de la comunidad planctónica y productividad del fitoplancton

La mayor parte del alimento ofrecido en ambos sitios, se encontró dentro del rango de tamaño óptimo para el consumo del microzooplancton (Kivi y Setälä 1995). No obstante, el nanofitoplancton fue significativamente más importante en CV. Asimismo, en BM las diatomeas de gran tamaño (>20 μm) representaron una parte importante de la oferta alimenticia. El rango de tamaño de este grupo, junto con sus características para evadir la depredación (*e.g.* paredes silíceas, presencia de espinas, secreción de mucus), indicaría que no representan un ítem trófico adecuado para el microzooplancton. Por ende, el alimento potencialmente adecuado para el consumo del microzooplancton sería considerablemente más abundante en CV. Sin embargo, la abundancia de consumidores fue menor en este sitio en comparación a BM. Además, aunque la concentración de NF fue significativamente mayor en CV, ninguna categoría de consumidor mostro asociación con este grupo. En cambio, la concentración de ciliados herbívoros se vio acoplada a la concentración de DS<20. Esto sugiere que el microzooplancton seleccionó activamente a las diatomeas solitarias en el rango de tamaño menor a las 20 μm , por sobre las preas más abundantes. Los ciliados, son capaces de reconocer la calidad nutritiva de sus presas, lo cual les permite depredar preferencialmente sobre éstas (Strom 2002). En BM la abundancia de *T. balechi* se asoció positivamente con la abundancia de NF>5. El hecho de que la abundancia de este tintínido haya sido menor en CV donde la abundancia de NF totales fue mayor, indicaría que en este sitio las condiciones ambientales resultan perjudiciales para la especie. Estudios específicos sobre la taxonomía y hábitos tróficos de los nanoflagelados, son necesarios para lograr un mejor entendimiento de los mecanismos de selección sobre este grupo. Asimismo, es esencial la utilización de técnicas específicas para el recuento del nanoplancton (*e.g.* epifluorescencia), ya que la técnica utilizada en esta sección de la tesis (técnica de Utermöhl), tiende a subestimar la abundancia de este grupo.

A pesar de que la concentración de nutrientes y la abundancia del fitoplancton fue mayor en CV, la productividad primaria media en ambos sitios fue similar ($\sim 16 \text{ mg C m}^{-3} \text{ d}^{-1}$). Considerando la relación entre el C de origen fitoplanctónico y los nutrientes propuesto por Redfield (1965), podría suponerse que la concentración de nutrientes no habría limitado el crecimiento del fitoplancton

en ninguno de los sitios estudiados. Si los nutrientes llegaran a ser limitantes, se esperaría que la tasa de crecimiento del fitoplancton descienda proporcionalmente con la concentración de células, es decir que k_0 disminuya en los tratamientos no diluidos. Esto podría generar curvas con la apariencia de consumo saturado y por ende se estaría sobreestimando la tasa de consumo del microzooplancton (Calbet et al. 2011). Sin embargo, en los experimentos en los que el nitrógeno llegó a ser limitante para el fitoplancton (BM, nov-09 y ago-10) no se hallaron desviaciones de la linealidad. Más aún, la tasa de consumo en noviembre de 2009, cuando el relación C:N alcanzó el valor más alto de este estudio, fue igual a cero. La limitación de nitrógeno al inicio de los experimentos podría haber sido compensada por el aporte de amonio por parte del microzooplancton. Estudios previos sobre el consumo del mesozooplancton realizados en el Estuario de Bahía Blanca, confirman que durante un período de incubación de 24 h, existe una acumulación significativa de amonio (Dutto 2013). El microzooplancton podría ser responsable de una parte del amonio generado durante estos experimentos, ya que la tasa de excreción de nitrógeno de los ciliados aloricados durante los meses cálidos puede llegar hasta los $10,4 \mu\text{M N l}^{-1} \text{d}^{-1}$ (Pettigrosso y Popovich 2009). Por ende, la regeneración de nitrógeno por parte del microzooplancton sería un factor que compensaría la mortalidad del fitoplancton por consumo especialmente en el período de decaimiento del bloom cuando la concentración de nutrientes comienza a descender (Popovich y Marcovecchio 2008) y la abundancia de consumidores es máxima. Asimismo, la regeneración de nutrientes por parte del microzooplancton podría ser un factor adicional que explique la alta correlación entre g y k durante este estudio.

Por otro lado, la falta de correlación entre la productividad primaria y la concentración de nutrientes en CV, indica que en este sitio la regulación de tipo *bottom-up* es limitada. Esto se ve sustentado por el hecho de que luego del pulso de nutrientes registrado como consecuencia del pico de lluvias en primavera-verano de 2009-2010, la productividad primaria en este sitio no alcanzó el nivel más alto del período. En cambio, en el sitio BM, la productividad primaria estuvo explicada por la concentración de amonio y silicato, y alcanzó el nivel máximo en marzo de 2010, luego del pulso de nutrientes. En CV, la productividad primaria mostró una relación negativa con la salinidad y positiva con la turbidez. La relación con la salinidad, podría ser explicada por el efecto del caudal de descarga cloacal, el cual representa un cuarto del aporte total de agua dulce hacia el estuario. Cabe esperar que este volumen de efluente genere una dilución del agua de mar en el área adyacente al canal de descarga, provocando cambios abruptos de salinidad. Estas modificaciones en la salinidad del agua de mar, pueden modificar la dominancia de especies y la

utilización de nutrientes (Flöder et al. 2010), y por ende podrían provocar cambios en la productividad de la comunidad. Una relación negativa entre el crecimiento del fitoplancton y la salinidad, ha sido documentada en otros estuarios del hemisferio norte (McManus y Ederington-Cantrell 1992, Ruiz et al. 1998). La relación con la turbidez resulta más difícil de interpretar, ya que estudios anteriores señalan que el desarrollo del bloom invernal en la zona interna del estuario ocurre cuando la concentración de material particulado en suspensión (y por ende la turbidez), son mínimos (Guinder et al. 2009). Sin embargo, se espera que la dinámica de descarga del efluente cloacal sea uno de los principales factores que regulen la turbidez en el sitio CV, y por lo tanto, la dinámica de esta variable sería marcadamente diferente a la del resto del estuario.

El único nutriente que se asoció a la tasa de crecimiento del fitoplancton en ambos sitios, fue el fosfato. Aunque la concentración de todos los nutrientes en ambos sitios fue alta y en general no llegan a alcanzar valores limitante en el estuario (Popovich et al. 2008, Guinder 2011, Spetter et al. 2013), la dependencia de la tasa de crecimiento fitoplanctónico con la concentración de fosfato indica que este nutriente jugaría un rol trascendental en el desencadenamiento de los eventos productivos anuales del fitoplancton. La tasa de crecimiento del fitoplancton en BM, también se asoció con la concentración de oxígeno. Estas variables se encuentran íntimamente relacionadas, ya que el aumento de la tasa de crecimiento genera un aumento proporcional en la concentración de oxígeno (Popovich et al. 2008). Resulta intrigante el efecto de pH sobre la tasa de crecimiento, ya que esta variable mostró una alta correlación con k en BM y CV, aunque con distinto signo según el sitio evaluado. Es probable que la causa de este comportamiento resida la composición química del agua de mar y en la capacidad buffer de cada sitio, lo cual necesita ser evaluado con mayor detalle en estudios futuros.

3.6.2. Control del microzooplancton sobre la productividad primaria

El porcentaje de productividad primaria consumida por el microzooplancton durante este estudio, fue muy variable, y promedió el 87% en ambos sitios. Los resultados obtenidos son comparables a los encontrados en otros estuarios del mundo (Murrell et al. 2002, Calbet y Landry 2004, Schmoker et al. 2013), aunque superiores a los esperados según la revisión de Schmoker et al. (2013), quienes establecieron que el promedio de la productividad primaria consumida por el microzooplancton en estuarios es del 64%.

El análisis de regresión múltiple, mostró que la presión de pastoreo en BM está acoplada a la abundancia de ciliados herbívoros. Esta categoría de consumidores incluyó la mayor parte de las especies del microzooplancton analizado, y fue establecida con el objetivo de simplificar el análisis, aunque *a priori* no se conociera con certeza el hábito trófico de cada especie. Por ende, los resultados reafirman que la herbivoría representa una importante (aunque seguramente no la única) estrategia de alimentación del microzooplancton en el Estuario de Bahía Blanca. El tintínido *T. balechi* fue considerado como una categoría por separado ya que representa el organismo numéricamente más importante del microzooplancton del estuario y sus hábitos tróficos no han sido establecidos hasta el momento. Esta especie no mostró relación con la presión de pastoreo sobre la productividad primaria en BM. Más aún, en CV mostró una relación negativa. Esto sugiere que *T. balechi* es independiente del patrón de productividad primaria del estuario, y por lo tanto podría alimentarse de organismos aplastídicos. Aunque el volumen de la lórica de esta especie es relativamente grande (ancho=22 μm , largo=69 μm , volumen=16389 μm^3), el tamaño celular ronda los 26 μm de largo (volumen=2940,5 μm^3). Wirtz (2011), estableció que la relación escalar entre el tamaño corporal de los ciliados y el tamaño óptimo de presas es de 0,127. Teniendo en cuenta este coeficiente, el tamaño óptimo de presas de *T. balechi* estaría por debajo de las 2 μm . Por ende, es probable que uno de los principales ítems tróficos de esta especie sean las bacterias heterótrofas, las cuales representan una importante fuente de C en el Estuario de Bahía Blanca (Cabezalí y Burgos 1988, Capítulo 4).

El impacto del consumo sobre la productividad primaria, también mostró una relación negativa con la concentración de ciliados mixótrofos en BM. Los organismos mixótrofos, pueden sostener altas tasas de crecimiento aún cuando la concentración de presas sea baja, ya que no sólo obtienen C de su alimento sino también vía fotosíntesis (Flynn y Mitra 2009). Por lo tanto, no suelen estar estrechamente ligados al patrón de productividad primaria. Más aún, pueden llegar a ser muy abundantes en condiciones de pre-bloom, cuando la concentración de presas y por ende la de los consumidores es baja (Hammer y Pitchford 2005). Esto último podría explicar la relación negativa entre el consumo y la abundancia de ciliados mixótrofos en BM. En CV, estos organismos representaron una parte importante de la comunidad microzooplanctónica (entre 2 y 56% de la abundancia total) y no mostraron relación con la biomasa fitoplanctónica ni con la productividad primaria. Las condiciones favorables que estimularon el desarrollo fitoplanctónico en este sitio (*i.e.* mayor concentración de nutrientes), así como la mayor disponibilidad de presas podrían ser los factores que determinaron la mayor abundancia de este grupo en CV.

El análisis de regresión múltiple también mostró una relación positiva entre la presión de pastoreo y la abundancia de los NF, lo cual indicaría que este grupo es presa preferencial del microzooplancton en el Estuario de Bahía Blanca. El microzooplancton ejercería una selección pasiva sobre este grupo ya que el mismo representó el ítem trófico más abundante en ambos sitios durante la mayor parte del período.

La alta correlación entre la tasa de consumo y la tasa de crecimiento del fitoplancton, sugiere que el microzooplancton es capaz de responder de forma casi instantánea al aumento en la disponibilidad de nuevo alimento. Más aun, en BM, la tasa de consumo del microzooplancton superó la tasa de crecimiento diaria de los productores primarios luego de superarse valores relativamente bajos de k ($\sim 0,6 \text{ d}^{-1}$). Este hecho señala que el microzooplancton representaría un factor clave en el control de la acumulación de biomasa fitoplanctónica. Sin embargo, el control del microzooplancton sobre la productividad primaria, parece acotarse a los meses cálidos ya que en los meses de invierno, se registraron las menores tasas de consumo. Esto podría explicarse en parte por la dependencia de los protistas heterótrofos de la temperatura (Rose y Caron 2007). De hecho, el crecimiento y la concentración del microzooplancton en el Estuario de Bahía Blanca suele estar positivamente correlacionada con la temperatura (Barría de Cao et al. 2005, Pettigrosso y Popovich 2009). Asimismo, la menor presión de pastoreo por parte del microzooplancton en los meses fríos, podría ser uno de los factores asociados a la magnitud de biomasa que alcanza el bloom de invierno-primavera tardía del fitoplancton en el Estuario de Bahía Blanca, el cual suele ser el evento productivo más importante del año (Gayoso 1999).

Sherr y Sherr (2009), sugieren que en ambientes eutróficos, el microzooplancton no posee el potencial de prevenir el desarrollo del bloom fitoplanctónico. Los autores argumentan que la presión de pastoreo en condiciones de pre-bloom suele ser baja ya que la concentración de presas es un factor que limita el crecimiento de los consumidores. Por ende, durante la etapa inicial del bloom la alta tasa de crecimiento fitoplanctónico en respuesta a las condiciones ambientales favorables, junto con una leve presión de pastoreo, permiten el desarrollo del bloom. Los resultados obtenidos en este estudio, refuerzan la hipótesis de estos autores, ya que aunque la presión de pastoreo del microzooplancton parece ser alta, los blooms fitoplanctónicos son registrados periódicamente en el estuario (Gayoso 1999, Guinder et al. 2010, 2013). El principal rol del microzooplancton sería el de controlar la acumulación de biomasa, aunque no sería capaz por sí solo de prevenir la formación del bloom.

Según la Figura 3.4, la concentración de clorofila a a la cual el consumo del microzooplancton se satura, depende de la época del año. Asimismo, para una misma concentración natural de clorofila a , la concentración de saturación fue levemente mayor en CV que en BM. Más aún, la concentración de clorofila a la cual se satura el consumo en CV, se correspondería con un nivel más alto de C fitoplanctónico en comparación a BM, ya que la relación C:Cl a en CV fue superior a la registrada en BM durante la mayor parte del estudio. Este fenómeno resulta contraintuitivo, ya que la comunidad del microzooplancton fue significativamente más abundante en BM, por lo que cabría esperar una mayor capacidad de consumo en este sitio. Los resultados señalan que aunque en CV existe una mayor proporción de presas potenciales, la proporción de presas reales es mucho menor en comparación a BM. Cabe mencionar que la técnica de tinción utilizada para el recuento de organismos al inicio de los experimentos (solución de Lugol al 10%), no permitió la diferenciación entre nanoflagelados autótrofos y heterótrofos, por lo cual la mayor relación C:Cl a encontrada en CV podría deberse a una mayor contribución de organismos heterótrofos.

La relación entre g y k en CV, mostró un patrón diferente al observado en BM. Mientras que en BM, la relación fue de tipo lineal, en CV, la tasa de consumo pareció no responder a la tasa de crecimiento del fitoplancton cuando ésta mostró valores relativamente bajos ($k > 1 \text{ d}^{-1}$). Una vez superado cierto valor de k , g comenzó a responder de manera lineal. Este desacople puede deberse a que la abundancia de presas debe superar cierto umbral para activar el consumo del microzooplancton (Gifford 1988). El hecho de que este umbral haya sido identificado sólo en el sitio CV, indicaría una menor reactividad del microzooplancton en este sitio. De hecho, las comunidades perturbadas suelen mostrar una menor resistencia cohesiva y un menor rango de respuesta ante factores ambientales (Snyder 2010). Esto concuerda con los resultados obtenidos en el Capítulo 2, en el que la comunidad planctónica presente en CV, mostró una respuesta no lineal a la concentración de nutrientes (Figura 2.15B).

3.6.3. Tipos de respuesta trófica del microzooplancton

Algunos de los resultados obtenidos en los experimentos de alimentación realizados durante este estudio, mostraron un comportamiento no lineal. Las respuestas no lineales son frecuentemente registradas en ambientes productivos como los estuarios (Tabla 3.8). Cuando los resultados de los experimentos de dilución se alejan de la linealidad, con frecuencia son interpretados como consumo nulo, o son ajustadas a modelos lineales aún cuando los datos muestran otro tipo de

distribución. Sin embargo, las desviaciones de la linealidad pueden interpretarse como diferentes respuestas funcionales de la comunidad planctónica bajo estudio (Calbet y Saiz 2013).

Tabla 3.8. Tipos de respuesta funcional del microzooplancton en experimentos de alimentación realizados en ambientes estuariales. En la mayor parte de estos estudios se detectaron respuestas de tipo lineal, sin embargo sólo se indica el tipo de desviación registrada en cada uno. Los estudios en los que no se detectaron desviaciones de la linealidad, se clasificaron como “lineal”. También se indica si los experimentos fueron realizados con agregado de nutrientes inorgánicos.

Referencia	Área	Agregado de nutrientes	Tipo de respuesta
Ayukai y Miller (1998)	Golfo Exmouth, Australia	si	consumo saturado
Chen et al. (2009)	Estuario Pearl River, China	si	consumo saturado
Chen et al. (2009)	Estuario Pearl River, China	no	consumo saturado
Dagg (1995)	Bahía Fourleague, Estados Unidos	no	consumo saturado
Dolan et al. (2000)	Estuario Rhode River, Estados Unidos	si	consumo saturado
First et al. (2007)	Río Nueces y Laguna Madre, Méjico	no	cascada trófica
Froneman y McQuaid (1997)	Estuario Kariega, Sudáfrica	no	lineal
Gallegos (1989)	Estuario Rhode River, Estados Unidos	si	consumo saturado
Gifford (1988)	Puerto Halifax, Canadá	no	umbral de consumo
Juhl y Murrel (2005)	Bahía Pensacola, Estados Unidos	si	lineal
Juhl y Murrel (2005)	Bahía Pensacola, Estados Unidos	si	pendiente positiva, los autores no aclaran el tipo de respuesta
Lehrter et al. (1999)	Bahía Mobile, Estados Unidos	no	consumo saturado
Leising et al. (2005)	Bahía Dabob, Estados Unidos	no	consumo saturado
McManus y Ederington-Cantrell (1992)	Bahía Chesapeake, Estados Unidos	no	consumo saturado
Murrel et al. (2002)	Bahía Pensacola, Estados Unidos	si	lineal
Murrel y Hollibaugh (1998)	Bahía San Francisco, Estados Unidos	no	lineal
Putland e Iverson (2007)	Bahía Apalachicola, Estados Unidos	si	no lineal, los autores no se refieren a consumo saturado
Quinlan et al. (2009)	Estuario Suwannee River, Estados Unidos	si	lineal
Redden et al. (2002)	Laguna Dee Why, Australia	si	consumo saturado
Ruiz et al. (1998)	Estuario Mundaka, España	no	lineal
Sautour et al. (2000)	Estuario Gironde, Francia	no	lineal
Strom y Strom (1996)	Golfo de Méjico, Estados Unidos	si	no lineal, sin evidencia de consumo saturado
Teixeira y Figueiras (2009)	Ría de Vigo, España	no	cascada trófica
Teixeira y Figueiras (2009)	Ría de Vigo, España	no	consumo saturado
York et al. (2011)	Bahía San Francisco, Estados Unidos	no	consumo saturado
York et al. (2011)	Long Island Sound, Estados Unidos	si	consumo saturado
Zhang et al. (2001)	Mar oriental de China con influencia del Río Yangtze	no	pendiente positiva, los autores no aclaran el tipo de respuesta
Zhang et al. (2001)	Mar oriental de China con influencia del Río Yangtze	no	lineal

Las curvas en forma de “L” suelen ser el resultado de consumo saturado (Gallegos 1989, Moigis 2006). Este tipo de respuesta ocurre como resultado de una modificación en la tasa de filtración del microzooplancton. En las respuestas de tipo lineal, el aumento de la concentración de alimento se traduce en un aumento proporcional en la tasa de filtración del microzooplancton. Sin embargo, cuando la disponibilidad de alimento supera cierto valor umbral, la capacidad de consumo de microzooplancton se satura (Frost 1972), y por lo tanto, la tasa de ingestión alcanza un valor máximo y constante. Dado que la tasa de filtración se define como $F=I/P$, a partir de este umbral, el aumento en la concentración del alimento se traduce en un descenso de la tasa de filtración. Este tipo de respuesta fue registrado en tres experimentos realizados en CV, y sólo en un experimento realizado en BM, a pesar de que en este sitio, la concentración de clorofila *a* fue significativamente más alta. Por ende, la concentración de clorofila *a* no sería el único factor capaz de generar la saturación del consumo del microzooplancton en el Estuario de Bahía Blanca. La composición específica del microzooplancton y el tamaño y contenido relativo de clorofila *a* de las presas serían factores adicionales que regulan el tipo de respuesta trófica de la comunidad planctónica.

Otro tipo de respuesta registrada durante este estudio, fue la ausencia de correlación entre la tasa de consumo y la concentración de presas en los tratamientos diluidos (CV, agosto de 2010). Este comportamiento puede ocurrir cuando la concentración de presas está por debajo del umbral de consumo (Frost 1975, Gifford 1988, Rublee y Gallegos 1989). Una vez superado cierto umbral, el consumo del microzooplancton se activa y comienza a responder linealmente a la concentración del alimento. De hecho, durante este experimento se registró la menor concentración de clorofila *a* correspondiente a la fracción menor a 20 μm de todo el estudio ($1,044 \mu\text{g l}^{-1}$). Asimismo, la concentración de presas (dominadas por NF<5) fue relativamente baja ($325 \text{ cél l}^{-1} \times 10^3$). Los experimentos realizados en CV durante octubre y noviembre de 2009 mostraron un comportamiento similar, sin embargo, la forma de la curva parece no adecuarse a la respuesta antes mencionada. Además, la composición de presas y consumidores durante estos experimentos fue marcadamente diferente a la registrada en agosto de 2010. En particular, durante estos experimentos, el microzooplancton estuvo dominado por ciliados desnudos y la concentración de presas fue baja. Es probable que la baja concentración de presas en los tratamientos diluidos, haya generado una alta tasa de mortalidad de ciliados desnudos por inanición (Dolan et al. 2000, Dolan y McKeon 2005). Aunque la tasa de cambio del microzooplancton no fue calculada en este estudio, el comportamiento de las curvas en estos experimentos junto con la dominancia de ciliados

desnudos y la baja concentración de presas podrían indicar un baja supervivencia de ciliados en los tratamientos diluidos.

Las pendientes positivas son más difíciles de explicar ya que pueden ser el resultado de mecanismos complejos de regeneración de nutrientes, contaminación del agua filtrada utilizada para realizar las diluciones o efectos de cascadas tróficas dentro de las botellas (Calbet y Saiz 2013). Este tipo de comportamiento fue detectado en CV durante julio y agosto de 2009, y podría ser el resultado de la mortalidad del microzooplancton en los tratamientos menos diluidos por depredación. La presencia de depredadores del microzooplancton, puede llegar a generar pendientes positivas, sobre todo en condiciones de consumo saturado (Calbet et al. 2008, Calbet et al. 2011, Calbet y Saiz 2013). Aunque la concentración de micrometazoos (los cuales podrían potencialmente alimentarse del microzooplancton) fue relativamente baja, resultó llamativa la presencia del dinoflagelado *Gyrodinium fusus* durante estos experimentos, el cual alcanzó la máxima concentración de todo el período (318 cél l⁻¹). Aunque estudios anteriores han registrado la presencia de diatomeas en las vacuolas digestivas de esta especie (Barría de Cao y Piccolo 2008), es probable que la misma se alimente de protistas heterótrofos al igual que otras especies del mismo género (e.g. Uchida et al. 1997). Asimismo, es posible que durante estos experimentos, la concentración de presas haya llegado a saturar el consumo del microzooplancton ya que se registraron altas concentraciones de clorofila *a* (13,46 y 6,052 µg l⁻¹ en julio y agosto de 2009 respectivamente). Más aún, en julio de 2009 la concentración de NF<5 y de la diatomea *Thalassiosira* sp. alcanzó los máximos valores de todo el período. También se registró la concentración más alta de clorofila *a*. Altas concentraciones de ciliados mixótrofos en las botellas de incubación, también podría resultar en pendientes positivas, ya que se verían beneficiados en los tratamientos menos diluidos (Calbet et al. 2012). Sin embargo, durante julio y agosto de 2009, la concentración de mixótrofos fue relativamente baja (66 cél l⁻¹), y por ello resulta improbable que fueran un factor ocasional del tipo de respuesta obtenida.

