



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

TESIS DE DOCTOR EN BIOLOGÍA

**Influencia de biofilms y matas microbianas en la presencia
de metales en planicies de marea de un ecosistema
estuarino impactado por efluentes urbanos**

Analía Verónica Serra

BAHIA BLANCA

ARGENTINA

2022

PREFACIO

Esta tesis se presenta como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Doctor en Biología de la Universidad Nacional del Sur y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad u otra. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en el Área de Oceanografía Química del Instituto Argentino de Oceanografía (IADO), dependiente del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y de la Universidad Nacional del Sur (UNS) durante el período comprendido entre septiembre de 2012 y febrero de 2022, bajo la dirección de la Dra. Sandra Elizabeth Botté y la Dra. Diana Graciela Cuadrado, ambas docentes de la UNS e investigadoras de IADO-CONICET.



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR
Secretaría General de Posgrado y Educación Continua

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

Que casualidad que desde que te conocí,
mis sueños se hacen realidad!

A GIS

Si...

Si puedes mantener la cabeza en su sitio cuando todos a tu alrededor la pierdan y te culpen a ti. Si puedes seguir creyendo en ti mismo cuando todos dudan de ti, pero también aceptas que tengan dudas. Si puedes esperar y no cansarte en la espera; o si, siendo engañado, no respondes con engaños, o si, siendo odiado, no incurres en odio. Y aun no te las das de bueno ni de sabio.

Si puedes soñar sin que los sueños te dominen; si puedes pensar y no hacer tus pensamientos tu único objetivo; si puedes encontrarte con el triunfo y el fracaso, y tratar a esos dos impostores de la misma manera. Si puedes soportar oír la verdad que has dicho, tergiversada por villanos para engañar a los necios. O ver cómo se destruye todo aquello por lo que has dado la vida, y remangarte para reconstruirlo con herramientas desgastadas.

Si puedes apilar tus ganancias y arriesgarlas a una sola jugada; y perder, y empezar de nuevo desde el principio y nunca decir ni una palabra sobre tu pérdida. Si puedes forzar tu corazón, y tus nervios, y tendones, a cumplir con tus objetivos mucho después de que estén agotados, y así resistir cuando ya no te queda nada salvo la voluntad, que les dice: “¡Resistí!”.

Si puedes hablar a las masas y conservar tu virtud. O caminar junto a reyes, sin menospreciar por ello a la gente común. Si ni amigos ni enemigos pueden herirte. Si todos pueden contar contigo, pero ninguno demasiado. Si puedes llenar el implacable minuto, con sesenta segundos de diligente labor. Tuya es la Tierra y todo lo que hay en ella, y –lo que es más- : Serás un Hombre, hijo mío!

RUDYARD KIPLING

RESUMEN

Al igual que muchos ecosistemas costeros del mundo, diversos estudios realizados en el estuario de Bahía Blanca reflejan que este ambiente se encuentra impactado por el aporte de metales, originados por diversas actividades antropogénicas que se desarrollan en sus inmediaciones. Las planicies de marea estuarinas son ecosistemas costeros de gran importancia debido a su extensión, a los importantes servicios ecosistémicos que brindan y a que se encuentran dentro de los ecosistemas más productivos de la Tierra. La alta productividad biológica se basa principalmente en la actividad de las comunidades microfítobentónicas que, en las planicies de marea del estuario de Bahía Blanca, están representadas por biofilms y matas microbianas que colonizan su superficie. Varios autores han indicado la capacidad de estas comunidades para secuestrar potenciales contaminantes, entre ellos, los metales. El objetivo de esta tesis es evaluar la influencia de estas comunidades microbianas presentes en el área media (Puerto Rosales) e interna (Almirante Brown) del estuario de Bahía Blanca, en los procesos de captación y distribución vertical de estos contaminantes inorgánicos. Para ello, se analizó la distribución y dinámica de metales esenciales como Cr, Cu, Fe, Mn, Ni y Zn, y otros no esenciales como el Cd, Hg y Pb. Además, se analizaron variables secundarias como la influencia de las mareas, el contenido de materia orgánica, tamaño de grano y, en el caso de la mata microbiana, los parámetros fisicoquímicos temperatura, pH y potencial redox. El análisis de la información obtenida mostró que las matas microbianas fueron sensibles a la presencia de metales, dado que fueron capaces de concentrarlos aun cuando estuvieron en bajas concentraciones. Asimismo, las matas microbianas mostraron una mayor eficacia en el secuestro de metales respecto al biofilm que cubre los primeros milímetros de la misma. La influencia de las matas microbianas en la presencia de metales fue más notoria en la zona alta de Puerto Rosales, donde se registraron mayores concentraciones respecto a las capas ubicadas por debajo de la comunidad microbiana activa. Esto podría ser explicado por el mayor contenido de materia orgánica encontrado en las matas microbianas de esta zona, en conjunto con las características fisicoquímicas atribuibles a los períodos de exposición a las cuales se ven sometidas. La secreción de sustancias poliméricas extracelulares por parte de diatomeas y cianobacterias móviles como respuesta a un período de exposición mayor a 6 días registrado en ésta zona, sumado a la afinidad para unir metales que presenta la pared de las cianobacterias dominantes de estas matas microbianas epibentónicas, favorecería el secuestro de los mismos. La mayoría de los metales analizados presentaron mayores concentraciones en las capas subyacentes a la mata microbiana.

Esto podría atribuirse a la influencia de los microorganismos presentes en esa profundidad (1 - 5 cm), así como a la presencia de sedimento de tamaño de grano fino. En cuanto al ambiente fisicoquímico de las matas microbianas, se encontraron diferencias entre los sitios evaluados, presentando Almirante Brown un pH alcalino, una mayor temperatura y un ambiente más reductor respecto a Puerto Rosales, lo cual podría implicar diferencias en la actividad microbiana de ambos sistemas. Por último, se encontró que Almirante Brown se encuentra bajo una mayor influencia por parte de los metales seleccionados para su evaluación en la presente tesis doctoral, dado que posee las mayores concentraciones promedio en seis de los nueve metales analizados (Cr, Cu, Fe, Ni, Pb y Zn). Ello podría estar relacionado a su proximidad a un ex basurero y la influencia de la descarga de efluentes cloacales con escaso tratamiento.

ABSTRACT

As in many coastal ecosystems in the world, diverse studies carried out in the Bahía Blanca estuary (referred to in this document as EBB, from its name in Spanish) reflect that this environment is impacted by the supply of metals originated in a variety of anthropogenic activities that are carried out in its surroundings. The tidal flats of estuarine tides are coastal ecosystems of great importance given their extension, the important ecosystemic services they provide, and because they are among the most productive ecosystems on Earth. The high biological productivity is mainly based in the activity of microphytobenthic communities that, in the tidal flats of the EBB, are represented by biofilms and microbial mats that colonize its surface. Various authors have indicated the capacity for these communities to sequester potential contaminants, such as metals. The goal of this thesis is to evaluate the influence of these microbial communities present in the middle (Puerto Rosales) and inner (Almirante Brown) areas of the EBB on the capture and vertical distribution processes of these inorganic contaminants. Towards this end, the distribution and dynamics was analyzed for essential metals like Cr, Cu, Fe, Mn, Ni and Zn, and other non-essential ones like Cd, Hg, and Pb. Furthermore, secondary variables were also analyzed, such as the influence of tides, the organic matter content, grain size and, in the case of the microbial mat, the physicochemical parameters of temperature, pH, and the redox potential. The analysis of the data showed that the microbial mats were sensitive to the presence of metals, given that they were capable of concentrating them even when they were present in low concentrations. Likewise, the microbial mats showed a greater efficacy in the sequestering of metals relative to the biofilm that covers its first millimeters. The influence of the microbial mats on the presence of metals was most significant in the high zone of Puerto Rosales, where greater concentrations were registered in relation to the layers situated below the active microbial community. This could be explained by the greater content of organic matter found in the microbial mats in this zone, in conjunction with the physicochemical features attributable to the exposure periods to which they are submitted. The secretion of extracellular polymeric substances by mobile diatoms and cyanobacteria as a response to a period of exposure greater than 6 days, recorded in this zone, as well as the affinity to bind metals exhibited by the wall in the cyanobacteria that dominate these epibenthic microbial mats, may favor their sequestering. The majority of the analyzed metals presented greater concentrations in the underlying layers in the microbial mat. This could be attributed to the influence of the microorganisms present at that depth (1 - 5 cm), as well as to the presence of sediment of fine grain size. As to the

physicochemical environment, differences were found between the evaluated sites, where Almirante Brown presents an alkaline pH, greater temperature, and a more reductive environment in relation to Puerto Rosales. That fact would imply differences in the microbial activity of both systems. Finally, Almirante Brown was found to be under a greater influence of the metals selected for evaluation. There is high mean concentrations in six of the nine analyzed metals (Cr, Cu, Fe, Ni, Pb, and Zn). This may be related to its proximity to a former garbage dump and the influence of the discharge of sewer discharges with low treatment.

PRODUCCIÓN CIENTÍFICA

Publicaciones

Perillo V, Pan J, La Colla N, **Serra AV**, Botté S, Cuadrado D (2020) Short-term efficiency of epibenthic microbial mat components on phosphorus sorption. *Marine Pollution Bulletin*. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2020.111350.

Fiori S, Bravo ME, Elías R, **Serra AV**, Carcedo MC, Dos Santos E, Botté SE (2020) Soft-bottom macrobenthonic assemblage in an Argentinian estuary: effect organic enrichment and metal distribution. *Ecología Austral*. DOI: 10.1007/s10661-778-7160-x.

La Colla N, Botté SE, Negrin VL, **Serra AV**, Marcovecchio J (2017) Influence of human-induced pressures on dissolved and particulate metal concentrations in a South American estuary. *Environmental Monitoring and Assessment*. DOI: 10.1007/s10661-018-6930-x.

Serra AV, Botté SE, Cuadrado DG, La Colla NS, Negrin VL (2017) Metals in tidal flats colonized by microbial mats within a South-American estuary (Argentina). *Environmental Earth Sciences*. DOI: 10.1007/s12665-017-6577-x.

Capítulos de libros

Negrin VL, Girones L, **Serra AV** (2020) Eco-friendly strategies of remediation in the marine system: Bioremediation and Phytoremediation in Coastal and Deep Ocean Pollution. Eds. Arias, A y Botté, S. DOI: 10.1201/9780203704271-9

Ponencias presentadas en Reuniones Científicas – Resúmenes publicados

Serra AV; Perillo VL, La Colla NS, Botté SE; Pan J, Negrin VL, Cuadrado DG (2019). Secuestro de metales en matas microbianas por efecto de la marea (estuario de Bahía Blanca). V Reunión Argentina de Geoquímica de Superficie. pp150-153. ISSN-ISBN: 978-987-96296-7-3.

Perillo VL, La Colla NS, **Serra AV**, Pan J, Botté SE, Cuadrado DG. Potencial de biorremediación de fosfatos de matas microbianas epibentónicas en Paso Seco (Argentina) (2019) V Reunión Argentina de Geoquímica de Superficie. pp338-341. ISSN-ISBN: 978-987-96296-7-3.

Abasto B, Fernández EM, Gironés L, **Serra AV**, Arlenghi JH, Arias A, Spetter CV (2019) Dinámica espacial del carbono orgánico particulado en zona interna del estuario de Bahía Blanca y sus tributarios. pp130-133. ISSN-ISBN: 978-987-96296-7-3.

Fernández EM, **Serra AV**, Spetter CV, Botté SE, Cuadrado DG, Marcovecchio J (2016) Carbohidratos extracelulares en sedimentos colonizados por matas microbianas y su relación con la presencia de metales en el estuario de Bahía Blanca (Argentina). IV Reunión Argentina de Geoquímica de Superficie. ISSN-ISBN: 0327-5272

La Colla NS, Franco M, Botté SE, Negrin VL, **Serra AV**, Gomes de Almeida M, Rezende C, Marcovecchio J (2016) Carbon biogeochemical cycling from an isotopic standpoint: the role of fishes in estuarine saltmarshes IV Reunión Argentina de Geoquímica de Superficie. ISSN-ISBN: 0327-5272

Botté SE, **Serra AV**, Negrin VL, Simonetti P, La Colla NS, Labudía AC, García F, Marcovecchio J, Cuadrado DG (2016) Efecto de las matas microbianas en la distribución de metales en sedimentos intermareales. IV Reunión Argentina de Geoquímica de Superficie. ISSN-ISBN: 0327-5272

Franco M, Gomes de Almeida M, Cherene Vaz de Oliveira B, Rangel T, Quitete D, La Colla NS, **Serra AV**, Botté SE, Marcovecchio J, Rezende CE (2016) Dissolved and Particulate Organic Matter in Bahía Blanca estuary, Argentina - SW Atlantic. IV Reunión Argentina de Geoquímica de Superficie. ISSN-ISBN: 0327-5272

Serra AV, Cuadrado DG, Botté SE (2014) Índice de geoacumulación y factor de enriquecimiento en sedimentos del estuario de Bahía Blanca. Libro de Actas de resúmenes de la III Reunión Argentina de Geoquímica de la Superficie. ISSN-ISBN: 978-987-544-597-0

La Colla NS, **Serra AV**, García F, Marcovecchio J, Cuadrado D, Botté S (2014) Dinámica de metales pesados en sedimento, agua y material particulado en suspensión de un estuario con impacto antrópico. Libro de Actas de resúmenes de la III Reunión Argentina de Geoquímica de la Superficie. ISSN-ISBN: 978-987-544-597-0

La Colla NS, Franco M, **Serra AV**, Negrin VL, Gomes de Almeida M, Marcovecchio J, Rezende C, Botté SE (2014) Saltmarshes: An approach to organic matter contribution in sediments through isotopic signature. Libro de Actas de resúmenes de la III Reunión Argentina de Geoquímica de la Superficie. ISSN-ISBN: 978-987-544-597-0

Serra AV, Labudía AC, García F, Cuadrado DG, Botté SE (2013) Metales presentes en matas microbianas y sedimentos asociados de dos sectores intermareales del estuario de Bahía Blanca. Libro de Resúmenes de las VIII Jornadas Nacionales de Ciencias del Mar, XVI Coloquio de Oceanografía. Comodoro Rivadavia, Página 97. ISBN: 978-987-21581-7-0

Ponencias presentadas en Reuniones Científicas – Resúmenes no publicados

Spetter CV, Abasto B, Fernández EM, Gironés L, **Serra AV**, Arias A (2018) Ingreso de amonio al estuario de bahía Blanca y su relación con la dinámica de clorofila. X Jornadas de Ciencias del Mar. XVIII Coloquio Nacional de Oceanografía. Ciudad autónoma de Buenos Aires.

La Colla N, Botté SE, Negrin V, **Serra AV**, Marcovecchio J (2017) Estuario de Bahía Blanca: Perspectivas en la incorporación y transferencia de mercurio desde los compartimientos abióticos hacia la cadena alimenticia. II Jornadas Bonaerenses sobre Conservación de ambientes y patrimonio costero. Villa Gesell.

Serra AV, Labudía AC, Botté SE, Cuadrado D, Marcovecchio J, La Colla N, Negrin V, García F, Arlenghi J (2015) Uso de índices para evaluar la contaminación por metales pesados en ambientes costeros. Primeras Jornadas Bonaerenses sobre Conservación de Ambientes y Patrimonio costero. Monte Hermoso.

Labudía A, **Serra AV**, La Colla N, Gutiérrez G, Botté SE, García F (2015) Contenido de metales pesados en peces, sedimento y material particulado en suspensión en el sistema costero de Monte Hermoso. Primeras Jornadas Bonaerenses sobre Conservación de Ambientes y Patrimonio costero. Monte Hermoso.

La Colla N, Botté SE, Marcovecchio J, Labudía AC, **Serra AV**, Negrin V, García F (2015) Evaluación de la concentración de metales en el estuario de Bahía Blanca mediante el uso de especies ictícolas. Primeras Jornadas Bonaerenses sobre Conservación de Ambientes y Patrimonio costero. Monte Hermoso.

Botté SE, Negrin VL, **Serra AV**, Simonetti P, Buzzi N, Fernandez Severini M, Labudía A, Gutiérrez G, La Colla N, García F, García Amando L, Cuadrado D, Marcovecchio J. (2015) Sedimentos intermareales y supramareales: su potencial uso en la remediación de ambientes marinos impactados por metales. Primeras Jornadas Bonaerenses sobre Conservación de Ambientes y Patrimonio costero. Monte Hermoso.

Serra AV, Negrin VL, La Colla NS, Labudía AC, Botté SE, Cuadrado DG (2013) Presencia de metales pesados en matas microbianas del Estuario de Bahía Blanca, Argentina. XV Congreso Latinoamericano de Ciencias del Mar. Resumen en recurso electrónico (pen drive).

Labudía AC, **Serra AV**, La Colla NS, Fernández Severini MD, Botté SE (2013) Primer análisis de mercurio en sedimento, MPS y peces de interés comercial en la localidad de Monte Hermoso, Prov. de Buenos Aires, Argentina. XV Congreso Latinoamericano de Ciencias del Mar. Resumen en recurso electrónico (pen drive).

La Colla NS, Negrin VL, Labudía AC, **Serra AV**, García F, Marcovecchio J, Botté SE (2013) La importancia de los parámetros fisicoquímicos en la distribución actual de los metales pesados en fase disuelta y particulada en un estuario mesomareal del Atlántico Sudoccidental (Argentina). XV Congreso Latinoamericano de Ciencias del Mar. Resumen en recurso electrónico (pen drive).

Serra AV, Labudía AC, García F, Cuadrado DG, Botté SE (2013) Metales presentes en matas microbianas y sedimentos de dos sectores intermareales del Estuario de Bahía Blanca. I Jornada de Intercambio de Becarios y Tesistas del CONICET Bahía Blanca "Medioambiente y Preservación". Bahía Blanca.

INDICE

Prefacio	i
Dedicatoria	iii
Resumen	vii
Abstract	ix
Producción científica	xi

Capítulo 1: Introducción 1

1.1 El ambiente estuarino y la contaminación	1
1.2 Planicies de marea	2
1.3 Comunidades microfitobentónicas	3
1.4 Biofilms y matas microbianas	3
1.4.1 Biofilms: estructura y formación	4
1.4.2 Matas microbianas: estructura y formación	7
1.4.3 Sustancias poliméricas extracelulares (EPS)	9
1.5 Metales	11
1.6 Área de estudio: estuario de Bahía Blanca	16
1.7 Sitios de estudio	19
1.7.1 Puerto Rosales	19
1.7.2 Almirante Brown	20
1.8 Hipótesis y objetivos	21

Capítulo 2: Materiales y Métodos 23

2.1 Trabajo de campo	23
2.1.1 Extracción de muestras	25
2.1.2 Variables ambientales registradas <i>in situ</i>	26
2.2 Procesamiento de las muestras	27
2.2.1 Granulometría	27
2.2.2 Determinación de materia orgánica	29

2.2.3 Determinación de metales	29
2.2.3.a Determinación de Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn	29
2.2.3.b Determinación de Hg	30
2.2.4 Acondicionamiento del material	31
2.2.5 Límite de detección y control de la calidad analítica de los datos	31
2.2.6 Exposición y frecuencia de inundación de la planicie	32
2.2.7 Análisis de los datos obtenidos	33

Capítulo 3: Resultados 37

3.1 Variables ambientales	37
3.2 Granulometría	39
3.3 Contenido de materia orgánica (MO)	41
3.3.1 Contenido de materia orgánica en las capas superficiales (biofilm y C1-mata microbiana activa)	41
3.3.2 Variación en profundidad del contenido de MO (C1-C2-C3)	43
3.4 Concentración de metales	45
3.4.1 Concentración de metales en el biofilm (B) y en la mata microbiana activa (C1)	45
Cadmio (Cd)	45
Cromo (Cr)	46
Cobre (Cu)	47
Hierro (Fe)	48
Manganeso (Mn)	48
Mercurio (Hg)	49
Níquel (Ni)	50
Plomo (Pb)	51
Zinc (Zn)	52
3.4.2 Concentración de metales en profundidad (C1-C2-C3)	55
Cadmio (Cd)	55
Cromo (Cr)	56
Cobre (Cu)	57

Hierro (Fe)	58
Manganeso (Mn)	59
Mercurio (Hg)	61
Niquel (Ni)	62
Plomo (Pb)	63
Zinc (Zn)	64
3.4.3 Concentración de metales – Comparación entre zonas (zA y zB)	67
3.4.4 Concentración de metales – Comparación entre sitios (PR y AB)	69
3.5 Frecuencia de inundación de la planicie	70
3.6 Exposición de las planicies	71
3.6.1 Relación entre la presencia de metales en las capas superficiales y la influencia de las mareas	72
3.6.2 Análisis de correlación entre metales y variables medidas en C1	82
3.6.3 Análisis de componentes principales	84
Capítulo 4: Discusión	87
4.1 Sedimentos colonizados por microorganismos en planicies de marea	88
4.2 Posibles fuentes de los metales presentes en sedimentos	94
4.3 Concentración de metales en relación a la presencia de biofilms y matas microbianas (capas superficiales)	97
4.4 Concentración de metales en las capas subyacentes a la mata microbiana activa	104
Capítulo 5: Conclusiones	107
Bibliografía	109
Anexo	133



Capítulo 1

INTRODUCCIÓN



1.1 El ambiente estuarino y la contaminación

El medio acuático comprende varios tipos de ecosistemas que son producto de complejas interacciones dinámicas entre componentes bióticos y abióticos. Entre ellos, los ecosistemas marinos costeros son cada vez más afectados por el estrés ambiental y degradación debido a la contaminación derivada de las actividades humanas (Halpern et al., 2007). Los estuarios son considerados entre los sistemas acuáticos más valiosos por sus servicios ecosistémicos (Costanza et al., 2014). Una definición de este sistema fue la propuesta por Perillo (1995): “un cuerpo de agua costero semi-cerrado que se extiende hasta el límite efectivo de la influencia de la marea, dentro de la cual el agua de mar que entra de una o más conexiones libres con el mar abierto, o cualquier otro cuerpo de agua costero salino, es diluido significativamente con el agua dulce derivado del drenaje terrestre y que puede sostener especies biológicas eurihalinas durante parte o todo su ciclo de vida”. Cada estuario puede considerarse como un ambiente único dado sus propias características intrínsecas que lo hacen diferente de todos los otros (Perillo, 1995). Sin embargo, en las últimas décadas los estudios evidencian una característica común a ellos: la creciente presión que reciben como consecuencia de las actividades antrópicas (Bulleri y Chapman, 2010; Cloern et al., 2016). Los estuarios y los entornos costeros se han elegido históricamente para actividades urbanas, agroindustriales y recreativas. Como consecuencia, estos ecosistemas se han visto significativamente alterados debido al impacto ambiental por la liberación de grandes cantidades de efluentes sin un tratamiento previo adecuado, entre otras presiones antrópicas.

La contaminación es la introducción de cualquier sustancia o materia física, química, biológica o radiológica que tenga un efecto adverso en el aire, el agua, el suelo o los organismos vivos (D’Surney y Smith, 2005). La contaminación por metales, en particular la de origen antropogénico, se ha convertido en un tema de preocupación ambiental debido a que los metales persisten prácticamente de manera indefinida en el medio ambiente. Al igual que los contaminantes orgánicos, los metales no son degradables y pueden acumularse y biomagnificarse.

1.2 Planicies de marea

Las planicies de marea son ecosistemas marinos costeros donde los sedimentos sufren inundaciones regulares por mareas, generalmente dos veces por día (Méléder et al., 2020). En este sistema pueden distinguirse tres zonas: supramareal, intermareal y submareal (**Figura 1**). El ambiente submareal es el sector que se encuentra por debajo de la línea de la marea baja y nunca está expuesto al ambiente aéreo. El ambiente intermareal es aquel delimitado entre la marea alta y la marea baja, donde el sedimento generalmente se expone dos veces al día a condiciones subaéreas durante la marea baja. Por último, el ambiente supramareal es el sector de la planicie de marea donde llega la marea en condiciones esporádicas, durante mareas de sicigia o en tormentas. En este sector, el sedimento queda expuesto durante varios días (García de Lomas et al., 2005).

Las planicies de marea son uno de los ecosistemas costeros más extensos del mundo, con una estimación reciente del área global de al menos 127.921 km² (Murray et al., 2018). En particular, las planicies de marea estuarinas se encuentran entre los ecosistemas más productivos de la Tierra contribuyendo así al llamado “carbono azul” (Underwood y Kromkamp, 1999; Méléder et. al, 2020; Legge et. al., 2020). Además, las planicies de marea brindan importantes servicios ecosistémicos, como reservorio de biodiversidad, protección contra tormentas y estabilización de la costa. También proporcionan un recurso alimenticio esencial para niveles tróficos más altos, desde la fauna bentónica hasta las aves y es importante para los organismos pelágicos cuando los microorganismos fototróficos que las colonizan se resuspenden en la columna de agua (Méléder et al., 2020 y referencias allí citadas).

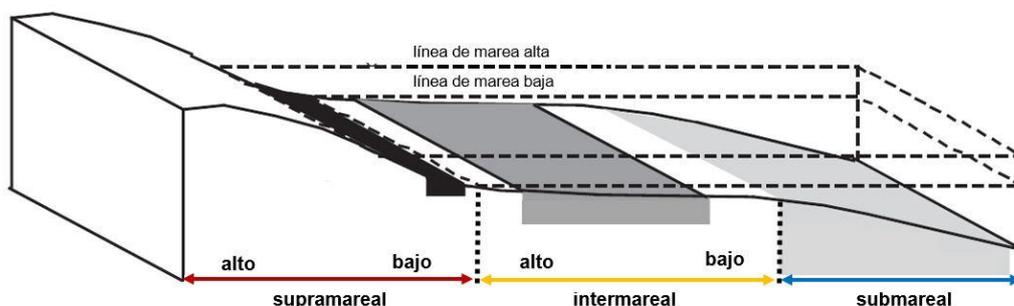


Figura 1. Zonación de la planicie de marea. Submareal: superficie que se encuentra por debajo de la línea de marea; intermareal: la superficie que es inundada todos los días; supramareal: superficie que se encuentra inunda solo en condiciones especiales, mareas de sicigia o tormentas (modificado de García de Lomas et al., 2005).

La alta productividad biológica de este sistema se basa principalmente en la actividad de las comunidades de microalgas bentónicas o microfitobentos (MFB) (Admiraal, 1984; Lebreton et al., 2019). En las planicies de marea, área de transición de la tierra al mar, los sedimentos pueden actuar tanto como fuentes o sumideros de ciertos metales (Botté et al., 2010; Lourião y Cabana et al., 2011; Hasan et al., 2013; Mil-Homens et al., 2013). La importancia económica y ecológica de los ambientes costeros y el efecto negativo de los metales hace necesario evaluar la dinámica de estos contaminantes en dicho ambiente.

1.3 Comunidades microfitobentónicas

Las comunidades del MFB están dominadas en gran medida por cianobacterias y diatomeas, pudiendo estar presentes otros grupos de fotótrofos. El MFB es responsable de una fracción significativa de la productividad primaria total de los estuarios y los ecosistemas costeros, constituyéndose en los productores primarios dominantes en las planicies intermareales que carecen de vegetación (Montagna et al., 1995; Cartaxana et al., 2016; Mai et al., 2020).

La distribución espacio-temporal de MFB es muy variable, ya que es impulsada por factores físicos como la radiación fotosintéticamente activa, temperatura de la superficie del sedimento, mareas y olas, y factores biológicos como el *grazing*, bioestabilización y bioturbación. Tal variabilidad impide una evaluación precisa de la contribución del MFB al ciclo del carbono marino costero y global. Sin embargo, se estima que el MFB tiene una producción primaria bruta (PPB) anual global estimada en el orden de 0,5 Gt año⁻¹ (Cahoon, 1999; Méléder et al., 2020). Por otra parte, la importancia del MFB también radica en que contribuye al ciclo de nutrientes, mejorando el acoplamiento bento-pelágico y estabilizando de manera eficiente el suelo (Paterson et al., 1990; Underwood y Kromkamp, 1999; Sundbäck et al., 2000; Bellinger et al., 2009).

1.4 Biofilms y matas microbianas

Ciertos microorganismos de la comunidad MFB como bacterias, protozoarios y algas, tienen la capacidad de cubrir cualquier superficie, en presencia de agua, formándose una comunidad. Estas comunidades acuáticas microbianas reciben el nombre de **biofilms** (o biopelículas) y están formadas por poblaciones que provienen

de células individuales metabólicamente similares. Por otro lado, cuando la comunidad está formada por grandes asociaciones poblacionales se la denomina **matas microbianas** (o tapetes microbianos). Los biofilms y las matas microbianas son notablemente cosmopolitas, y algunos de sus representantes más importantes se encuentran prácticamente en todos los países del mundo (Esteve et al., 1992). A continuación, se caracterizan de manera detallada cada una de estas comunidades.

1.4.1 Biofilms: estructura y formación

Los biofilms están formados por un conjunto de microorganismos y se pueden encontrar en casi todas las interfases líquido-sólido existentes en la naturaleza y juegan un papel crucial en la función de los ecosistemas. Contribuyen considerablemente al movimiento o intercambio de nutrientes, como también al flujo de energía (Mantzorou y Ververidis, 2019). Los microorganismos en el biofilm están embebidos en una matriz de sustancia polimérica extracelular (o exopolisacáridos– EPS) y se encuentran asociadas a una superficie (Costerton et al., 1995; Donlan, 2002). Las EPS son producidos por los diferentes organismos del biofilm y está compuesto por moléculas químicamente diversas, pero se componen principalmente de carbohidratos y proteínas, y contienen muy pocos lípidos (Passarelli et al., 2014). Dentro del biofilm, las poblaciones de microorganismos se encuentran formando agregados no estratificados, cuya distribución espacial facilita la cooperación fisiológica entre ellos (Stolz, 2000). Las EPS segregadas por los microorganismos permiten la migración vertical de los mismos, en respuesta a la luz y a las condiciones de marea (Hanlon et al., 2006).

Antonie van Leeuwenhoek observó por primera vez los microorganismos en superficies de dientes humanos a finales del 1600 (Harrison et al., 2005), mientras que Claude Zobell (1943) notó por primera vez la preferencia de las bacterias marinas a crecer sobre las superficies artificiales sumergidas. Este concepto de crecimiento preferencial no contemplaba la estructura compleja del biofilm y, hasta 1987 (Costerton et al., 1987), los biofilms se percibían (y representaban) como simples "placas" de material de matriz en las que se embebían aleatoriamente células bacterianas sésiles (Stoodley, 2002). En el año 1995, el grupo dirigido por John William Costerton extendió la observación de estas estructuras a ambientes de agua dulce y a una variedad de ecosistemas microbianos, incluidos los de las superficies de los tejidos eucariotas (Costerton et al., 1995).

La formación del biofilm es similar al desarrollo de un organismo multicelular y ocurre a través de señales intercelulares que regulan el crecimiento y la diferenciación (Harrison et al., 2005). En la **Figura 2** se muestra una descripción esquemática de las etapas de desarrollo del biofilm, las cuales indican episodios significativos en la formación de la misma. La formación del biofilm se puede dividir en al menos cinco etapas distintas de acuerdo a Harrison et al., (2005): (a) adhesión reversible, (b) adhesión irreversible, (c) maduración, (d) desprendimiento/des-adhesión y e) dispersión:

a) **adhesión reversible:** las bacterias planctónicas libres responden a los parámetros ambientales que disparan la transición del crecimiento/vida planctónica a vivir sobre superficies como una célula sésil. El complejo proceso de adhesión, comienza cuando las células bacterianas alteran sus fenotipos en respuesta a la proximidad de una superficie. Mediante la producción de pequeñas cantidades de EPS, las formas planctónicas se adhieren a una superficie biótica o inanimada, desarrollando una asociación que inicialmente es reversible, con células de la misma especie y con las de otras especies.

b) **adhesión irreversible:** el cambio de unión reversible a irreversible se caracteriza como la transición de una interacción débil de la célula con el sustrato a una unión permanente, frecuentemente mediada por la presencia de polímeros extracelulares. La adhesión desencadena los primeros cambios fisiológicos que conducirán a la formación de micro-colonias de especies únicas y mixtas, dando paso a un biofilm maduro.

c) **crecimiento y maduración:** el desarrollo del biofilm a partir de la superficie colonizada es una función de la división celular dentro de las microcolonias y un nuevo reclutamiento de bacterias de la fase planctónica. Las señales moleculares que intercambian las células proporcionan información sobre la densidad celular, un proceso llamado detección de quórum. La colonia que madura produce EPS y a medida que el biofilm bacteriano ocluye gradualmente la superficie colonizada, las bacterias recién reclutadas se adhieren al propio biofilm. La maduración, da como resultado la generación de una arquitectura compleja, canales, poros y una redistribución de bacterias lejos del sustrato. Los canales de circulación proporcionan un mecanismo efectivo para el intercambio de nutrientes y metabolitos entre el biofilm y la fase acuosa, facilitando al mismo tiempo la cooperación metabólica entre la comunidad microbiana

debido a la proximidad que mantienen los microorganismos entre sí. Ello facilita el intercambio de sustratos entre las especies y la remoción o distribución de productos metabólicos. Las células localizadas cerca del centro de la microcolonia están mejor adaptadas a la baja disponibilidad de oxígeno.

d) **desprendimiento o des-adhesión:** el desprendimiento es un término generalizado que se utiliza para describir la liberación de células (ya sea individualmente o en grupos) del biofilm o sustrato. El desprendimiento activo es un evento fisiológicamente regulado y comienza por reducción de la producción de exopolímeros.

e) **dispersión:** Cuando la densidad celular alcanza un nivel alto en microcolonias de biofilms, una regulación dependiente de la densidad celular podría desencadenar la liberación de enzimas que degradan la matriz, permitiendo que las bacterias se dispersen. Así, las células planctónicas pueden abandonar la colonia para crear las estructuras de un nuevo biofilm.

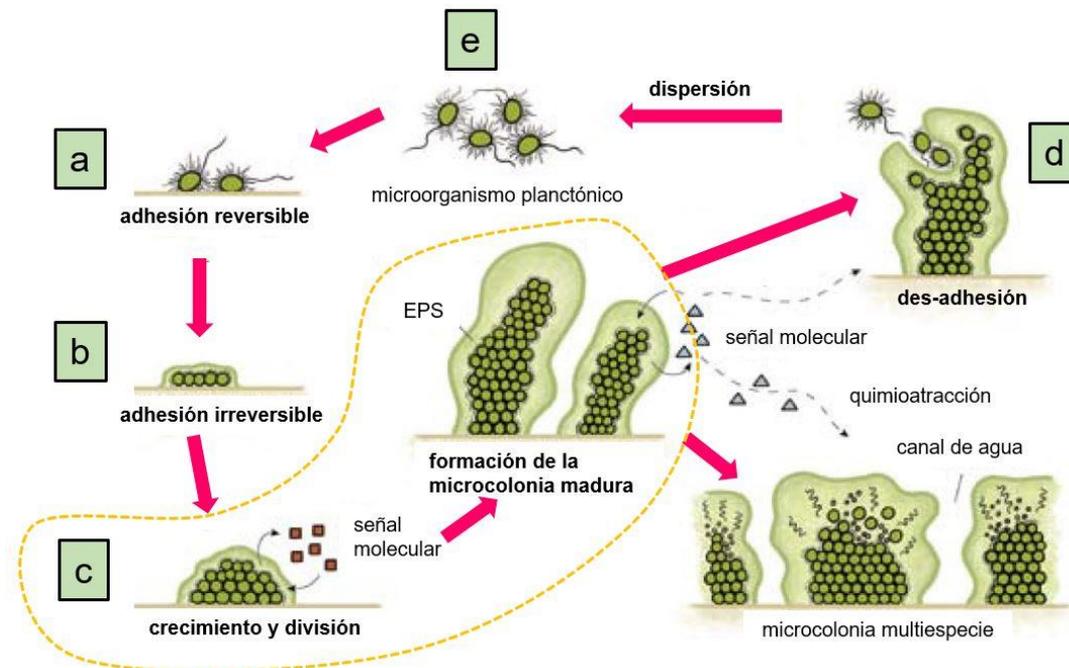


Figura 2: Diagrama que muestra el desarrollo de un biofilm como un proceso de cinco etapas y el inicio de la mata microbiana. **a)** Fijación inicial de las células a la superficie. **b)** La producción de las EPS da como resultado una unión "irreversible" en la que las células están más firmemente adheridas. **c)** Crecimiento y desarrollo temprano de la arquitectura del biofilm. **d)** Maduración de la arquitectura del biofilm. **e)** Dispersión de células individuales del biofilm (modificado de Harrison et al., 2005).

1.4.2 Matas microbianas: estructura y formación

En un nivel superior de organización, los microorganismos dentro de los biofilms se benefician de una yuxtaposición estable y se autoorganizan en estructuras laminadas compactas. Esta comunidad funcional coordinada es mucho más eficiente que las poblaciones mixtas de organismos planctónicos flotantes y se la denomina mata microbiana (Costerton, 1995).

Así, las matas microbianas son comunidades cohesivas y laminadas, compuestas por un consorcio de bacterias dominadas por cianobacterias fotoautótrofas (antiguamente denominadas algas verdeazules) (Golubic et al., 1999; Decho, 2000; Bender y Phillips, 2004). Las cianobacterias filamentosas forman multicapas laminadas que están cubiertas por una última capa superficial de diatomeas eucariotas (por ejemplo, *Navicula* spp., *Nitzschia* spp., *Amphora* spp.). Estos organismos autótrofos contribuyen significativamente a la producción primaria de los estuarios (29-314 g Cm⁻² año⁻¹) y además suministran los recursos energéticos a los consumidores y depredadores, y fundamentalmente actúan como las principales remineralizadoras de metales y materia orgánica (Underwood y Kromkamp, 1999; Grossart, 2001; Twining et al., 2014).

Las comunidades microbianas bentónicas se desarrollan en un espesor de solo varios milímetros hasta aproximadamente un centímetro de profundidad y su disposición se basa en el flujo de energía y disponibilidad de carbono orgánico (Brotas et al., 1995; Fike et al., 2008). Las matas microbianas se encuentran formadas por organismos que abarcan el espectro fisiológico desde autótrofos hasta heterótrofos (Cohen y Rosenberg, 1989). De acuerdo a Dupraz y Visscher (2005), dicho consorcio microbiano se compone principalmente de seis (6) grupos funcionales de microorganismos:

1) **fotótrofos oxigénicos** (diatomeas y cianobacterias en su mayoría); productores primarios y componentes cruciales de la mata microbiana cuya producción de abundantes cantidades de EPS tienen un papel importante en la captura y unión de sedimentos (Garwood et al., 2015). Las cianobacterias utilizan la energía de la luz del día para la fotosíntesis (fijación de CO₂); durante la noche pueden actuar como fermentadores, fijando N₂ y degradando el glucógeno;

2) **heterótrofos aeróbicos** que obtienen energía de la oxidación del carbono orgánico y la respiración de O₂;

3) **fotótrofos anoxigénicos:** grupo que a veces fija N_2 y utiliza HS^- (u otros compuestos de azufre reducido), H_2 o $Fe^{(II)}$ como donador de electrones para la fotosíntesis. Este grupo incluye bacterias de azufre púrpura y verde; la bacteria púrpura utiliza la luz como fuente de energía y el sulfuro para la reducción del CO_2 a carbono celular. Las bacterias púrpuras realizan la fotosíntesis anaeróbica anoxigénica (sin liberación de oxígeno) ya que, a diferencia de las cianobacterias, no pueden realizar la fotólisis del agua debido a la falta de fotosistema II. Como donantes de electrones, utilizan principalmente productos intermedios de degradación de materia orgánica de productores primarios y algunos compuestos que se originan en la fermentación y la respiración anaeróbica (Hubas et al., 2011). Típicamente por debajo de aquellas, pueden estar presentes las bacterias de azufre verde, que son capaces de realizar la fotosíntesis con intensidades de luz extremadamente bajas. Estos organismos requieren condiciones anóxicas estrictas;

4) **quimiolitautótrofos:** incluye a las bacterias incoloras de azufre o bacterias oxidantes de sulfuro (BOS) que oxidan los compuestos de azufre reducido con O_2 o nitrato como fuente de energía. Algunos BOS pueden usar esta vía quimiolitotrófica para la reducción de CO_2 ;

5) **fermentadores** utilizan una variedad de carbono orgánico complejo (y algunas veces azufre) como donador y aceptor de electrones;

6) **heterótrofos anaeróbicos** (principalmente bacterias sulfo-reductoras): respiran carbono orgánico con un aceptor de electrones alternativo (por ejemplo, SO_4^{2-} mientras producen HS^-);

Según los gradientes químicos y de luz disponibles en las matas microbianas, éstas pueden ser seguidos, por ejemplo, por bacterias heterótrofas aeróbicas o facultativas, bacterias quimiolitotróficas, bacterias fotótrofas anoxigénicas y bacterias reductoras de sulfato, formando varias capas distribuidas dentro de la matriz de EPS;

Las matas microbianas son de naturaleza ubicua y, además de encontrarse sobre las superficies de los sedimentos/suelos, se desarrollan en un amplio rango de ambientes como masas flotantes en agua marina, agua dulce y estuarios (Huerta-Díaz et al., 2011, 2005; Noffke, 2010). La presencia de agua es un requisito fundamental para que las matas microbianas puedan desarrollarse, ya que una limitante para la vida (Westall y Brack, 2018). De acuerdo a Walter (1976), algunos parámetros ambientales

que contribuyen en el desarrollo de las matas microbianas son: el tamaño de grano del sustrato, la tracción capilar del agua, la penetración de la luz, las tasas de sedimentación y erosión ejercida por los predadores. Estas comunidades son capaces de sobrevivir a extremos de salinidad, temperaturas, fuerte insolación, bajo escurrimiento hídrico superficial, así como también a cambios drásticos a corto plazo de estas condiciones. En concordancia con ello, se ha registrado su presencia en ambientes “extremos”, como aguas hipersalinas, fuentes termales, respiraderos hidrotermales del océano profundo, hielo marino y pequeños cuerpos de agua antárticos (Bender y Phillips, 1994; Diestra et al., 2004; Stal, 2000; Noffke, 2010; Farías et al., 2014).

Finalmente, las matas microbianas desempeñan un papel importante en la adsorción, filtrado y transformación de diversos nutrientes y contaminantes, como los metales. Dado que este consorcio tiene zonas tanto óxicas como anóxicas, pueden oxidar y reducir metales. Varios autores han sugerido que las matas microbianas juegan un papel importante en los ciclos biogeoquímicos de los metales en los humedales (Bender et al., 1995; Bender et al., 2009).

1.4.3 Sustancias poliméricas extracelulares (EPS)

Los organismos de los biofilms y las matas microbianas se mantienen unidos por la matriz mucosa, las EPS (Underwood y Paterson, 2003). Esta sustancia está formada por una mezcla compleja de proteínas, carbohidratos, polisacáridos ácidos, lípidos, ADN y sustancias ácidas húmicas (Stale, 2012). Sin embargo, es extremadamente difícil generalizar sobre su estructura y actividades fisiológicas dada la amplia gama de ambientes en los que se desarrollan los consorcios microbianos (Aguilera et al., 2008; Noffke, 2010). Los polisacáridos son el componente más abundante y generalmente representa entre el 40 y el 95% de las EPS (Flemming y Wingender, 2001).