Durante los experimentos realizados el 11 marzo de 2010 en CV, se detectó un tipo de respuesta adicional en el que la curva mostró forma de “V” (Elser y Frees 1995, Teixeira y Figueiras 2009). Al igual que en la respuesta de consumo saturado, este tipo de respuesta puede interpretarse como un cambio en la tasa de filtración del microzooplancton promovido por una alta concentración de presas. Sin embargo, el aumento de la tasa aparente de crecimiento del fitoplancton en el tratamiento no diluido, puede atribuirse a la selectividad activa y pasiva por parte de los consumidores. De hecho, Teixeira y Figueiras (2009) simularon un experimento de consumo

saturado en el cual la tasa de consumo de dos especies del microzooplancton difería según la presa ofrecida. En la primera simulación, se asumió preferencia del microzooplancton sobre la presa menos abundante (selectividad activa), mientras que en la segunda, se asumió preferencia sobre la presa más abundante (selectividad pasiva). En ambos casos, los autores obtuvieron una respuesta tipo “V”. Estos resultados señalan que la relación entre la concentración de presas y la concentración de consumidores no es el único factor que genera respuestas de consumo saturado, sino que el tipo de presas ofrecidas también juega un rol importante. Los mecanismos de selectividad activa y pasiva son quizás algunos de los factores más importantes que determinan el impacto del consumo del microzooplancton en la productividad primaria en el Estuario de Bahía Blanca.

3.6.4. Consideraciones metodológicas

Los resultados obtenidos mediante la técnica de la dilución, representan información valiosa y novedosa sobre la dinámica trófica del microzooplancton en el Estuario de Bahía Blanca. Además, las desviaciones de la linealidad, más que una limitación de la técnica representan una fortaleza, ya que permitieron inferir respuestas tróficas de la comunidad bajo diferentes condiciones bióticas y ambientales. Sin embargo, para mejorar la interpretación de estas desviaciones es necesario monitorear la comunidad planctónica durante el período de incubación y en las diferentes diluciones (Dolan et al. 2000, First et al. 2007). El crecimiento y la mortalidad del microzooplancton durante el período de incubación, no fue considerado en este estudio, aunque son factores que pueden haber causado la falta de linealidad en la respuesta del crecimiento del fitoplancton (Gallegos 1989). Además, los supuestos que requiere esta técnica para establecer relaciones lineales, son difícilmente satisfechos en ambientes eutróficos (Landry et al. 1995).

Al utilizar la técnica de la dilución, es preciso contemplar las posibles fuentes de error que podrían dificultar la estimación de las tasas de crecimiento y alimentación. Por ejemplo, las tasas de consumo estimadas durante este estudio, podrían estar sobreestimadas ya que el diseño metodológico utilizado, no contempla la mortalidad del microzooplancton por depredación. Estudios previos realizados en el Estuario de Bahía Blanca, demuestran que el microzooplancton forma parte preferencial de la dieta del mesozooplancton durante gran parte del año (Diodato y Hoffmeyer 2008, Dutto 2013). Por lo tanto, en condiciones naturales, la presión de pastoreo ejercida por el microzooplancton estaría sujeta a la tasa de mortalidad debida al consumo del

mesozooplancton. Más aún, la depredación entre organismos del microzooplancton puede llegar a contrarrestar la productividad diaria del mismo (Franzé y Modigh 2013). Del mismo modo, el crecimiento de consumidores de menor tamaño durante la incubación (*i.e.* nanoflagelados heterótrofos), puede generar distintos efectos en los componentes planctónicos analizados, lo cual no es considerado por esta técnica (Agis et al. 2007).

Otro factor que puede generar una sobreestimación del consumo, es el agotamiento de nutrientes durante los experimentos, lo que generaría una causa extra de mortalidad fitoplanctónica (Gallegos 1989). Cabe mencionar que este fenómeno es más común en aguas oligotróficas con bajas concentraciones de clorofila (Dolan et al. 2000).

Por otro lado, la validez de esta técnica depende en gran medida de la precisión del análisis de la clorofila *a*. En este estudio, la medición de clorofila *a* fue realizada mediante espectrofotometría. Esta técnica suele ser poco sensible y puede arrojar valores menos precisos que otras técnicas. Gutierrez Rodríguez et al. (2009), demostraron que la alta correlación entre *g* y *k* podría ser un artefacto de la técnica como resultado de un error en la medición de clorofila *a* y de un alto desvío estándar de los valores de *g* y *k*. Por ello, en futuros estudios es recomendable minimizar los errores de medición mediante la utilización de un mayor número de botellas de incubación y la aplicación de técnicas de estimación de clorofila más precisas (*e.g.* espectrofluorometría).

A pesar de sus limitaciones, esta técnica sigue siendo uno de los métodos más utilizados para estimar el consumo del microzooplancton, ya que es relativamente sencilla y requiere de una leve manipulación de la comunidad, minimizando el estrés provocado a los organismos durante el experimento. Asimismo, Landry et al. (1995) recomiendan que para comprobar la validez de los resultados de esta técnica, es recomendable realizar experimentos simultáneos mediante técnicas complementarias, como por ejemplo la medición de la tasa de ingestión de partículas marcadas. La técnica proporciona una visión acotada de lo que ocurre en las redes tróficas microbianas, ya que sólo contempla la herbivoría del microzooplancton. Sin embargo, las presas seleccionadas por los protistas heterótrofos no se limitan al plancton autótrofo, sino que consumen una amplia gama de organismos desde bacterias hasta otros microorganismos heterótrofos (Sherr y Sherr 2002). Por ello, la aplicación de técnicas complementarias brindará la información necesaria para validar los datos obtenidos mediante los experimentos de dilución, a la vez que aportará detalles sobre las interacciones dentro de la comunidad.

Capítulo 4.

Interacciones tróficas dentro de la comunidad microbiana

4.1. Introducción

La configuración de las comunidades planctónicas define en gran medida si la materia orgánica proveniente de la zona fótica es remineralizada y retenida en aguas superficiales o exportada hacia el lecho marino (Wassmann 1998, Azam y Malfatti 2007). En ambientes oligotróficos, la comunidad planctónica suele estar dominada por bacterias heterótrofas, sin embargo, a medida que la concentración de nutrientes aumenta, la comunidad pasa a estar dominada por los productores primarios (Cho y Azam 1990, Gasol et al. 1997). El mecanismo por el cual ocurren estas modificaciones estructurales en áreas productivas, puede ser explicado por la disponibilidad de la materia orgánica disuelta (MOD) y por las interacciones tróficas que ocurren dentro de la comunidad microbiana.

La MOD, representa la principal fuente de moléculas reducidas de C que sustenta el crecimiento de bacterias heterótrofas en los océanos (Benner et al. 1992). En estuarios y otros ambientes eutróficos, la labilidad de la MOD y por ende la eficiencia del crecimiento bacteriano, suele ser mayor que en ambientes oligotróficos (Søndergaard y Middelboe 1995, del Giorgio y Cole 1998). La exudación del fitoplancton (Wiebe y Smith 1977), el consumo y excreción de depredadores (Nagata 2000) y la lisis viral (Noble et al. 1999) aportan la mayor parte de la MOD en ambientes marinos, aunque en ambientes costeros, el aporte alóctono desde el continente también puede ser importante (Cauwet 2002). En ambientes con diferentes concentraciones naturales de nutrientes inorgánicos, el aporte de C suele estimular el crecimiento bacteriano (*e.g.* Carlson y Ducklow 1996, Kirchman y Rich 1997, Church et al. 2000), lo que sugiere que el C representa uno de los principales factores limitantes de las bacterias heterótrofas en los océanos. La naturaleza y disponibilidad del recurso limitante establece el potencial de producción de su consumidor específico (de Baar 1994), por ello, la estequiometría del carbono y los nutrientes inorgánicos de

un sistema, configura la estructura de la comunidad microbiana y las vías de transferencia de energía (Azam et al. 1983, Jiao et al. 2010).

Las interacciones interespecíficas como la competencia por recursos compartidos entre bacterias y productores primarios y la depredación, son factores adicionales que configuran la estructura de las comunidades microbianas y por ende, el destino del C en un sistema (Thingstad et al. 1997, Figura 4.1). Cuando la concentración de nutrientes es baja (ambientes oligotróficos) las bacterias pueden dominar sobre el fitoplancton ya que cuentan con una mayor relación superficie/volumen y otras estrategias fisiológicas que les permiten hacer uso eficiente de los nutrientes cuando éstos se encuentran en bajas concentraciones (Currie y Kalff 1984, Button 1998). En estas condiciones, la concentración de C orgánico disuelto (COD) define la magnitud de la biomasa bacteriana. A medida que la concentración de nutrientes y el grado de trofismo del sistema aumentan, el fitoplancton responde de manera proporcional y genera importantes cantidades de MOD mediante el exudado de moléculas orgánicas (Cole et al. 1982). Este pool adicional de C estimula el crecimiento bacteriano que a su vez aporta nutrientes por procesos de remineralización, dando lugar a una relación de comensalismo y acoplamiento. Como resultado del aumento en la productividad del sistema ocurre un aumento proporcional de depredadores.

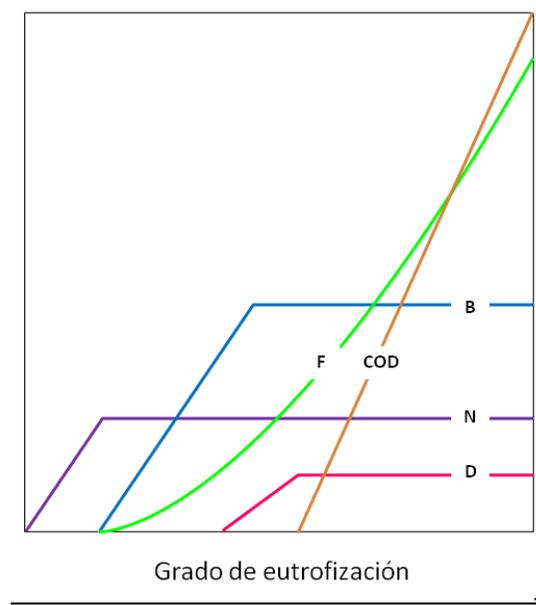


Figura 4.1. Esquema simplificado del modelo propuesto por Thingstad et al. (1997) que ilustra las modificaciones en la concentración del nutriente limitante (N), bacterias (B), fitoplancton (F) y depredadores (D) y la tasa de acumulación neta de C orgánico disuelto (COD) de acuerdo al gradiente trófico.

Aunque las bacterias cuentan con varios mecanismos para evitar la depredación (Matz y Kjelleberg 2005, Diaz et al. 2013), en general cuentan con menos recursos que el fitoplancton ya que dedican gran parte de su energía a maximizar la eficiencia de consumo de los recursos. En cambio, el fitoplancton cuenta con varias estrategias para escapar de los depredadores, como la formación de cadenas, la presencia de espinas y secreción de mucus y sustancias químicas repelentes (Juttner 2001, Tillmann 2004, Winter et al. 2010). En consecuencia, la presión de pastoreo suele ser superior sobre las bacterias que sobre el fitoplancton. A su vez, el aumento de biomasa fitoplanctónica genera una mayor tasa de utilización de nutrientes inorgánicos y las bacterias deben competir con el fitoplancton por la utilización de los mismos. Como resultado, disminuye el acoplamiento bacterias-fitoplancton, disminuye la tasa de crecimiento bacteriana y ocurre una acumulación neta de COD (Thingstad et al. 1997). De hecho, varios estudios han documentado que en ambientes productivos, las bacterias heterótrofas consumen un menor porcentaje del C generado por los productores primarios (del Giorgio et al. 1997).

Asimismo, la presencia de otros depredadores no específicos de bacterias (no contemplados por el modelo de la Figura 4.1) puede afectar el acoplamiento entre bacterias y fitoplancton ya sea directamente, mediante el pastoreo sobre bacterias, o indirectamente mediante el pastoreo sobre el fitoplancton productor de MOD (*e.g.* Vaqué et al. 2004, Duarte et al. 2005).

4.2. **Objetivos**

- ✓ Conocer la composición y contribución relativa de la comunidad microbiana en los dos sitios de muestreo en verano.
- ✓ Analizar las tasas de crecimiento y producción de los elementos de la trama y las tasas de consumo del microzooplancton y de nanoflagelados heterótrofos utilizando la técnica del fraccionamiento por tamaño.
- ✓ Establecer la relación entre la estequiometría del C y nutrientes inorgánicos y el funcionamiento de la comunidad microbiana en ambos sitios.

4.3. **Hipótesis**

- ✓ Los componentes pico y nanoplanctónicos representan una parte importante de la comunidad planctónica del Estuario de Bahía Blanca y participan en la transferencia de C y nutrientes inorgánicos hacia los niveles tróficos superiores.
- ✓ La diferente carga de nutrientes y material orgánico de cada sitio genera modificaciones en la configuración y funcionamiento de la trama microbiana.

4.4. Materiales y Métodos

4.4.1. La técnica del fraccionamiento por tamaño

Esta técnica estima el consumo de diferentes fracciones del plancton mediante la medición directa del crecimiento y mortalidad de presas debida al consumo al inicio y finalización de un período de incubación (Kivi y Setälä 1995, Sato et al. 2007, Vargas et al. 2007, 2008). Para ello, se establecen tres tratamientos que contienen distintas fracciones de tamaño: 0,2 a 2 μm (bacterias y picocianobacterias), 2 a 20 μm (nanoflagelados autótrofos [NFA] y heterótrofos [NFH]) y 20 a 135 μm (microzooplancton). Esto permite establecer la tasa de crecimiento de las presas en presencia y ausencia de depredadores. Para calcular las tasas de consumo, se confrontan las fracciones 0,2-2 y 2-20 μm , para estimar el consumo de NFH sobre bacterias y picocianobacterias y las fracciones 2-20 y 20-135 μm para estimar el consumo del microzooplancton sobre los NFA y NFH.

El cálculo de las tasas crecimiento y consumo se realizan mediante una modificación de las ecuaciones de Frost (1972) en Gifford (1993). La tasa de crecimiento de las presas, k (d^{-1}), se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$C_2 = C_1 e^{k(t_2 - t_1)}$$

donde C_1 y C_2 son las concentraciones de presas al comienzo (t_1) y finalización (t_2) del experimento. El coeficiente de consumo o pastoreo, g (d^{-1}), es calculado según:

$$C_2^* = C_1 e^{(k-g)(t_2 - t_1)}$$

donde C_2^* es la concentración de presas al final del experimento en las botellas que contengan consumidores. La concentración media de presas, $\langle C \rangle$ (presas μl^{-1}), se calcula mediante:

$$\langle C \rangle = \frac{C_1 (e^{(k-g)(t_2 - t_1)} - 1)}{(t_2 - t_1)(k - g)}$$

La tasa de filtración, F (μl depredador $^{-1}$ h $^{-1}$), se calcula según la siguiente ecuación:

$$F = \frac{Vg}{N}$$

donde V es el volumen de la botella de incubación y N es el número de depredadores en la botella. La tasa de ingestión, I (presa depredador⁻¹ h⁻¹), es calculada mediante:

$$I = F < C >$$

La tasa de ingestión específica de C (IEC, µg C presa µg C depredador⁻¹ h⁻¹) se puede obtener mediante la siguiente ecuación:

$$IEC = \frac{I}{\text{Biomasa de consumidores}}$$

El porcentaje de productividad de las presas consumida por el microzooplancton y los NFH, fue estimada como la relación g:k x 100 (Calbet y Landry 2004). Para disminuir el efecto de valores extremos, los datos fueron transformados por el arcotangente.

4.4.2. Diseño de muestreo

Los experimentos de alimentación se realizaron en ambos sitios de muestreo, CV y BM, en el mes de marzo de 2012. Esta época fue seleccionada considerando que el principal pulso anual de microzooplancton ocurre en el verano, junto con el primer pulso anual de fitoplancton (Gayoso 1999, Pettigrosso y Barría de Cao 2004).

En cada sitio se recolectaron 10 l de agua de mar sub-superficial y se consideraron tres fracciones de tamaño: <3 µm (picoplancton), <20 µm (picoplancton y nanoplancton) y <135 µm (picoplancton, nanoplancton y microplancton). Las fracciones <3 y <20 µm se obtuvieron mediante filtración por vacío con filtros de policarbonato de 3 µm de poro y con malla de 20 µm de poro respectivamente. La fracción <135 µm se obtuvo filtrando mediante sifoneo suave con una malla de 135 µm de abertura de poro.

Se tomaron muestras de las tres fracciones para registrar la composición y concentración de microorganismos al inicio del experimento. Al mismo tiempo se colocaron 500 ml de cada fracción en recipientes por triplicado previamente enjuagados con HCl al 1% y se llevaron a incubar

durante 24 hs *in situ* para mantener las condiciones de fotoperíodo y temperatura ambiente. Los recipientes fueron llenados hasta el tope, con cuidado de no dejar burbujas de aire en el interior. Los mismos se colocaron en una bolsa de red que se mantuvo a flote mediante una boya y se fijó en el lugar de muestreo mediante un ancla. Se registraron las condiciones ambientales (temperatura, salinidad y pH) y la concentración de nitrito, nitrato, amonio, fosfato y silicato al inicio del experimento. Al finalizar el período de incubación, se separaron submuestras de los recipientes experimentales para el recuento e identificación de los microorganismos.

4.4.3. Análisis del picoplancton

Se destinó una submuestra de 10 ml de cada una de las réplicas iniciales y finales de las fracciones <3 y <20 μm , las cuales fueron fijadas con 0,53 ml de formaldehído al 40% (c.f. 2%). Para el procesamiento de las mismas, se siguió la metodología descrita por Porter y Feig (1980). Se colocó 1 ml de muestra preservada en una columna de filtración cuyos componentes fueron previamente esterilizados en autoclave. Debido a la alta concentración de sedimentos, se analizó 1 ml de muestra. Se agregó la solución DAPI que es un fluorocromo altamente específico del ADN (c.f. 3 $\mu\text{g ml}^{-1}$) y luego de 7-10 minutos se filtró con vacío suave a través de un filtro negro de policarbonato de 0,2 μm de poro y 25 mm de diámetro. Se utilizó un filtro blanco de respaldo de ésteres de celulosa de 0,45 μm y 25 mm de diámetro para permitir una distribución uniforme de las partículas. Una vez que el filtro se secó, se lo extrajo con una pinza esterilizada y se lo colocó entre porta y cubre. Se colocó una gota de vaselina en el portaobjetos y sobre el filtro y se lo presionó suavemente para distribuir adecuadamente la vaselina. Los preparados se conservaron en freezer a -20° C hasta el momento del análisis. Entre cada muestra, se enjuagó la columna con agua MilliQ (Alder et al. 2009).

El recuento de organismos se llevó a cabo mediante microscopía de epifluorescencia. Los preparados fueron analizados bajo una magnificación de 100X. Las bacterias heterótrofas se identificaron bajo excitación con filtro UV mientras que las picocianobacterias se identificaron bajo excitación con filtro verde. Se tomaron 10 microfotografías con cada filtro de excitación en campos seleccionados al azar. Este procedimiento minimizó el tiempo de trabajo en el microscopio, lo cual evitó la pérdida de intensidad de fluorescencia del DAPI durante el análisis. Se contaron todas las células presentes en cada imagen utilizando el software *ImageJ*. El área de la imagen se calculó usando una escala conocida bajo la magnificación utilizada para los recuentos y

fue de $1,09 \times 10^{-2} \text{ mm}^2$. La densidad celular (cél μl^{-1}) se obtuvo multiplicando el promedio de células por foto por el siguiente factor:

$$F = \frac{AF \times fd}{AO \times VF}$$

donde AF es el área neta de filtración ($404,7 \text{ mm}^2$), fd es el factor de dilución de la muestra en el fijador (1,053 ml), AO es el área de la unidad de recuento ($1,09 \times 10^{-2} \text{ mm}^2$) y VF es el volumen de la muestra filtrada (1 ml).

Para el cálculo de la biomasa se definieron tres categorías de acuerdo a la composición de la población observada en las muestras: cocos, bacilos y picocianobacterias. Se midió el tamaño de aproximadamente 50 células de cada tipo morfológico y se calculó su volumen celular (Alder et al. 2009). Para hallar la biomasa individual de las bacterias se utilizó el modelo alométrico: $m = CV^a$. Este modelo tiene la ventaja de asumir que la biomasa celular (m) y la concentración de carbono (C) son dependientes del volumen (V). A su vez, dado que la relación biomasa/volumen no es lineal en cada clase de tamaño, incorpora un factor de escala (a) para mejorar la precisión de la estimación. Se utilizaron los factores de conversión propuestos por Simon y Azam (1989): $C=0,09$ y $a=0,59$ (Alder et al. 2009).

4.4.4. Análisis del nanoplancton

Se destinó una submuestra de 100 ml de cada una de las réplicas iniciales y finales de las fracciones <20 y $<135 \mu\text{m}$, las cuales fueron fijadas con 5,3 ml de formaldehído al 40% (c.f. 2%). Las muestras fueron conservadas en oscuridad y heladera a 4°C hasta el momento del análisis. Para el análisis preliminar cualitativo se realizó una tinción dual con DAPI y Proflavina (Cuevas et al. 2009). Esta tinción permite identificar distintos grupos taxonómicos ya que la Proflavina se une a la membrana plasmática, cilias y flagelos (Verity y Sieracki 1993). Se colocaron 5 ml de muestra preservada en una columna de filtración cuyos componentes fueron previamente esterilizados en autoclave. La alta concentración de sedimento dificultó la observación de los organismos, por lo tanto, para disminuir el error en el recuento de células se recomienda analizar entre 1 y 2 ml de muestra. Se agregó la solución DAPI (c.f. $5 \mu\text{g ml}^{-1}$) y se esperó 4 minutos. Luego se agregó la solución de Proflavina (c.f. $5 \mu\text{g ml}^{-1}$) y se esperó 1 minuto. Se filtró con vacío suave a través de un filtro negro de policarbonato de $0,2 \mu\text{m}$ de poro y 25 mm de diámetro. Se utilizó un filtro blanco de respaldo de ésteres de celulosa de $0,45 \mu\text{m}$ y 25 mm de diámetro para permitir una distribución

uniforme de las partículas. Una vez que el filtro se secó, se lo extrajo con una pinza esterilizada y se lo colocó entre porta y cubre. Se colocó una gota de vaselina en el portaobjetos y sobre el filtro y se lo presionó suavemente para distribuir adecuadamente la vaselina. Los preparados se conservaron en freezer a -20° C hasta el momento del análisis. Entre cada muestra, se enjuagó la columna con agua MilliQ (Cuevas et al. 2009). Los preparados fueron analizados bajo una magnificación de 100X y excitados con el filtro azul para la identificación de formas autótrofas (el citoplasma fluoresce en verde y los plástidos en rojo) y heterótrofas (fluorescen en verde) y con el filtro verde para la identificación de picocianobacterias y criptofitas (fluorescen en rojo).