Estas sustancias proporcionan un microambiente adecuado para el desarrollo y las interacciones microbianas y conforman un entorno dinámico que contiene canales y huecos que a menudo se llenan de agua. A su vez, las EPS organizan y estructuran a las células microbianas dentro del consorcio (Wingender et al., 1999; Sutherland, 2001; Meza et al., 2005; Noffke, 2010). Las EPS determinan la integridad estructural y funcional de los biofilms y son un componente clave de los mismos en cuanto a propiedades fisicoquímicas y biológicas (Christensen y Characklis, 1989). Actúan potencialmente como agentes de desintoxicación contra los metales, ya que contienen

altas cantidades de grupos funcionales cargados negativamente, como los grupos carboxilo, fosfato y sulfato, que actúan como sitios de unión a metales (García-Meza et al., 2005; Di Pippo et al., 2009; Rossi y De Phillipis, 2015; Ma et al., 2021). Se ha encontrado que tanto las fracciones sueltas (solubles) como las capsulares (unidas a la superficie celular) de las EPS unen metales específicamente en condiciones naturales para su desintoxicación (Barranguet et al., 2009; Sutherland, 1999). La capacidad del biofilm y, específicamente, de las EPS para acumular metales ha sido documentada para aguas residuales (Wuertz et al., 2001), pero pocos estudios se han abocado a cuantificarlos en biofilms fototróficos naturales. La comunidad científica se ha interesado últimamente en el último punto, debido a que, por las características de los biofilms y matas microbianas, se ha promovido su uso para el tratamiento de aguas residuales (Mantzorou y Ververidis, 2019; Perillo et al., 2020). Además, otras propiedades que exhiben los biofilms y matas microbianas, son atribuibles a la presencia de las EPS, entre ellas:

- Proteger contra la desecación a través de las EPS altamente hidratados.
- Proteger contra la depredación por protozoos.
- Actuar como barrera de difusión (por ejemplo, inaccesible para los antibióticos).
- Promover la fijación a superficies.
- Flocular (unen pequeñas partículas de arcilla y aclara el agua turbia).
- Emulsionar (se producen para proteger los sitios hidrofóbicos en la envoltura celular y permitir que la célula cambie entre una naturaleza hidrofóbica e hidrofílica).
- Producir la matriz de un biofilm en la que se incrustan microorganismos.
- Filtrar la luz UV.
- Proporcionar alimento en tiempo de escasez nutricional.
- Permitir la locomoción, especialmente para diatomeas y fijación al sedimento.
- Estabilizar sedimentos en áreas intermareales.

1.5 Metales

El término "metales pesados" se ha utilizado ampliamente para referirse a metales y semimetales (metaloides) que se han asociado con contaminación y toxicidad o ecotoxicidad potencial. Este término ha sido aplicado hasta la actualidad a un grupo de elementos químicos que tienen una densidad atómica superior a 5 o 6 g cm⁻³ o un número atómico superior a 20 (Alloway, 1990; Cala, 1998). Duffus (2001) consideró que esta definición tiende a asumir que todos los llamados "metales pesados", y sus compuestos, tienen propiedades altamente tóxicas o ecotóxicas, sin una base en datos químicos o toxicológicos. A su vez, remarcó las diferentes definiciones acuñadas por diferentes autores, en ausencia de una definición emanada de alguna autoridad (por ejemplo, la IUPAC). Muchos de los metales que tienen una densidad alta no son especialmente tóxicos y algunos son elementos esenciales para el ser humano, independientemente de que a determinadas concentraciones puedan ser tóxicos en alguna de sus formas (Duffus, 2001). Como sugirieran Pourret y Bollinger (2018), dado el contexto de esta tesis, se utilizará el término "metal" para hacer referencia a los elementos seleccionados a evaluar.

Elementos como el cobre (Cu), cromo (Cr), hierro (Fe), manganeso (Mn) y cinc (Zn) son microelementos esenciales para diversas formas de vida, debido a que forman parte de importantes vías metabólicas (Ndimele y Jimoh, 2011; de Araujo y de Oliverira, 2019). El exceso o la falta de estos elementos puede provocar alteraciones en los organismos y, en casos extremos, incluso la muerte (de Smedt et al., 1998; Kehrig et al., 2003). Por otro lado, metales como cadmio (Cd), mercurio (Hg) y plomo (Pb) no tienen función biológica conocida, son altamente tóxicos incluso en bajas concentraciones y representan la mayoría de los problemas de salud para el hombre y muchos organismos debido a contaminación ambiental (Prasad et al., 2005; De Vries et al., 2007; Hasan et al., 2013; Binbin et al., 2014;).

Los metales son constituyentes naturales del medio marino y de agua dulce, donde generalmente se encuentran en concentraciones muy bajas. La actividad humana (producción, uso y descarte de pesticidas, pinturas, cuero, fertilizantes y textiles, productos farmacéuticos; entre otras) inevitablemente ha aumentado los niveles de iones metálicos en muchos de estos sistemas de agua naturales. El drenaje de minas, la exploración de petróleo y gas en alta mar, los efluentes industriales y domésticos, la escorrentía agrícola y la lluvia ácida han contribuido a que el aumento de

la carga de metales se incorpore finalmente a los sistemas acuáticos (Ansari et al., 2004). Los metales derivados de numerosas fuentes se transportan dinámicamente a través de la atmósfera, el suelo y el agua. A diferencia de los contaminantes orgánicos, los metales no pueden ser metabolizados o desintegrados, por lo que pueden permanecer en el medio ambiente durante períodos prolongados (Gaur y Adholeya, 2004; Mohapatra, 2008).

En ambientes contaminados, mantener la homeostasis celular cobra importancia para proteger a las células de la sobrecarga de metales, que puede causar estrés oxidativo, peroxidación de lípidos, daño de los ácidos nucleicos e inhibición de procesos esenciales como la respiración, el metabolismo del carbono y la fotosíntesis (Huertas et al., 2014). La presencia de metales en las planicies de mareas puede causar cambios en la estructura y en la función de las matas microbianas que colonizan sus sedimentos (Jang et al., 2001; Baptista y Vasconcelos, 2006; Jun et al., 2021). Los metales forman complejos con una amplia gama de material orgánico, como los organismos y los compuestos que liberan. Es por ello que los microorganismos han desarrollado varios mecanismos dirigidos a inmovilizar, movilizar o transformar los metales, conduciendo de esta forma a la remoción y/o a la reducción de su toxicidad (Stal, 2010).

Los metales juegan un papel esencial en el metabolismo de las cianobacterias. La distribución y abundancia de cianobacterias marinas y, por tanto, la productividad del fitoplancton en los hábitats naturales, a menudo está determinada por la biodisponibilidad de los metales. Por ejemplo, el Fe es necesario como cofactor para los complejos proteicos I (NADH-deshidrogenasa) II (succinato deshidrogenasa) y III (complejo citocromo bc1) de la cadena de transferencia de electrones fotosintéticos (Vermaas, 2001). El Mn se requiere específicamente para la función PSII (fotosistema II). El Zn forma parte de la metaloenzima anhidrasa carbónica cuya función es catalizar la conversión rápida de dióxido de carbono y agua a bicarbonato y protones; mientras que el Cu, el Cr y el Ni participan en vías metabólicas importantes para la fisiología de estos microorganismos (So y Espie, 2005; Baptista y Vasconcelos, 2006).

Los microorganismos y/o sus productos pueden ser muy eficientes reteniendo iones metálicos. No obstante, la utilización de células vivas está limitada a la toxicidad de la especie metálica. Los metales reaccionan con moléculas y ligandos presentes intracelularmente y con las membranas celulares, lo cual produce alteraciones metabólicas en los seres vivos, favoreciendo los procesos de bioacumulación,

biomagnificación en la cadena alimentaria y su persistencia en el medio ambiente (Hamilton, 1995). La bioacumulación de un metal específico, no solo depende de la exposición al metal y su biodisponibilidad en el medio ambiente, sino también de las estrategias a través de las cuales un organismo interactúa con ellos (Pan y Wang, 2012). Los metales en las matas microbianas pueden tener una distribución en profundidad diferencial (Webster-Brown y Webster, 2007; Huerta Díaz et al., 2011, 2012; Spetter et al., 2015) debido a que los microorganismos constituyentes se presentan en láminas dependiendo de condiciones como penetración de la luz solar o capacidad óxica del sistema. Sumado a ello los microambientes generados pueden dar lugar a variaciones importantes en el pH y/o cambios en el intercambio de electrones. Todo lo anterior pueden generar gradientes y afectar la unión y liberación de metales (Huerta-Díaz et al., 2012). La presencia de láminas evidencia una distribución diferencial de microorganismos en las matas microbianas lo que subraya la importancia de estudiar la distribución vertical fina de los metales en las matas microbianas.

Por otro lado, uno de los controles físicos más importante en la distribución de metales en el ambiente es el tamaño de grano de los sedimentos. Tanto las arcillas como la materia orgánica tienen una gran capacidad de intercambio catiónico (CIC), dependiendo del tipo de argilomineral, la cual puede estar favorecida por la presencia de consorcios bacterianos. La CIC hace que el suelo/sedimento actúe como un buffer ante la presencia de metales y acidez producida por la oxidación de los materiales sulfídicos (principalmente pirita) (Du Laing et al., 2008). En general, existe una correlación negativa entre dicho tamaño y las concentraciones de metales (Foster y Charlesworth, 1996). Las concentraciones altas se asocian generalmente con sedimentos finos, particularmente con las fracciones de limo y arcilla debido a un efecto de área/superficie: el área superficial por unidad de masa de sedimento aumenta al disminuir el diámetro de las partículas. Algunos autores (Holland et al., 1974; van De Koppel et al., 2001) han vinculado a los biofilms y la textura del sedimento, señalando que el sedimento cubierto de biofilms se asocian con material fino (arcilla y limo). Es por ello que para una mejor comprensión de las interacciones entre biofilms y presencia de metales, es fundamental tener en cuenta la granulometría del sedimento.

Relación entre los metales, el biofilm y matas microbianas de planicies de marea

Los microorganismos presentes en biofilms y las matas microbianas son capaces de fragmentar y descomponer los compuestos orgánicos en inorgánicos a través del proceso de mineralización (Tonatiuh Sánchez Palacios y Torres-Alvarado, 2005, Maziere et al., 2022). Se ha demostrado que las matas microbianas secuestran metales (Bender et al., 1994a, b, c, 1995a, 1997; Bender et al., 2000; Mehrabi et al., 2001; Phillips et al., 1994, 1995, 1996, 1999; Phillips y Bender, 1995, 1998; Zamora-Castro et al., 2008; Huerta-Díaz et al., 2012; Abed et al., 2020). Al absorber estos potenciales contaminantes, entre otros derivados de la actividad humana, pueden reducir su efecto nocivo para el ecosistema (Gerdes y Krumbein, 1985; Bender y Phillips, 2004; Mantzourou y Ververidis, 2019). Es por ello que ha cobrado interés en considerar a los biofilms y matas microbianas como potenciales bioremediadores de ambientes además de que cumplirían un rol muy importante en los ciclos biogeoquímicos de los elementos.

La acumulación de metales en los componentes de un (eco)sistema puede darse a través de dos procesos principales: adsorción sobre superficies (biológicas o inertes) y absorción (ej por transporte o pasaje a través de membranas biológicas). Las células de fitoplancton exhiben en los sistemas acuáticos grandes áreas superficiales que contienen diferentes grupos funcionales, tales como carboxilo, amino, tio, hidroxilo e hidroxycarboxílico, los cuales pueden interactuar de manera coordinada con iones metales. La sorción de metales por microalgas se caracteriza por una fase inicial de adsorción rápida seguida de una segunda fase de absorción más lenta que se acerca gradualmente a una asíntota después de unas horas (Genter et al., 1988; Reinfelder y Chang, 1999). En el modelo bifásico de sorción, en la primera fase los iones metálicos se unen y saturan sitios cargados negativamente (por ejemplo, grupos carboxílicos y otros mencionados anteriormente) en el exterior de las células; mientras que en la segunda fase se transportan al interior de las mismas (Hill et al., 1999).

La asociación de contaminantes metálicos con las EPS puede mejorar significativamente la biodisponibilidad de los metales en los sistemas marinos (Schlekat et al., 1998, 1999, 2000). Las EPS pueden presentarse en una gran variedad de condiciones físicas (encapsulado, geles, mucílago suelto) y composiciones químicas; todos los cuales pueden influir en la capacidad de acomplejar metales. La asociación de las EPS con los metales puede exhibir efectos recíprocos sobre la biodisponibilidad y

transferencia trófica de metales y carbono. Es decir, las EPS, que son una fuente alimenticia de carbono lábil, pueden mejorar la biodisponibilidad de los metales.

La marea es un factor importante dado que controla la depositación o la erosión del sedimento, determinan las condiciones cambiantes en cuanto a las variables ambientales (Stal 2010). Las planicies de marea se caracterizan por experimentar una baja energía y por ende favorecen la depositación de sedimentos finos compuestos principalmente por limo y arcillas (partículas menores de 63 μm). Debido a su naturaleza, estas partículas interactúan entre sí dando como resultado sedimentos con propiedades cohesivas (Paterson y Black, 1999). El limo y las arcillas también pueden retener grandes cantidades de nutrientes y, a menudo, están recubiertos de materia orgánica. Las actividades metabólicas que otorgan los microorganismos que habitan dichos sedimentos y las características fisicoquímicas de los mismos producen complejos procesos. De hecho, las bacterias del biofilm producen y mantienen microambientes químicos o microzonas dentro del mismo (Huerta-Díaz et al., 2012).

La variación química espacial y temporal dentro de biofilm y matas microbianas (gradientes de pH, Eh, oxígeno, etc.) permite la participación de muchas bacterias exigentes con un rango limitado de capacidades metabólicas (Blanchard et al., 2000; Dyer et al., 2000). Estos consorcios pueden exhibir una morfología variable según los entornos fisicoquímicos que experimentan. Las células se organizan según su fisiología en una estructura laminar que consta de capas sucesivas. Esta disposición se debe a la secuencia de reacciones metabólicas determinadas por gradientes del potencial redox. Es así que los biofilms se establecen formando una monocapa sobre la superficie del sedimento, mientras que en las matas microbianas hay separación de diferentes miembros microbianos (Subashchandrabose et al., 2011).

El entorno físico/químico está tipificado por gradientes (de oxígeno, sulfuro y luz) que a menudo son bastante pronunciados (es decir, la concentración de oxígeno puede pasar de sobresaturada a mínimos en unos pocos milímetros), lo que da como resultado distintos microambientes (Visscher y Stolz, 2005). Se ha registrado que la radiación ultravioleta (Waring et al., 2007; Mouget et al., 2008); desecación, cambio de temperatura y salinidad durante la emersión; y fuerzas hidrodinámicas y transporte de sedimentos asociados con corrientes y olas durante la inmersión (Widdows et al., 2004; Rijstenbil, 2005; Coelho et al., 2009; Van Colen et al., 2010) tienen implicancia sobre la supervivencia para la estructura y el funcionamiento del MFB. Variables fisicoquímicas

como el pH, potencial redox, temperatura que fluctúan en los períodos de emersión/inmersión, así como el carbono orgánico y el tamaño de sedimento, afectan a la biogeoquímica de los sedimentos (Ferris, 2002; Peng et al., 2004).

1.6 Área de estudio: estuario de Bahía Blanca

El estuario de Bahía Blanca (EBB) se encuentra ubicado en el sudeste de la Provincia de Buenos Aires ($38^{\circ}45'-39^{\circ}40'S$ y $61^{\circ}45'-62^{\circ}30'O$, **Figura 3**). Tiene una configuración triangular, alargada en dirección noroeste-sudeste cuya sección transversal decrece exponencialmente desde la boca hacia la cabecera. El sistema cubre una superficie aproximada de 2300 km^2 y abarca el Canal Principal de Navegación (CPN), numerosos canales secundarios (740 km^2) e islas rodeadas de extensas marismas y planicies intermareales (Perillo y Piccolo, 1991, 1999; Pratalongo et al., 2013). El CPN posee una longitud total de 61 km y su ancho varía desde 200 m en la cabecera hasta 4 km en la boca y su profundidad media es del orden de los 10 m, aunque oscila entre 3 y 20 m (Perillo y Piccolo, 1991; Chazarreta et al., 2020). El régimen de marea es semidiurno y mesomareal, con una amplitud media de 3,5 m (Cuadrado et al., 2004). En pleamar, 1300 km^2 de costa son cubiertas por el espejo de agua, superficie que se reduce a 400 km^2 en bajamar. Un área de 410 km^2 correspondiente al sector de islas, constituyen zonas permanentemente emergidas (Perillo et al., 2001; Cuadrado et al., 2004).

El clima característico de la zona es templado seco, con una temperatura media anual del aire de $15,6 \text{ }^{\circ}\text{C}$. La temperatura media de la superficie del mar es de aproximadamente $13 \text{ }^{\circ}\text{C}$, con fluctuaciones entre $8,5 \text{ }^{\circ}\text{C}$ en invierno y $21,6^{\circ} \text{ C}$ en verano (Perillo et al., 2007). Los vientos más frecuentes son del N-NO. Los vientos del S-SO, que son acompañados por lluvia y niebla, son menos comunes (Perillo et al., 2001). Las precipitaciones muestran una marcada estacionalidad con bajos y variables niveles de precipitación anual que se concentran en primavera y otoño (Piccolo 2008).

Los sedimentos presentes en el estuario pueden ser clasificados, con respecto a la distribución granulométrica, como limosos en la cabecera del estuario y predominantemente arenosos en la boca del mismo, con variaciones limo-arcillosos (fracción fina) a arcillo-limosos entre ambas zonas (Cuadrado et al., 2004). Los sedimentos finos originados por la erosión de las planicies de marea y costa de islas, son transportados en suspensión dentro de la columna de agua, originando elevados

valores de turbidez, mientras que las arenas son trasladadas por la acción de las corrientes de marea sobre el fondo (Ginsberg y Perillo, 1990; Cuadrado et al., 2004). Al mismo tiempo el depósito de partículas de sedimento en suspensión se ve dificultado por las fuertes corrientes imperantes en los canales del estuario (Piccolo et al., 2008). Por consiguiente, el EBB ha sido descrito como un sistema que presenta un considerable estado erosivo en su conjunto (Piovan, 2016; Pratolongo et al., 2016).

Los dos tributarios principales de agua dulce se encuentran en el veril norte: el arroyo Napostá Grande (NG) y el río Sauce Chico (SC), mientras que el NG drena un área de 1240 km², el SC drena un área de 1600 km² aportando anualmente 1,9 y 0,8 m³ s⁻¹, respectivamente (Pratolongo et al., 2009; Zapperi et al., 2018). El arroyo NG atraviesa la ciudad de Bahía Blanca en su curso inferior, para desembocar en la zona media del CPN, mientras que el río SC descarga en el CPN cerca de la cabecera del estuario (Piccolo et al., 2008). El influjo al estuario desde otros afluentes menores es intermitente y sólo significativo durante períodos de elevadas precipitaciones locales y/o regionales. El canal Maldonado es un derivador del arroyo NG que atraviesa el NO de la ciudad de Bahía Blanca y desemboca en el estuario en cercanías al balneario municipal homónimo y a la zona de Almirante Brown. Además, el EBB también recibe aportes de agua desde las napas subterráneas, con un aporte global de 2.000 m³ día⁻¹ (CTE, 2003).

Sobre el veril norte del EBB, en sentido hacia la desembocadura, se encuentran las ciudades de Bahía Blanca y Punta Alta y otras poblaciones menores (Gral. Daniel Cerri, Ing. White) que suman en total más de 400.000 habitantes. Asociados a estos asentamientos urbanos se encuentran los siguientes puertos: Cuatrerros, Ing. White, Galván, Rosales y Puerto Belgrano (Streitenberger y Baldini, 2016). El EBB está sujeto a un alto impacto antropogénico como resultado de estos asentamientos, los puertos y las industrias petroquímica y química (Arias et al., 2010; Oliva et al., 2017; Quintas et al., 2017; La Colla et al., 2021). Debido a que en el EBB se ubica el sistema portuario de aguas profundas más importante de Argentina, se desarrollan en el mismo una amplia variedad de operaciones, como, por ejemplo, terminales especializadas para la carga y descarga de granos, combustibles, gases y otros productos petroquímicos. Esta intensa actividad portuaria requiere un dragado regular de los canales navegables (Cuadrado et al., 2000; Federici et al., 2004; Pizani, 2008; Chazarreta et al., 2020).

Las principales vías de acceso de materiales y sustancias de origen antrópico desde el continente al estuario son los efluentes de los núcleos urbanos y de origen industrial (Marcovecchio et al., 2001, 2008). La zona interior de EBB recibe grandes cantidades de efluentes a través del alcantarillado urbano (canal Maldonado) mientras que la zona media se encuentra influenciada por la actividad portuaria de los puertos Belgrano y Rosales y las descargas de efluentes domiciliarios sin tratar (Martínez et al., 2012; Spetter et al., 2015; Simonetti et al., 2017; Truchet et al., 2021). El vertido de sustancias en el sistema del EBB, proveniente de las aguas residuales urbanas e industriales y escorrentía superficial como subterránea, producen cambios ambientales y ecológicos, como el agotamiento de oxígeno, materia orgánica elevada, aumento de nutrientes y bacterias y efectos nocivos sobre la biota, y en la comunidad microzooplanctónica (Lopez Abatte et al., 2016; Dutto et al., 2012, 2014; Streitenberger y Baldini, 2016; Fiori et al., 2020). El ingreso de potenciales contaminantes al sistema marino costero del EBB y sus probables efectos en el agua, sedimento, biota y atmósfera, han quedado plasmados en numerosos estudios realizados en las últimas tres décadas (Andrade, 2000; Botté et al., 2010; Arias et al., 2009, 2010, Spetter et al., 2015, Marcovecchio et al., 2016; Orazi et al., 2019).

Por otra parte, una característica especial del EBB es que las planicies de marea han sido colonizadas por matas microbianas, situación que fue descrita por primera vez por Cuadrado y Pizani (2007). Desde entonces, estos consorcios microbianos se han estudiado ampliamente para explorar la relación entre microfitobentos, sedimentos y factores físicos, como la radiación, la temperatura, la velocidad de sedimentación y la altura de las olas (Cuadrado et al. 2011, 2012, 2013; Pan et al., 2013). Sin embargo, no se han realizado estudios geoquímicos de detalle.

En esta tesis, se abordará la relación entre los biofilms y matas microbianas y la presencia de metales, haciendo énfasis en la variación en profundidad. Asimismo, se evaluará la influencia de los parámetros físicos, químicos y sedimentológicos que puedan condicionar la ocurrencia y dirección de las transferencias de los metales evaluados.