El recuento de organismos se realizó mediante la técnica de sedimentación en cámaras (Hasle 1978). Esta técnica resultó más ventajosa ya que facilitó la identificación de diatomeas, dinoflagelados y cocolitofóridos (cuya determinación no puede ser realizada mediante la técnica de epifluorescencia) además de permitir la discriminación entre flagelados autótrofos y heterótrofos. Cabe aclarar que la identificación del modo trófico se realizó mediante la combinación de las técnicas de microscopía óptica y de fluorescencia. Se sedimentó entre 1 y 2 ml de muestra preservada con formaldehído y se analizó una fracción del área de la cámara bajo una magnificación de 40X. La densidad celular (cél l⁻¹) se obtuvo multiplicando el total de células contadas por el siguiente factor:

$$F = \frac{AF \times fd}{AO \times VF}$$

donde AF es el área de la cámara (4,91 cm²), fd es el factor de dilución de la muestra en el fijador (1,053 ml), AO es el área de la unidad de recuento (0,21 cm²) y VF es el volumen de la muestra filtrada (1 ml).

Para el cálculo de la biomasa se midió la mayor cantidad posible de células de cada especie o grupo identificado (hasta un máximo de 30 organismos) y se calculó el volumen celular (V) mediante aproximación a un cuerpo geométrico semejante (Hillebrand et al. 1999). La concentración de C se calculó mediante los factores señalados en la Tabla 2.1.

4.4.5. Análisis del microzooplancton

El análisis del microzooplancton se realizó de acuerdo a la metodología detallada en el Capítulo 2 (pág. 16).

4.4.6. Análisis de datos

Las diferencias en la composición taxonómica de los sitios se analizaron mediante el análisis de conglomerados (cluster) por el método jerárquico (ver sección “Análisis de datos” en Materiales y Métodos del Capítulo 2, pág. 22). Las diferencias en las variables entre sitios, se analizaron mediante un Test t de muestras independientes (Sokal y Rohlf 1999).

Para estimar la selectividad trófica del microzooplancton, se calculó el índice de selectividad descrito por Vanderploeg y Scavia (1979). Este índice se calcula según las siguientes ecuaciones:

$$E_i = \frac{W_i - (1/n)}{W_i + (1/n)} \qquad W_i = \frac{F_i}{\sum F_i}$$

donde E_i es el índice de selectividad sobre cada ítem trófico y n el número de presas disponibles. W_i es el coeficiente de selección y F_i es la tasa de filtración sobre la presa i . Aquellas tasas de filtración que dieron negativas, fueron consideradas igual a cero.

También se calculó el índice de diversidad de Shannon- Wiener (H' , Shannon y Weaver 1949) y el índice de equitatividad de Pielou (J' , Pielou 1969) según las siguientes ecuaciones:

$$H' = - \sum (p_i [\log p_i]) \qquad J' = \frac{H'}{\log S}$$

donde S es el número total de especies y p_i es la proporción de la especie i en la muestra. El índice de diversidad se calculo a nivel de especies, sin embargo, en los casos en que las especies no fueron claramente diferenciadas, se utilizo la fracción de tamaño como factor de discriminación.

4.5. Resultados

4.5.1. Condiciones ambientales

Las variables ambientales al momento de la realización de los experimentos se muestran en la Tabla 4.1. La temperatura mostró valores más altos en CV, mientras que la salinidad, la concentración de oxígeno disuelto y su porcentaje de saturación, el pH y la turbidez fueron más altos en BM. Sólo la turbidez mostró diferencias significativas entre los sitios ($t=4,825$, $gl=2$, $p=0,04$).

Tabla 4.1. Valor medio y desvío estándar (DS) de las variables ambientales en los sitios de muestreo durante los experimentos de alimentación realizados el 06/03/2012. Los valores de p en negrita indican diferencias significativas entre sitios. Las unidades de medición se muestran entre paréntesis.

	BM		CV		p
	Media	DS	Media	DS	
Temperatura (°C)	22.2	0.707	23.35	0.354	0.176
Salinidad	40.33	0.094	38.8	1.131	0.196
O ₂ disuelto (mg l ⁻¹)	6.32	0.156	5.475	0.474	0.139
% saturación de O ₂	88	0.283	77.7	7.071	0.176
pH	8.255	0.035	8.165	0.035	0.126
Turbidez (NTU)	160.5	30.406	54	7.071	0.040

La concentración de nutrientes se muestra en la Tabla 4.2. La relación media entre nitrógeno inorgánico disuelto (NID= $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$), silicato y fosfato fue de 10:29:1 en BM y 13:10:1 en CV. Según la relación de Redfield (1965), ninguno de los nutrientes llegó a ser limitante para el crecimiento de fitoplancton y bacterias en CV, sin embargo, en BM, tanto el NID como el fosfato fueron limitantes para el desarrollo del fitoplancton (Tabla 4.2).

4.5.2. Estructura de la comunidad microbiana

La concentración media de bacterias al inicio de los experimentos en BM fue de $3049,4 \pm 1805,6$ cél μl^{-1} , mientras que en CV fue de $909,67 \pm 336,74$ cél μl^{-1} . La concentración de picocianobacterias fue mucho más baja y varió entre $21,21 \pm 3,06$ cél μl^{-1} en BM y $1,29 \pm 2,24$ cél μl^{-1} en CV. La concentración de picocianobacterias fue significativamente superior en BM ($t=9,08$, $gl=4$, $p=0,000$). La biomasa de bacterias fue mayor en BM ($76,49 \pm 44,86$ $\mu\text{gC l}^{-1}$) que en CV ($22,94 \pm 8,51$

$\mu\text{gC l}^{-1}$). La biomasa de picocianobacterias (BM: $1,30 \pm 0,19 \mu\text{gC l}^{-1}$; CV: $0,08 \pm 0,14 \mu\text{gC l}^{-1}$) también fue superior en BM, y esta diferencia fue estadísticamente significativa ($t=9,08$, $gl=4$, $p=0,001$).

Tabla 4.2. Valor medio y desvío estándar (DS) de la biomasa del fitoplancton ($\mu\text{g C}_F \text{ l}^{-1}$), bacterias y picocianobacterias ($\mu\text{g C}_B \text{ l}^{-1}$) y la concentración ambiental de nitrógeno inorgánico disuelto ($\mu\text{g N l}^{-1}$), fosfato ($\mu\text{g P l}^{-1}$) y silicato ($\mu\text{g Si l}^{-1}$). Los valores de p en negrita indican diferencias significativas entre sitios. También se muestra la relación entre el N y P con el C de origen fitoplanctónico (C_F) y bacteriano (C_B). Los valores en cursiva indican valores mayores a la relación de Redfield.

	BM		CV		p
	media	DS	media	DS	
$\mu\text{g C}_F \text{ l}^{-1}$	750.29	170.5	192.9	21.07	0.005
$\mu\text{g C}_B \text{ l}^{-1}$	77.79	45.05	23.02	8.550	0.107
$\mu\text{g N l}^{-1}$	25.20	1.500	164.3	0.100	0.000
$\mu\text{g P l}^{-1}$	0.920	0.490	3.530	0.420	0.002
$\mu\text{g Si l}^{-1}$	45.79	12.39	67.17	0.320	0.040
$C_F:N$	29.8		1.2		-
$C_F:P$	813.2		54.7		-
$C_B:N$	3.1		0.1		-
$C_B:P$	84.3		6.5		-

La abundancia y la biomasa del nanoplancton fueron significativamente más altas en BM que en CV (abundancia: $t=7,83$, $gl=4$, $p=0,001$; biomasa: $t=5,15$, $gl=4$, $p=0,007$). En BM, la abundancia fue de $10 \pm 1,54 \text{ cél } \mu\text{l}^{-1}$, mientras que en CV fue de $2,86 \pm 0,34 \text{ cél } \mu\text{l}^{-1}$. La biomasa varió entre $1,29 \times 10^{-3} \pm 3,4 \times 10^{-4} \mu\text{gC l}^{-1}$ en BM y $3 \times 10^{-4} \pm 3 \times 10^{-5} \mu\text{gC l}^{-1}$ en CV (Tabla 4.2).

La comunidad nanoplanctónica estuvo dominada por diatomeas, representadas principalmente por las especies *Thalassiosira minima*, *Cyclotella* spp. y *Thalassionema nitzschioides* (Tabla 4.3). Éstas constituyeron el 65,7 y 70,6 % de la abundancia total en BM y CV respectivamente. Los flagelados autótrofos más abundantes fueron *Pyramimonas* sp., flagelados esféricos no identificados y picoeucariotas, contribuyendo con un 33,2 y 27,5% a la abundancia total del nanoplancton en BM y CV respectivamente. Asimismo, en los tratamientos finales aumentó considerablemente la concentración de un euglenófito no identificado (Tabla 4.3). Los dinoflagelados y otros grupos como los cocolitofóridos, nanociliados y dos especies del género *Calycomonas*, representaron menos del 2% de la abundancia total en ambos sitios.

Tabla 4.3. Valor medio y desvío estándar (DS) de la abundancia del nanoplancton al inicio de los experimentos (cél μl^{-1}) y coeficiente de selectividad trófica del microzooplancton sobre cada ítem trófico (Ei) en ambos sitios de muestreo.

	BM			CV		
	media	DS	Ei	media	DS	Ei
Diatomeas						
<i>Asterionellopsis glacialis</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.68
<i>Cylindrotheca closterium</i>	0.23	0.40	-0.60	0.00	0.00	0.64
<i>Cylotella</i> sp.	6.78	1.76	-0.60	3.27	0.00	-0.87
<i>Cylotella striata</i>	0.00	0.00	-1.00	2.10	0.23	-1.00
<i>Guinardia delicatula</i>	0.93	0.81	-1.00	0.70	0.84	-0.66
<i>Navicula</i> sp.	1.40	1.86	-1.00	0.16	0.13	-1.00
<i>Nitzschia</i> sp. 1	2.57	1.07	-0.85	0.08	0.13	-0.27
<i>Nitzschia</i> sp. 2	0.23	0.40	-1.00	0.00	0.00	0.00
<i>Nitzschia</i> sp. 3	0.00	0.00	0.00	0.39	0.27	-1.00
<i>Paralia sulcata</i>	8.88	4.67	0.39	0.39	0.67	-1.00
<i>Skeletonema</i> sp.	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.83
<i>Thalasionema nitzchoides</i>	8.88	3.16	-0.94	1.64	0.84	-1.00
<i>Thalassiosira minima</i>	35.76	6.69	-0.33	11.45	0.84	-0.69
Dinoflagelados						
<i>Gyrodinium</i> sp.	0.00	0.00	-1.00	0.00	0.00	-1.00
Aff. <i>Karenia mikimatoy</i>	0.47	0.40	0.60	0.00	0.00	-1.00
<i>Prorocentrum micans</i>	0.00	0.00	0.37	0.00	0.00	0.00
<i>Protoperidinium</i> aff. <i>bipes</i>	0.00	0.00	0.60	0.00	0.00	0.00
Flagelados						
<i>Eutreptiella</i> sp.	1.40	0.70	-1.00	0.00	0.00	-1.00
NFA>5 μm	1.26	0.36	-1.00	0.28	0.22	-1.00
NFA<5 μm	1.17	1.07	-1.00	1.40	0.40	-0.81
NFH	1.50	0.47	-0.33	0.19	0.08	-1.00
<i>Pyramimonas</i> sp.	3.04	0.81	-1.00	1.71	0.13	-1.00
Otros						
<i>Calycomonas</i> sp. 1	0.70	0.70	-1.00	0.23	0.23	-1.00
<i>Calycomonas</i> sp. 2	0.00	0.00	0.33	0.16	0.27	0.64
Nanociliados	0.00	0.00	0.62	0.00	0.00	0.00
Cocolitofóridos	0.00	0.00	0.46	0.16	0.27	-1.00

La riqueza de especies fue similar en ambos sitios. En BM se registró un total de 28 especies mientras que en CV se registraron 26. El índice de diversidad fue de 2,20 en BM y de 2,16 en CV. El índice de equitatividad fue de 1,72 en BM y de 1,69 en CV. La estructura de la comunidad fue

marcadamente diferente en ambos sitios (Figura 4.2). *Thalassiosira minima*, NFH, NFA>5, *Paralia sulcata* y *Thalasionema nitzchoides*, contribuyeron con el 84% de la disimilitud entre sitios (ANOSIM $p=0,10$, $R\sim 1$).

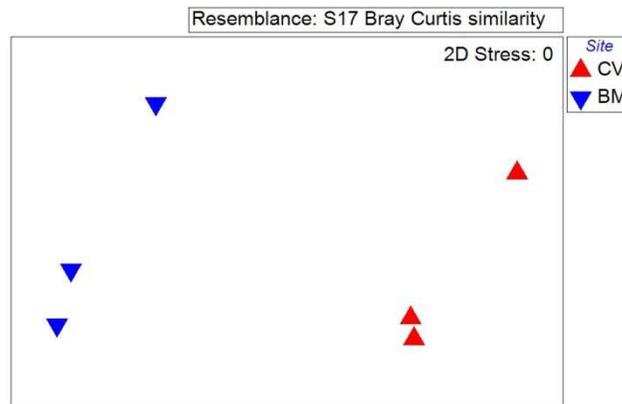


Figura 4.2. Ordenación espacial de las muestras según la composición taxonómica de cada sitio. Se encontraron diferencias significativas entre BM y CV (ANOSIM $p=0,10$, $R\sim 1$). En la esquina superior derecha se indica el grado de ajuste del método (stress). A pesar del valor de significancia alto, que indicaría que habría que aceptar la hipótesis nula, el valor de R global cercano a 1 resalta que en realidad la composición específica del plancton en los sitios BM y CV es significativamente diferente.

4.5.3. Crecimiento, consumo y selectividad trófica

Las tasas de crecimiento del nanoplancton y bacterias se muestran en la Tabla 4.4., mientras que las tasa de consumo del microzooplancton y NFH, se muestran en la Tabla 4.5. La tasa de crecimiento (k) fue significativamente mayor en CV, mientras que las tasas de consumo (g) y de ingestión (I) fueron significativamente más altas en BM. Asimismo, la concentración media de presas disponibles para el microzooplancton fue significativamente más alta en BM. La tasa de filtración del microzooplancton también fue mayor en BM, sin embargo no se hallaron diferencias significativas, probablemente debido al desvío entre las réplicas del experimento. Los índices de selectividad trófica del microzooplancton se muestran en la Tabla 4.3. En ambos sitios, la mayoría de los ítems tróficos fueron eludidos ($E_i < 0$) o ignorados ($E_i = 0$). En BM, el 61 y 11% de las presas fueron negativamente seleccionadas o ignoradas respectivamente. En CV, el 69% de las presas fueron negativamente seleccionadas y el 15% fueron ignoradas. Las presas preferenciales del microzooplancton en BM fueron *Paralia sulcata*, aff. *Karenia mikimatoy*, *Prorocentrum micans*, *Protoperidinium aff. bipes*, *Calycomonas sp.2*, nanociliados y cocolitofóridos. En CV, las especies

seleccionadas fueron *Asterionellopsis glacialis*, *Cylindrotheca closterium*, *Skeletonema* sp. y *Calycomonas* sp.2.

Tabla 4.4. Valor medio y desvío estándar (DS) de la tasa de crecimiento (k , d^{-1}), tasa de producción (P , $\mu g C l^{-1} h^{-1}$) y concentración media de bacterias ($\langle C_B \rangle$) y de nanoplancton total ($\langle C_{NPT} \rangle$, presa μl^{-1}) en los sitios BM y CV. Los valores de p en negrita indican diferencias significativas entre sitios. B: bacterias, D: diatomeas, NFA: nanoflagelados autótrofos, NFH: nanoflagelados heterótrofos, MZ: microzooplancton, NPT: nanoplancton total.

	BM		CV		p
	media	DS	media	DS	
B	0.217	0.948	1.174	0.905	0.165
D	0.000	0.366	0.818	0.174	0.008
k NFA	0.000	0.217	0.762	0.694	0.114
NFH	0.000	0.584	0.000	0.690	0.182
MZ	0.197	0.124	0.000	0.000	0.014
B	0.948	2.556	2.347	1.934	0.412
D	0.000	0.000	8.478	1.947	0.046
P NFA	1.999	1.889	2.737	1.347	0.611
NFH	0.000	0.000	0.000	0.000	0.047
MZ	0.000	0.000	0.119	0.180	0.243
$\langle C_B \rangle$	260.0	29.50	1484	871.1	0.096
$\langle C_{NPT} \rangle$	7.206	0.655	4.225	0.238	0.002

En BM, el microzooplancton consumió en promedio el 157% de la productividad nanoplanctónica diaria, mientras que es CV, consumió sólo el 3,54%. Los NFH, consumieron el 154% de la productividad bacteriana diaria en BM, y el 33,7% en CV. La tasa de ingestión específica de C del microzooplancton fue de $278,44 \pm 23,97$ y $97,60 \pm 211,85 \mu g C$ presa $\mu g C$ depredador $^{-1} h^{-1}$ en BM y CV respectivamente, mientras que la tasa de ingestión específica de C de los NFH fue de $429,74 \pm 59,79$ y $411,91 \pm 807,76 \mu g C$ presa $\mu g C$ depredador $^{-1} h^{-1}$ en BM y CV respectivamente.

Tabla 4.5. Valor medio y desvío estándar (DS) de la tasa de consumo (g , d^{-1}), tasa de remoción de presas (F , μl depredador $^{-1} h^{-1}$) y tasa de ingestión (I , presa depredador $^{-1} h^{-1}$) del plancton en los sitios BM y CV. Las tasas de consumo, filtración e ingestión del microzooplancton sobre todos sus ítems tróficos y sobre el nanoplancton total se detallan por separado. Los valores de p en negrita indican diferencias significativas entre sitios. B: bacterias, D: diatomeas, NFA: nanoflagelados autótrofos, NFH: nanoflagelados heterótrofos, MZ: microzooplancton, NPT: nanoplancton total.

	BM		CV		p	
	media	DS	media	DS		
Tasas de alimentación de NFH						
g	8.023	0.808	0.412	0.807	0.001	
F	0.223	0.023	0.176	0.345	0.876	
I	57.76	0.743	111.9	248.5	0.806	
Tasas de alimentación del MZ						
g	D	0.373	0.303	0.021	0.061	0.120
	NFA	0.000	0.191	0.000	0.342	0.665
	NFH	0.927	0.176	0.000	0.290	0.003
	NPT	0.336	0.029	0.027	0.059	0.001
F	D	3.114	2.531	0.640	1.847	0.243
	NFA	0.000	1.594	0.000	10.37	0.288
	NFH	7.743	1.469	0.000	8.812	0.020
	NPT	2.809	0.242	0.824	1.788	0.129
I	D	137.1	116.5	19.99	56.68	0.192
	NFA	0.000	33.14	0.000	118.0	0.410
	NFH	2431	625.0	0.000	25.08	0.010
	NPT	20.23	2.475	3.196	7.174	0.018

4.6. Discusión

4.6.1. Estructura de la trama trófica microbiana

La composición taxonómica de ambos sitios fue marcadamente diferente, sin embargo, la comunidad planctónica autótrofa estuvo dominada por diatomeas en ambos sitios de muestreo. El segundo grupo más importante fue el de los NFA, que representaron el 20% de la biomasa de los productores primarios. Estudios previos sobre la dinámica anual del fitoplancton en el Estuario de Bahía Blanca, mostraron que los nanoflagelados alcanzan una concentración máxima en primavera-verano, luego del bloom estacional de diatomeas (Gayoso 1998, 1999). Aunque la disponibilidad de nutrientes inorgánicos fue mucho mayor en CV en comparación a BM (donde llegaron a ser limitantes para el fitoplancton), la diversidad de especies fue similar en ambos sitios. Esta paradoja (Hutchinson 1961) no puede ser resuelta por la presencia de diferentes nichos espaciales (Richerson et al. 1970), ya que la fuerte dinámica vertical y el efecto de la marea y el viento generan condiciones relativamente homogéneas en la columna de agua del Estuario de Bahía Blanca. La coexistencia de un mismo número de especies en diferentes concentraciones de nutrientes podría ser explicada por el efecto de la depredación diferencial (Tabla 4.2), ya que tanto los NFH como el microzooplancton, mostraron selectividades específicas sobre distintos ítems tróficos.

En contraparte, las picocianobacterias fueron muy escasas y representaron, en promedio, el 0,1% de la biomasa de los productores primarios en ambos sitios. En la plataforma bonaerense, se ha documentado que la comunidad picoplanctónica de verano está dominada por cianobacterias del género *Synechococcus* (Silva et al. 2009). Un factor que podría estar limitando el desarrollo de este grupo en el Estuario de Bahía Blanca, sería la competencia con diatomeas por recursos compartidos limitantes como el fósforo (Tilman 1977). Estudios experimentales, mostraron que de acuerdo al estado fisiológico de las células y a la especie de fósforo disponible en el ambiente, la afinidad de *Synechococcus* por este elemento puede ser menor que la de diatomeas del género *Thalassiosira* (Donald et al. 1997). Sin embargo, otro estudio mostro que tanto *Synechococcus* como *Prochlorococcus* tienen un bajo requerimiento de fósforo en ambientes naturales (Bertilsson et al. 2003). *Prochlorococcus* es otro género de cianobacterias que habita en la mayor parte de los ambientes marinos y es uno de los organismos fotosintéticos más abundantes, sin embargo se ha

documentado que puede ser desplazado por diatomeas en ambientes con alto nivel de nutrientes (Partensky et al. 1999).

La concentración de bacterias heterótrofas en BM y CV fue similar a la encontrada en otros estuarios del mundo (e.g. Bent y Goulder 1981, Hoch y Kirchman 1993, Bacelar-Nicolau et al. 2003). Sin embargo, contrariamente a lo esperado, la concentración de bacterias fue un orden de magnitud mayor en BM que en CV. Asimismo, en BM la densidad de bacterias fue más del doble de la concentración registrada en el Río de la Plata en invierno (Peressutti et al. 2010) y en la plataforma subantártica Argentina en verano (Franzosi et al. 2012). Un estudio anual realizado sobre el canal principal del Estuario de Bahía Blanca, mostró que la concentración de bacterias heterótrofas disminuye desde la cabecera hacia la boca del estuario (Cabezalí y Burgos 1988). Aunque la temperatura, es uno de los principales factores moduladores del bacterioplancton en el estuario del Río de la Plata y la plataforma Argentina (Alonso et al. 2010, Franzosi et al. 2012), el estudio mencionado reveló que en el Estuario de Bahía Blanca la concentración de bacterias no muestra una relación clara con la temperatura (Cabezalí y Burgos 1988). Los autores sugieren que la biomasa bacteriana está controlada por mecanismos *top-down*, ya que las menores concentraciones se asocian a los picos anuales de nanoflagelados. Cabe aclarar, que este estudio fue realizado utilizando la técnica de recuento en placa, la cual subestima la densidad y diversidad total de bacterias ya que sólo considera a las especies capaces de crecer en cultivo (Hugenholtz et al. 1998).