1.7 Sitios de estudio

1.7.1 Puerto Rosales

Puerto Rosales (PR, 38° 55' 28" S, 62° 04' 18" O) se encuentra ubicado en la zona media del EBB sobre el margen norte del CPN (con un ancho de 5 km), representando el puerto más externo del sistema portuario de Bahía Blanca (**Figura 3**). Puerto Rosales recibe la descarga de aguas residuales con escaso tratamiento, proveniente de la ciudad de Punta Alta (~ 60.000 habitantes). En las costas de PR se desarrollan extensas planicies de marea (~1000 m de ancho). Las mismas tienen pendientes bajas (~0, 4 °C) quedando descubiertas en período de bajamar (Perillo et al., 2001; Cuadrado et al., 2005). Estas planicies se componen de sedimentos silicoclásticos, donde predomina el cuarzo (y en menor medida los feldespatos), y su tamaño varía entre arena fina y fracción limo-arcilloso. La temperatura media en el ambiente oscila entre 22,7°C en enero a 8,1°C en julio (Piccolo y Diez, 2004).

Por su situación geográfica, el ingreso de agua a PR se origina por las ondas de marea que entran a través de la boca del estuario y por la interacción de olas generadas localmente por vientos. El área supramareal es inundada cuando la pleamar se ve fuertemente influenciada por vientos predominantes del sudeste. Por otro lado, cuando predominan los vientos del norte, la planicie rara vez se cubre con la marea alta, dejando expuesta las áreas cubiertas por matas microbianas y parches de *Sarcocornia perennis* (Cuadrado et al., 2012, 2013). Esta última situación predomina a lo largo del año ya que la principal dirección del viento en el área de estudio es NNO (Piccolo y Diez, 2004).

La zona intermareal presenta marismas dominadas por *Spartina alterniflora*. Los espartillares actuarían como un escudo que protege la zona intermareal de la erosión, promoviendo una alta tasa de sedimentación. Por otra parte, la vegetación atenúa la energía de corrientes y olas que favorece la colonización de los sedimentos por comunidades microbianas bentónicas que forman biofilms y matas microbianas (Cuadrado et al., 2011). Estudios previos realizados en este sitio refieren que los biofilms y matas microbianas están compuestos por microalgas celulares (diatomeas epipélicas) y cianobacterias filamentosas. Las diatomeas pennadas más pequeñas (<40 µm) incluyen los géneros *Diploneis*, *Nitzschia* y *Navicula*, mientras que los representantes de mayor tamaño (>40 µm) incluyen especies de los dos últimos géneros, y también las especies *Gyrosigma spencerii* y *Cylindrotheca closterium*. Dentro de los representantes

de las diatomeas céntricas están los géneros *Thalassiosira*, *Coscinodiscus* y *Melosira*. Respecto a las cianobacterias encontradas en los sedimentos, todas fueron no heterocísticas, con *Coleofasciculus chthonoplastes* (antes denominada *Microcoleus chthonoplastes*, Siegesmund et al., 2008) como la especie dominante, y la presencia de otros géneros como *Oscillatoria* y *Arthrospira* (Pan et al., 2013). Las planicies de marea y marismas también están dominadas por el cangrejo cavador *Neohelice granulata*, cuya presencia modifica y/o altera la estructura de las matas microbianas y biofilms (Simonetti et al., 2012; Angeletti y Cervellini, 2015; Angeletti et al., 2018).

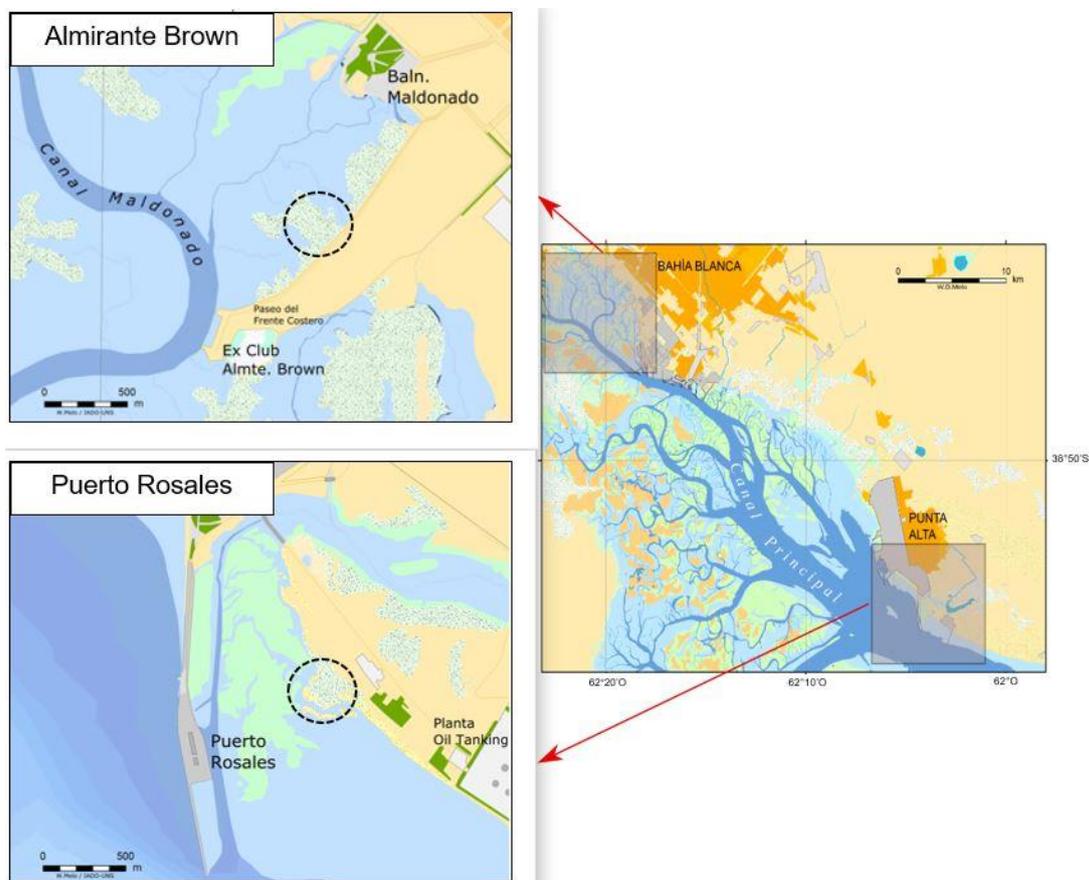


Figura 3. Estuario de Bahía Blanca y sitios de estudio.

1.7.2 Almirante Brown

Almirante Brown (AB, 38° 44' 59" S; 62° 19' 33" W) está situada en la zona interna del estuario de Bahía Blanca, donde el CPN tiene un ancho del orden de 400 m (**Figura 3**). Las planicies intermareales sin vegetación están habitadas por cangrejos de la especie *Neohelice granulata*. La zona supramareal presenta vegetación halófila

dominada por parches de *Sarcocornia perennis* (Da Rodda y Parodi, 2005). Este sitio está aledaño a un basurero municipal, activo durante 25 años hasta el año 2010. El canal Maldonado, con un trayecto de 6 km de longitud, recibe el caudal excedente del NG cuando se supera la capacidad máxima del cauce principal (Señas et al., 2005). Éste atraviesa una parte de la ciudad de Bahía Blanca e indirectamente recibe aportes clandestinos de aguas urbanas y desechos sólidos. Este canal finaliza en una zona de marisma vegetada por *Spartina alterniflora*, se une al canal Saladillo de García y finalmente continua como canal Maldonado hasta el CPN, influyendo así en el área de AB.

1.8 Hipótesis y objetivos

De acuerdo al marco teórico planteado y el estado actual del conocimiento como eje general del trabajo de investigación, se planteó la siguiente hipótesis general:

Los biofilms y las matas microbianas pueden actuar en el secuestro de metales y en la acumulación de los mismos por parte de los organismos presentes en ambos sistemas. Por ello, la presencia de biofilms y matas microbianas podrían condicionar la distribución espacial y vertical de los metales en planicies de marea de estuarios influenciados por actividades antrópicas.

Objetivos

Objetivo general:

Evaluar la influencia de biofilms y matas microbianas en los procesos de captación y biomineralización de metales en un gradiente vertical en sedimentos de planicies de marea en el estuario de Bahía Blanca e identificar los factores fisicoquímicos y las actividades humanas que afectan dicha distribución.

Objetivos específicos:

- Analizar y evaluar las concentraciones y distribución de metales (Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Mn, Ni, Pb y Zn) en biofilms y matas microbianas en planicies de marea del EBB.
- Cuantificar y evaluar la dinámica del contenido de materia orgánica (MO) presente en el biofilm y matas microbianas.

- Analizar la influencia de la granulometría del biofilm y matas microbianas sobre la distribución de los metales evaluados.
- Evaluar los parámetros fisicoquímicos (pH, temperatura y potencial redox) en las matas microbianas.
- Evaluar la influencia de la marea en la captación de metales.
- Establecer relaciones entre concentración de metales, contenido de materia orgánica, granulometría y los parámetros fisicoquímicos medidos en las matas microbianas.



Capítulo 2

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Trabajo de campo

Para cumplir con los objetivos planteados en la presente tesis doctoral, se realizaron seis campañas bimestrales desde agosto de 2012 a junio de 2013, en dos sitios del EBB: Puerto Rosales (PR, zona media) y Almirante Brown (AB, zona interna). Dentro de cada sitio se eligieron dos zonas: zona A (zA) y zona B (zB), considerando la disposición topográfica en la planicie de marea, donde zona A corresponde a una zona alta y zona B a una zona baja dentro de cada planicie. Se considera la altura del nivel del mar teniendo en cuenta las mareas medidas por el mareógrafo de Puerto Belgrano y el de Ingeniero White (**Figura 4, Tabla 1**).

Las campañas se realizaron durante la bajamar, y se tomaron testigos verticales de sedimento en las planicies de marea colonizadas por matas microbianas (5 cm de profundidad) y muestras de biofilm (~0,2 cm superficial). A su vez, se realizaron mediciones *in situ* de parámetros fisicoquímicos sobre la planicie sedimentaria cubierta por matas microbianas. A continuación, se detalla el tipo de muestra obtenida, las mediciones *in situ* y las determinaciones realizadas para cada campaña en los dos sitios seleccionados y en cada zona de muestreo (**Tabla 2**).

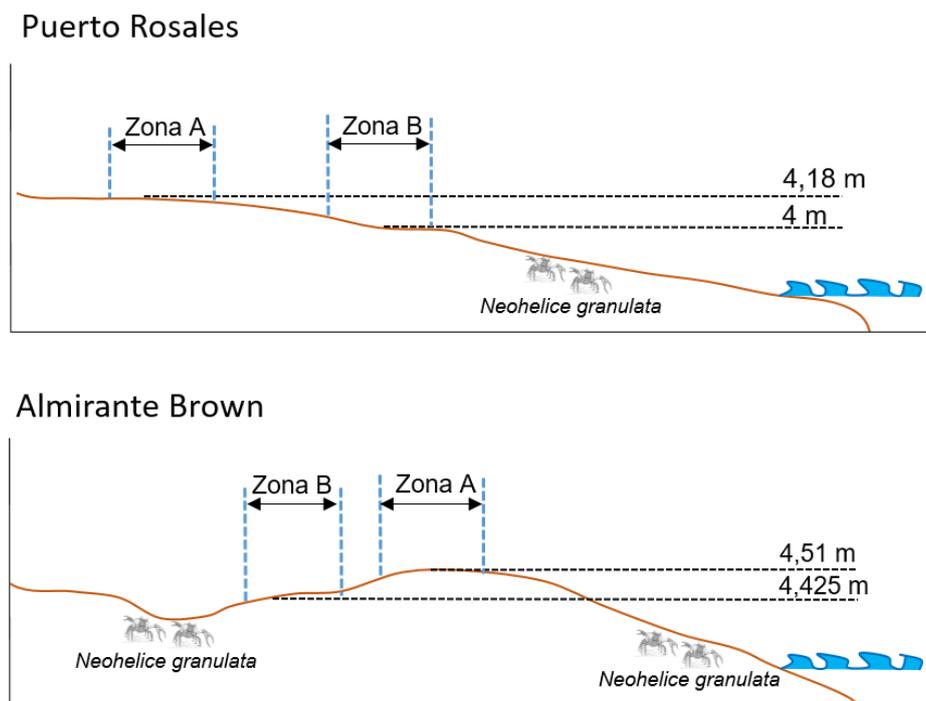


Figura 4. Perfil esquemático que muestra la ubicación topográfica de las zonas dentro de cada sitio, la altura de marea y la presencia de organismos en las zonas de estudio dentro de los sitios Puerto Rosales y Almirante Brown. Flechas negras: designan las zonas (A y B) de las cuales se extrajeron las muestras. Las líneas punteadas indican la altura de pleamar que cubre cada zona.

Tabla 1: Características de las dos zonas evaluadas (A y B) dentro de los sitios Puerto Rosales (PR) y Almirante Brown (AB).

CARACTERÍSTICAS	PR-zA	PR-zB	AB-zA	AB-zB
Ubicación topográfica respecto a la planicie	alta	baja	alta	baja
Impacto de <i>Neohelice granulata</i> como organismo bioturbador	menor	mayor	menor	mayor
Vegetación dominante en inmediaciones al punto de muestreo	<i>Sarcocornia perennis</i>	<i>Spartina alterniflora</i>	<i>Sarcocornia perennis</i>	<i>Sarcocornia perennis</i>

Tabla 2. Detalle de la información obtenida de ambas zonas (A y B) de ambos sitios Puerto Rosales (PR) y Almirante Brown (AB) durante el período que abarca esta tesis, donde: (—) = sin datos, s/a= sin analizar por cuestiones logísticas.

SITIO	ZONA	ACTIVIDAD	FECHA					
			ago-12	oct-12	dic-12	feb-13	abr-13	jun-13
Puerto Rosales	PR-zA	medición de parámetros fisicoquímicos (pH, T, Eh)	X	X	—	—	X	X
		extracción de testigo vertical (C1, C2 y C3) y de biofilm	X	X	X	X	X	X
		determinación del %MO	X	X	X	X	X	X
		análisis granulométrico	X	X	X	X	X	X
		análisis de concentración de metales (Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn)	X	X	X	X	X	X
		análisis de concentración de Hg	X	X	X	X	s/a	X
	PR-zB	medición de parámetros fisicoquímicos (pH, T, Eh)	X	X	X	—	X	X
		extracción de testigo vertical (C1, C2 y C3) y de biofilm	X	X	X	X	X	X
		determinación del %MO	X	X	X	X	X	X
		análisis granulométrico	X	X	X	X	X	X
		análisis de concentración de metales (Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn)	X	X	X	X	X	X
		análisis de concentración de Hg	X	X	X	X	s/a	X
Almirante Brown	AB-zA	medición de parámetros fisicoquímicos (pH, T, Eh)	X	X	X	—	X	X
		extracción de testigo vertical (C1, C2 y C3) y de biofilm	X	X	X	X	X	X
		determinación del %MO	X	X	X	X	X	X
		análisis granulométrico	X	X	X	X	X	X
		análisis de concentración de metales (Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn)	X	X	X	X	X	X
		análisis de concentración de Hg	X	X	X	X	s/a	X
	AB-zB	medición de parámetros fisicoquímicos (pH, T, Eh)	X	X	X	—	X	X
		extracción de testigo vertical (C1, C2 y C3) y de biofilm	X	X	X	X	X	X
		determinación del %MO	X	X	X	X	X	X
		análisis granulométrico	X	X	X	X	X	X
		análisis de concentración de metales (Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn)	X	X	X	X	X	X
		análisis de concentración de Hg	X	X	X	X	s/a	X

2.1.1 Extracción de muestras

Estudios previos indican que la mayor actividad microfitorbentónica se encuentra en el primer centímetro de la planicie (Maisano, 2019; Spetter, 2013). Por lo tanto, se extrajeron testigos sedimentarios y también los 0,2 cm superiores en una muestra separada, denominada biofilm (**Figura 5**). Se usaron tubos de PVC (6,3 cm de diámetro x 25 cm de largo), por triplicado, para obtener la totalidad de la mata microbiana que caracteriza la planicie y el sedimento subyacente (5 cm en total). Los testigos se introdujeron en forma perpendicular a la planicie, hasta la máxima profundidad posible. Se colocó una tapa plástica en la parte superior del testigo para inmovilizar la muestra, y luego se procedió a la extracción. Se colocó una tapa en la base del testigo para ser transportado al laboratorio. Con el fin de evitar cambios fisicoquímicos y migración de microfitorbentos durante el traslado de la muestra hasta el laboratorio, se utilizó *in situ* un émbolo de PVC para extraer y cortar la primera capa superficial de 1 cm de espesor (C1) con un cuchillo de acero inoxidable (**Figura 6a**). Cabe mencionar que generalmente la capa superficial en los testigos tiende a separarse naturalmente del resto debido a la presencia de la mata microbiana activa. El testigo fue cerrado nuevamente con la ayuda de las tapas, para ser trasladado al laboratorio. Simultáneamente, se colectaron por triplicado las muestras de biofilm (aproximadamente 15 gr peso húmedo), removiendo la capa superficial (~0,2 cm) del sedimento, utilizando cuchillo de acero inoxidable

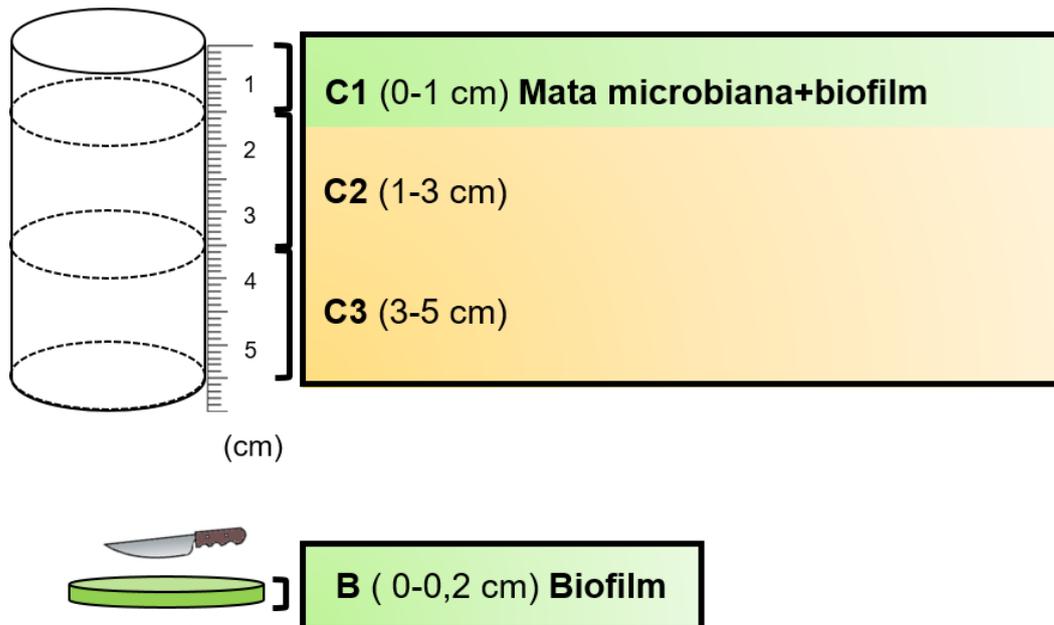


Figura 5: Detalle del testigo y las diferentes capas analizadas. Nótese que si bien el biofilm (B) en la naturaleza forma parte de la mata microbiana, en este estudio fue analizado en forma separada. Además, la mata microbiana conteniendo al biofilm (0,2 cm de espesor) fue estudiada en lo que se denominó C1 (1 cm de espesor).

(Figura 6b). Todas las muestras fueron almacenadas en bolsas plásticas rotuladas y conservadas en heladera portátil y oscuridad hasta su traslado al laboratorio.

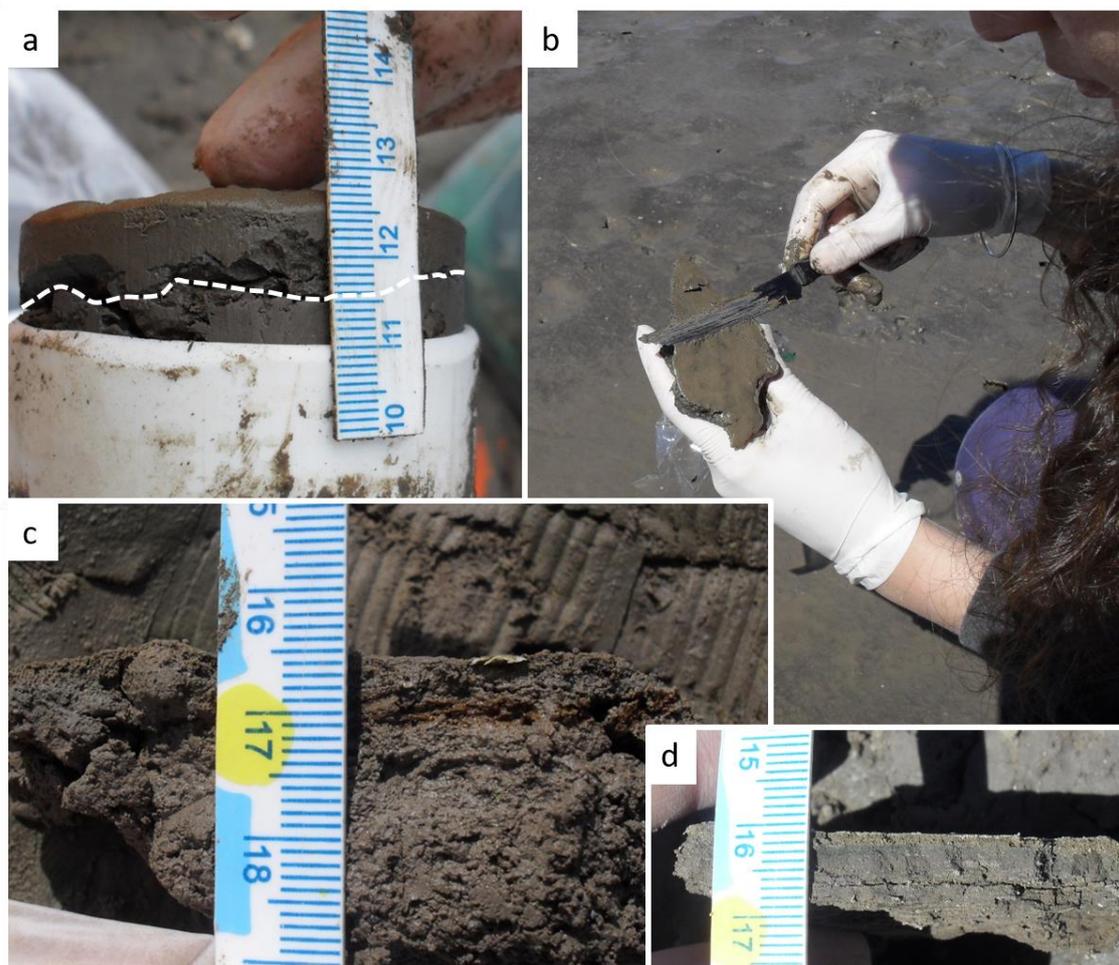


Figura 6. Procedimiento de toma de muestras. **a)** El testigo fue dividido en una capa superficial (C1) considerada la mata microbiana activa. Nótese que la separación natural ocurrió a aproximadamente 1 cm de profundidad. **b)** Colecta de muestras de biofilm con la ayuda de cuchillo de acero inoxidable. **c)** Detalle de mata microbiana donde se observa una capa oxido reductora. **d)** Detalle de mata microbiana donde se observa una zona anóxica.

2.1.2 Variables ambientales registradas *in situ*

Se midieron *in situ* los parámetros fisicoquímicos de las matas microbianas a nivel superficial, incluyendo pH, temperatura (°C) y potencial redox (mV), utilizando una sonda multisensor digital Hanna HI 991003. Las mediciones se realizaron en cada zona (zA y zB) de los sitios PR y AB en los cuales se colectaron las muestras.

2.2 Procesamiento de las muestras

En el laboratorio, los testigos remanentes en los tubos de PVC fueron extraídos con ayuda de un émbolo y separados en secciones horizontales de 2 cm de espesor (C2 y C3) utilizando un cuchillo de acero inoxidable. Tanto las muestras de la C1 (0-1 cm de profundidad) separada en campo, como las C2 (1-3 cm de profundidad) y C3 (3-5 cm de profundidad) y las muestras de biofilm (capa superficial de ~0,2 cm de espesor), fueron llevadas a cámara fría (4°C) hasta su posterior análisis (hasta 5 días posteriores a la colecta). De cada una de las muestras colectadas, se tomaron sub-muestras para: a) caracterización granulométrica, b) determinación de materia orgánica y c) determinación de metales.

2.2.1 Granulometría

Para el análisis de tamaño del sedimento, la fracción mayor a 2 mm (grava, conchillas y restos de tejido vegetal) fue retirada manualmente. A continuación, se procedió a eliminar la materia orgánica para evitar interferencias en la determinación del contenido de arcillas. Para ello, se colocó la muestra correspondiente a cada capa en un vaso de precipitado de 100 mL para su tratamiento con peróxido de hidrógeno (65% v/v) (Cuadrado y Pizani, 2007). Para favorecer la reacción de oxidación total de la materia orgánica, una vez ocurrida la primera reacción (visible por la producción de burbujas), se colocaron las muestras en plancha de calentamiento (~60 °C) durante 3±1 días. Finalmente, la granulometría de cada capa fue determinada por difracción láser, utilizando un analizador de tamaño de partículas Mastersizer 2000. Se utilizó la escala de Udden-Wentworth comúnmente utilizada en geología para describir y clasificar sedimentos por el tamaño de grano (**Escala 1**). Esta escala fue propuesta en 1922 por Chester K. Wentworth, basándose en la anterior escala de Johan A. Udden, de 1898. Parte de 1 mm y, dividiendo o multiplicando por 2, en sentido decreciente o creciente de tamaño respectivamente, se definen los límites de diámetro de cada clase, desde partículas de tamaño arcilla (con diámetro menor de 1/256 mm) a bloques (con diámetro mayor de 256 mm). Los datos fueron analizados utilizando el software Mastersizer 2000 5.40 (Malvern Instrument Ltd., 2007). Para describir la relación entre las fracciones de tamaño en cada muestra se presentan los resultados mediante el diagrama de Shepard (1954) como sistema de clasificación de las muestras (**Gráfico 1**).

Tamaño de tamiz en mm	Número de tamiz estándar de E.U.	Unidades Phi (Φ)	Clasificación de Wentworth
256		-8	Bloque
64		-6	Grava gruesa
4.0	5	-2	Grava mediana o guijarro
3.36	6	-1.75	
2.83	7	-1.50	Grava fina o grano
2.38	8	-1.25	
2.00	10	-1.00	
1.68	12	-0.75	
1.41	14	-0.50	Arena muy gruesa
1.19	16	-0.25	
1.00	18	0	
0.841	20	0.25	
0.707	25	0.50	Arena gruesa
0.595	30	0.75	
0.500	35	+1.00	
0.420	40	1.25	
0.354	45	1.50	Arena mediana
0.297	50	1.75	
0.250	60	+2.00	
0.210	70	2.25	
0.177	80	2.50	Arena fina
0.149	100	2.75	
0.125	120	+3.00	
0.105	140	3.25	
0.088	170	3.50	Arena muy fina
0.074	200	3.75	
0.0625	230	+4.00	
0.0526	270	4.25	
0.0442	325	4.50	Limo grueso
0.0372	400	4.75	
(0.031)		+5.00	
(0.0156)		+6	Limo mediano
(0.0078)		+7	Limo fino
(0.0039)		+8	Limo muy fino
			Arcilla (más pequeño que 0.0039 mm)

Escala 1: Clasificación del tamaño de grano de Udden-Wentworth de sedimentos terrígenos (1922)

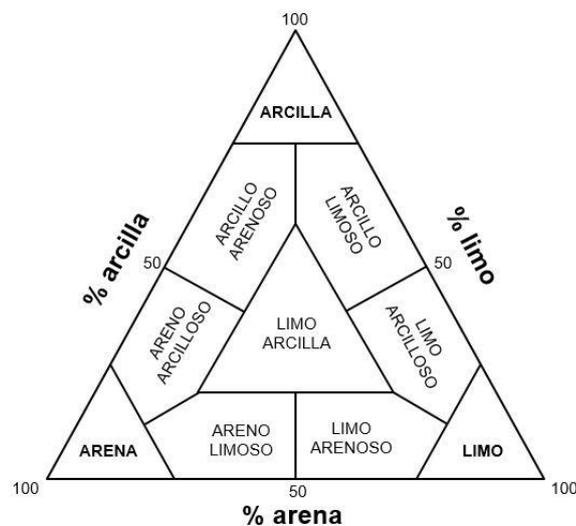


Gráfico 1. Triángulo de clasificación textural modificado por Sheppard (1954).

2.2.2 Determinación de materia orgánica

El contenido de materia orgánica fue obtenido utilizando el método de pérdida de peso por ignición (Commendatore y Esteves, 2004). Para ello, las muestras correspondientes a cada capa (~20 gr) fueron colocadas en sobres de papel aluminio y secadas en estufa a $105\pm 5^{\circ}\text{C}$ hasta registrar peso constante (peso seco de la muestra). Posteriormente, las muestras fueron calcinadas en mufla a 450°C durante 4 horas, registrándose a continuación el peso de las muestras. El porcentaje de materia orgánica (%MO) se calculó utilizando la **ecuación 1**:

$$\%MO = \left(\frac{PS - PM}{PS} \right) \times 100 \quad (1)$$

donde: PS= peso seco de la muestra; PM: peso de la muestra luego de la calcinación en mufla.

2.2.3 Determinación de metales

Para el análisis de los metales, las muestras fueron colocadas en placas de Petri acondicionadas y fueron secadas en un lugar limpio, sin corrientes de aire y a temperatura ambiente con el fin de evitar (de estar presentes) pérdida de metales por volatilización (por ejemplo, mercurio, plomo) y cualquier tipo de contaminación cruzada. Una vez desprovistas de bioclastos, las muestras fueron homogeneizadas en mortero de porcelana. Luego se guardaron en doble bolsa de polietileno y en desecadores hasta aplicar la metodología analítica para determinar los metales de estudio seleccionados.

2.2.3.a Determinación de Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn

Para la determinación de todos los metales (con excepción del Hg), el material fue pesado en tubos de ensayo de vidrio ($0,05\pm 0,001$ g peso seco, por duplicado) utilizando cuchara plástica y balanza analítica de precisión hasta la cuarta cifra decimal (OHAUS).

La metodología analítica se basó en una digestión por sistema abierto con una mezcla de ácido nítrico y perclórico: $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4$ (5:1) (Merck) (Botté et al., 2010). En primer lugar, se realizó una pre-digestión adicionando 5 ml de HNO_3 manteniendo en reposo durante al menos 3 h. A continuación, se adicionó 1 ml de HClO_4 y se colocaron los tubos de ensayo con las muestras inmediatamente en baño de glicerina a $110 \pm 10^{\circ}\text{C}$. Los mismos fueron agitados suavemente cada 30 minutos para asegurar que toda la muestra reaccione con la mezcla ácida. De ser necesario se agregaron

cantidades adicionales de HNO_3 concentrado a lo largo de este proceso de digestión. El mismo concluyó cuando el sobrenadante presentó un color pálido transparente y el volumen no fue superior a 1 mL. Las muestras fueron retiradas del baño y se dejaron enfriar bajo campana. Simultáneamente, se procesaron dos blancos de reactivo en cada procedimiento de análisis de muestras, conteniendo las mismas cantidades de reactivos, pero sin material a determinar. El material de referencia fue sometido a la misma digestión, con la finalidad de evaluar el porcentaje de recuperación de la técnica. Finalizada la digestión los extractos fueron trasvasados a tubos de centrifuga de 10 ml utilizando pipeta Pasteur de vidrio, completando el volumen con HNO_3 al 0,7%. Con el fin de evitar la contaminación entre las muestras, la pipeta Pasteur fue acondicionada, lavándose con HNO_3 al 0,7% antes de manipular cada muestra. Las muestras trasvasadas se dejaron reposar en heladera durante al menos 24 h, con el fin de sedimentar cualquier partícula presente en la solución que pudiera generar una obstrucción en el equipo correspondiente al momento de la determinación de los analitos.

La concentración de los metales fue realizada mediante espectroscopía de emisión óptica de plasma acoplada inductivamente (ICP OES, Perkin Elmer Optima 2100 DV). Las lecturas de intensidades de los analitos fueron obtenidas trabajando con visión axial, con excepción del Mn para la cual se utilizó visión radial.

2.2.3.b Determinación de Hg

Para la determinación del contenido total de Hg, las muestras fueron pesadas en tubos de ensayo de vidrio ($0,08 \pm 0,001$ g peso seco, por duplicado) utilizando cuchara plástica y balanza analítica de precisión (OHAUS). La metodología analítica aplicada fue la descrita por De Marco et al. (2006) la cual consistió en una digestión con una mezcla de ácido nítrico y sulfúrico: $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$ (1:4) seguido por una reacción de oxidación. Luego de agregar los ácidos se colocaron los tubos inmediatamente en baño termostático (2 h, 60°C). A continuación, se realizó una oxidación fuerte con permanganato de potasio: KMnO_4 al 5% (p/v), hasta completar 15 mL en las siguientes etapas:

- 1^{ro}: 2 ml, y posterior enfriamiento de los tubos en un baño de hielo;
- 2^{do}: 3 ml y llevados los tubos nuevamente a baño de 60°C por 30 minutos;

- 3^{ro}: 10 ml y se enfriaron los tubos en baño de hielo. Luego de 18-24 horas de reposo a temperatura ambiente y a resguardo de la luz para evitar pérdida de Hg, a cada muestra se adiciono NaCl-clorhidrato de hidroxilamina para reducir el exceso de KMnO_4 . La solución final se trasvaso a Erlenmeyers de cuello esmerilado de 250 ml y se adicionaron 100 ml de agua destilada que se utilizó previamente para enjuagar los tubos de ensayo y así evitar pérdidas de material. Finalmente, se les colocó una tapa a los Erlenmeyers hasta el momento de realizar la lectura de las muestras.

Al momento de la cuantificación, se adicionó 5 ml de una solución al 10% de cloruro estanoso (SnCl_2) justo antes de la introducción del aireador para cada la lectura. Se generó así Hg elemental (Hg^0) que se volatilizó y fue registrado por método de vapor frío mediante espectrofotometria de absorción atómica sin llama (CV-FAAS, Perkin–Elmer 2380), trabajando con lámpara de Hg de cátodo hueco. Se procesaron simultáneamente dos blancos de reactivo en cada procedimiento de análisis de muestras, los cuales contenían únicamente las mismas cantidades de reactivos adicionados a las muestras.

2.2.4 Acondicionamiento del material

Tanto el material utilizado en la toma de muestras a campo como en laboratorio, fue previamente acondicionado siguiendo el siguiente procedimiento: lavado con detergente no iónico (1%) y posterior enjuague con agua corriente. A continuación, se procedió a enjuagar tres veces con agua bidestilada antes de sumergir en ácido nítrico (HNO_3 , 5%) durante 24/48 horas. Una vez cumplido el plazo, el material se enjuagó tres veces utilizando agua bidestilada para luego secarse a temperatura ambiente y al resguardo de corrientes de aire.

2.2.5 Límite de detección y control de la calidad analítica de los datos

El límite de detección del método (LDM) se calculó como tres veces la desviación estándar (DS) de 12 réplicas de blancos de reactivo sometidos a los mismos pasos de procesamiento de las muestras (Federal Register, 1984; EPA, 2016). Se calcularon las desviaciones estándar de los datos para cada metal y se incorporaron en la **ecuación 2**:

$$LDM = t_{(n-1, 1-\alpha)} \times DS \quad (2)$$

donde: DS= es la desviación estándar obtenida de los 12 blancos de reactivo (n=12) y $t_{(n-1, 1-\alpha)}$ es el valor de la tabla de "t-Student", trabajando con n-1 grados de libertad y un $\alpha=0,01$.

De esta forma, el LDM para cada metal ($\mu\text{g mL}^{-1}$) fue: Cd: 0,042; Cr: 0.0015; Cu: 0,0985; Hg: 0,02; Fe: 2,6810; Mn: 1,7846; Ni: 0,0024; Pb: 0,0620 y Zn: 0,1175. En la presente tesis los resultados obtenidos con concentraciones por debajo de este límite se reportan como <LDM.

Todas los DS de las muestras replicadas fueron <25%. Para el control de la calidad analítica (AQ), se utilizaron además de los blancos de reactivo, materiales de referencia certificados (CRM; Sedimentos de estanque, R.M. No. 2, NIES, Japón) y reactivos de grado analítico (Merck o Carlo Erba). Los porcentajes de recuperación para todos los metales traza en CRM fueron superiores al 75%.

2.2.6 Exposición y frecuencia de inundación de la planicie

Para determinar la influencia que puede tener la marea, tanto en la concentración de metales, como en la composición orgánica de las matas microbianas, se estudió la inundación y exposición de la planicie en relación al día de muestreo. Para estimar la altura de marea a la cual se inundan las zonas elegidas (zA y zB para cada sitio) se realizó una campaña para registrar la hora exacta en que se inundó una zona, identificando en el registro de marea la altura de la marea en el momento en el cual se inunda la planicie (ver **Figura 4**). Por otro lado, se obtuvieron los registros de la marea semi-diurna a partir de dos mareógrafos: uno ubicado en Puerto Belgrano para relacionar con el sitio Puerto Rosales (zona media del estuario) y otro en el Puerto de Ingeniero White para relacionar con el sitio Almirante Brown (zona interna del estuario). Ambos mareógrafos poseen la misma forma de la onda de marea, aunque difieren fundamentalmente en la hora y altura de marea. Esta información fue utilizada para generar los mareogramas a partir de los cuales se extrajeron los datos para analizar en esta sección (ver **ANEXO I**).

A partir de estos datos, se calculó i) la **frecuencia de inundación** como la cantidad de veces que la planicie fue cubierta por la pleamar en un período de 30 días previo al muestreo; y ii) los **días de exposición de la planicie** como la cantidad de días que la planicie estuvo expuesta previo a la toma de la muestra. Debido a que las zonas de muestreo se encuentran a diferente nivel topográfico, la frecuencia y los días de exposición varían para las dos zonas en un mismo sitio (PR o AB). Se muestra un



Figura 7. Esquema del criterio para el cálculo de la frecuencia de inundación y los días de exposición, donde h=A: altura de marea que cubre la zona A, h=B: altura de marea que cubre la zona B.

ejemplo en la **Figura 7** donde se representa con líneas punteadas la altura de marea a la cual se inunda cada una de las zonas (zA y zB). Teniendo en cuenta que cada vez que el registro de marea supera las líneas punteadas, la zona se inunda, puede observarse que en una campaña hipotética (ago-12), la zA tuvo dos días de exposición previo al día de toma de muestras, mientras que en el mismo momento, la zB fue inundada los días previos a la campaña.

2.2.7 Análisis de los datos obtenidos

En primera instancia, se graficaron los datos obtenidos y se interpretaron utilizando estadísticas descriptivas con el fin de revelar tendencias tanto espaciales como temporales. Para ello, se tuvo en cuenta el valor medio, desvío estándar y rango (mínimos y máximos).

La variación en la concentración de metales, contenido de materia orgánica y los parámetros fisicoquímicos (pH, temperatura y potencial redox) fue analizada utilizándolos como variable de respuesta en modelos lineales (Modelos Mixtos, ANOVA), tests de Tukey (comparaciones a posteriori) y test t-Student. Para el

tratamiento estadístico de los datos de esta tesis, se evaluaron primero los supuestos de normalidad (mediante el uso de Quantile-Quantile plot) y la homocedasticidad (mediante diagramas de residuos vs predichos). En los casos donde no se cumplió el supuesto de homocedasticidad, se transformaron los datos aplicando raíz cuadrada o logaritmo natural, comprobando que dicha transformación resolviera el problema. Se realizó un Análisis de Componentes Principales (ACP) para las variables concentración de metales, contenido de materia orgánica, tamaño de grano, días de exposición, frecuencia de inundación y parámetros fisicoquímicos, basado en una matriz de correlaciones, con el objetivo de reducir la dimensionalidad del grupo de variables y establecer patrones de manera exploratoria. Tanto el ACP como los ANOVA, Tests de Tukey y Tests t-Student se realizaron utilizando el software estadístico R versión 1.2.1335 (R Core Team, 2021) y el programa InfoStat® versión 2018 (Di Rienzo et al., 2018) según el esquema de la **Figura 8**. Los gráficos se realizaron utilizando los programas GraphPad Prism versión 5.01 (2007), Excel del paquete estadístico Office versión 2016 y el software Rstudio Version 1.2.1335 (2009-2019).

Las concentraciones de metales reportados como menores al LDM fueron sustituidos por la mitad del LDM para realizar los análisis estadísticos (Jones y Clarke, 2005). Esta sustitución se realizará cuando menos del 40% de los resultados sean menores al LDM. No se realizó análisis estadístico en aquellos casos en los que el 40% o más de las concentraciones del metal evaluado estuvieron por debajo del LDM (Federal Register, 1984). El nivel aceptable de significación estadística fue menor al 5%. Los datos presentados en las figuras no se transformaron. Los valores de error, ya sea en figuras, tablas o en el texto, representan la desviación estándar (DS).

COMPROBACIÓN DE SUPUESTOS ESTADÍSTICOS

Normalidad (diagrama Q-Q plot)

Homocedasticidad (gráfico de residuos vs predichos)

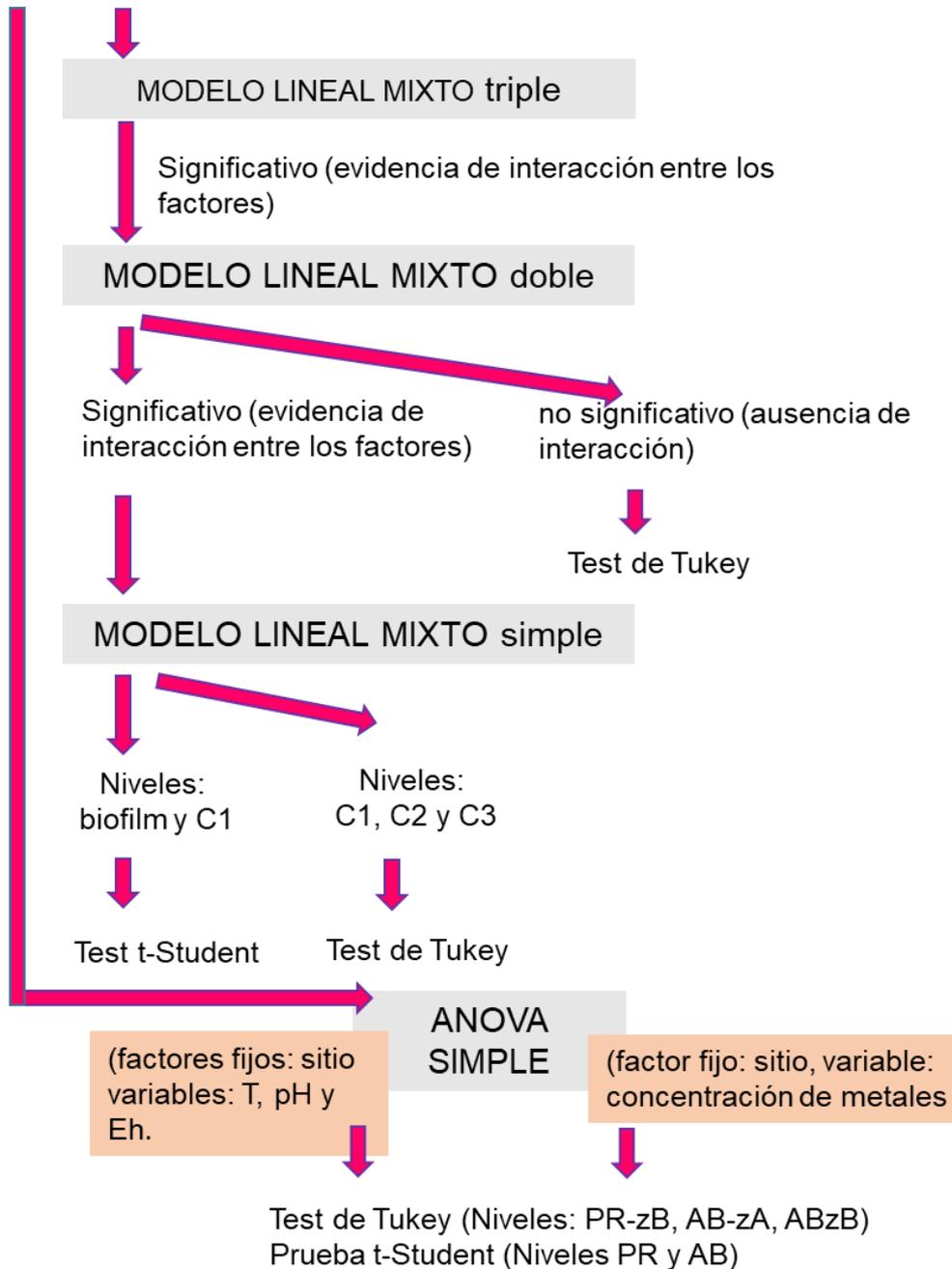


Figura 8. Diagrama del análisis estadístico de los datos.