La menor concentración de todos los grupos planctónicos en CV, podría deberse a la combinación de varios factores como la menor concentración de oxígeno disuelto, dilución por efecto del desagüe cloacal y del arroyo Napostá y toxicidad generada por ciertos metales pesados como el plomo, cobre, zinc y mercurio que son acumulados en el área adyacente a la descarga cloacal (Marcovecchio et al. 2008). Asimismo, el amonio es la principal especie de nitrógeno aportada por el efluente cloacal (Marcovecchio et al. 2008, Tombesi et al. 2000), y es probable que este compuesto produzca efectos deletéreos sobre la comunidad planctónica (Adams et al. 2008). El origen de la materia orgánica podría ser un factor adicional que determina la diferencia en la abundancia de bacterias heterótrofas entre ambos sitios. En BM, la mayor parte de la MOD es de origen autóctono y proviene del exudado de células fitoplanctónicas y el detrito generado por la degradación de las plantas vasculares que cubren las marismas adyacentes (Montemayor et al. 2011, Negrin et al. 2013). Este tipo de MOD, suele ser eficientemente degradada por acción bacteriana ya que presenta una mayor labilidad (del Giorgio y Cole 1998). En cambio, en CV el

efluente cloacal aporta la mayor proporción de material orgánico (Marcovecchio et al. 2008). Asimismo, dada la importante actividad antropogénica en la zona, las marismas adyacentes se encuentran mayormente descubiertas de vegetación. Los efluentes cloacales sin tratamiento, suelen contener una mayor proporción de MOD refractaria (Imai et al. 2002, Nguyen y Hur 2011), por ello, podría esperarse que en CV, la MOD sería más resistente a la degradación bacteriana. Cuanto menor sea la eficiencia del consumo bacteriano, menor será la proporción de C remineralizado en el ambiente pelágico y mayor la proporción que es exportado hacia el fondo (del Giorgio y Cole 1998).

4.6.2. Flujos de materia orgánica y nutrientes

Los flujos de materia en la trama trófica microbiana fueron marcadamente diferentes en ambos sitios de muestreo (Figura 4.3). En BM, los recursos compartidos entre bacterias y productores primarios (nitrógeno inorgánico disuelto y fosfato), habrían limitado el crecimiento del fitoplancton, mientras que los recursos no compartidos (materia orgánica y silicato) se encontraron en exceso según la relación C:N:P:Si del plancton (Redfield et al. 1965). En cambio, en CV, tanto los recursos compartidos como los no compartidos, se encontraron en exceso al momento del experimento. En ambas condiciones, los productores primarios, particularmente las diatomeas, dominaron la biomasa planctónica. Esto coincide con lo registrado en la mayor parte de los estuarios del mundo, donde la relación entre bacterias y productores primarios es menor (del Giorgio y Cole 1998).

La relación entre bacterias y productores primarios no pudo ser caracterizada adecuadamente a partir de los resultados del experimento, sin embargo, dado que la concentración basal de materia orgánica disuelta en el Estuario de Bahía Blanca es alta, y que la dinámica del fosfato está fuertemente afectada por el patrón anual de productividad del fitoplancton (Gayoso 1998), cabe suponer que la interacción entre bacterias y fitoplancton estaría caracterizada en mayor medida por una relación de competencia por recursos compartidos (principalmente fosfato) y en menor medida por el comensalismo (utilización bacteriana de MOD de origen fitoplanctónico). Sin embargo, la concentración de nutrientes no llegó a limitar el crecimiento de bacterias heterótrofas en ninguno de los sitios de muestreo, y la depredación fue uno de los principales factores que controló la biomasa bacteriana. De hecho, la presión de pastoreo sobre las bacterias fue mucho mayor que sobre el fitoplancton. Dado que las bacterias están controladas por mecanismos *top-*

down, una importante fracción de la MOD disponible escapa de la acción bacteriana en el ambiente pelágico, permitiendo que una parte del pool de C disuelto producido en la zona fótica alcance el fondo y dé sustento a la comunidad microbiana bentónica. Asimismo, considerando la supuesta naturaleza refractaria de la MOD en CV, se espera que la acumulación de MOD en este sitio sea aún mayor. La lisis celular provocada por virus bacteriófagos (Proctor y Fuhrman 1990, Kirchman 2013) y el consumo por parte de ciliados (Christaki et al. 1998, Pernthaler 2005) representan otras fuentes potenciales de mortalidad microbiana, y deberían ser consideradas en estudios futuros. En particular, podría suponerse que *T. balechi*, la especie más representativa del microzooplancton en el Estuario de Bahía Blanca, fuera un potencial consumidor de bacterioplancton considerando su volumen celular ($2940,5 \mu\text{m}^3$), el diámetro oral de su lorica ($17,3 \mu\text{m}$) y el diámetro de su peristoma ($12 \mu\text{m}$) (Barría de Cao et al. 1997).

Por otra parte, las principales fuentes de MOD en estuarios son la descarga continental, el aporte desde marismas y la productividad autóctona del fitoplancton, macroalgas y plantas vasculares (Cloern 1996). En muchos estuarios, las fuentes autóctonas de MOD pueden llegar a ser más importantes que el aporte terrígeno (*e.g.* Raymond y Bauer 2001). En el caso del Estuario de Bahía Blanca, la productividad del fitoplancton es muy alta (Freije y Gayoso 1986) y se ha documentado que las plantas vasculares halófitas que cubren gran parte de las marismas del estuario aportan material orgánico a la columna de agua luego de ser cubiertas periódicamente por la marea (Montemayor et al. 2011, Negrin et al. 2013). Esto sumado al escaso aporte continental que recibe el estuario ($2 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$), hace suponer que la principal fuente de MOD es autóctona. De hecho, la concentración de MOD sigue un patrón anual similar al del fitoplancton (A. Martinez, com. pers.). Esto podría generar un acoplamiento entre bacterias y fitoplancton sobre todo en épocas en que la concentración de los consumidores del bacterioplancton es baja (*e.g.* invierno).

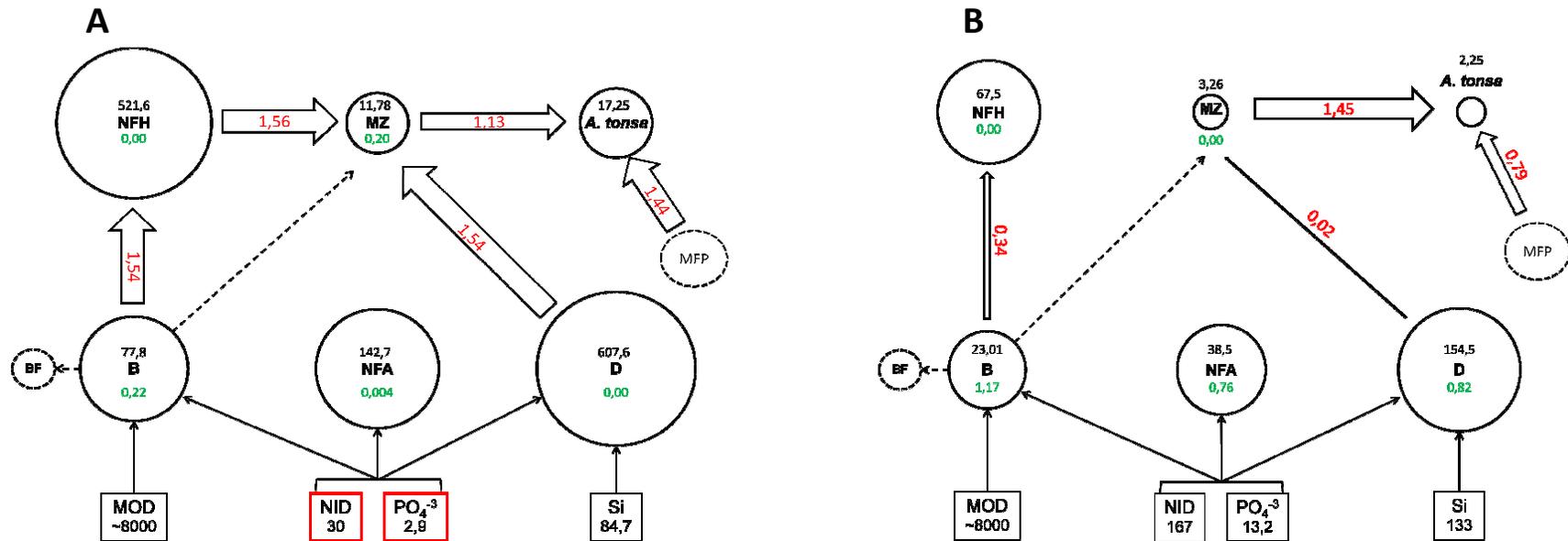


Figura 4.3. Modelo de las vías de transferencia trófica en los sitios BM (A) y CV (B), desde la trama microbiana hasta los metazoos, ejemplificados por el copépodo clave *Acartia tonsa*. Los círculos representan los componentes de la trama trófica y su área denota la contribución de C por parte de cada grupo (en escala logarítmica). La biomasa de cada componente ($\mu\text{g C l}^{-1}$) se indica en cifras de color negro. Las flechas representan los flujos significativos entre componentes, y su grosor indica el impacto del consumo sobre la productividad diaria de las presas (g:k , adimensional), el cual también se muestran en cifras de color rojo. Las tasas de crecimiento de cada componente (d^{-1}) se muestran en cifras de color verde. También se muestra la concentración de nutrientes y MOD ($\mu\text{g l}^{-1}$). La concentración de MOD fue estimada mediante la relación MOD/MOP=3,4 utilizada en ambientes donde el material particulado en suspensión oscila entre 50 y 150 mg l^{-1} (Meybeck 1982). Las flechas punteadas señalan la pérdida potencial de biomasa bacteriana por lisis viral y consumo por parte de ciertas especies del microzooplancton, la cual no fue estimada en este estudio. Tanto el nitrógeno inorgánico disuelto (NID) como el fosfato (PO_4^{-3}), fueron limitantes para las diatomeas BM. Los valores de biomasa de *A. tonsa* fueron tomados de Villagran (2013). Las tasas de filtración de *A. tonsa* fueron obtenidas en experimentos realizados en marzo de 2009 en los mismos sitios de muestreo (Dutto 2013). B: bacterias, BF: bacteriófagos, NFA: nanoflagelados autótrofos, D: Diatomeas, NFH: nanoflagelados heterótrofos, MZ: microzooplancton, MFP: microfitoplancton.

4.6.3. Vías de transferencia e interacciones tróficas

Aunque la proporción relativa de los componentes de la trama trófica fue la misma en ambos sitios, las vías de transferencia fueron diferentes. En BM, las interacciones fueron más complejas, configurando una red trófica de tipo omnívora. En cambio, en CV, se encontró una trama trófica más sencilla, donde el C fue transferido hacia los niveles superiores principalmente a través del fitoplancton y del microzooplancton.

La omnivoría es una estrategia que puede compensar la baja calidad nutricional de ciertas presas (Suida y Dam 2010). La calidad de presas podría definirse por la relación intracelular de C:N:P, y depende de la concentración de nutrientes en el ambiente (John y Davidson 2001). De hecho, la relación C:N:P=106:16:1 (Redfield et al. 1965), sólo es alcanzada cuando la concentración de nutrientes no limita el crecimiento de las presas (Goldman et al. 1979). Cuanto menor es la diferencia en la estequiometría elemental de presas y consumidores, mayor es la calidad del alimento para el consumidor (Sterner y Elser 2002). Asimismo, en ambientes naturales, un aporte externo de nutrientes limitantes puede generar un consumo exagerado (*luxury uptake*) por parte de las presas, las cuales experimentan un cambio estequiométrico que se traduce en una estimulación casi inmediata en la producción de sus depredadores ("*trophic tunnelling*", Thingstad et al. 2005). Por ello, dado que la concentración de nutrientes limitó el crecimiento fitoplanctónico en BM, podría esperarse una mayor diferencia estequiométrica entre presas y depredadores en comparación a CV, donde los nutrientes se encontraron en exceso. Esto podría haber generado un cambio de comportamiento trófico por parte del zooplancton, el cual consumió una mayor variedad de ítems tróficos para compensar la diferencia estequiométrica. De hecho, los NFH poseen un mayor porcentaje de P y por lo tanto un mayor valor nutritivo (Sanders et al. 1996), lo que también explicaría la selección positiva sobre este grupo en BM. Un factor adicional que podría haber generado el desacople entre NFH y microzooplancton en CV, sería un efecto cascada dentro de la cadena trófica (Casini et al. 2008). La presión de pastoreo del mesozooplancton junto con las condiciones ambientales adversas encontradas en CV, provocarían una menor concentración de microzooplancton en comparación con el área no afectada (BM). Esta menor concentración de microzooplancton, generaría un menor impacto en la población de presas (NFH y diatomeas).

Los NFH representaron la mayor parte de la biomasa de los consumidores en ambos sitios y controlaron la biomasa bacteriana. En ambientes costeros, las interacciones dentro de la red

trófica como la depredación diferencial, suelen ser el principal factor modulador de la biomasa bacteriana. Una de las posibles explicaciones a este fenómeno es que en estos ambientes las poblaciones bacterianas son generalistas, lo que significa que pueden utilizar un amplio espectro de compuestos orgánicos de C. Por ende, la calidad y disponibilidad de la MOD suele ser un factor modulador de menor importancia (Mou et al. 2008). Dado que los nutrientes no fueron limitantes para el crecimiento de las bacterias en ninguno de los sitios, la relación intracelular N:P de bacterias resultaría adecuada para la nutrición de los NFH (Arrigo 2005). Su rol en la base de la trama trófica pelágica del Estuario de Bahía Blanca, resulta clave ya que actuarían como la principal vía de transferencia entre el bacterioplancton y los niveles tróficos superiores.

Por otra parte, aunque la concentración de NFA durante el experimento fue alta, este grupo fue excluido de la dieta del microzooplancton. Quizás esto se deba a que representaron el ítem trófico menos abundante en comparación a otros componentes autótrofos en ambos sitios. Aunque los mecanismos de selección sobre este grupo son inciertos, los NFA representarían una importante vía de transferencia de C hacia los niveles tróficos superiores especialmente en ambientes oligotróficos (Verity y Villareal 1986, Worden et al. 2004). Por su parte, la biomasa del microzooplancton estaría controlada por mecanismos *top-down* ya que esta fracción es positivamente seleccionada por el mesozooplancton en ambos sitios de muestreo y en diferentes momentos de año (Diodato y Hoffmeyer 2008, Dutto 2013).

La diferente concentración de nutrientes inorgánicos en ambos sitios de muestreo, juega un rol trascendental en la estequiometría elemental del plancton, dando como resultado, modificaciones en el hábito trófico del microzooplancton y por ende en el ciclo local del C. Esto resalta la importancia que aparentemente tienen los cambios en la concentración natural de nutrientes, la cual se ve modificada por el régimen de lluvias y por el patrón anual de la productividad primaria en el Estuario de Bahía Blanca (Spetter et al. 2013).

Capítulo 5.

Conclusiones generales

- ✓ El efecto del efluente cloacal, impactó notablemente en el ambiente pelágico del área adyacente al punto de descarga. A nivel bioquímico, se observó un aumento considerable en los niveles de nutrientes inorgánicos y C orgánico particulado, así como un descenso en la concentración de oxígeno disuelto, clorofila *a* y feopigmentos.
- ✓ La mayor disponibilidad de recursos, amplió la capacidad de carga de este ambiente, dando sustento a una mayor concentración de células fitoplanctónicas. Sin embargo, la asociación de especies en este sitio fue marcadamente diferente a la hallada en BM, donde no se registra contaminación cloacal. En CV, la comunidad estuvo ampliamente dominada por pequeños flagelados y en menor medida por diatomeas típicas. Asimismo, la relación entre el C fitoplanctónico y la clorofila *a* fue marcadamente superior.
- ✓ A pesar de la mayor disponibilidad de presas en CV, la abundancia del microzooplancton en este sitio fue marcadamente inferior, a excepción de los ciliados mixótrofos, los cuales se vieron beneficiados en este sitio. Estas modificaciones en la estructura de la comunidad planctónica son atribuibles al efecto deletéreo de la concentración excesiva de nutrientes, especialmente el amonio, el cual habría superando el umbral de tolerancia de muchas especies. Además, frente a estas condiciones estresantes, la comunidad mostró una menor reactividad ante el evento de lluvias extremas registrado durante este estudio. El claro acoplamiento entre el plancton y las condiciones ambientales, resalta la importancia de resolver de qué manera responderán las comunidades ante una mayor imprevisibilidad ambiental, y la posible transferencia de estas señales ambientales a través de la cadena trófica.
- ✓ La implementación de la técnica de la dilución, permitió establecer que el microzooplancton es una de las principales fuentes de mortalidad del fitoplancton en los meses cálidos, llegando a consumir en promedio, el 87% de la productividad primaria diaria. Contrariamente a lo esperado, se encontró que gran parte del C y nutrientes fluyen a través de la trama trófica microbiana, los cuales son canalizados mediante procesos de consumo y

regeneración. En el sitio CV, se encontraron varias desviaciones de la linealidad en la respuesta de la tasa de crecimiento del fitoplancton a la concentración de consumidores, las cuales fueron interpretadas como distintos tipos de respuesta trófica según la configuración planctónica al momento del experimento. Además, en este sitio se encontró que a pesar que existe una mayor proporción de presas potenciales, la proporción de presas reales es mucho menor en comparación a BM y que la capacidad del microzooplancton de controlar la biomasa fitoplanctónica, es limitada.

✓ La especie más conspicua del microzooplancton, *T. balechi*, no mostró relación con la tasa de consumo del microzooplancton, por lo cual se presume que desempeña hábitos no herbívoros. El rol trófico de esta especie clave del Estuario de Bahía Blanca, es uno de los principales interrogantes que surgen del presente estudio, y deberán ser abordados en estudios futuros.

✓ Los experimentos del fraccionamiento por tamaño realizados en marzo de 2012, complementaron adecuadamente los resultados obtenidos mediante la técnica de la dilución, brindando una perspectiva más detallada sobre las interacciones tróficas dentro de la comunidad microbiana. Por una parte, se encontró que las bacterias heterótrofas son una fuente sustancial de C que sustenta la cadena trófica microbiana, aunque sólo representaron el 10% de la biomasa aportada por el fitoplancton. Por otra parte, los resultados mostraron que los NFH representan un ítem preferencial dentro de la dieta del microzooplancton. La proporción de consumo sobre cada uno de los componentes de la trama trófica microbiana (a excepción de los NFA que fueron eludidos) en BM fue similar, por lo que se presume que en este sitio, la comunidad se encuentra relativamente balanceada. En cambio, en CV la presión de pastoreo del microzooplancton y NFH fue mucho menor. Además se encontró un desacople entre el microzooplancton y los NFH. Para entender los mecanismos subyacentes que generan estos cambios en el comportamiento trófico del plancton, será necesario estudiar el efecto de la carga excesiva de nutrientes y contaminantes sobre la fisiología y la estequiometría elemental de los organismos planctónicos.

✓ Teniendo en cuenta los resultados de consumo de los NFH, el microzooplancton y el mesozoplancton, puede concluirse que la trama trófica pelágica en el Estuario de Bahía Blanca es altamente eficiente y previene en gran medida la acumulación de biomasa fitoplanctónica. Por lo tanto, sólo una pequeña proporción del C producido en la columna de agua escaparía del ambiente pelágico y alcanzaría el fondo.

Bibliografía

- Abeliovich, A. y Azov, Y. 1976. Toxicity of ammonia to algae in sewage oxidation ponds. *Applied and Environmental Microbiology*, 31: 801-806.
- Aberle, N., Lengfellner, K. y Sommer, U. 2007. Spring bloom succession, grazing impact and herbivore selectivity of ciliate communities in response to winter warming. *Oecologia*, 150: 668-681.
- Adams, M.S., Stauber, J.L., Binet, M.T., Molloy, R. y Gregory, D. 2008. Toxicity of a secondary-treated sewage effluent to marine biota in Bass Strait, Australia: development of action trigger values for a toxicity monitoring program. *Marine Pollution Bulletin*, 57: 587-598.
- Agis, M., Granda, A. y Dolan, J.R. 2007. A cautionary note: Examples of possible microbial community dynamics in dilution grazing experiments. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 341: 176-183.
- Alamo, A. y Bouchon, M. 1987. Changes in the food and feeding of the sardine (*Sardinops sagax*) during the years 1980-1984 off the Peruvian coast. *Journal of Geophysical Research*, 92: 411-415.
- Alder, V.A., Cuevas, L.A. y Franzosi, C.A. 2009. Picoplankton. En: Alder V.A. y Morales, C.E. (eds.). *Manual de métodos para el estudio de sistemas planctónicos marinos*. Eudeba, Universidad de Buenos Aires, pp. 27-64.
- Alonso, C., Gómez-Pereira, P., Ramette, A., Ortega, L., Fuchs, B.M. y Rudolf, A. 2010. Multilevel diversity analysis of bacterial communities along the environmental gradient Rio de la Plata-South Atlantic Ocean. *Aquatic Microbial Ecology*, 61: 57-72.
- Andersen, J.H., Schlüter, L. y Ærtebjerg, A.G. 2006. Coastal eutrophication: recent developments in definitions and implications for monitoring strategies. *Journal of Plankton Research*, 28: 621-628.
- Arcos, D.F., Cubillos, L.A. y Nuñez, S.P. 2001. The jack mackerel fishery and El Niño 1997-98 effects of Chile. *Progress in Oceanography*, 49: 597-617.
- Arntz, W.E. y Tarazona, J. 1990. Effects of the El Niño on benthos, fish and fisheries off the South American Pacific coast. En: Glynn, P.W. (ed.). *Global ecological consequences of the 1982-83 El Niño-Southern Oscillation*. Elsevier Oceanography Series, Amsterdam, pp. 323-360.
- Arrigo, K.R. 2005. Marine microorganisms and global nutrient cycles. *Nature*, 438: 122-122.
- Ayukai, T. y Miller, T. 1998. Phytoplankton biomass, production and grazing mortality in Exmouth Gulf, a shallow embayment on the arid, tropical coast of Western Australia. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 225: 239-251.
- Azam, F. y Malfatti, F. 2007. Microbial structuring of marine ecosystems. *Nature*, 5: 782-791.
- Azam, F., Fenchel, T., Field, J.G., Gray, J.S., Meyer-Reil, L.A. y Thingstad, F. 1983. The ecological role of water-column microbes in the sea. *Marine Ecology Progress Series*, 10: 257-263.
- Azov, Y. y Goldman, J.C. 1982. Free ammonia inhibition of algal photosynthesis in intensive cultures. *Applied and Environmental Microbiology*, 43: 735-739.
- Bacelar-Nicolau, P., Nicolau, L.B., Marques, J.C., Morgado, F., Pastorinho, R. y Azeiteiro, U.M. 2003. Bacterioplankton dynamics in the Mondego Estuary (Portugal). *Acta Oecologica*, 24: 67-75.
- Baldini, M.D., Cubitto, M.A., Chiarello, M.N. y Cabezali, C.B. 1999. Water quality for aquaculture development in Bahía Blanca estuary, Argentina. *Bacteriological studies. Revista Argentina de Microbiología*, 31: 19-24.
- Balech, E. 1964. El plancton de Mar del Plata durante el período 1961-1962. *Boletín del Instituto de Biología Marina*, 4: 1-49.
- Balech, E. 1971. Microplankton de la campaña "Productividad II". *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia" Hidrobiología*, 3(1): 1-202.

- Balech, E. 1988. Los dinoflagelados del Atlántico Sudoccidental. Publicaciones especiales, Instituto Español de Oceanografía Nº 1, 310 pp.
- Balech, E. y Souto, S. 1980a. Los tintínidos de la campaña oceanográfica "Productividad IV". Parte I. *Physis* A39: 1-8.
- Balech, E. y Souto, S. 1981b. Los tintínidos de la campaña oceanográfica "Productividad IV". Parte II. *Physis* A39: 41-49.
- Barría de Cao, M.S. 1981. Contribución al conocimiento de los Tininoideos (Ciliata, Protozoa) de la zona de Bahía Blanca. Instituto Argentino de Oceanografía, Contribución científica Nº 61.
- Barría de Cao, M.S. 1986. Contribución al conocimiento de Tintinnina (Protozoa, Ciliophora) de la zona de Bahía Blanca (Argentina) II. *Boletín del Instituto Español de Oceanografía*, 3(1): 143-150.
- Barría de Cao, M.S. 1992. Abundance and species composition of Tintinnina (Ciliophora) in Bahía Blanca Estuary, Argentina. *Estuarine and Coastal Shelf Science*, 34: 295-303.
- Barría de Cao, M.S. 2002. Citología, bioecología y taxonomía de Tintinnida (Ciliophora). Tesis doctoral. Universidad Nacional del Sur, Argentina, 213 pp.
- Barría de Cao, M.S. y Piccolo, M.C. 2008. Presencia y variación estacional del dinoflagelado heterótrofo *Gyrodinium fusus* (Meunier) Akselman en el Estuario de Bahía Blanca, Argentina. *Atlántica, Rio Grande*, 30(2): 129-137.
- Barría de Cao, M.S., Beigt, D. y Piccolo, M.C. 2005. Temporal variability of diversity and biomass of tintinnids (Ciliophora) in a southwestern Atlantic temperate estuary. *Journal of Plankton Research*, 27(11): 1103-1111.
- Barría de Cao, M.S., López Abbate, M.C., Pettigrosso, R.E. y Hoffmeyer, M.S. 2013. The planktonic ciliate community and its relationship with the environmental conditions and water quality in two bays of the Beagle Channel, Argentina. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 93: 1753-1760.
- Barría de Cao, M.S., Pettigrosso, R.E. y Popovich, C. 1997. Planktonic ciliates during a phytoplankton bloom in Bahía Blanca Estuary, Argentina. II Tintinnids. *Oebalia*, 23: 21-31.
- Barría de Cao, M.S., Pettigrosso, R.E., Parodi, E. y Freije, R.H. 2003. Abundance and species composition of planktonic Ciliophora from the wastewater discharge zone in the Bahía Blanca Estuary, Argentina. *Iheringia, Série Zoolgia, Porto Alegre*, 93(3): 229-236.
- Barría de Cao, M.S., Piccolo, M.C. y Perillo, G.M.E. 2011. Biomass and microzooplankton seasonal assemblages in the Bahía Blanca Estuary, Argentinean Coast. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 91(5): 953-959.
- Barros, V.R. y Silvestri, G.E. 2002. The relation between sea surface temperature at the subtropical South-Central Pacific and precipitation in southeastern South America. *Journal of Climate*, 15: 251-267.
- Beaugrand, G., Reid, P.C., Ibañez, F., Lindley, A. y Edwards, M. 2002. Reorganization of North Atlantic marine copepod biodiversity and climate. *Science*, 296: 1692-1694.
- Behrenfeld, M.J., Randerson, J.T., McClain, C.R., Feldman, G.C., Los, S.O., Tucker, C.J., Falkowski, P.G., Field, C.B., Frouin, R., Esaias, W.E., Kolber, D.D. y Pollack, N.H. 2001. Biospheric primary production during an ENSO transition. *Science*, 291: 2594-2597.
- Béjà, O., Aravind, L., Koonin, E.V., Suzuki, M.T., Hadd, A., Nguyen, L.P., Jovanovich, S.B., Gates, C.M., Feldman, R.A., Spudich, J.L., Spudich, E.N. y DeLong, E.F. 2000. Bacterial rhodopsin: Evidence for a new type of phototrophy in the sea. *Science*, 289(5486): 1902-1906.
- Bench, S.R., Hanson, T.E., Williamson, K.E., Ghosh, D., Radosovich, M., Wang, K. y Wommack, K.E. 2007. Metagenomic characterization of Chesapeake Bay virioplankton. *Applied and Environmental Microbiology*, 73: 7629-7641.

- Benner, R., Pakulski J.D., McCarthy, M., Hedges, J.I. y Hatcher, P.G. 1992. Bulk chemical characteristics of dissolved organic matter in the ocean. *Science*, 255: 1561-1564.
- Bent, E.J. y Goulder, R. 1981. Planktonic bacteria in the Humber Estuary; seasonal variation in population density and heterotrophic activity. *Marine Biology*, 62: 35-4.
- Berges, J.A., Charlebois, D.O., Mauzerall D.C. y Falkowski, P.G. 1996. Differential effects of nitrogen limitation on photosynthetic efficiency of photosystems I and II in microalgae. *Plant Physiology*, 110: 689-696.
- Bertilsson, S., Berglund, O., Karl, D.M. y Chisholm, W. 2003. Elemental composition of marine *Prochlorococcus* and *Synechococcus*: Implications for the ecological stoichiometry of the sea. *Limnology and Oceanography*, 48(5): 1721-1731.
- 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, M.C., Berasategui, A.A., Fernández Severini, M.D. y Hoffmeyer, M.S. 2012. Sewage pollution effects on mesozooplankton structure in a shallow temperate estuary. *Environmental Monitoring and Assessment*, 184: 3901-3913.
- Bollens, S.M., Breckenridge, J.K., Vanden Hooff, R.C. y Cordell, J.R. 2011. Mesozooplankton of the lower San Francisco Estuary: spatio-temporal patterns, ENSO effects and the prevalence of non-indigenous species. *Journal of Plankton Research*, 0(0): 1-20.
- Børsheim, K.Y. y Bratbak, G. 1987. Cell volume to cell carbon conversion factors for a bacterivorous *Monas* sp. enriched from seawater. *Marine Ecology Progress Series*, 36: 171-175.
- Botto, F., Iribarne, O.O., Gutierrez, J., Bava, J., Gagliardini, A. y Valiela, I. 2006. Ecological importance of passive deposition of organic matter into burrows of the SW Atlantic crab *Chasmagnatus granulatus*. *Marine Ecology Progress Series*, 312: 201-210.
- Botto, F., Valiela, I., Iribarne, O.O., Martinetto, P. y Alberti, J. 2005. Impact of burrowing crabs on C and N sources, control, and transformations in sediments and food webs of SW Atlantic estuaries. *Marine Ecology Progress Series*, 293: 155-164.
- Bowser, S.S., McGee-Rusell, S.M. y Rieder, C.L. 1985. Digestion of prey in foraminifera is not anomalous: A correlation of light microscopic, cytochemical, and HVEM technics to study phagotrophy in two allogromiids. *Tissue & Cell*, 17(6): 823-839.
- Boyd, P.W., Strzepek, R., Fu, F. y Hutchins, D.A. 2010. Environmental control of open-ocean phytoplankton groups: Now and in the future. *Limnology and Oceanography*, 55(3): 1353-1376.
- Burkill, P.H., Edwards, E.S., Landry, M., Paranjape, M., Reckermann, M., Sieracki, M.E., Sleigh, M.A., Stoecker, D.K. y Verity, P.G. 1993. Microzooplankton herbivory. En: Ducklow, H.W. (ed.). *Revised JGOFS Protocols*. Intergovernmental Oceanographic Commission, Paris, pp. 185-191.
- Button, D.K. 1998. Nutrient uptake by microorganisms according to kinetic parameters from theory as related to cytoarchitecture. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62(3): 636-645.
- Cabezali, C.B. y Burgos, M.A. 1988. Distribución espacial y temporal de bacterias aerobias en el estuario de Bahía Blanca, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*, 20: 77-86.
- Calbet, A. 2001. Mesozooplankton grazing effect on primary production: A global comparative analysis in marine ecosystems. *Limnology and Oceanography*, 46(7): 1824-1830.
- Calbet, A. 2008. The trophic roles of microzooplankton in marine systems. *ICES Journal of Marine Science*, 65: 325-331.
- Calbet, A. y Landry, M.R. 2004. Phytoplankton growth, microzooplankton grazing, and carbon cycling in marine systems. *Limnology and Oceanography*, 49: 51-57.

- Calbet, A. y Saiz, E. 2005. The ciliate-copepod link in marine ecosystems. *Aquatic Microbial Ecology*, 38: 157-167.
- Calbet, A. y Saiz, E. 2013. Effects of trophic cascades in dilution grazing experiments: from artificial saturated feeding responses to positive slopes. *Journal of Plankton Research*, 35(6): 1183-1191.
- Calbet, A., Martínez, R.A., Isari, S., Zervoudaki, S., Nejstgaard, J.C., Pitta, P., Sazhin, A.F., Sousoni, D., Gomes, A., Berger, S.A., Tsagaraki, T.M. y Ptacnik, R. 2012. Effects of light availability on mixotrophy and microzooplankton grazing in an oligotrophic plankton food web: Evidences from a mesocosm study in Eastern Mediterranean waters. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 424: 66-77.
- Calbet, A., Saiz, E., Almeda, R., Movilla, J.I. y Alcaraz, M. 2011. Low microzooplankton grazing rates in the arctic ocean during a *Phaeocystis pouchetii* bloom (summer 2007): fact or artifact of the dilution technique? *Journal of Plankton Research*, 33: 687-701.
- Calbet, A., Trepát, I., Almeda, R., Saló, V., Saiz, E., Movilla, J.I., Alcaraz, M., Yebra, L. y Simó, R. 2008. Impacts of micro- and nanograzers on phytoplankton assessed by standard and size fractionated dilutions. *Aquatic Microbial Ecology*, 50: 154-156.
- Campuzano, F.J., Pierini, J.O., Leitão, P.C., Marcovecchio, J.E., Mateus, M. y Neves, R. 2008. Ecological conceptual model of the Bahía Blanca Estuary. *Ecomanage, integrated ecological coastal zone management system*, 24 pp.
- Capelli de Steffens, A.M. y Campo de Ferraras, A.M. 2004. Climatología. En: Piccolo, M.C. y Hoffmeyer, M.S. (eds.). *El ecosistema del Estuario de Bahía Blanca*. Instituto Argentino de Oceanografía, Argentina (ISBN 987-9281-96), pp. 69-78.
- Capriulo, G.M. 1990. Feeding related ecology of marine protozoa. En: Capriulo, G.M. (ed.). *Ecology of marine protozoa*. Oxford University Press, New York, pp. 186-259.
- Carlson, C.A. y Ducklow H.W. 1996. Growth of bacterioplankton and consumption of dissolved organic carbon in the Sargasso Sea. *Aquatic Microbial Ecology*, 10: 69-85.
- Caron, D.A. y Hutchins, D.A. 2013. The effects of changing climate on microzooplankton grazing and community structure: drivers, predictions and knowledge gaps. *Journal of Plankton Research*, 35(2): 235-252.
- Caron, D.A., Countway, P.D., Jones, A.J., Kim, D.Y. y Schnetzer, A. 2012. Marine protistan diversity. *Annual Review of Marine Science*, 4: 467-93.
- Caron, D.A., Countway, P.D., Lambert, S., Rose, J. y Schaffner, R. 2002. Protozoa in marine/estuarine waters. En: Bitton, G. (ed.). *Encyclopedia of Environmental Microbiology*, New York: Wiley, pp. 2613-2626.
- Caron, D.A., Worden, A.Z., Countway, P.D., Demir, E. y Heidelberg, K.B. 2009. Protists are microbes too: a perspective. *The ISME Journal*, 3: 4-12.
- Casini, M., Hjelm, J., Molinero, J.C., Lövgren, J., Kornilovs, G., Cardinale, M., Bartolino, V. y Belgrano, A. 2008. Trophic cascades promote threshold-like sudden shifts in the functioning of a pelagic marine ecosystem. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106: 197-202.
- Cauwet, G. 2002. DOM in the coastal zone. En: Hansell, D.A. y Carlson, A.C. (eds.). *Biogeochemistry of marine dissolved organic matter*. Elsevier, pp. 579-612.
- Chen, B., Landry, M.R., Huang, B. y Liu, H. 2012. Does warming enhance the effect of microzooplankton grazing on marine phytoplankton in the ocean? *Limnology and Oceanography*, 57: 519-526.
- Chen, B.Z. y Liu, H.B. 2010. Relationships between phytoplankton growth and cell size in surface oceans: Interactive effects of temperature, nutrients, and grazing. *Limnology and Oceanography*, 55: 965-972.
- Chen, B.Z., Liu, H.B., Landry, M.R., Chen, M., Sun, J., Shek, L., Chen, X.H. y Harrison, P.J. 2009. Estuarine nutrient loading affects phytoplankton growth and microzooplankton grazing at two contrasting sites in Hong Kong coastal waters. *Marine Ecology Progress Series*, 379: 77-90.

- Cho, B.C. y Azam, F. 1990. Biogeochemical significance of bacterial biomass in the ocean's euphotic zone. *Marine Ecology Progress Series*, 63: 253-259.
- Christaki, U., Dolan, J., Pelegri, S. y Rassoulzadegan, F. 1998. Consumption of picoplankton-size particles by marine ciliates: effects of physiological state of the ciliate and particle quality. *Limnology and Oceanography*, 43: 458-464.
- Church, M.J., Hutchins, D.A. y Ducklow, A.W. 2000. Limitation of bacterial growth by dissolved organic matter and iron in the Southern Ocean. *Applied and Environmental Microbiology*, 66: 455-466.
- Clarke K.R. y Warwick, R.M. 1994. Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation. 1st edition, Plymouth Marine Laboratory, Plymouth, UK, 144 pp.
- Clarke, K.R. y Ainsworth, M. 1993. A method of linking multivariate community structure to environmental variables. *Marine Ecology Progress Series*, 92: 205-219.
- Cloern, J.E. 1996. Phytoplankton bloom dynamics in coastal ecosystems: a review with some general lessons from sustained investigation of San Francisco Bay, California. *Reviews of Geophysics*, 34: 127-168.
- Cloern, J.E. 2001. Our evolving conceptual model of the coastal eutrophication problem. *Marine Ecology Progress Series*, 210: 223-253.
- Cole, J.J., Likens, G.E. y Strayer, D.L. 1982. Photosynthetically produced dissolved organic carbon: an important source for planktonic bacteria. *Limnology and Oceanography*, 27: 1080-1090.
- Collins, M. 2005. El Niño- or La Niña-like Climate Change? *Climate Dynamics*, 24 (1): 89-104.
- Conover, R.T. y Huntley, M.E. 1980. General rules of grazing in pelagic ecosystems. En: Falkowski P.G. (ed.). *Primary productivity in the sea*. Plenum Press, New York, pp 461-485.
- Conover, W.J., Johnson, M.E. y Johnson, M.M. 1981. A comparative study of tests for homogeneity of variances with applications to the outer continental shelf bidding data. *Technometrics*, 23(4): 351-361.
- Cuadrado, D.G., Ginsberg, S.S. y Gómez, E.A. 2000. Características físicas de un canal de marea interior en el estuario de Bahía Blanca (Buenos Aires). III Jornadas Nacionales de Geografía Física, Santa Fé, Argentina, pp. 113-120.
- Cuadrado, D.G., Ginsberg, S.S. y Gómez, E.A. 2004. Geomorfología. En: Piccolo, M.C. y Hoffmeyer, M.S. (eds.). *Ecosistema del Estuario de Bahía Blanca*. Instituto Argentino de Oceanografía, Argentina (ISBN 987-9281-96), pp. 29-42.
- Cuadrado, D.G., Gómez, E.A. y Ginsberg, S.S. 2005 Tidal and longshore sediment transport associated to a coastal structure. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 62: 291-300.
- Cuevas, L.A., Alder, V.A. y Santoferrara, L.F. 2009. Nanoplankton. En: Alder V.A. y Morales, C.E. (eds.). *Manual de métodos para el estudio de sistemas planctónicos marinos*. Eudeba, Universidad de Buenos Aires, pp. 65-93.
- Currie, D.J. y Kalff, J. 1984. A comparison of the abilities of freshwater algae and bacteria to acquire and retain phosphorus. *Limnology and Oceanography*, 29: 298-310.
- Dagg, M.J. 1995. Ingestion of phytoplankton by the micro- and mesozooplankton communities in a productive subtropical estuary. *Journal of Plankton Research*, 17: 845-857.
- Dai, A., Fung, I.Y. y Del Genio, A.D. 1997. Surface observed global and precipitation variations during 1900-88. *Journal of Climate*, 10: 2943-2962.
- Dam, H.G. 2013. Evolutionary adaptation of marine zooplankton to global change. *Annual Review of Marine Science*, 5: 349-370.
- Daufresne, M., Lengfellner, K. y Sommer, U. 2009. Global warming benefits the small in aquatic ecosystems. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, doi:10.1073/pnas.0902080106.
- de Baar, H.J.W. 1994. von Liebig's law of the minimum and plankton ecology (1899-1991). *Progress in Oceanography*, 33: 347-386.

- del Giorgio, P.A. y Cole, J.J. 1998. Bacterial growth efficiency in natural aquatic systems. *Annual Reviews of Ecology, Evolution and Systematics*, 29: 503-541.
- del Giorgio, P.A., Cole, J.J. y Cimleris, A. 1997. Respiration rates in bacteria exceed phytoplankton production in unproductive aquatic systems. *Nature*, 385: 148-151.
- DeLong, E.F. 2009. The microbial ocean from genomes to biomes. *Nature*, 459: 200-206.
- Diaz, J.M., Hansel, C.M., Voelker, B.M., Mendes, C.M., Andeer, P.F. y Zhang, T. 2013. Widespread production of extracellular superoxide by heterotrophic bacteria. *Science*, 340(6137): 1223-1226.
- Diodato, S.L. y Hoffmeyer, M.S. 2008. Contribution of planktonic and detritic fractions to the natural diet of mesozooplankton in Bahía Blanca Estuary. *Hydrobiologia*, 614: 83-90.
- Dolan, J.R. y McKeon, K. 2005. The reliability of grazing rate estimates from dilution experiments: Have we over-estimated rates of organic carbon consumption by microzooplankton? *Ocean Science*, 1: 1-7.
- Dolan, J.R., Gallegos, C.L. y Moigis, A. 2000. Dilution effects on microzooplankton in dilution grazing experiments. *Marine Ecology Progress Series*, 200: 127-139.
- Donald, K.M., Scanlan, D.J., Carr, N.G., Mann, N.H. y Joint, I. 1997. Comparative phosphorus nutrition of the marine cyanobacterium *Synechococcus* WH7803 and the marine diatom *Thalassiosira weissflogii*. *Journal of Plankton Research*, 19: 1793-1813.
- Doney, S.C., Abbott, M.R., Cullen, J.J., Karl, D.M. y Rothstein, L. 2004. From genes to ecosystems: the ocean's new frontier. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 2(9): 457-466.
- Duarte, C.M., Agustí, S., Vaqué, D., Agawin, N.S.R., Felipe, J., Casamayor, E.O. y Gasol, J.M. 2005. Experimental test of bacteria-phytoplankton coupling in the Southern Ocean. *Limnology and Oceanography*, 50(6): 1844-1854.
- Ducklow, H. 2000. Bacterial production and biomass in the oceans. En: Kirchman, D.L. (ed.). *Microbial Ecology of the Oceans*. 1st edition, Wiley-Liss, pp. 85-120.
- Dutto, M.S. 2013. Dinámica trófica del mesozooplancton en dos sitios del Estuario de Bahía Blanca con diferente nivel de impacto antrópico. Tesis doctoral, Universidad Nacional del Sur. 158 pp.
- Dutto, M.S. López Abbate, M.C., Biancalana, F., Berasategui, A.A. y Hoffmeyer, M.S. 2012. The impact of sewage on environmental quality and the mesozooplankton community in a highly eutrophic estuary in Argentina. *ICES Journal of Marine Science*, 69(3): 399-409.
- Easterling, D.R., Meehl, G.A., Parmesan, C., Changnon, S., Karl, T.R. y Mearns, L.O. 2000. Climate extremes: Observations, modeling, and impacts. *Science*, 289: 2068-2074.
- Eberlein, K. y Kattner, G. 1987. Automatic method for the determination of orthophosphate and total dissolved phosphorous in the marine environment. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 326: 354-357.
- Elser, J.J. y Frees, D.L. 1995. Microconsumer grazing and sources of limiting nutrients for phytoplankton growth: Application and complications of a nutrient-deletion/dilution-gradient technique. *Limnology and Oceanography*, 40(1): 1-16.
- Eppley, R.W. 1972. Temperature and phytoplankton growth in the sea. *Fishery Bulletin*, 70: 1063-1085.
- Eppley, R.W. y Peterson, B.J. 1979. Particulate organic matter flux and planktonic new production in the deep ocean. *Nature*, 282: 677-680.
- Escapa, M., Minkoff, D. y Perillo, G.M.E. 2007. Direct and indirect effects of burrowing crab *Chasmagnathus granulatus* activities on erosion of southwest Atlantic *Sarcocornia*-dominated marshes. *Limnology and Oceanography*, 52(6): 2340-2349.
- Evans, G.T. y Paranjape, M.A. 1992. Precision of estimates of phytoplankton growth and microzooplankton grazing when the functional response of grazers may be nonlinear. *Marine Ecology Progress Series*, 80: 285-290.

- Falkowski, P., Scholes, R.J., Boyle, E., Canadell, J., Canfield, D., Elser, J., Gruber, N., Hibbard, K., Högberg, P., Linder, S., Mackenzie, F.T., Moore, B., Pedersen, T., Rosenthal, Y., Seitzinger, S., Smetacek, V. y Steffen, W. 2000. The global carbon cycle: a test of our knowledge of earth as a system. *Science*, 290: 291-296.
- Fenchel, T. y Finlay, B.J. 1983. Respiration rates in heterotrophic, free-living Protozoa. *Microbial Ecology*, 9: 99-122.
- First, M.R., Lavrentyev, P.J. y Jochem, F.J. 2007. Patterns of microzooplankton growth in dilution experiments across a trophic gradient: Implications for herbivory studies. *Marine Biology*, 151: 1929-1940.
- Flöder, S., Jaschinski, S., Wells, G. y Burns, C.W. 2010. Dominance and compensatory growth in phytoplankton communities under salinity stress. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 395: 223-231.
- Flynn, K.J. y Mitra, A. 2009. Building the “perfect beast”: modelling mixotrophic plankton. *Journal of Plankton Research*, 31: 965-992.
- Flynn, K.J., Stoecker, D.K., Mitra, A., Raven, J.A., Glibert, P.M., Hansen, P.J., Granéli, E. y Burkholder, J.M. 2012. Misuse of the phytoplankton–zooplankton dichotomy: the need to assign organisms as mixotrophs within plankton functional types. *Journal of Plankton Research*, 35: 1-9.
- Franzé, G. y Modigh, M. 2013. Experimental evidence for internal predation in microzooplankton communities. *Marine Biology*, 160: 3103-3112.
- Franzosi, C.A., Lara, R.J., Kattner, G. y Alder, V.A. 2012. Latitudinal fluctuations in density and biomass of heterotrophic bacterioplankton from Antarctic Peninsula to Argentine shelf waters. XXXII SCAR and Open Science Conference. 16 al 19 de Julio, Portland, Estados Unidos.
- Freije, R.H. y Gayoso, A.M. 1986. Producción primaria del Estuario de Bahía Blanca. *Informes UNESCO Ciencias del Mar. Uruguay*, 47: 112-114.
- Freije, R.H. y Marcovecchio, J.E. 2004. Oceanografía química. En: Piccolo, M.C. y Hoffmeyer, M.S. (eds.). *El ecosistema del Estuario de Bahía Blanca*. Instituto Argentino de Oceanografía, Argentina (ISBN 987-9281-96), pp. 69-78.
- Freije, R.H., Spetter, C.V., Marcovecchio, J.E., Popovich, C.A., Botté, S.E., Negrín, V., Arias, A., Delucchi, F. y Asteasuain, R.O. 2008. Water chemistry and nutrients in the Bahía Blanca Estuary. En: Neves, R., Baretta, J. y Mateus, M. (eds.). *Perspectives on integrated coastal zone management in South America*. IST Press, Scientific Publishers, Lisboa, Portugal. pp. 243-256.
- Froneman, P.W. y McQuaid, C.D. 1997. Preliminary investigation of the ecological role of microzooplankton in the Kariega Estuary, South Africa. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 45: 689-695.
- Frost, B.W. 1972. Effects of size and concentration of food particles on the feeding behaviour of the marine planktonic copepod *Calanus pacificus*. *Limnology and Oceanography*, 17: 805-815.
- Frost, B.W. 1975. A threshold feeding behavior in *Calanus pacificus*. *Limnology and Oceanography*, 20: 263-266.
- Gaedke, U., Ruhenstroth-Bauer, M., Wiegand, I., Tirok, K., Aberle, N., Breithauptz, P., Lengfellner, K. Wohlers, J. y Sommer, U. 2009. Biotic interactions may overrule direct climate effects on spring phytoplankton dynamics. *Global Change Biology*, 16(3): 1122-1136.
- Gallegos, C.L. 1989. Microzooplankton grazing on phytoplankton in the Rhode River, Maryland: nonlinear feeding kinetics. *Marine Ecology Progress Series*, 57: 23-33.
- Gardolinski, P.C.F., Hanrahan, G., Achterberg, E.C., Gledhill, M., Tappin, A.D., House, W.A. y Worsfold, P.J. 2001. Comparison of sample storage protocols for the determination of nutrients in natural waters. *Water Research*, 35(15): 3670-3678.