Siti- zona	metal	Fecha					
		ago-12	oct-12	dic-12	feb-13	abr-13	jun-13
PR-za	Cd						
	Cr						
	Cu						
	Fe						
	Hg						
	Mn						
	Ni						
	Pb						
	Zn						
	Cd						
PR-zB	Cr						
	Cu						
	Fe						
	Hg						
	Mn						
	Ni						
	Pb						
	Zn						
	Cd						
	Cr						
AB-za	Cu						
	Fe						
	Hg						
	Mn						
	Ni						
	Pb						
	Zn						
	Cd						
	Cr						
	Cu						
AB-zB	Fe						
	Hg						
	Mn						
	Ni						
	Pb						
	Zn						
	Cd						
	Cr						
	Cu						
	Zn						

Capítulo 3

RESULTADOS



3.1 Variables ambientales

En este apartado se describirá el comportamiento de los parámetros fisicoquímicos medidos en las matas microbianas de cada zona de muestreo (zA= zona alta, zB= zona baja), seguido del análisis de las variaciones entre las fechas de muestreo (ago/oct/dic/12 y feb/abr/jun-13) en cada sitio (PR= Puerto Rosales y AB= Almirante Brown). A continuación, se analizará comparativamente entre sitios, los valores promedio de los parámetros medidos.

Las variables pH, temperatura (T) y potencial redox (Eh) medidas en las matas microbianas mostraron variaciones a lo largo del periodo de muestreo, tanto entre zonas dentro de cada sitio como entre los sitios (**Figura 9**). El pH en ambas zonas de PR varió entre un valor ligeramente ácido (5,6) y alcalino (7,67) mientras que en las zonas de AB los valores fueron más homogéneos y siempre básicos (7,26-8,7). La mayor temperatura en los sedimentos de PR-zA y PR-zB fue registrada en oct-12 y dic-12 (~21 °C), mientras que en AB-zA y AB-zB fue en oct-12 (~23 °C). La menor temperatura se midió en junio tanto en las zonas de PR (8,8 °C) como en las de AB (13 °C). Los valores de potencial redox en las zonas de PR fueron mayormente positivos (113,5 a 194,9 mV), lo que indicaría un ambiente principalmente oxidante; mientras que en AB la mayoría de los valores fueron negativos; característico de una zona reductora (-193,9 a -116 mV).

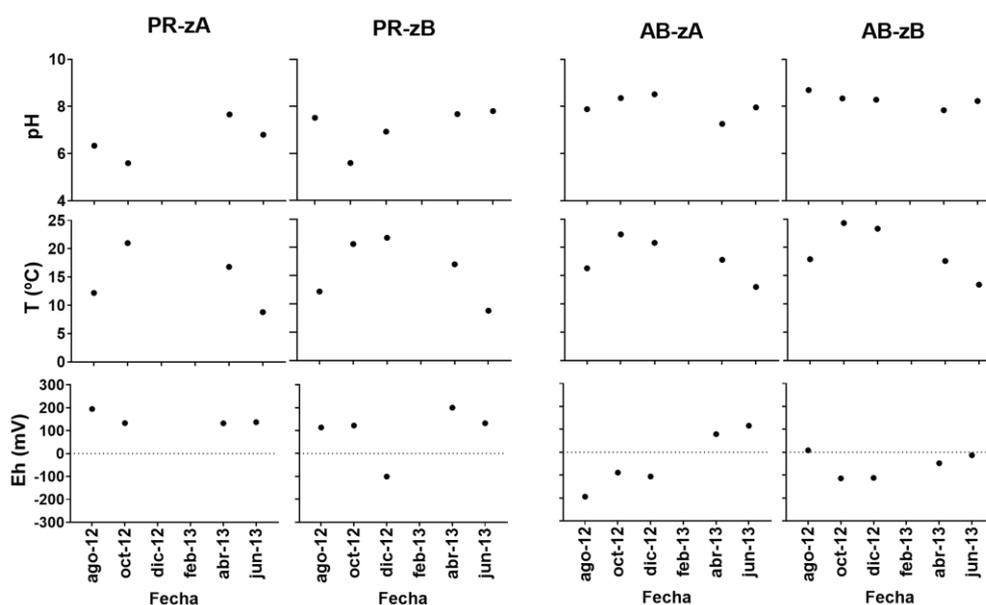


Figura 9. Distribución temporal de las variables medidas en las matas microbianas del estuario de Bahía Blanca, donde PR-zA=Puerto Rosales zona A, PR-zB= Puerto Rosales zona B, AB-zA= Almirante Brown zona A, AB-zB= Almirante Brown zona B.

Respecto a las variaciones entre sitios de los parámetros fisicoquímicos, no se hallaron diferencias significativas entre fechas de muestreo para el pH medido en los sedimentos de PR ($p= 0,068$) así como en los de AB ($p= 0,179$) durante el período (**Figura 10**). En cuanto a la temperatura, se hallaron diferencias altamente significativas en ambos sitios ($p < 0,001$). Los meses más cálidos en PR fueron oct-12 y dic-12 (20,6 y 21,7 °C, respectivamente) así como en AB (24,3 y 23,3 °C, respectivamente) mientras que jun-12 fue el mes más frío (PR: 8,8 °C; AB: 13 °C). Los valores promedio de potencial redox del sitio PR fueron mayormente positivos, sin diferencias significativas entre las fechas ($p=0,07$) con un único valor negativo (-101 mV) en dic-12. Asimismo, en AB el potencial redox tampoco mostró diferencias significativas entre fechas, con valores mayormente negativos (entre -101,5 y -92,5) con excepción de abr-13 y jun-13, cuando los valores fueron levemente positivos (15,5-51,5 mV). En resumen, AB presentó un pH más alcalino ($p < 0,01$), una temperatura superior ($p < 0,05$) y un potencial redox más negativo respecto a PR ($p < 0,05$) (**Tabla 4**).

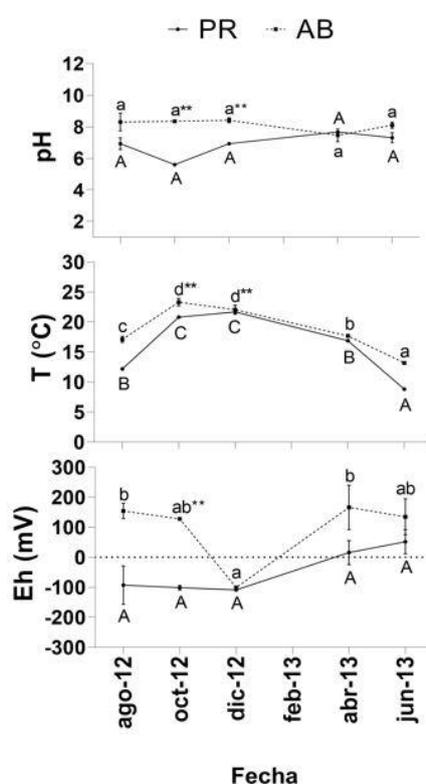


Figura 10. Variables ambientales medidas en Puerto Rosales (PR) y Almirante Brown (AB) durante el año de medición. Letras asignadas alfabéticamente de mayor a menor. Dos medias que compartan alguna letra no difieren al 5%. Letras minúsculas señalan diferencias entre meses en el sitio PR. Letras mayúsculas señalan diferencias entre meses en el sitio AB. El asterisco indica diferencias entre los sitios PR y AB en esa fecha ($p < 0,05$)

Tabla 4. Estadística descriptiva de las variables medidas en el sedimento para todo el periodo de muestreo en cada sitio evaluado del estuario de Bahía Blanca (considerando todas las réplicas y zonas para PR y para AB). DS= desvío estándar.

	pH			T (°C)			Eh (mV)		
	Media ±ES	min	máx	Media ±ES	min	máx	Media ±ES	min	máx
<i>PR</i>	6,36±0,77	6,34	7,8	13,91±2,29	8,8	21,7	99,3±33,85	-101	200
<i>AB</i>	8,14±0,13	7,26	8,52	18,67±1,24	13	24,3	-47,23±30,24	-193,9	116

3.2 Granulometría

En las **Figuras 11** y **12** se presenta la granulometría del biofilm y capas del testigo sedimentario (C1, C2 y C3), respectivamente. El biofilm (0,2 cm de espesor) se caracterizó por poseer, en general, un mayor porcentaje de limo y arcilla (granulometría fina) en PR que AB. Considerando cada zona dentro de los sitios, PR-zA presentó una granulometría de menor tamaño respecto a PR-zB donde se observó un mayor porcentaje de arena. En AB, la granulometría de AB-zA se clasificó como limo-arcillosa homogénea, mientras que AB-zB mostró características de sedimento areno limo arcilloso. Se destaca que, en PR, a diferencia de AB, la zona que primero se inunda (PR-zB, topográficamente más baja) tiene partículas de mayor tamaño.

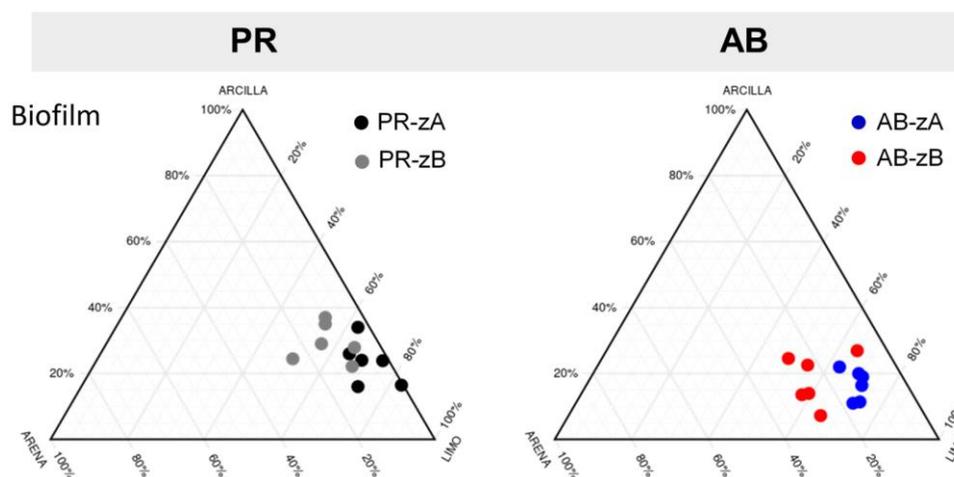


Figura 11. Tamaño de grano registrado en biofilm de Puerto Rosales (PR) y Almirante Brown (AB), zonas A (zA) y B (zB).

En PR las capas de los primeros 5 cm de sedimento (C1, C2 y C3) de ambas zonas (PR-zA y PR-zB) presentaron un porcentaje entre 74 y 85% de material fino. La capa más superficial (C1) de ambas zonas mostró un porcentaje mayor a 70% de

material fino. La capa intermedia (C2), tuvo una gran variabilidad y mostró mayor porcentaje de arena en PR-zA, mientras que la capa más profunda (C3) presentó el mayor porcentaje de arena en PR-zB. Se encontró una diferencia altamente significativa entre el contenido de sedimento fino en el biofilm y la C1 tanto en PR-zA ($p=0,0011$) como en PR-zB ($p=0,008$), con el mayor valor en la C1.

En AB-zA, la clasificación del tamaño de grano reveló homogeneidad en la composición granulométrica de todas las capas evaluadas, con mayor proporción de sedimentos limo-arcillosos en ellas (~83-90%). Por el contrario, en AB-zB se observó una composición variable en su contenido de material fino (~72-80%) con un aumento

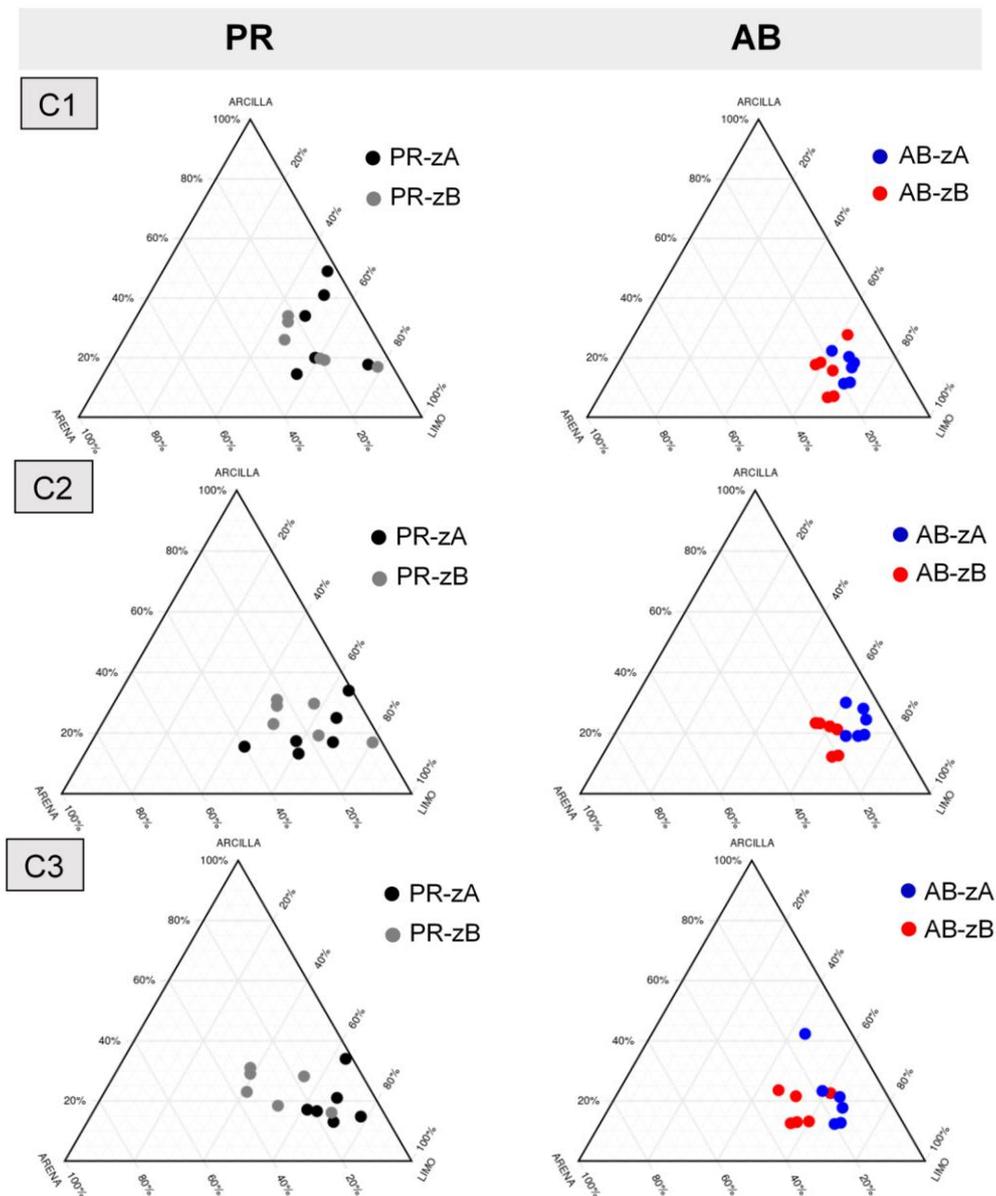


Figura 12. Tamaño de grano en el sitio Puerto Rosales (PR) y Almirante Brown (AB), zona A (zA) y zona B (zB); donde C1 = capa de 0-1 cm, C2= capa de 1-3 cm, C3= capa de 3-5 cm

en el material grueso en las capas más profundas. En esta zona se detectó una diferencia altamente significativa entre el material fino presente en el B y la C1 ($p= 0,003$), siendo mayor el porcentaje en esta última. No se hallaron diferencias en este sentido en AB-zA.

Por último, comparando los sitios PR y AB (**Figura 13**) se observó una predominancia de limo-arcilla en AB (> 60%) y cabe destacar que en PR se encontró un mayor contenido de arcilla y de arena respecto a AB.

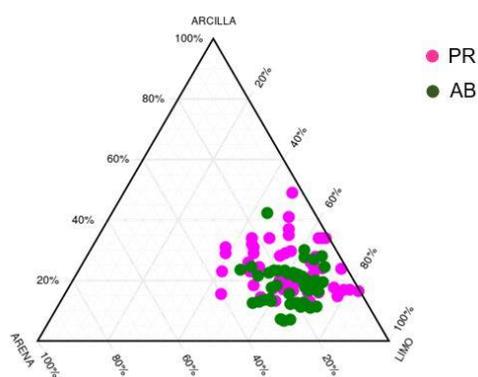


Figura 13. Tamaño de grano en los sitios evaluados (PR= fucsia, AB= verde)

3.3 Contenido de materia orgánica (MO)

Se presentan en primer lugar los resultados de la comparación de los valores de MO (expresados en porcentaje) en el biofilm (0,2 cm espesor) respecto a la mata microbiana activa (C1, 0-1 cm) en las zonas A y B de cada sitio. Cabe destacar que la C1 contiene también un biofilm. A continuación, se comentarán los resultados de la distribución del contenido de MO en el tesigo vertical (C1-C2-C3).

3.3.1 Contenido de materia orgánica en las capas superficiales (biofilm y C1-mata microbiana activa)

En cuanto a la variación temporal, el %MO fue significativamente diferente entre el biofilm y la C1 de PR-zA en la mayoría de las fechas evaluadas. La mayor diferencia se encontró en feb-13 donde en PR-zA la C1 presentó mayor porcentaje de MO que el biofilm, mientras que en la PR-zB ocurrió lo inverso. En oct-12 el %MO fue mayor en C1 respecto al biofilm en ambas zonas, mientras que en el resto de los meses el mayor porcentaje se detectó en el biofilm (**Figura 14**).

Para el sitio AB se observó una tendencia similar en ambas zonas, hallándose diferencias significativas en feb-13 donde los mayores valores correspondieron a la C1 mientras que en ago/dic-12 y jun-13 el %MO fue mayor en el biofilm.

Promediando el %MO de las capas superficiales, PR-zA presentó un mayor valor ($7,47 \pm 1,62$, $p < 0,05$) respecto a PR-zB ($4,58 \pm 0,95$), AB-zA ($5,88 \pm 0,57$) y AB-zB ($5,98 \pm 0,66$) mientras que no se hallaron diferencias significativas entre las zonas de AB. Por otro lado, no se hallaron diferencias entre PR y AB en el contenido medio de materia orgánica de las capas superficiales ($p = 0,92$). En la **Tabla 5** se resume la información del contenido de materia orgánica analizado en el biofilm y en la C1 durante seis campañas de muestreo en la z A y zB de cada sitio (PR y AB). En la misma puede observarse que en poco más del 54% de las ocasiones, el %MO fue mayor en el biofilm, mientras que solo en el 16% de las observaciones el %MO fue mayor en la C1, registrado en feb-13 para casi todos los sitio-zona. En PR-zB en el 50% de las observaciones realizadas a lo largo del tiempo, el %MO fue igual en el biofilm y la C1.

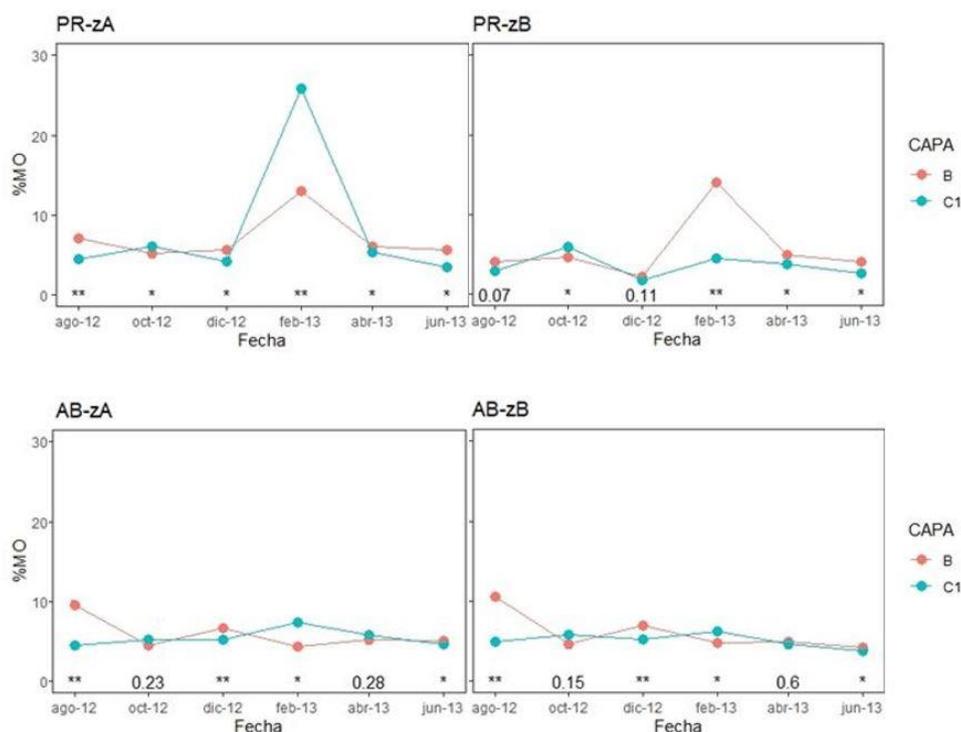


Figura 14. Distribución de la materia orgánica (%MO) en las capas superficiales en los diferentes meses de campaña, donde PR= Puerto Rosales, AB= Almirante Brown, zA= zona A y zB= zona B, B= Biofilm, C1= capa 1 (mata microbiana activa).