- Gasol, J.M., del Giorgio, P.A. y Duarte, C.M. 1997. Biomass distribution in marine planktonic communities. *Limnology and Oceanography*, 42: 1353-1363.
- Gayoso, A.M. 1981. Estudio de las diatomeas del estuario de Bahía Blanca. Tesis doctoral. Universidad Nacional de La Plata, Argentina, 100 pp.
- Gayoso, A.M. 1988. Seasonal variations of the phytoplankton from the most inner part of Bahía Blanca Estuary (Buenos Aires province, Argentine). *Gayana Botanica*, 45: 241-247.
- Gayoso, A.M. 1989. Species of the diatom genus *Thalassiosira* from the coastal zone of the South Atlantic (Argentina). *Botanica Marina*, 32:331-337.
- Gayoso, A.M. 1998. Long-term phytoplankton studies in the Bahia Blanca Estuary, Argentina. *ICES Journal of Marine Science*, 55: 655-660.
- Gayoso, A.M. 1999. Seasonal succession patterns of phytoplankton in the Bahia Blanca Estuary (Argentina). *Botanica Marina*, 42: 367-375.
- Gelós, E.M., Marcos, A.O., Spagnolo, J.O., Schillizzi, R.A. 2004. En: Piccolo, M.C. y Hoffmeyer, M.S. (eds.). *Ecosistema del Estuario de Bahía Blanca*. Instituto Argentino de Oceanografía, Argentina (ISBN 987-9281-96), pp. 43-50.
- Gifford, D.J. 1993. Consumption of protozoa by copepod feeding on natural microplankton assemblages. En: Kemp, P.F., Sherr, B.F., Sherr, E.B. y Cole, J.J. (eds.). *Handbook of methods in aquatic microbial ecology*. Lewis Publishers, London, pp. 723-737.
- Gifford, D.J. 1988. Impact of grazing by microzooplankton in the Northwest Arm of Halifax Harbour, Nov Scotia. *Marine Ecology Progress Series*, 47: 249-258.
- Gil, M.N., Torres, A.I., Amin, O. y Esteves, J.L. 2010. Assessment of recent sediment influence in an urban polluted subantarctic coastal ecosystem. Beagle Channel (Southern Argentina). *Marine Pollution Bulletin*, 62: 201-207.
- Glynn, P.W., Maté, J.L., Baker, A.C. y Calderón, M.O. 2001. Coral bleaching and mortality in Panama and Ecuador during the 1997-1998 El Niño-Southern Oscillation event: spatial/temporal patterns and comparisons with the 1982-1983 event. *Bulletin of Marine Science*, 69(1): 79-109.
- Godhantaraman, N. y Uye, S. 2003. Geographical and seasonal variations in taxonomic composition, abundance and biomass of microzooplankton across a brackish-water lagoonal system of Japan. *Journal of Plankton Research*, 25: 465-482.
- Goldman, J.C., McCarthy, J.J. y Peavey, D.G. 1979. Growth rate influence on the chemical composition of phytoplankton in oceanic waters. *Nature*, 279: 210-215.
- González Trilla, G., Kandus, P., Negrin, V., Vicari, R. y Marcovecchio, J.E. 2009. Tiller dynamic and production on a SW Atlantic *Spartina alterniflora* marsh. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 85: 126-133.
- Gonzalez-Silvera, A., Santamaria del Angel, E., Garcia, V.M.T., Garcia, C.A.E., Millán-Nuñez, R. y Muller-Karger, F. 2004. Biogeographical regions of the tropical and subtropical Atlantic Ocean off South America: Classification based on pigment (CZCS) and chlorophyll-a (SeaWiFS) variability. *Continental Shelf Research*, 24(9): 983-1000.
- Grasshof, K., Erhardt, M. y Kremling, K. 1983. Procedures for the automated determination of seawater constituents. *Method of seawater analysis*, 2nd edition, Verlag-Chemie, Weinheim, Germany, pp. 362-377.
- Grimm A.M., Barros, V.R. y Doyle, M.E. 2000. Climate variability in southern South America associated with El Niño and La Niña events. *Journal of Climate*, 13: 35-58.
- Grinsted, A., Moore, J.C. y Jevrejeva, S. 2004. Application of the cross wavelet transform and wavelet coherence to geophysical time series. *Nonlinear Processes in Geophysics*, 11: 561-566.

- Guinder, V.A., Popovich, C.A. y Perillo, G.M.E. 2009. Particulate suspended matter concentrations in the Bahía Blanca Estuary, Argentina: Implication for the development of phytoplankton blooms. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 85: 157-165.
- Guinder, V.A., Molinero, J.C., Popovich, C.A., Marcovecchio, J.E. y Sommer, U. 2012. Dominance of the planktonic diatom *Thalassiosira minima* in recent summers in the Bahia Blanca Estuary, Argentina. *Journal of Plankton Research*, 34 (11): 995-1000.
- Guinder, V.A., Popovich, C.A., Molinero, J.C. y Marcovecchio, J. 2013. Phytoplankton summer bloom dynamics in the Bahía Blanca Estuary in relation to changing environmental conditions. *Continental Shelf Research*, 52: 150-158.
- Guinder, V.A., Popovich, C.A., Molinero, J.C. y Perillo, G.M.E. 2010. Long-term changes in phytoplankton phenology and community structure in the Bahía Blanca Estuary, Argentina. *Marine Biology*, 157(12): 2703-2716.
- Gutiérrez Rodríguez, A., Latasa, M., Mourre, B. y Laws, E.A. 2009. Coupling between phytoplankton growth and microzooplankton grazing in dilution experiments: potential artefacts. *Marine Ecology Progress Series*, 383: 1-9.
- Hagstrom, A., Azam, F., Andersson, A., Wikner, J. y Rassoulzadegan, E. 1988. Microbial loop in an oligotrophic pelagic marine ecosystem: Possible roles of cyanobacteria and nanoflagellates in the organic fluxes. *Marine Ecology Progress Series*, 49: 171-178.
- Hallegraeff, G.M. 2010. Ocean climate change, phytoplankton community responses, and harmful algal blooms, a formidable predictive challenge. *Journal of Phycology*, 46: 220-235.
- Hallegraeff, G.M., Anderson, D.M. y Cembella, A.D. 1995. Manual on harmful marine microalgae. 2nd edition, IOC Manuals and Guides Nº 33. UNESCO, Paris, France.
- Hammer, A.C. y Pitchford, J.W. 2005. The role of mixotrophy in plankton bloom dynamics, and the consequences for productivity. *ICES Journal of Marine Science*, 62: 833-840.
- Hansen, B., Bjornsen, P.K. y Hansen, P.J. 1994. The size ratio between planktonic predators and their prey. *Limnology and Oceanography*, 39: 395-403.
- Hansen, P.J. y Calado, A.J. 1999. Phagotrophic mechanisms and prey selection in free living dinoflagellates. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 46(4): 382-389.
- Hartmann, M., Grob, C., Tarran, G.A., Martin, A.P., Burkill, P.H., Scanlan, D.J. y Zubkov, M.V. 2012. Mixotrophic basis of Atlantic oligotrophic ecosystems. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(15): 5756-5760.
- Harvey, E.L., Jeong, H.J. y Menden-Deuer, S. 2013. Avoidance and attraction: Chemical cues influence predator-prey interactions of planktonic protists. *Limnology and Oceanography*, 58: 1176-1184.
- Hasle, G. 1978. Concentrating phytoplankton. Settling. The inverted microscope method. En: Sournia, A. (ed.). *Phytoplankton Manual. Monographs on oceanographic methodology*. UNESCO, París, Vol. 6, pp 88-96.
- Havskum, H., Thingstad, T.F., Scharek, R., Peters, F., Berdalet, E., Sala, M.M., Alcaraz, M., Bangsholt, J.C., Zweifel, U.L., Hagstrom, A., Perez, M. y Dolan, J.R. 2003. Silicate and labile DOC interfere in structuring the microbial food web via algal-bacterial competition for mineral nutrients: Results of a mesocosm experiment. *Limnology and Oceanography*, 48: 120-140.
- Haylock, M.R., Peterson, T.C., Alves, L.M., Ambrizzi, T., Anunciação, Y.M.T., Baez, J., Barros, V.R., Berlato, M.A., Bidegain, M., Coronel, G., Corradi, V., Garcia, V.J., Grimm, A.M., Karoly, D., Marengo, J.A., Marino, M.B., Moncunill, D.F., Nechet, D., Quintana, J., Rebello, E., Rusticucci, M., Santos, J.L., Trebejo, I. y Vincent, L.A. 2006. Trends in total and extreme South American rainfall in 1960-2000 and links with sea surface temperature. *Journal of Climate*, 19: 1490-1512.

- Hays, G.C., Richardson, A.J. y Robinson, C. 2005. Climate change and marine plankton. *Trends in Ecology and Evolution*, 20(6): 337-344.
- Heffner, M., Bodnariuk, P., López, F. y Vaschetti, G. 2003. Aportes de agua a la Ría de Bahía Blanca. Comité Técnico Ejecutivo (CTE), Ley 12.530, Secretaría Política Urbano Ambiental, Municipalidad de Bahía Blanca.
- Heinbokel, J.F., Coats, D.W., Henderson, K.W. y Tyler, M.A. 1988. Reproduction rates and secondary production of three species of the rotifer genus *Synchaeta* in the estuarine Potomac River. *Journal of Plankton Research*, 10: 659-674.
- Hidalgo, P. y Escribano, E. 2001. Succession of pelagic copepod species in coastal waters off northern Chile: the influence of the 1997-98 El Niño. *Hydrobiologia*, 453/454: 153-160.
- Hidalgo, M., Rouyer, T., Molinero, J.C., Massutí, E., Moranta, J., Guijarro, B. y Stenseth, N. Chr. 2011. Synergistic effects of fishing-induced demographic changes and climate variation on fish population dynamics. *Marine Ecology Progress Series*, 426: 1-12.
- Hillebrand, H., Dürselen, C-D., Kirschtel, D., Pollinger, U. y Zohary, T. 1999. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology*, 35: 403-424.
- Hinder, S.L., Manning, J.E., Gravenor, M.B., Edwards, M., Walne, A.W., Burkill, P.H. y Hays, G.C. 2011. Long-term changes in abundance and distribution of microzooplankton in the NE Atlantic and North Sea. *Journal of Plankton Research*, 0: 1-9.
- Hoch, M.P. y Kirchman, D.L. 1993. Seasonal and interannual variability in bacterial production and biomass in a temperate estuary. *Marine Ecology Progress Series*, 98: 283-295.
- Hoegh-Guldberg, O. 1999. Climate change, coral bleaching and the future of the world's coral reefs. *Marine and Freshwater Research*, 50: 839-866.
- Hoffmeyer, M.S. 2004a. Mesozooplankton. En: Piccolo, M.C. y Hoffmeyer, M.S. (eds.). *El ecosistema del Estuario de Bahía Blanca*. Instituto Argentino de Oceanografía, Argentina (ISBN 987-9281-96), pp. 133-141.
- Hoffmeyer, M.S. 2004b. Decadal change in zooplankton seasonal succession in the Bahía Blanca Estuary, Argentina, following introduction of two zooplankton species. *Journal of Plankton Research*, 26: 181-189.
- Hoffmeyer, M.S. 1983. Zooplankton del área interna de la Bahía Blanca (Buenos Aires, Argentina). I Composición faunística. *Historia Natural*, 3(8): 73-94.
- Hoffmeyer, M.S. y Barría de Cao, M.S. 2007. Zooplankton assemblages from a tidal channel in the Bahía Blanca Estuary, Argentina. *Brazilian Journal of Oceanography*, 55(2): 97-107.
- Hoffmeyer, M.S., Fernandez Severini, M.D., Menéndez, M.C., Berasategui, A.A. y Biancalana, F. 2008. Composition and dynamics of mesozooplankton assemblages in the Bahía Blanca Estuary. En: Neves, R., Baretta, J. y Mateus, M. (eds.). *Perspectives on integrated coastal zone management in South America*. IST Scientific Publishers, Lisbon, Portugal, pp. 273-277.
- Holt, R.D. 2008. Theoretical perspectives on resource pulses. *Ecology*, 89(3): 671-681.
- Hoover, R.S., Hoover, D., Miller, M., Landry, M.R., DeCarlo, .H. y Mackenzie, S.T. 2006. Zooplankton response to storm runoff in a tropical estuary: bottom-up and top-down controls. *Marine Ecology Progress Series*, 318: 187-201.
- Howarth, R.W., Swaney, D.P., Butler, T.J. y Marino, R. 2000. Climatic control on eutrophication of the Hudson River Estuary. *Ecosystems*, 3: 210-215.
- Hugenholtz, P., Goebel, B.M. y Pace, N.R. 1998. Impact of culture-independent studies on the emerging phylogenetic view of bacterial diversity. *Journal of Bacteriology*, 180(18): 4765-4774.
- Hutchinson, G.E. 1961. The paradox of the plankton. *The American Naturalist*, 95: 137-145.

- IADO, 2004. Estudio del impacto de la descarga cloacal de la ciudad sobre el estuario de Bahía Blanca. Municipalidad de Bahía Blanca, Subsecretaría de Gestión Ambiental, Dirección de Medio Ambiente, Comité Técnico Ejecutivo, Programa integral de monitoreo, Subprograma de monitoreo de cuerpos receptores: Ría de Bahía Blanca, Periodo 2003-2004.
- Ibanez, F. 1981. Immediate detection of heterogeneities in continuous multivariate oceanographic recordings. Application to time series analysis of changes in the bay of Villefranche sur mer. *Limnology and Oceanography*, 26: 336-349.
- Imai, A., Fukushima, T., Matsushige, K., Kim, Y.H. y Choi, K. 2002. Characterization of dissolved organic matter in effluents from wastewater treatment plants. *Water Research*, 36: 859-870.
- Isacch, J.P., Costa, C.S.B., Rodríguez-Gallego, L., Conde, D., Escapa, M., Gagliardini, D.A. e Iribarne, O.O. 2006. Distribution of salt marsh plant communities associated with environmental factors along a latitudinal gradient on south-west Atlantic coast. *Journal of Biogeography*, 33: 888-900.
- Isla, F.I. 2008. ENSO-dominated estuaries of Buenos Aires: The interannual transfer of water from Western to Eastern South America. *Global and Planetary Change*, 64: 69-75.
- Jiao, N., Herndl, G.J., Hansell, D.A., Benner, R., Kattner, G., Wilhelm, S.W., Kirchman, D.L., Weinbauer, M.G., Luo, T., Chen, F. y Azam, F. 2010. Microbial production of recalcitrant dissolved organic matter: long-term carbon storage in the global ocean. *Nature Reviews Microbiology*, 8: 593-599.
- John, E.H. y Davidson, K. 2001. Prey selectivity and the influence of prey carbon:nitrogen ratio on microflagellate grazing. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 260: 93-111.
- Juhl, A.R. y Murrell, M.C. 2005. Interactions between nutrients, phytoplankton growth, and microzooplankton grazing in a Gulf of Mexico estuary. *Aquatic Microbial Ecology*, 38: 147-156.
- Juttner, F. 2001. Liberation of 5,8,11,14,17-icosapentaenoic acid and other polyunsaturated fatty acids from lipids as a grazer defense reaction in epilithic diatom biofilms. *Journal of Phycology*, 37: 744-755.
- Kaiser, K. y Benner, R. 2008. Major bacterial contribution to the ocean reservoir of detrital organic carbon and nitrogen. *Limnology and Oceanography*, 53: 99-112.
- Kalinowska, K. Guśpiel, A., Kiersztyn, B. y Chróst, R.J. 2013. Factors controlling bacteria and protists in selected Mazurian eutrophic lakes (North-Eastern Poland) during spring. *Aquatic Biosystems*, 9(1):9. doi: 10.1186/2046-9063-9-9.
- Karl, D.M. 2007. Microbial oceanography: Paradigms, processes and promise. *Nature Reviews Microbiology*, 5: 759-769.
- Kashiyama, Y., Yokoyama, A., Kinoshita, Y., Shoji, S., Miyashiya, H., Shiratori, T., Suga, H., Ishikawa, K., Ishikawa, A., Inouye, I., Ishida, K., Fujinuma, D., Aoki, K., Kobayashih, M., Nomoto, S., Mizoguchi, T. y Tamiaki, H. 2012. Ubiquity and quantitative significance of detoxification catabolism of chlorophyll associated with protistan herbivory. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(43): 17328-17335.
- Kimmerer, W.J. 2002. Effects of freshwater flow on abundance of estuarine organisms: physical effects or trophic linkages? *Marine Ecology Progress Series*, 243: 39-55.
- Kirchman, D.L. 2013. Killers of the winners. *Nature*, 494: 320-321.
- Kirchman, D.L. y Rich, J.H. 1997. Regulation of bacterial growth rates by dissolved organic carbon and temperature in the equatorial Pacific Ocean. *Microbial Ecology*, 33: 22-30.
- Kivi, K. y Setälä, O. 1995. Simultaneous measurement of food particle selection and clearance rates of planktonic oligotrich ciliates (Ciliophora: Oligotrichina). *Marine Ecology Progress Series*, 119: 125-137.
- Kleppel, G.S. 1993. On the diets of calanoid copepods. *Marine Ecology Progress Series*, 99: 1-2.

- Klimek, B., Fyda, J., Pajdak-Stós, A. Kocerba, W., Fiałkowska, E. y Sobczyk, M. 2012. Toxicity of ammonia nitrogen to ciliated protozoa *Stentor coeruleus* and *Coleps hirtus* isolated from activated sludge of wastewater treatment plants. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 89: 975-977.
- 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, 174 pp.
- Krepper, C.M., García, N.O. y Jones, P.D. 2003. Interannual variability in the Uruguay River basin. *International Journal of Climatology*, 23(1): 103-115.
- Kuhn, T. 1970. Segundos pensamientos sobre paradigmas. Tecnos, 89 pp.
- Landry, M.R. 1993. Estimating rates of growth and grazing mortality of photoautotrophic plankton by dilution. En: Kemp, P.F., Sherr, B.F., Sherr, E.B. y Cole, J.J. (eds.). *Handbook of methods in aquatic microbial ecology*. Lewis Publishers, Boca Raton, FL, pp. 715-722.
- Landry, M.R. y Hassett, R.P. 1982. Estimating the grazing impact of marine microzooplankton. *Marine Biology*, 67: 283-288.
- Landry, M.R., Brown, S.L., Campbell, L., Constantinou, J. y Liu, H. 1998. Spatial patterns in phytoplankton growth and microzooplankton grazing in the Arabian Sea during monsoon forcing. *Deep-Sea Research II*, 45: 2353-2368.
- Landry, M.R., Constantinou, J. y Kirshtein, J. 1995. Microzooplankton grazing in the central equatorial Pacific during February and August, 1992. *Deep-Sea Research II*, 42(2-3): 657-671.
- Lara, R.J., Gomez, E.A. y Pucci, A.E. 1985. Organic matter, sediment particle size and nutrient distributions in a sewage affected shallow channel. *Marine Pollution Bulletin*, 16 (9): 360-364.
- Latif, M. y Keenlyside, N.S. 2009. El Niño-Southern Oscillation response to global warming. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(49): 20578-20583.
- Lehrter, J.C., Pennock, J.R. y McManus, G.B. 1999. Microzooplankton grazing and nitrogen excretion across a surface estuarine-coastal interface. *Estuaries*, 22(1): 113-125.
- Leising, A.W., Horner, R., Pierson, J.J., Postel, J. y Halsband-Lenk, C. 2005. The balance between microzooplankton grazing and phytoplankton growth in a highly productive estuarine fjord. *Progress in Oceanography*, 67: 366-383.
- Levene, H. 1960. Robust testes for equality of variances. En: Olkin, I. (ed.). *Contributions to probability and statistics*. Stanford University Press, pp. 278-292.
- Levinton, J., Doall, M., Ralston, D., Starke, A. y Allam, B. 2011. Climate change, precipitation and impacts on an estuarine refuge from disease. *PLoS ONE* 6(4): e18849. doi:10.1371/journal.pone.0018849.
- Litchman, E., Edwards, K.F., Klausmeier, C.A. y Thomas, M.K. 2012. Phytoplankton niches, traits and evolutionary responses to global environmental change. *Marine Ecology Progress Series*, 470: 235-248.
- López Morales, M.F. 2013. Estudio de la variación espacial y temporal de los ciliados mixótrofos en dos áreas del estuario de Bahía Blanca. Tesis de licenciatura, Universidad Nacional del Sur. 41 pp.
- Lorenzen, C.J. y Jeffrey, S.W. 1980. Determination of chlorophyll in seawater. *UNESCO Technical Paper Marine Science*, 35: 1-20.
- Lynn, D.H., Roff, J.C. y Hopcroft, R.R. 1991. Annual abundance and biomass of aloricate ciliates in tropical neritic waters off Kingston, Jamaica. *Marine Biology*, 110: 437-448.
- Machado, I. Barreiro, M. y Calliari, D. 2013. Variability of chlorophyll-a in the Southwestern Atlantic from satellite images: Seasonal cycle and ENSO influences. *Continental Shelf Research*, 53: 102-109.
- Maranger, R., Bird, D.F. y Price, N.M. 1998. Iron acquisition by photosynthetic marine phytoplankton from ingested bacteria. *Nature*, 396: 248-251.

- Marañón, E., Cermeño, P., Latasa, M. y Tadolnéké, R.D. 2012. Temperature, resources, and phytoplankton size structure in the ocean. *Limnology and Oceanography*, 57(5): 1266-1278.
- Marcovecchio, J.E., Botté, S.E., Delucchi, F., Arias, A., Fernández Severini, M., De Marco, S., Tombesi, N., Andrade, S., Ferrer, L. y Freije, R.H. 2008. Pollution processes in Bahía Blanca estuarine environment. En: Neves, R., Baretta, J.W. y Mateus, M. (eds.). *Perspectives on integrated coastal zone management in South America*. IST Press. Scientific Publishers, Lisboa, Portugal, pp. 301-314.
- Marinovic, B.B., Croll, D.A., Gong, N., Benson, S.R. y Chavez, F.P. 2002. Effects of the 1997-1999 El Niño and La Niña events on zooplankton abundance and euphausiid community composition within the Monterey Bay coastal upwelling system. *Progress in Oceanography*, 54: 265-277.
- Martinez, E.A. 1980. Sensitivity of marine ciliates (Protozoa, Ciliophora) to high thermal stress. *Estuarine Coastal and Marine Science*, 10: 369-381 IN1.
- Matz, C. y Kjelleberg, S. 2005. Off the hook—how bacteria survive protozoan grazing. *TRENDS in Microbiology*, 13: 302-307.
- McManus, G.B. y Ederington-Cantrell, M. 1992. Phytoplankton pigments and growth rates, and microzooplankton grazing in a large temperate estuary. *Marine Ecology Progress Series*, 87: 77-85.
- McManus, G.B. y Santoferrara, L.F. 2012. Tintinnids in microzooplankton communities. En: Dolan, J.R., Montagnes, D.J.S., Agatha, S., Coates, D.W. y Stoecker, D.K. (eds.). *The Biology and Ecology of Tintinnid Ciliates, Models for Marine Plankton*. Blackwell-Wiley, pp. 198-213.
- Mechoso, C.R. e Iribarren, G.P. 1992. Streamflow in Southeastern South America and the Southern Oscillation. *Journal of Climate*, 6: 1535-1539.
- Menden-Deuer, S. y Lessard, E.J. 2000. Carbon to volume relationships for dinoflagellates, diatoms, and of the protist plankton. *Limnology and Oceanography*, 45: 569-579.
- Meybeck, M. 1982. Carbon, nitrogen, and phosphorus transport by world rivers. *American Journal of Sciences*, 282: 401-450.
- Michelou, V.K., Cottrell, M.T. y Kirchman, D.L. 2007. Light stimulated bacterial production and amino acid assimilation by cyanobacteria and other microbes in the North Atlantic Ocean. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(17): 5539-5546.
- Minetti, J.L., Vargas, W.M., Poblete, A.G., Acuña, L.R. y Casagrande, G. 2003. Non-linear trends and low frequency oscillations in annual precipitation over Argentina and Chile, 1931-1999. *Atmósfera*, 16: 119-135.
- Moigis, A.G. 2006. The clearance rate of microzooplankton as the key element for describing estimated non-linear dilution plots demonstrated by a model. *Marine Biology*, 149: 743-762.
- Moigis, A.G. y Gocke, K. 2003. Primary production of phytoplankton estimated by means of the dilution method in coastal waters. *Journal of Plankton Research*, 25(10): 1291-1300.
- Montagnes, D.J.S. y Lynn, D.H. 1991. Taxonomy of choreotrichs, the major marine planktonic ciliates, with emphasis on the aloricate forms. *Marine Microbial Food Webs*, 5: 59-74.
- Montecinos, A., Díaz, A. y Aceituno, P. 2000. Seasonal diagnostic and predictability of rainfall in subtropical South America based on tropical pacific SST. *Journal of Climate*, 13: 746-758.
- Montemayor, D.I., Addino, M., Fanjul, E., Escapa, M., Alvarez, M.F., Botto, F. e Iribarne, O.O. 2011. Effect of dominant *Spartina* on salt marsh detritus production in SW Atlantic estuaries. *Journal of Sea Research*, 66: 104-110.
- Moore, L.R. 2013. More mixotrophy in the marine microbial mix. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110: 8323-8324.
- Morán, X.A.G., López-Urrutia, A, Calvo-Díaz, A. y Li, W.K.W. 2010. Increasing importance of small phytoplankton in a warmer ocean. *Global Change Biology*, 16: 1137-1144.

- Moreira, D. y Lopez-Garcia, P. 2002. The molecular ecology of microbial eukaryotes unveils a hidden world. *Trends in Microbiology*, 10: 31-38.
- Mou, X.Z., Sun, S.L., Edwards, R.A., Hodson, R.E. y Morán, M.A. 2008. Bacterial carbon processing by generalist species in the coastal ocean. *Nature*, 451: 708-711.
- Mulholland, M.R., Lee, C. y Glibert, P.M. 2003. Extracellular enzyme activity and uptake of carbon and nitrogen along an estuarine nutrient and salinity gradient. *Marine Ecology Progress Series*, 258: 3-17.
- Muñoz-Marín M.C., Luque, I., Zubrov, M.V., Hill, P.G. Diez, J. y García-Fernández, J.M. 2013. *Prochlorococcus* can use the Pro1404 transporter to take up glucose at nanomolar concentrations in the Atlantic Ocean. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110: 8597-8602.
- Murphy J. y Riley, J.P. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*, 27: 31-36.
- Murrel, M.C. y Hollibaugh, J.T. 1998. Microzooplankton grazing in northern San Francisco Bay measured by the dilution method. *Aquatic Microbial Ecology*, 15: 53-63.
- Murrell, M.C., Stanley, R.S., Loes, E.M., DiDonato, G.T. y Flemer, D.A. 2002. Linkage between microzooplakton grazing and phytoplankton growth in a gulf of Mexico Estuary. *Estuaries*, 25: 19-29.
- Nagata, T. 2000. Production mechanisms of dissolved organic matter. En: Kirchman, D.L. (ed.). *Microbial Ecology of the Oceans*, 1st edition, Wiley-Liss, pp. 121-152.
- Negrin, V.L., Spetter, C.V., Asteasuain, R.O., Perillo, G.M.E. y Marcovecchio, J.E. 2011. Influence of flooding and vegetation on carbon, nitrogen, and phosphorus dynamics in the pore water of a *Spartina alterniflora* salt marsh. *Journal of Environmental Sciences*, 23(2): 212-221.
- Negrin, V.L., Villalobos, A.E., González Trilla, G., Botté, S.E. y Marcovecchio, J.E. 2012. Above- and belowground biomass and nutrient pools of *Spartina alterniflora* (smooth cordgrass) in a South American salt marsh. *Chemistry and Ecology*, 28: 391-404.
- Nguyen, H.V-M. y Hur, J. 2011. Tracing the sources of refractory dissolved organic matter in a large artificial lake using multiple analytical tools. *Chemosphere*, 85: 782-789.
- Noble, R.T., Middelboe, M. y Fuhrman, J.A. 1999. The effects of viral enrichment on the mortality and growth of heterotrophic bacterioplankton. *Aquatic Microbial Ecology*, 18: 1-13.
- Not, F., del Campo, J., Balague, V., de Vargas, C. y Massana, R. 2009. New insights into the diversity of marine picoeukaryotes. *PLoS ONE* 4(9): e7143. doi:10.1371/journal.pone.0007143.
- Pace, N.R. 1997. A molecular view of microbial diversity and the biosphere. *Science*, 276: 734-740.
- Paerl, H.W., Valdes, L.M., Peierls, B.L., Adolf, J.E. y Harding, L.W.Jr. 2006. Anthropogenic and climatic influences on the eutrophication of large estuarine ecosystems. *Limnology and Oceanography*, 51 (1): 448-462.
- Palmer, T.N. y Räisänen, J. 2002. Quantifying the risk of extreme seasonal precipitation events in a changing climate. *Nature*, 415: 512-414.
- Park, G.S. y Marshall, H.G. 2000. Estuarine relationships between zooplankton community structure and trophic gradients. *Journal of Plankton Research*, 22(1): 121-135.
- Park, S.B., Brett, M.T., Müller-Navarra, D.C., Shin S.-C., Liston, A.M. y Goldman, C.R. 2003. Heterotrophic nanoflagellates and increased essential fatty acids during *Microcystis* decay. *Aquatic Microbial Ecology*, 33: 201-205.
- Partensky, F., Hess, W.R. y Vaultot, D. 1999. *Prochlorococcus*, a marine photosynthetic prokaryote of global significance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 63: 106-127.
- Pawlowski, J., Christen, R., Lecroq, B., Bachar, D., Shahbazkia, H.R., Amaral-Zettler, L. y Guillou, L. 2011. Eukaryotic richness in the abyss: insights from pyrotag sequencing. *PLoS ONE* 6(4): e18169. doi:10.1371/journal.pone.0018169.

- Parodi, E.R. y Barría de Cao, M.S. 2003. Benthic microalgal communities in the inner part of the Bahía Blanca estuary (Argentina): a preliminary qualitative study. *Oceanologica Acta*, 25: 279-284.
- Penalba, O.C. y Robledo F.A. 2010. Spatial and temporal variability of the frequency of extreme daily rainfall regime in the La Plata Basin during the 20th century. *Climatic Change*, 98: 531-550.
- Penalba, O.C. y Vargas W.M. 2004. Interdecadal and interannual variations of annual and extreme precipitation over central-northeastern Argentina. *International Journal of Climatology*, 24(12): 1565-1580.
- Peressutti, S.R., Costagliola, M., Artigas, I.F. y Hozbor, C. 2010. Estudio comparativo de la estructura del bacterioplancton en aguas del Mar Argentino mediante el método de pirosecuenciación 454 tag. *Revista Argentina de Microbiología*, 42: 288-297.
- Perillo G.M.E. y Piccolo, M.C. 1999. Geomorphologic and physical characteristics of the Bahía Blanca Estuary, Argentina. En: Perillo, G.M.E., Piccolo, M.C. y Quivira, P. (eds.). *Estuaries of South America: their geomorphology and dynamics*. Environmental Science Series, Springer-Verlag, Berlin, pp. 195-216.
- Perillo, G.M.E., Piccolo, M.C.E., Parodi, E. y Freije, R.H. 2001. The Bahía Blanca Estuary, Argentina. En: Seeliger, U. y Kjerfve, B. (eds.). *Coastal Marine Ecosystems of Latin America*. Springer-Verlag, Berlin, pp.205-217.
- Pernthaler, J. 2005. Predation on prokaryotes in the water column and its ecological implications. *Nature Reviews Microbiology*, 3: 537-546.
- Pettigrosso, R.E. 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, 173 pp.
- Pettigrosso, R.E. 2003. Planktonic ciliates Choreotrichida and Strombidiida from the inner zone of Bahía Blanca Estuary, Argentina. *Iheringia*, 93(2): 117-126.
- Pettigrosso, R.E. y Barría de Cao, M.S. 2004. Ciliados planctónicos. En: Piccolo, M.C. y Hoffmeyer, M.S. (eds.). *El ecosistema del Estuario de Bahía Blanca*. Instituto Argentino de Oceanografía, Argentina (ISBN 987-9281-96), pp. 121-131.
- Pettigrosso, R.E. y Popovich, C.A. 2009. Phytoplankton-aloricate ciliate community in the Bahía Blanca Estuary (Argentina): Seasonal patterns and trophic groups. *Brazilian Journal of Oceanography*, 57(3): 215-227.
- Pettigrosso, R.E., Barría de Cao, M.S. y Popovich, C.A. 1997. Planktonic ciliates during a diatom bloom in Bahía Blanca Estuary, Argentina. I. Aloricate ciliates. *Oebalia*, 23: 21-31.
- Philander, S.G.H. 1990. *El Niño, La Niña, and the Southern Oscillation*. Academic Press, San Diego, 293 pp.
- Piccolo, M.C. y Perillo, G.M.E. 1990. Physical characteristics of the Bahía Blanca Estuary (Argentina). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 31: 303-317.
- Piccolo, M.C., Perillo, G.M.E. y Arango, J.M. 1987. Hidrografía del estuario de Bahía Blanca, Argentina. *Revista Geofísica*, 26: 75-89.
- Pielou, E.C. 1969. *An introduction to mathematical ecology*. Wiley-Interscience, John Wiley & Sons, New York, USA, 286 pp.
- Pomeroy, L.R. 1974. The ocean's food web, a changing paradigm. *BioScience*, 24(9): 499-504.
- Pomeroy, L.R., Williams, P. J. leB., Azam, F. y Hobbie, J.E. 2007 The microbial loop. *Oceanography*, 20 (2): 28-33.
- Popovich, C.A. y Marcovecchio, J.E. 2008. Spatial and temporal variability of phytoplankton and environmental factors in a temperate estuary of South America (Atlantic coast, Argentina). *Continental Shelf Research*, 28: 236-244.

- Popovich, C.A., Spetter, C.V., Marcovecchio, J.E. y Freije, R.H. 2008. Dissolved nutrient availability during winter diatom bloom in a turbid and shallow estuary (Bahía Blanca, Argentina). *Journal of Coastal Research*, 24(1): 95-102.
- Porter, K.G. y Feig, Y.S. 1980. The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnology and Oceanography*, 25: 943-948.
- Proctor, L.M. y Fuhrman, J.A. 1990. Viral mortality of marine bacteria and cyanobacteria. *Nature*, 343: 60-62.
- Ptácnik, R., Sommer, U., Hansen, T. y Martens, V. 2004. Effects of microzooplankton and mixotrophy in an experimental planktonic food web. *Limnology and Oceanography*, 49(4, part 2): 1435-1445.
- Putland, J.N. e Iverson, R.L. 2007. Microzooplankton: major herbivores in an estuarine planktonic food web. *Marine Ecology Progress Series*, 345: 63-73.
- Putt M. y Stoecker, D.K. 1989. An experimentally determined carbon: volume ratio for marine oligotrichous ciliates from estuarine and coastal waters. *Limnology and Oceanography*, 34: 1097-1103.
- Quinlan, E.L., Jett, C.H. y Philips, E.J. 2009. Microzooplankton grazing and the control of phytoplankton biomass in the Suwannee River estuary, USA. *Hydrobiologia*, 632: 127-137.
- Raymond, P.A. y Bauer, J.E. 2001. DOC cycling in a temperate estuary: A mass balance approach using natural ^{14}C and ^{13}C isotopes. *Limnology and Oceanography*, 46(3): 655-667.
- Redden, A.M., Sanderson, B.G. y Rissik, D. 2002. Extending the analysis of the dilution method to obtain the phytoplankton concentration at which microzooplankton grazing becomes saturated. *Marine Ecology Progress Series*, 226: 27-33.
- Redfield, A.C., Ketchum, B.H. y Richards, F.A. 1965. The influence of organisms on the composition of the sea water. En: Hill, M.N. (ed.). *The Sea*, Vol. 2. Interscience Publishers, New York, pp. 26-76.
- Richards, F.A. y Kletsch, R.A. 1964. The spectrophotometric determination of ammonia and labile amino compounds in fresh and seawater by oxidation to nitrite. En: Tréguer, P. y Le Corre, P. (eds.). *Manuel d'analyse des sels nutritifs dans l'eau de mer. Analyse des sels nutritifs sur autoanalyser II, Ammonium*, pp. 34-61.
- Richardson, A.J. 2008. In hot water: zooplankton and climate change. *ICES Journal of Marine Science*, 65: 279-295.
- Richerson, P., Armstrong, R. y Goldman, C.R. 1970. Contemporaneous disequilibrium, a new hypothesis to explain the "paradox of the plankton". *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 67: 1710-1714.
- Robertson, A.W. y Mechoso, C.R. 1998. Interannual and decadal cycles in river flows of southeastern South America. *Journal of Climate*, 11: 2570-2581.
- Ropelewski, C.H. y Halpert, S. 1987. Global and regional scale precipitation patterns associated with the El Niño-Southern Oscillation. *Monthly Weather Review*, 115: 1606-1626.
- Ropelewski, C.H. y Halpert, S. 1989. Precipitation patterns associated with the high index phase of the Southern Oscillation. *Journal of Climate*, 2: 268-284.
- Rose, J.M. y Caron, D.A. 2007. Does low temperature constrain the growth rates of heterotrophic protists? Evidence and implications for algal blooms in cold waters. *Limnology and Oceanography*, 52(2): 886-895.
- Rose, J.M., Feng, Y., Gobler, C.J., Gutierrez, R., Hare, C.E., Leblanc, K. y Hutchins, D.A. 2009. Effects of increased pCO₂ and temperature on the North Atlantic spring bloom. II. Microzooplankton abundance and grazing. *Marine Ecology Progress Series*, 388: 27-40.
- Rougier, C., Pourriot, R. y Lam-Hoai, T. 2000. The genus *Synchaeta* (rotifers) in a northwestern Mediterranean coastal lagoon (Etang de Thau, France): taxonomical and ecological remarks. *Hydrobiologia*, 436: 105-117.

- Rublee, P. y Gallegos, C. 1989. Use of fluorescently labelled algae (FLA) to estimate microzooplankton grazing. *Marine Ecology Progress Series*, 51: 221-227.
- Ruiz, A., Franco, J. y Villate, F. 1998. Microzooplankton grazing in the Estuary of Mundaka, Spain, and its impact on phytoplankton distribution along the salinity gradient. *Aquatic Microbial Ecology*, 14: 281-288.
- Sagarin, R.D., Barry, J.P., Gilman, S.E. y Baxter, C.H. 1999. Climate-related change in an intertidal community over short and long time scales. *Ecological Monographs*, 69(4): 465-490.
- Saiz, E. y Calbet, A. 2011. Copepod feeding in the ocean: scaling patterns, composition of their diet and the bias of estimates due to microzooplankton grazing during incubations. *Hydrobiologia*, 666: 181-196.
- Sanders, R.W., Williamson, C.E., Stutzman, P.L., Moeller, R.E., Goulden, C.E. y Aoki-Goldsmith, R. 1996. Reproductive success of "herbivorous" zooplankton fed algal and non algal food resources. *Limnology and Oceanography*, 41: 1295-1305.
- Sato, M., Yoshikawa, T., Takeda, S. y Furuya, K. 2007. Application of the size-fractionation method to simultaneous estimation of clearance rates by heterotrophic flagellates and ciliates of pico- and nanophytoplankton. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 349: 334-343.
- Sautour, B., Artigas, L.F., Delmas, D., Herbland, A. y Laborde, P. 2000. Grazing impact of micro- and mesozooplankton during a spring situation in coastal waters off the Gironde estuary. *Journal of Plankton Research*, 22: 531-552.
- Schmoker, C., Hernández-León, S. y Calbet, A. 2013. Microzooplankton grazing in the oceans: impacts, data variability, knowledge gaps and future directions. *Journal of Plankton Research*, 0(0): 1-16.
- Shannon, C.E. y Weaver, W. 1949. *The mathematical theory of communication*. Urbana, University of Illinois Press, USA, 144 pp.
- Shapiro S.S. y Wilk, M.B. 1965. An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika*, 52: 591-611.
- Sherr E.B. y Sherr B.F. 1994. Bacterivory and herbivory: key roles of phagotrophic protists in pelagic food webs. *Microbial Ecology*, 28: 223-235.
- Sherr, E.B. y Sherr, B.F. 1988. Role of microbes in pelagic food webs: A revised concept. *Limnology and Oceanography*, 33: 1225-1227.
- Sherr, E.B. y Sherr, B.F. 2002. Significance of predation by protists in aquatic microbial food webs. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 81: 293-308.
- Sherr, E.B. y Sherr, B.F. 2009. Capacity of herbivorous protists to control initiation and development of mass phytoplankton blooms. *Aquatic Microbial Ecology*, 57: 253-262.
- Sieburth, J.M., Smetacek, V. y Lenz, J. 1978. Pelagic ecosystem structure: heterotrophic compartments of the plankton and their relationship to plankton size fractions. *Limnology and Oceanography*, 23: 1256-1263.
- Silva, R.I., Negri, R.M. y Lutz, V.A. 2009. Summer succession of ultraphytoplankton at the EPEA coastal station (Northern Argentina). *Journal of Plankton Research*, 31 (4): 447-458.
- Simon, M. y Azam, F. 1989. Protein content and protein synthesis of planktonic marine bacteria. *Marine Ecology Progress Series*, 51: 201-213.
- Siuda, A.N.S. y Dam, H.G. 2010. Effects of omnivory and predator-prey elemental stoichiometry on planktonic trophic interactions. *Limnology and Oceanography*, 55(5): 2107-2116.
- Snyder, R.E. 2010. What makes ecological systems reactive? *Theoretical Population Biology*, 77: 243-249.
- Sogin, M.L., Morrison, H.G., Huber, J.A., Welch, D.M., Huse, S.M., Neal, P.R., Arrieta, J.M. y Herndl, G.J. 2006. Microbial diversity in the deep sea and the underexplored "rare biosphere". *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103: 12115-12120.
- Sokal R.R. y Rohlf, F.J. 1999. *Introducción a la Bioestadística*. Editorial Reverté SA, Barcelona, España, 380 pp.

- Sommer U. y Lengfellner K. 2008. Climate change and the timing, magnitude and composition of the phytoplankton spring bloom. *Global Change Biology*, 14: 1199-1208.
- Søndergaard, M. y Middelboe, M. 1995. A cross-system analysis of labile dissolved organic carbon. *Marine Ecology Progress Series*, 118: 283-294.
- Spetter, C.V., Popovich, C.A., Arias, A., Asteasuain, R.O., Freije, R.H. y Marcovecchio, J.E. 2013. Role of nutrients in phytoplankton development during a winter diatom bloom in a eutrophic South American Estuary (Bahía Blanca, Argentina). *Journal of Coastal Research*, doi: <http://dx.doi.org/10.2112/JCOASTRES-D-12-00251.1>.
- Steele, J.H. 1974. *Structure of marine ecosystems*. Harvard University Press, 128 pp.
- Sterner, R.W. y Elser, J.J. 2002. *Ecological stoichiometry: The biology of elements from molecules to the biosphere*. 1^{ra} edición, Princeton University Press, 584 pp.
- Stoecker, D.K. 1998. Conceptual models of mixotrophy in planktonic protists and some ecological and evolutionary implications. *European Journal of Protistology*, 34: 281-290.
- Stoecker, D.K. y Capuzzo, J.M. 1990. Predation on protozoa: its importance to zooplankton. *Journal of Plankton Research*, 12: 891-908.
- Stoecker, D.K., Johnson, M.D., de Vargas, C., Not, F. 2009. Acquired phototrophy in aquatic protists. *Aquatic Microbial Ecology*, 57: 279-310.
- Stoecker, D.K., Michaels, A.E. y Davis, L.H. 1987. Large proportion of marine planktonic ciliates found to contain functional chloroplasts. *Nature*, 326: 790-792.
- Stoecker, D.K., Thessen, A.E. y Gustafson, D.E. 2008. "Windows of opportunity" for dinoflagellate blooms: Reduced microzooplankton net growth coupled to eutrophication. *Harmful Algae*, 8: 158-166.
- Strickland, J.H.D. y Parsons, T.R. 1968. *A practical handbook of seawater analysis*. Ottawa, Fisheries Research Board of Canada, Bulletin 167, 293 pp.
- Strom, S. 2002. Novel interactions between phytoplankton and microzooplankton: their influence on the coupling between growth and grazing rates in the sea. *Hydrobiologia*, 480: 41-54.
- Strom, S.L. y Strom, M.W. 1996. Microplankton growth, grazing, and community structure in the northern Gulf of Mexico. *Marine Ecology Progress Series*, 130: 229-240.
- Tang, K.W. y Taal, M. 2005. Trophic modification of food quality by heterotrophic protists: species-specific effects on copepod egg production and egg hatching. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 318: 85-98.
- Taylor, A.H., Allen, J.I. y Clark, P.A. 2002. Extraction of a weak climatic signal by an ecosystem. *Nature*, 416: 629-632.
- Technicon®. 1973. Silicates in water and seawater. Industrial Method N°186-72W/B', 2 pp.
- Teixeira, I.G. y Figueiras, F.G. 2009. Feeding behaviour and nonlinear responses in dilution experiments in a coastal upwelling system. *Aquatic Microbial Ecology*, 55: 53-63.
- Thibault, K.M. y Brown, J.H. 2007. Impact of an extreme climatic event on community assembly. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105: 3410-3415.
- Thingstad, T.F., Hagstrom, A. y Rassoulzadegan, F. 1997. Accumulation of degradable DOC in surface waters: is it caused by a malfunctioning microbial loop? *Limnology and Oceanography*, 42: 398-404.
- Thingstad, T.F., Krom, M.D., Mantoura, R.F.C., Flaten, G.A.F., Groom, S., Herut, B., Kress, N., Law, C.S., Pasternak, A., Pitta, P., Psarra, S., Rassoulzadegan, F., Tanaka, T., Tselepidis, A., Wassmann, P., Woodward, E.M.S., Wexels Riser, C., Zodiatis, G. y Zohary, T. 2005. Nature of phosphorus limitation in the ultraoligotrophic Eastern Mediterranean. *Science*, 309: 1068-1071.
- Tillmann, U. 2004. Interactions between planktonic microalgae and protozoan grazers. *Journal Eukariotic Microbiology*, 51: 156-168.