Tabla 5. Resumen gráfico de la distribución del contenido de materia orgánica analizada en el biofilm y la C1 (mata activa) durante seis campañas de muestreo en la zA y zB de cada sitio (PR y AB). Celda verde: %MO en C1 > B; celda negra: %MO en C1=B y celda marrón: %MO en B > C1. En todos los casos las diferencias de concentración fueron estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

Sitio-zona	Fecha					
	ago-12	oct-12	dic-12	feb-13	abr-13	jun-13
PR-zA	Marrón	Verde	Marrón	Verde	Marrón	Marrón
PR-zB	Marrón	Verde	Marrón	Marrón	Marrón	Marrón
AB-zA	Marrón	Marrón	Marrón	Verde	Marrón	Marrón
AB-zB	Marrón	Marrón	Marrón	Verde	Marrón	Marrón

3.3.2 Variación en profundidad del contenido de MO (C1-C2-C3)

En el estuario medio (PR) sitio PR-zA, el contenido de MO varió en un rango de 2,23 a 25,87%, observándose una tendencia a disminuir desde la capa superficial (C1) a la más profunda (C3), excepto en dic-12 donde no se hallaron diferencias entre las capas (**Figura 15**). En feb-13 se registró el mayor contenido de materia orgánica, variando desde un 25,8% en la C1 a 23,1% en la C3. Por otro lado, en PR-zB el contenido de MO varió en un rango de 1,36 a 5,84%, observándose una disminución desde la capa C1 hacia las capas profundas (C2 y C3) en los meses oct-12, feb-13 y abr-13. En ago-12 y dic-12 el %MO aumentó en profundidad, mientras que en jun-13 se mantuvo invariable. El mayor %MO se registró en oct-12 (5,84%).

En el estuario interno (AB) se observó una tendencia similar en las dos zonas muestreadas, con un rango de variación entre 3,5-10,5% (**Figura 15**). Tanto en AB-zA como en AB-zB se observó una disminución del contenido de MO en profundidad en los meses oct-12, dic-12, feb-13 y abr-13, mientras que en ago-12 aumentó hacia las capas inferiores ($4,44 \pm 0,22$ a $5,65 \pm 0,16$). No se observaron variaciones en jun-13. En ambas zonas, el %MO fue mayor en feb-13 (AB-zA= 6,21; AB-zB= 7,40).

Promediando las capas del testigo vertical, dentro de PR el %MO promedio analizado en PR-zA ($7,28 \pm 1,46\%$) fue mayor respecto a PR-zB ($3,98 \pm 0,49\%$, $p < 0,01$). En AB no se hallaron diferencias significativas ($p > 0,05$) en el contenido de MO entre AB-zA ($5,35 \pm 0,32$) y AB-zB ($5,43 \pm 0,36$).

El mayor contenido de MO se presentó en PR-zA en comparación con el otro sitio de PR y los dos sitios de AB (PR-zB, AB-zA y AB-zB; $p < 0,05$).

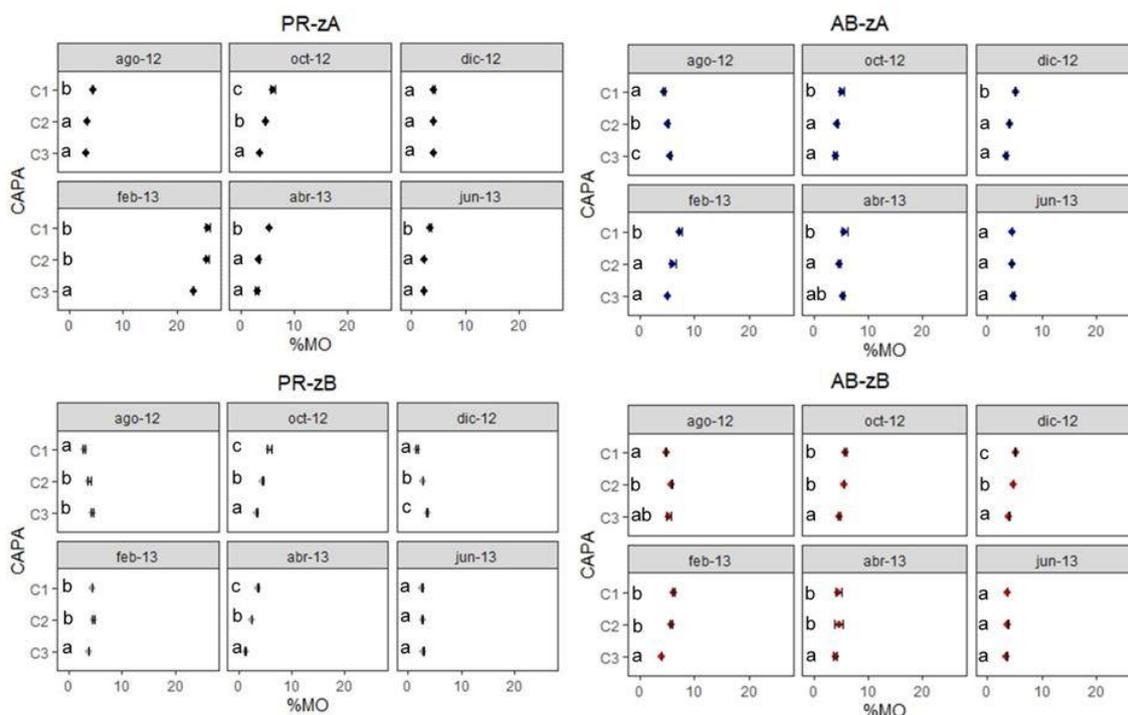


Figura 15. Porcentaje de materia orgánica (%MO) en el testigo vertical (0-5 cm de profundidad); donde PR= Puerto Rosales, AB= Almirante Brown. C1= capa 1, C2= capa 2, C3= capa 3. Letras asignadas alfabéticamente de mayor a menor.

La **Tabla 6** resume la información del contenido de materia orgánica analizado en las diferentes capas del testigo vertical (C1, C2 y C3) durante seis campañas de muestreo en las zA y zB de cada sitio (PR y AB). En más del 60% de las observaciones, el %MO fue mayor en la C1 respecto de las capas profundas (C2 y C3). Solo en un 16% de las mediciones, las concentraciones en C1 fueron menores respecto a las capas profundas o de igual magnitud a éstas últimas.

Tabla 6. Resumen gráfico de la distribución del contenido de materia orgánica analizada en el testigo vertical (C1-C2-C3) durante seis campañas de muestreo en la zA y zB de cada sitio (PR y AB). Celda verde: concentración del metal en C1 > C2 y C3; celda negra: concentración en C1=C2 y C3; celda azul: concentración del metal en C2 y C3 > C1. En todos los casos las diferencias de concentración fueron estadísticamente significativas ($0,01 < p < 0,05$).

Sitio-zona	Fecha					
	ago-12	oct-12	dic-12	feb-13	abr-13	jun-13
PR-zA	Green	Green	Black	Green	Green	Green
PR-zB	Blue	Green	Blue	Green	Green	Black
AB-zA	Blue	Green	Green	Green	Green	Green
AB-zB	Blue	Green	Green	Green	Green	Black

3.4 Concentración de metales

3.4.1 Concentración de metales en el biofilm (B) y en la mata microbiana activa (C1)

En las **Figuras 16 a 24** se presentan los resultados obtenidos de la concentración (expresada en $\mu\text{g g}^{-1}$) y distribución de los metales cadmio, cromo, cobre, hierro, manganeso, níquel, mercurio, plomo y cinc medidos en las muestras de biofilms y matas microbianas colectadas en las zonas A (zA) y B (zB) de Puerto Rosales (PR) y de Almirante Brown (AB) a lo largo del período estudiado (ver definición de compartimientos fotosintéticamente activos en el apartado 2.2.c de la sección Materiales y Métodos).

Cadmio (Cd)

En PR-zA se observó una tendencia a concentraciones levemente superiores en C1 respecto al biofilm, siendo estas diferencias significativas en los meses ago-12 ($C1= 0,073\pm 0,002$; $B= 0,035\pm 0,001 \mu\text{g g}^{-1}$) y oct-12 ($C1= 0,055\pm 0,003$; $B= 0,027\pm 0,001 \mu\text{g g}^{-1}$) (**Figura 16**). En PR-zB se observó la misma tendencia en oct-12 ($C1= 0,042\pm 0,014$; $B= 0,035\pm 0,001 \mu\text{g g}^{-1}$) y jun-13 ($C1= 0,040\pm 0,001$; $B= 0,023\pm 0,005 \mu\text{g g}^{-1}$).

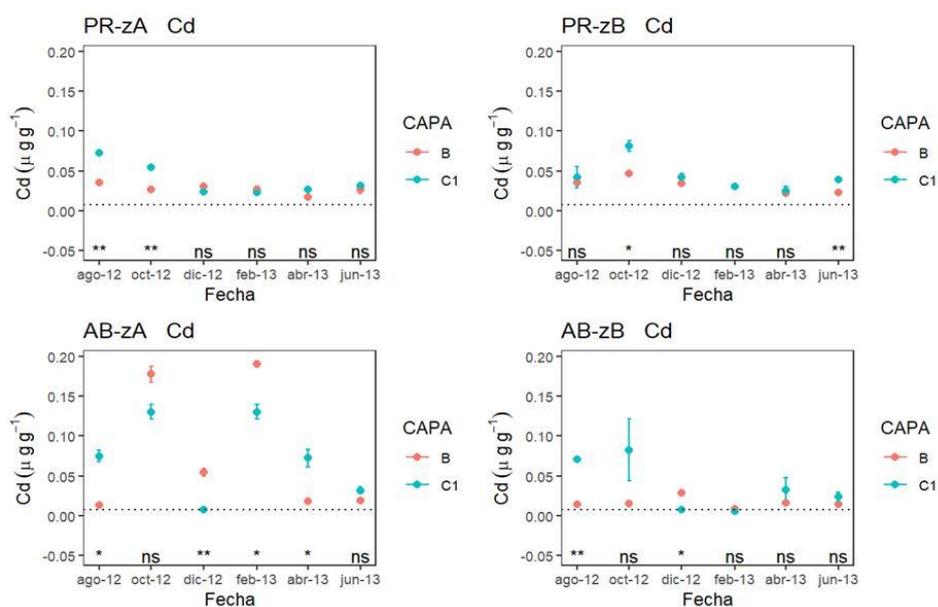


Figura 16. Contenido de Cd en el biofilm (B) y en el primer centímetro de la planicie (C1); donde PR= Puerto Rosales, AB= Almirante Brown. Resultados de la prueba t , *=diferencia significativa ($p < 0,05$), **= diferencia altamente significativa ($p < 0,01$), ns= diferencia no significativa.

En la AB-zA se detectó un amplio rango de variación de la concentración de Cd en el tiempo. En tres campañas, durante la época estival, la concentración en el biofilm fue superior respecto a la C1, aunque esta diferencia fue estadísticamente significativa en 2 de ellas (dic-12 y feb-13). Justamente, en esta zona corresponden los valores medios más altos de Cd en el biofilm (oct-12= $0,17\pm 0,01$; feb-13= $0,19\pm 0,003 \mu\text{g g}^{-1}$). Por su parte, en AB-zB la concentración media fue superior en la C1 en 4 de las 6 campañas (época invernal), con diferencias estadísticamente significativas en ago-12 (C1= $0,07\pm 0,01$; B= $0,014\pm 0,001 \mu\text{g g}^{-1}$).

Cromo (Cr)

En PR-zA se registró una mayor concentración media de Cr en la C1 respecto al biofilm en tres campañas, siendo ésta diferencia estadísticamente significativa en ago-12 y en oct-12 (C1= $16,12\pm 1,25 \mu\text{g g}^{-1}$ y $14,41\pm 0,76 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente) (**Figura 17**). En abr-13 la concentración de Cr en el biofilm fue casi el doble respecto a la de C1 (B= $11,17\pm 0,9 \mu\text{g g}^{-1}$). Asimismo, en PR-zB se hallaron promedios más altos en C1 y estas diferencias fueron significativas para los meses oct-12 y dic-12 (C1= $13,8\pm 1,003$ y $10,22\pm 0,36 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente). En feb-13, el biofilm tuvo el mayor contenido promedio de Cr (B= $8,65\pm 0,6 \mu\text{g g}^{-1}$).

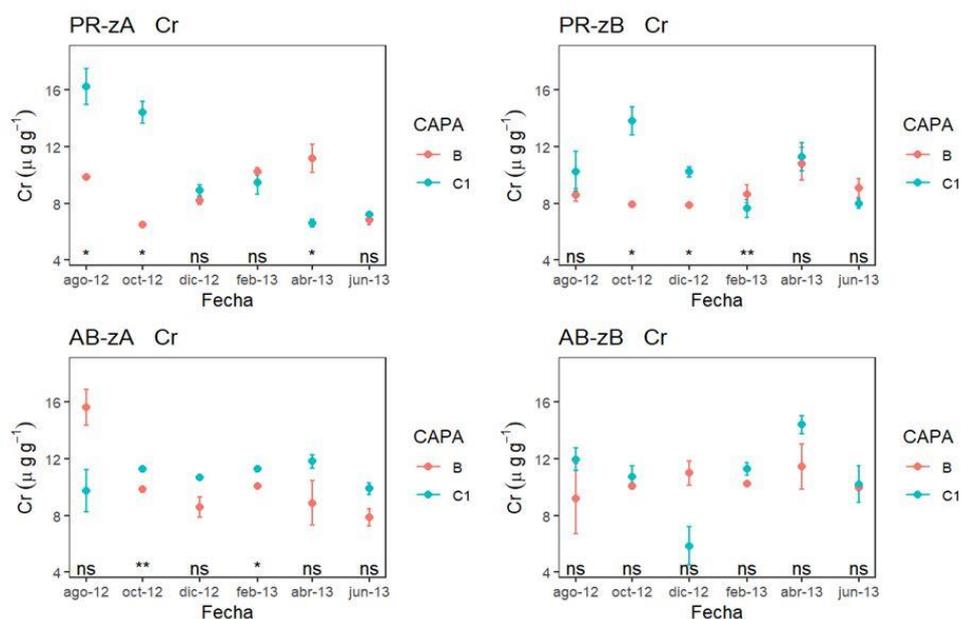


Figura 17. Contenido de Cr en el biofilm (B) y en el primer centímetro de la planicie (C1); donde PR= Puerto Rosales, AB= Almirante Brown. Resultados de la prueba t , * = diferencia significativa ($p < 0,05$), ** = diferencia altamente significativa ($p < 0,01$), ns = diferencia no significativa.

En AB-zA, los valores medios de Cr evidenciaron concentraciones superiores en la C1 respecto al biofilm, siendo estas diferencias estadísticamente significativas sólo en oct-12 y feb-13 ($C1= 11,94\pm 1,47$ y $11,23\pm 0,17 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente). Por otro lado, en AB-zB, aunque no se registraron diferencias significativas entre el biofilm y la C1, hubo una tendencia a menores concentraciones en el biofilm; con excepción de dic-12 ($B= 10,98\pm 0,8 \mu\text{g g}^{-1}$).

Cobre (Cu)

Los valores promedio de Cu en ambas zonas de PR fueron mayores en la C1 en la mayoría de las campañas (**Figura 18**). Estas diferencias fueron estadísticamente significativas en PR-zA en los meses oct-12, dic-12 y jun-13 ($C1= 20,79\pm 0,6$; $9,76\pm 0,25$ y $20,85\pm 0,57 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente), mientras que en PR-zB sólo lo fue para dic-12 ($C1= 13,32\pm 1,81 \mu\text{g g}^{-1}$).

En el sitio AB, la distribución de Cu en el biofilm respecto a la C1 fue diferente en cada zona. En AB-zA se observó que la concentración media de Cu fue superior en la C1 respecto al biofilm en dic-12 y abr/jun-13 ($13,33\pm 1,81$; $13,69\pm 0,17$; $12,03\pm 1,03 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente) y lo opuesto en el resto de las fechas, aunque estas diferencias no fueron estadísticamente significativas. Por otro lado, AB-zB mostró una tendencia a mayores concentraciones en la C1 respecto al biofilm, siendo significativas en ago-12 y dic-12 ($25,54\pm 2,42$; $13,48\pm 0,52 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente).

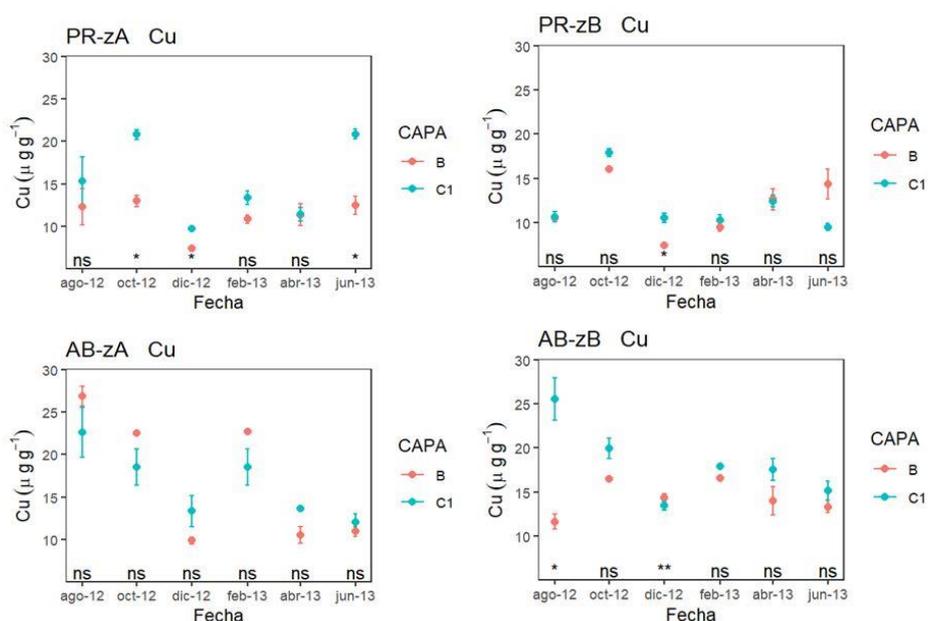


Figura 18. Contenido de Cu en el biofilm (B) y en el primer centímetro de la planicie (C1); donde PR= Puerto Rosales, AB= Almirante Brown. Resultados de la prueba t , * = diferencia significativa ($p < 0,05$), ** = diferencia altamente significativa ($p < 0,01$), ns = diferencia no significativa.

Hierro (Fe)

Las concentraciones promedio de Fe en PR-zA presentaron mayores valores en C1 en la mayoría de las campañas, con diferencias significativas en las fechas ago/oct y dic-12 (29073 ± 2335 ; 29861 ± 293 ; $15221 \pm 237 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente) (**Figura 19**). No se hallaron diferencias significativas entre la C1 y el biofilm en PR-zB, aunque se observaron valores superiores en C1 en ago/oct-12. En AB-zA las variaciones en las concentraciones promedios de Fe fueron muy similares entre C1 y el biofilm, pero amplias entre las campañas, aunque sin diferencias estadísticas en ninguna de las fechas. Por su parte, en AB-zB los promedios en cada campaña fueron levemente superiores en C1 respecto al biofilm en su mayoría, siendo significativa en feb-13 ($22071 \pm 504 \mu\text{g g}^{-1}$). En el tiempo, las primeras dos campañas las concentraciones fueron mayores, aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas.

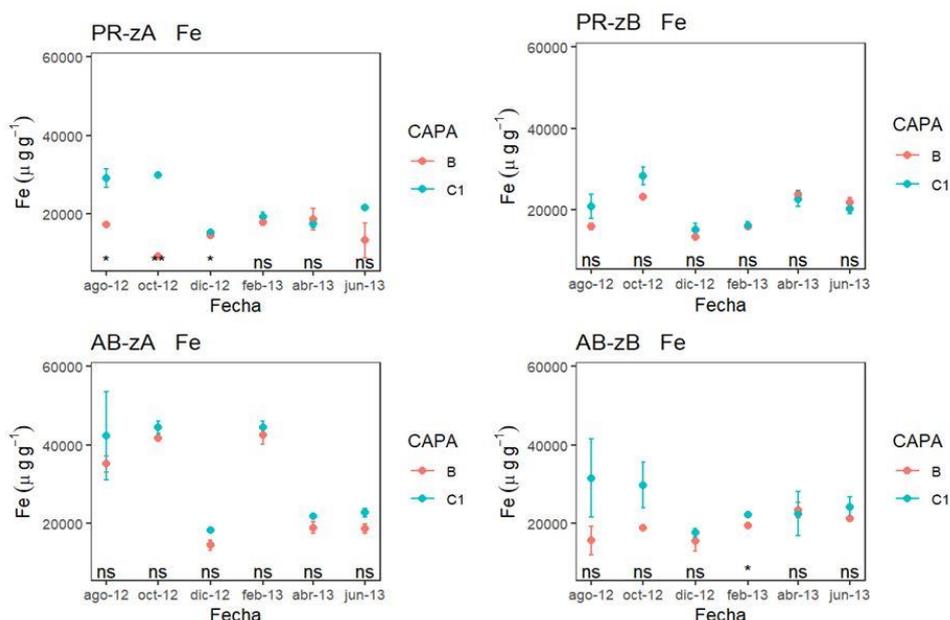


Figura 19. Contenido de Fe en el biofilm (B) y en el primer centímetro de la planicie (C1); donde PR= Puerto Rosales, AB= Almirante Brown. Resultados de la prueba *t*, *=diferencia significativa ($p < 0,05$), **= diferencia altamente significativa ($p < 0,01$), ns= diferencia no significativa.