- Tilman, D. 1977. Resource competition between plankton algae: an experimental and theoretical approach. *Ecology*, 58: 338-348.
- Tomas, C.R. 1997. Identifying marine phytoplankton. Academic Press, USA, 858 pp.
- Tombesi, N.B., Pistonesi, M.F. y Freije, R.H. 2000. Physico-chemical characterization and quality improvement evaluation of primary treated municipal waste water in the city of Bahía Blanca (Argentina). *Ecology Environment and Conservation*, 6(2): 147-151.
- Torres, R., Goni, M.A., Voulgaris, G., Lovell, C.R. y Morris, J.T. 2004. Effects of low tide rainfall on intertidal zone material cycling. *Coastal and Estuarine Studies*, 59: 93-114.
- Tréguer, P. y Le Corre, P. 1975. Manuel d'analyse des sels nutritifs dans l'eau de mer (utilisation de l'Autoanalyser II Technicon), 2nd edn. Université de Bretagne Occidentale, Brest, 110 pp.
- Trenberth, K.E. 1997. The definition of El Niño. *Bulletin of the American Meteorological Society*, 78: 2771-2777.
- Uchida, T., Kamiyama, T. y Matsuyama, Y. 1997. Predation by a photosynthetic dinoflagellate *Gyrodinium instriatum* on loricated ciliates. *Journal of Plankton Research*, 9: 603-608.
- Vanderploeg, A.H. y Scavia, D. 1979. Two electivity indices for feeding with special reference to zooplankton grazing. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 36: 362-365.
- Vaqué, D., Agustí, S. y Duarte, C.M. 2004. Response of bacterial grazing rates to experimental manipulation of an Antarctic coastal nanoflagellate community. *Aquatic Microbial Ecology*, 36: 41-52.
- Vargas C.A., Martínez, R.A., Cuevas, L.A., Pavez, M.A., Cartes, C., González, H.E., Escribano, R. y Daneri, G. 2007. The relative importance of microbial and classical food webs in a highly productive costal upwelling area. *Limnology and Oceanography*, 52(4): 1495-1510.
- Vargas, C.A., Martínez, R.A., González, H.E. y Silva, N. 2008. Contrasting trophic interactions of microbial and copepod communities in a fjord ecosystem, Chilean Patagonia. *Aquatic Microbial Ecology*, 53: 227-242.
- Verity, P. y Sieracki, M. 1993. Use of color image analysis and epifluorescence microscopy to measure plankton biomass. En: Kemp, P.F., Sherr, B.F., Sherr, E.B. y Cole, J.J. (eds.). *Handbook of methods in aquatic microbial ecology*. Lewis Publishers, Boca Ratón, pp. 327-338.
- Verity, P.G. y Langdon, C. 1984. Relationships between lorica volume, carbon, nitrogen and ATP content of tintinnids in Narragansett Bay. *Journal of Plankton Research*, 6(5): 859-868.
- Verity, P.G. y Villareal, T.A. 1986. The relative food value of diatoms, dinoflagellates, flagellates and cyanobacteria for tintinnid ciliates. *Arch. Protistenkd*, 131: 71-84.
- Verni, F. y Gualtieri, P. 1997. Feeding behaviour in ciliated protists. *Micron*, 28(6): 487-504.
- Vigil P., Countway, P.D., Rose, J., Lonsdale, D.J., Gobler, C.J. y Caron, D.A. 2009. Rapid shifts in dominant taxa among microbial eukaryotes in estuarine ecosystems. *Aquatic Microbial Ecology*, 54: 83-100.
- Villagran, D.M. 2013. Rol del zooplancton y el material particulado en suspensión en la distribución de metales pesados en el Estuario de Bahía Blanca. Tesis de licenciatura, Universidad Nacional del Sur. 55 pp.
- Wassmann, P. 1998. Retention versus export food chains: processes controlling sinking loss from marine pelagic systems. *Hydrobiologia*, 363: 29-57.
- Wiebe, W.J. y Smith D.F. 1977. Direct measurement of dissolved organic carbon release by phytoplankton and incorporated by microheterotrophs. *Marine Biology*, 42: 213-223.
- Winter, C., Bouvier, T., Weinbauer, M.G. y Thingstad, T.F. 2010. Trade-offs between competition and defense specialists among unicellular planktonic organisms: the "killing the winner" Hypothesis revisited. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 74: 42-57.
- Wirtz, K.W. 2012. Who is eating whom? Morphology and feeding type determine the size relation between planktonic predators and their ideal prey. *Marine Ecology Progress Series*, 445: 1-12.

- Woese, C.R., Kandler, O. y Wheelis, M.L. 1990. Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria and Eucarya. *Proceedings of the National Academy of Science*, 87: 4576-4579.
- Wohlers, J., Engel, A., Zöllner, E., Breithaupt, P., Jürgens, K., Hoppe, H.-G., Sommer, U. y Riebesell, U. 2009. Changes in biogenic carbon flow in response to sea surface warming. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106: 7067-7072.
- Worden, A.Z., Nolan, J.K. y Palenik, B. 2004. Assessing the dynamics and ecology of marine picophytoplankton: The importance of the eukaryotic component. *Limnology and Oceanography*, 49(1): 168-179.
- Xu, H., Song, W. y Warren, A. 2004. An investigation of the tolerance to ammonia of the marine ciliate *Euplotes vannus* (Protozoa, Ciliophora). *Hydrobiologia*, 519: 189-195.
- Yang, L.H., Bastow, J.L., Spence, K.O. y Wright, A.N. 2008. What can we learn from resource pulses? *Ecology*, 89: 621-634.
- York, J.K., Costas, B.A. y McManus, G.B. 2011. Microzooplankton grazing in green water-Results from two contrasting estuaries. *Estuaries and Coasts*, 34: 373-385.
- Zhang, W., Xiao, T. y Wang, R. 2001. Abundance and biomass of copepod nauplii and ciliates and herbivorous activity of microzooplankton in the East China Sea. *Plankton Biology and Ecology*, 48(1): 28-34.
- Zubkov, M.V. y Tarran, G.A. 2008. High bacterivory by the smallest phytoplankton in the North Atlantic Ocean. *Nature*, 455: 224-226.

Anexo.

Tabla 1. Fechas en las que se realizaron los experimentos de alimentación, la recolección de muestras y mediciones in situ en ambos sitios de muestreo. Todas las campañas se realizaron en condiciones diurnas y en marea bajante.

Campaña	Fecha	
	CV	BM
1	15/07/2008	22/07/2008
2	11/12/2008	15/12/2008
3	16/02/2009	20/02/2009
4	27/07/2009	29/07/2009
5	10/08/2009	13/08/2009
6	21/10/2009	22/10/2009
7	02/11/2009	03/11/2009
8	11/03/2010	12/03/2010
9	16/03/2010	17/03/2010
10	26/05/2010	27/05/2010
11	27/07/2010	28/07/2010
12	10/08/2010	11/08/2010
13	21/10/2010	22/10/2010
14	02/11/2010	03/11/2010

Tabla 2. Valores medios y desvío estándar (DS) de la abundancia del fitoplancton (cél l⁻¹ x10³) durante las cuatro estaciones climáticas en los sitios BM y CV. También se muestra el número de muestras analizado por estación climática y sitio (N), la riqueza específica (S), el índice de diversidad de Shannon (H') y el índice de equitatividad de Pielou (J). Se definieron diferentes categorías taxonómicas según el tamaño y el tipo de agregación de las especies: diatomeas solitarias mayores a 20 µm (DS>20), diatomeas formadoras de cadena mayores a 20 µm (DFC>20), diatomeas solitarias menores a 20 µm (DS<20), diatomeas formadoras de cadena menores a 20 µm (DFC<20), dinoflagelados (Di), cocolitofóridos (C), nanoflagelados mayores a 5 µm (NF>5) y nanoflagelados menores a 5 µm (NF<5).

Categoría	BM								CV								
	Verano		Otoño		Invierno		Primavera		Verano		Otoño		Invierno		Primavera		
	media	DS	media	DS	media	DS	media	DS	media	DS	media	DS	media	DS	media	DS	
N	8	-	2	-	10	-	8	-	8	-	2	-	10	-	8	-	
S	16	3.65	7	-	11	1.67	11	2.06	10	3.00	9	-	10	2.88	8	1.50	
H'	1.63	0.18	0.84	-	1.48	0.29	1.17	0.37	1.20	0.28	1.18	-	1.58	0.25	1.05	0.32	
J	1.37	0.17	0.99	-	1.45	0.29	1.14	0.40	1.24	0.24	1.23	-	1.66	0.25	1.16	0.36	
Microfitoplancton																	
Diatomeas																	
<i>Actinocyclus</i> sp.	DS>20	0.36	0.61	1.08	1.25	0	0	0.49	0.69	0	0	0.82	1.75	0.37	0.73	0	0
<i>Actinoptychus</i> sp.	DS>20	0	0	0.44	1.05	0	0	0	0	0	0	0.12	0.35	0	0	0	0
<i>Cyclotella striata</i>	DS>20	0	0	1.75	1.71	0	0	0	0	0	0	1.64	4.01	0	0	0	0
<i>Cymbella</i> sp.	DS>20	0.05	0.16	0.44	0.62	0.13	0.35	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Entomoneis alata</i>	DS>20	0	0	0.06	0.17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Fragilaria</i> sp.	DFC>20	0	0	0.38	0.74	0	0	0	0	0.79	2.48	0	0	0	0	0	0
<i>Guinardia delicatula</i>	DFC>20	0.25	0.79	1.11	2.2	0.06	0.18	0	0	2.1	6.64	0	0	0	0	0	0
<i>Gyrosigma</i> sp.	DS>20	0	0	0	0	0.33	0.63	0	0	0	0	0.2	0.58	0.25	0.69	0.49	0.69
<i>Leptocylindrus minimus</i>	DFC>20	0	0	0	0	0.25	0.71	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Navicula aff. cincta</i>	DS>20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.41	0.76	0	0	0	0
<i>Navicula</i> spp.	DS>20	0.53	1.02	3.44	5.46	0.86	1.28	0	0	0	0	0.82	2.31	0.2	0.58	0	0
<i>Nitzschia</i> spp.	DS>20	1.3	1.81	0.52	0.74	1.56	3.37	0	0	0.99	1.63	0.61	1.22	0.13	0.35	0.98	1.39
<i>Podosira stelliger</i>	DS>20	0.1	0.32	0.39	0.73	0	0	0	0	0	0	0.2	0.58	0	0	0	0
<i>Stephanodiscus</i> sp.	DS>20	0	0	0.91	1.02	0	0	0	0	0	0	0.33	0.63	0	0	0	0
<i>Surirella striata</i>	DS>20	0.05	0.16	0.45	0.66	0.19	0.53	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Thalassiosira hendeyii</i>	DS>20	0	0	0.19	0.37	0.63	1.77	0	0	0	0	0.61	1.22	0	0	0	0
<i>Thalassiosira pacifica</i>	DFC>20	8.51	12.5	0	0	1.05	1.96	0	0	7.95	14	0	0	0	0	0	0
<i>Thalassiosira</i> sp.	DS>20	94.6	75.5	60.2	45.1	41.8	41.1	24.1	2.08	102	83.1	25.4	16.9	19.9	11.7	15.2	6.25
Dinoflagelados																	
dinoflagelados no identificados	Di	0.05	0.16	0.44	0.82	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Scripsiella trochoidea</i>	Di	1.29	2.05	0	0	0	0	0	0	0.1	0.31	0	0	0	0	0	0

Cocolitofóridos	C	0.1	0.32	0	0	0.13	0.35	0	0	0.69	1.48	0	0	0	0	0	0
Xantoficeas																	
<i>Ophioctyium</i> sp.	DS>20	0	0	1.18	2.8	2.13	3.31	0	0	0.4	1.26	0	0	1	2.83	0	0
Nanofitoplancton																	
Diatomeas																	
<i>Achnanthes</i> sp.	DS<20	0	0	0.25	0.53	0.13	0.35	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Chaetoceros debilis</i>	DFC<20	1.1	3.48	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cyclotella</i> sp.	DFC<20	6.39	7.78	14.8	19.8	8.28	7.67	0	0	2.1	4.73	1.75	4.96	1.03	1.65	0	0
<i>Minidiscus chilensis</i>	DS<20	3.17	8.78	0	0	1.44	2.48	0	0	0	0	0	0	0.25	0.45	0	0
Nanopennadas	DS<20	1.4	4.44	2.92	8.26	0	0	0	0	4.21	9.47	1.75	4.96	0	0	0	0
<i>Paralia sulcata</i>	DFC<20	18.9	21.5	37.9	34.6	16.3	10.8	27	4.86	12.7	9.44	40.4	38.4	22.9	23.8	30.4	9.72
<i>Thalassiosira curviseriata</i>	DFC<20	18.9	35.8	16.9	39.3	12.1	18	6.38	3.47	2.05	3.04	5.84	10.8	29.2	32.8	0	0
<i>Thalassiosira minima</i>	DFC<20	0	0	91.3	256	0.5	1.41	0	0	5.61	17.7	320	394	0	0	0	0
<i>Thalassiosira</i> sp.	DS<20	0	0	52.6	104	0	0	0	0	0	0	70.1	84.7	0	0	0	0
Dinoflagelados																	
Nanogimnodiniales	Di	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	35.1	49.6
Nanotecados	Di	0	0	0	0	2.25	6.36	0	0	0.29	0.93	0	0	0.65	1.26	0	0
<i>Prorocentrum</i> sp.	Di	0	0	0	0	0.18	0.36	0	0	0.2	0.63	0	0	0	0	0	0
Flagelados																	
Nanoflagelados >5 μ m	NF>5	36.2	49.9	59.2	97.2	21.5	48.2	1.96	0	63.1	61.1	136	88	33.3	41.6	6.87	8.33
Nanoflagelados <5 μ m	NF<5	58.7	153	69.2	115	240	368	568	69.4	164	188	105	67	210	176	568	367

Tabla 3. Valores medios y desvío estándar (DS) de la abundancia del microzooplancton (cél Γ^1) durante las cuatro estaciones climáticas en los sitios BM y CV. Se muestra el número de muestras analizado por estación climática y sitio (N), la riqueza específica (S), el índice de diversidad de Shannon (H') y el índice de equitatividad de Pielou (J). El hábito trófico sugerido de cada especie según la literatura y por observación de los organismos vivos, fue utilizado para definir las siguientes categorías tróficas: Herbívoro (H), mixótrofo (M), omnívoro (O), bacteriófago (B).

Categoría	BM								CV							
	Verano		Otoño		Invierno		Primavera		Verano		Otoño		Invierno		Primavera	
	media	DS	media	DS	media	DS	media	DS	media	DS	media	DS	media	DS	media	DS
N	9	-	3	-	15	-	12	-	10	-	3	-	14	-	13	-
S	11	2.87	10	-	8	1.48	10	3.27	9	1.91	7	-	9.4	0.894	9	2.06
H'	1.21	0.41	1.63	-	0.83	0.41	1.29	0.37	0.86	0.28	1.32	-	1.25	0.61	1.73	0.28
J	1.17	0.29	1.63	-	0.92	0.45	1.30	0.21	0.95	0.36	1.56	-	1.09	0.64	1.81	0.32

Tintinnidos																	
<i>Codonellopsis lusitanica</i>	H	12	28.08	55.56	101.4	240	231.2	16.67	28.87	3.571	13.36	111.7	83.17	132.3	168.4	16.67	28.87
<i>Eutintinus</i> sp.	H	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16.67	28.87
<i>Metacylis</i> aff. <i>mereschkowskyi</i>	H	0	0	0	0	3.333	11.55	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Tintinnidium balechi</i>	H/B	8276	11093	5633	2513	2447	1832	683.3	189.3	1784	1635	7687	5679	327.7	136.5	366.7	125.8
<i>Tintinnopsis baltica</i>	H	0	0	88.89	153.7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Tintinnopsis beroidea</i>	H	0	0	44.44	88.19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Tintinnopsis brasiliensis</i>	H	0	0	44.44	52.7	20	57.84	0	0	2.857	10.69	76.67	91.69	32.31	49.86	0	0
<i>Tintinnopsis gracilis</i>	H	2.667	10.33	211.1	395.1	16.67	57.74	116.7	104.1	10.71	28.95	40	69.92	3.077	11.09	0	0
<i>Tintinnopsis parva</i>	H	16	51.93	277.8	272.8	1075	1466	0	0	27.86	57.67	290	412.2	793.8	1349	0	0
<i>Tintinnopsis</i> sp.	H	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	15.81	7.692	18.78	0	0
Ciliados aloricados																	
<i>Cyrtostrombidium longisomum</i>	M	0	0	44.44	101.4	0	0	0	0	7.143	26.73	0	0	0	0	0	0
<i>Euplotes</i> sp.	H	45.33	98.99	311.1	763.9	50	173.2	0	0	14.29	41.27	0	0	0	0	0	0
<i>Leegardiella</i> sp.	H	26.67	59.36	0	0	0	0	0	0	2.857	10.69	0	0	76.92	151.8	0	0
<i>Lohmanniella oviformis</i>	M	5.333	20.66	266.7	200	166.7	218.8	333.3	416.3	70	78.64	325	270	909.2	813	533.3	160.7
<i>Strombidinopsis</i> spp.	H	173.3	271.9	455.6	194.4	190	275.2	683.3	644.9	149.3	118.4	675	450.5	517.7	562.3	216.7	28.87
<i>Strombidium capitatum</i>	M	169.8	128.8	0	0	25	62.16	0	0	46.43	50.78	6.667	21.08	0	0	0	0
<i>Strombidium dalum</i>	H	0	0	0	0	3.333	11.55	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Strombidium</i> spp.	H	2.667	10.33	0	0	433.3	745.1	0	0	130	153.6	0	0	136.9	278.8	0	0
Dinoflagelados																	
<i>Oblea</i> sp.	H	2.857	10.69	55.56	166.7	138.3	296.3	0	0	15.71	40.14	70	188.9	53.85	133	0	0
<i>Gyrodinium fusus</i>	H	20	56.06	0	0	11.67	30.1	0	0	139.3	215.3	0	0	30.77	61.44	0	0
<i>Gyrodinium</i> spp.	H	88	193.7	0	0	3.333	11.55	0	0	3.571	13.36	0	0	0	0	0	0
<i>Protoperidinium</i> aff. <i>punctulatum</i>	H	0	0	22.22	66.67	0	0	0	0	7.143	26.73	0	0	0	0	0	0
<i>Torodinium robustum</i>	H	2.667	10.33	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Rotíferos																	
<i>Synchaeta</i> sp.	H	6.667	25.82	0	0	31.67	47.07	0	0	10	28.01	0	0	3.077	11.09	0	0
<i>Trichocerca</i> sp.	H	6.667	25.82	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Otros																	
Acari	O	0	0	0	0	8.333	28.87	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Nauplii	O	9.333	27.12	77.78	130.2	0	0	0	0	0	0	30	67.49	38.46	112.1	0	0

Agradecimientos

Este trabajo se realizó con la valiosa contribución de varias personas, a las cuales quisiera mencionar en este apartado. En primer lugar, deseo expresar mi profundo agradecimiento a la Dra. Mónica Hoffmeyer por guiarme durante mi trabajo de tesis y por darme la oportunidad de formar parte de su grupo de trabajo y de enriquecer mi formación. A la Dra. Sonia Barría de Cao, por enseñarme con genuino entusiasmo todo sobre el microzooplancton y por apoyarme incondicionalmente durante estos años. Deseo destacar que ambas me transmitieron enseñanzas más allá de lo académico, y me demostraron sus valores no a través de sus palabras, sino a través de sus actos.

También quisiera agradecer profundamente al Dr. Juan Carlos Molinero, quien me recibió cálidamente en Kiel, Alemania y me brindó las herramientas que hicieron posible la interpretación de gran parte de los resultados de este trabajo. Su valiosísimo y desinteresado aporte ha mejorado considerablemente el resultado final de esta tesis.

Muchas gracias al personal de las lanchas, Camilo Bernárdez, Enio Redondo y Alberto Conte por su ayuda incondicional durante los muestreos y especialmente, por sus enseñanzas.

Varias personas participaron brindándome apoyo y asesoramiento en distintas áreas. En primer lugar, quisiera agradecer a la Dra. Rosa Pettigrosso, quien me brindó generosamente las herramientas para la identificación de ciliados desnudos y participó activamente en el diseño experimental de esta tesis. También quisiera agradecer a la Dra. Valeria Guinder, por enseñarme la metodología de estudio del fitoplancton y guiarme en la identificación de especies con genuina voluntad y entusiasmo. A Raúl Asteasuain (el Vasco) y Matías Tártara por procesar las muestras de nutrientes y clorofila de esta tesis. Muchas gracias Vasco por tu infinita paciencia. A la Dra. Rut Akselman, quien me brindó las herramientas para la identificación de dinoflagelados y siempre respondió con calidez ante cada una de mis consultas. A Rubén Negri, Ricardo Silva y María Constanza Hozbor, quienes me recibieron en el INIDEP y me asesoraron en el análisis de nanoplancton y picoplancton. Sin su ayuda, hubiera sido imposible llevar a cabo gran parte de esta tesis. A Carlos Jones por asesoramiento en el uso del software ImageJ. A Laura Ruiz y Ernesto Alberdi, por su ayuda en el uso del software Matlab. Por último, quisiera hacer un agradecimiento muy especial a Hugo Freije, Ana Martínez y Carla Spetter por atender con la mejor predisposición todas mis consultas y por su ayuda en las campañas de muestreo.

Quisiera agradecer al personal del CERZOS, especialmente a Néstor Curvetto y Carlos Zotelo, por brindarme los datos de precipitación utilizados en esta tesis. A Diana Villagrán por cederme los datos de abundancia del mesozooplancton utilizados para la construcción del esquema del Capítulo 4.

Este trabajo no habría sido posible sin el apoyo de mis compañeros y amigos de trabajo: Sofi, Vale, Ana, Chechu, Guada, Javi, Meli, Clara, Flor, Maxi, Santi, Román, Euge y Paula. Muchas gracias por brindarme la posibilidad de intercambiar ideas, discutir resultados y enriquecer mi formación académica y humana.

Muchas gracias a mis amigas: Lau, Pao, Xime, Vivi, Magui y Sole por apoyarme incondicionalmente y por estar en los momentos en que más las necesité.

También deseo expresar un emotivo agradecimiento a mi familia: Flor, Ana, Muñe, Pollo, Nati, Juli y Marti por ser mi sostén y acompañarme siempre con amor.

Por último un especial agradecimiento a Gerardo, quien constantemente me muestra el lado positivo de las cosas y me acompaña en cada paso de mi vida.

Esta tesis ha sido realizada con el apoyo de las siguientes fuentes de financiación: 1) Beca de postgrado del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). 2) Subsidio de La Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica PICT01713-2006, Trofodinámica planctónica en el Estuario de Bahía Blanca.