Manganeso (Mn)

El Mn presentó en PR-zA una concentración promedio mayor en la C1 respecto al biofilm en ago y oct-12 ($534 \pm 8,96$ y $645 \pm 20,24 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente) (**Figura 20**). En PR-zB no se observaron diferencias entre la concentración de Mn en el biofilm y C1. Por otro lado, en AB-zA sólo se observó una concentración promedio significativamente mayor en el biofilm en oct-12 ($294 \pm 6,08 \mu\text{g g}^{-1}$). En AB-zB la concentración media en el

biofilm fue significativamente superior a la de la C1 en dic-12 ($320 \pm 9,5 \mu\text{g g}^{-1}$) y lo inverso sucedió en feb-13 ($357 \pm 7,61 \mu\text{g g}^{-1}$).

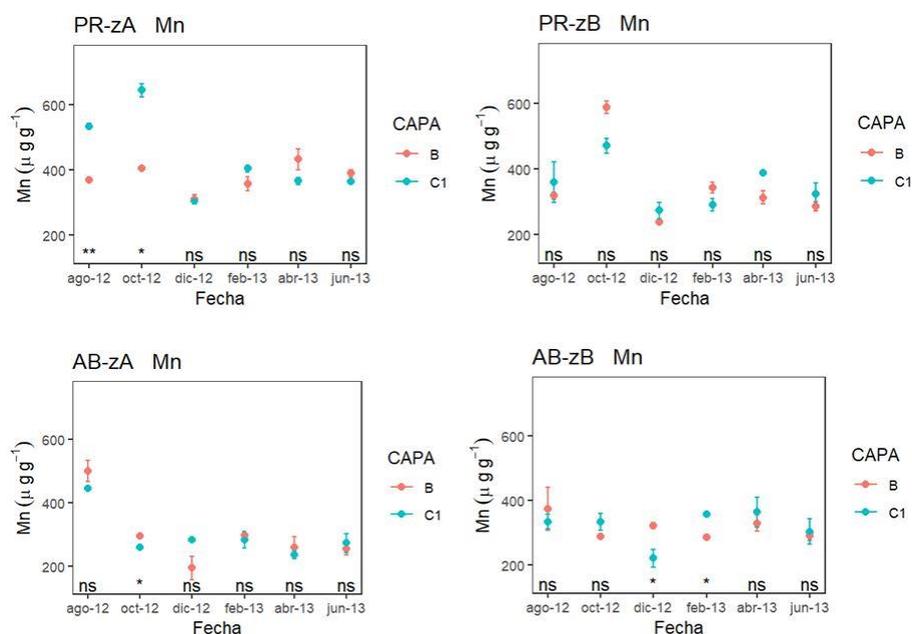


Figura 20. Contenido de Mn en el biofilm (B) y en el primer centímetro de la planicie (C1); donde PR= Puerto Rosales, AB= Almirante Brown. Resultados de la prueba *t*; *=diferencia significativa ($p < 0,05$), **= diferencia altamente significativa ($p < 0,01$), ns= diferencia no significativa.

Mercurio (Hg)

Las concentraciones de Hg medidas en PR no mostraron un patrón a lo largo del tiempo y fueron, en general, inferiores al LDM (**Figura 21**). En PR-zA la concentración de Hg fue superior en la C1 en ago/oct-12 ($0,15 \pm 0,2$ y $0,03 \pm 0,003 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente) y jun-13 ($0,09 \pm 0,005 \mu\text{g g}^{-1}$) siendo significativa la diferencia en este último, mientras que en feb-13 el Hg presente en el biofilm fue superior al de C1 ($0,14 \pm 0,003 \mu\text{g g}^{-1}$). En PR-zB, el contenido de Hg fue superior en la C1 en ago-12, observándose lo opuesto en feb-13.

Por otro lado, en AB no se detectaron diferencias significativas entre el contenido de Hg en el B y la C1, sin embargo, cabe mencionar que en AB-zA, las concentraciones en ago-12 fueron superior en el biofilm ($0,07 \pm 0,006 \mu\text{g g}^{-1}$), mientras que en feb-13 fueron superiores en la C1 ($0,11 \pm 0,0005 \mu\text{g g}^{-1}$). En AB-zB las concentraciones fueron homogéneas tanto en el B como en la C1 y estuvieron cercanas al LDM.

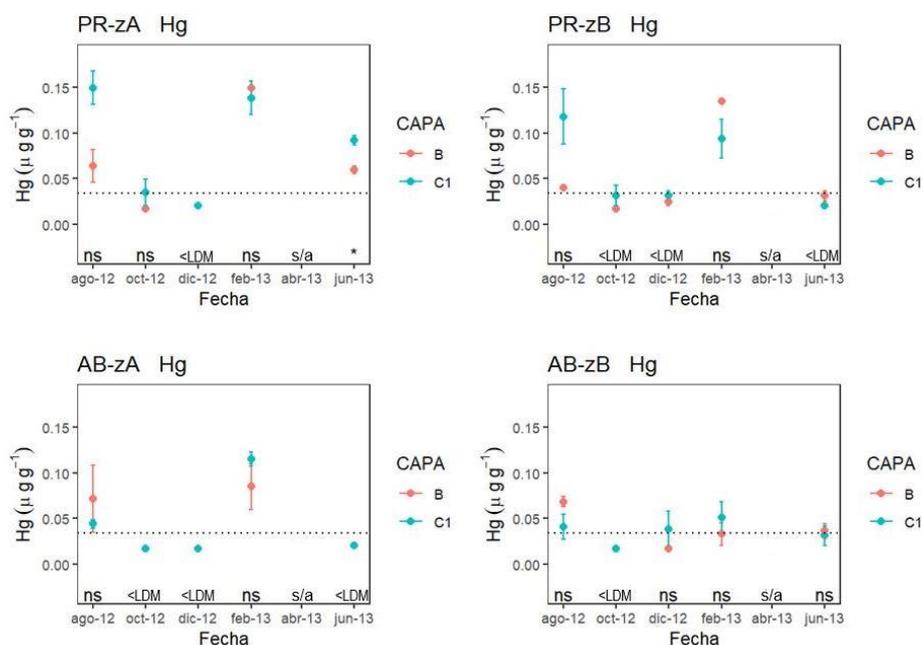


Figura 21. Contenido de Hg en el biofilm (B) y en el primer centímetro de la planicie (C1); donde PR= Puerto Rosales, AB= Almirante Brown. Resultados de la prueba t , * =diferencia significativa ($p < 0,05$), ** = diferencia altamente significativa ($p < 0,01$), ns= diferencia no significativa. <LDM: concentración por debajo del límite de detección. s/a: muestras sin analizar.

Niquel (Ni)

En PR-zA las concentraciones promedio de Ni en el biofilm fueron similares en el tiempo, mientras que en la C1 fueron más fluctuantes (**Figura 22**). Se registraron valores más altos en la C1 respecto al biofilm y diferencias significativas en los meses ago/oct-12 y dic-12 ($10,92 \pm 0,2$; $10,28 \pm 0,98$ y $6,41 \pm 0,019 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente). Por otro lado, en PR-zB se obtuvo un promedio significativamente más elevado en la C1 respecto al biofilm, en oct-12 ($10,12 \pm 0,38 \mu\text{g g}^{-1}$).

En cuanto a la distribución temporal del Ni en AB, tanto en AB-zA como en AB-zB, se observó una tendencia a mayor concentración promedio en C1 para la mayoría de las campañas. Estas diferencias fueron significativas en AB-zB en oct-12 y feb-13 ($7,63 \pm 0,12$ y $7,44 \pm 0,19 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente).

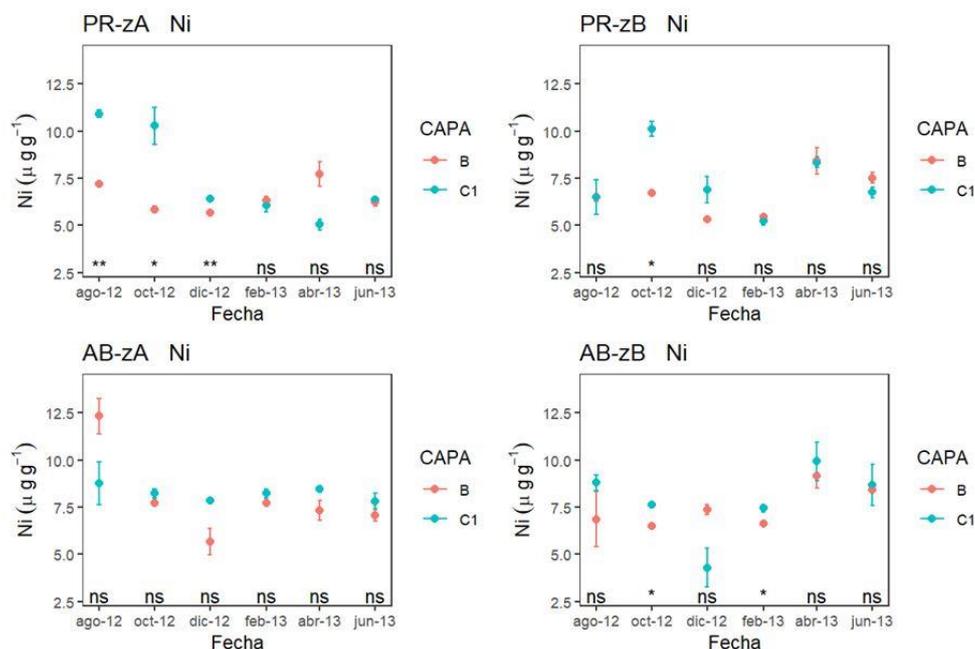


Figura 22. Contenido de Ni en el biofilm (B) y en el primer centímetro de la planicie (C1); donde PR= Puerto Rosales, AB= Almirante Brown. Resultados de la prueba *t*; *=diferencia significativa ($p < 0,05$), **= diferencia altamente significativa ($p < 0,01$), ns= diferencia no significativa.

Plomo (Pb)

Los valores medios de Pb en PR-zA fueron significativamente diferentes entre el biofilm y la C1 en tres fechas (oct/dic-12 y abr-13), con una mayor concentración en la C1 ($9,89 \pm 0,49$, $4,31 \pm 0,017$ y $4,42 \pm 0,031$ $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente) (**Figura 23**). La misma tendencia se halló en PR-zB en los meses oct-12, feb y jun-13, siendo significativamente mayor solo en oct-12 ($9,28 \pm 0,36$ $\mu\text{g g}^{-1}$). Cabe señalar que en ambas zonas la tendencia en el tiempo fue siempre a una concentración promedio de Pb menor en el biofilm,

En el sitio AB, se observó una distribución homogénea en el tiempo tanto en el biofilm como en C1 en AB-zA y AB-zB, y al igual que en PR, una tendencia a concentraciones promedio siempre menores en el biofilm. Como excepción, se observó un mayor contenido de Pb en el biofilm de AB-zA en ago-12 ($14,79 \pm 1,11$ $\mu\text{g g}^{-1}$) mientras que la concentración fue significativamente mayor en la C1 de AB-zA en dic-12 y feb-13 ($9,37 \pm 0,25$ y $8,82 \pm 0,4$ $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente) y en AB-zB en la fecha feb-13 ($8,52 \pm 0,08$ $\mu\text{g g}^{-1}$).

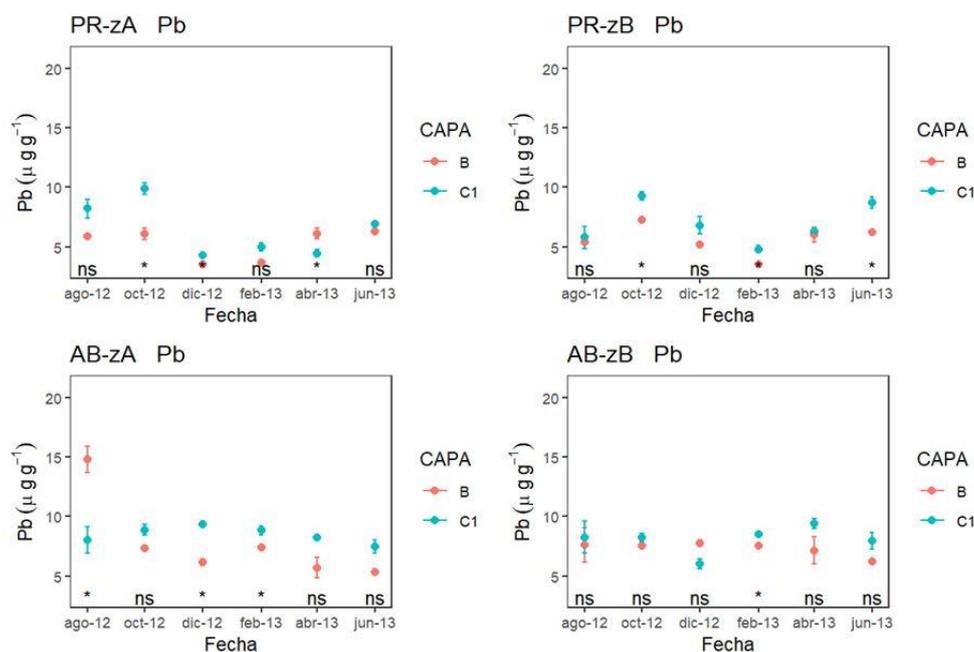


Figura 23. Contenido de Pb en el biofilm (B) y en el primer centímetro de la planicie (C1); donde PR= Puerto Rosales, AB= Almirante Brown. Resultados de la prueba *t*, *=diferencia significativa ($p < 0,05$), **= diferencia altamente significativa ($p < 0,01$), ns= diferencia no significativa.

Zinc (Zn)

La concentración de Zn en el biofilm de ambas zonas fue similar (**Figura 24**). Por otro lado, el contenido de este metal en la C1 fue variable en las primeras dos fechas respecto al resto del período evaluado. Generalmente, los valores fueron superiores en C1 respecto al biofilm, donde las diferencias fueron significativas en PR-zA en los meses ago/oct-12 y feb-13 ($63,17 \pm 1,27$; $63,42 \pm 3,56$ y $31,18 \pm 1,86 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente) y en PR-zB en oct-12 ($26,79 \pm 1,63 \mu\text{g g}^{-1}$). Asimismo, se observó en AB que en la mayoría de las campañas los valores medios de Zn fueron más bajos en el biofilm en ambas zonas. Se detectó una mayor concentración en C1 en AB zA con diferencias significativas en los meses oct/dic-12 y feb/jun-13 y en AB zB en ago/oct-12 y feb-13, estando estas concentraciones en el mismo orden de magnitud.

La **Tabla 7** resume la información de los nueve metales analizados en el B y en la C1 durante seis campañas de muestreo en las zonas A y B de cada sitio (PR y AB). En la misma, se le asignó a cada celda un color en función del contenido de ese metal en C1 respecto al B. En todos los casos las diferencias de concentración fueron estadísticamente significativas y corresponden a los análisis precedentes. Teniendo en cuenta la totalidad de mediciones que se realizaron en cada zona (9 metales x 6 campañas= 54), se calculó la proporción de casos en la cual la concentración de metales

fue superior en la mata microbiana activa (C1) respecto al biofilm. Considerando dentro de cada zona; los porcentajes donde se encontraron una concentración de metales en C1>B indicaron el siguiente orden: PR-zA (38,8%) > AB-zB (18,5%) > PR-zB (14%) > AB-zA (11%). Los metales que a lo largo del período tuvieron mayor presencia en la C1 de PR-zA mostraron el siguiente orden: Cu, Fe, Ni, Zn>Cr, Cd, Mn, Pb>Hg. En PR-zA se observó una mayor concentración de metales en la C1 en el 38,8% de las mediciones, mientras que en PR-zB ocurrió en el 14% de los casos. Por otro lado, se encontró en AB-zB un mayor porcentaje de mediciones respecto a AB-zA (18,5 y 14%, respectivamente), con concentraciones de metales mayor en la C1.

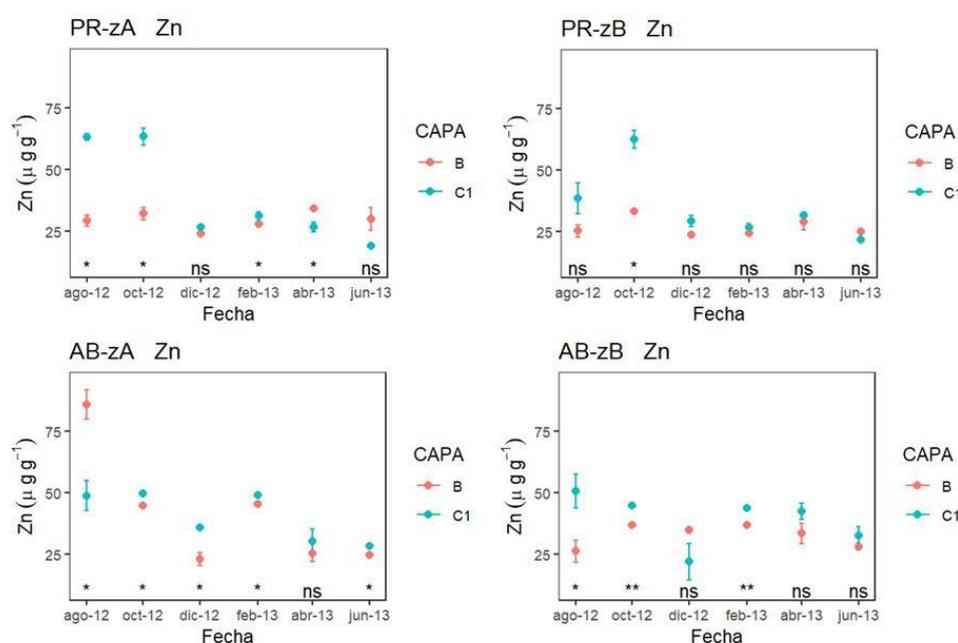


Figura 24. Contenido de Zn en el biofilm (B) y en el primer centímetro de la planicie (C1); donde PR= Puerto Rosales, AB= Almirante Brown. Resultados de la prueba *t*, * =diferencia significativa ($p < 0,05$), ** = diferencia altamente significativa ($p < 0,01$), ns= diferencia no significativa.

Considerando las 36 mediciones (9 metales x 4 zonas) realizadas en cada campaña de muestreo; el mes en el cual se registró la mayoría de los casos con la concentración en C1>B fue oct-12 (47,2%). Se obtuvieron concentraciones en el B>C1 en el 0,04% de las observaciones de PR y en el 0,07% de las de AB. El metal presente con mayor frecuencia en el B de PR fue el Cr, mientras que en AB fue el Cd.

Tabla 7. Resumen de las concentraciones de metales en el biofilm (B) y en la C1 (mata microbiana) analizadas en seis campañas de muestreo en la zA y zB de cada sitio (PR y AB). Celda verde: concentración del metal en C1>B; celda negra: concentración en C1= B y celda marrón: concentración del metal B>C1. Celda amarilla: sin datos. Celda violeta: concentraciones por debajo del LDM. En todos los casos las diferencias de concentración fueron estadísticamente significativas.

Sitio-zona	metal	Fecha					
		ago-12	oct-12	dic-12	feb-13	abr-13	jun-13
PR-ZA	Cd	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Cr	Verde	Verde	Verde	Verde	Marrón	Verde
	Cu	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Fe	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Hg	Verde	Verde	Violeta	Verde	Amarillo	Verde
	Mn	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Ni	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Pb	Verde	Verde	Verde	Verde	Marrón	Verde
	Zn	Verde	Verde	Verde	Verde	Marrón	Verde
	PR-zB	Cd	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
Cr		Verde	Verde	Verde	Marrón	Verde	Verde
Cu		Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
Fe		Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
Hg		Verde	Verde	Verde	Verde	Amarillo	Verde
Mn		Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
Ni		Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
Pb		Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
Zn		Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
AB-ZA		Cd	Verde	Verde	Marrón	Marrón	Verde
	Cr	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Cu	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Fe	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Hg	Verde	Violeta	Violeta	Verde	Amarillo	Violeta
	Mn	Verde	Marrón	Verde	Verde	Verde	Verde
	Ni	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Pb	Marrón	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Zn	Marrón	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	AB-zB	Cd	Verde	Verde	Marrón	Verde	Verde
Cr		Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
Cu		Verde	Verde	Marrón	Verde	Verde	Verde
Fe		Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
Hg		Verde	Violeta	Verde	Verde	Amarillo	Verde
Mn		Verde	Verde	Marrón	Verde	Verde	Verde
Ni		Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
Pb		Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
Zn		Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde

3.4.2 Concentración de metales en profundidad (C1-C2-C3)

En las **Figuras 25 a 33** se presentan los resultados obtenidos de la concentración (expresada en $\mu\text{g g}^{-1}$) y distribución de los metales cadmio, cromo, cobre, hierro, manganeso, níquel, mercurio, plomo y cinc medidos en el testigo vertical. Para ello, se analizó el contenido promedio ($n=3$) de metales en cada capa que conforma el testigo vertical (C1, C2 y C3) de las muestras colectadas en las zonas A (zA) y B (zB) de Puerto Rosales (PR) y de Almirante Brown (AB) a lo largo del período estudiado. A continuación, se describen los resultados obtenidos del análisis estadístico siguiendo el esquema presentado en la sección 2.6 Materiales y Métodos. Los resultados se muestran en gráficos cuando se haya detectado interacción entre los factores fecha y capa. En caso contrario, se comentan los resultados.

Cadmio (Cd)

En el estuario medio, los máximos valores de Cd analizados en PR-zA, se registraron en C1 en ago-12 ($0,073\pm 0,004 \mu\text{g g}^{-1}$) y oct-12 ($0,055\pm 0,004 \mu\text{g g}^{-1}$) (**Figura 25**). Además, se observó en las campañas ago-12 y oct-12 una disminución en la concentración de Cd desde la C1 hacia la C3, mientras que en dic-12, abr y jun-13

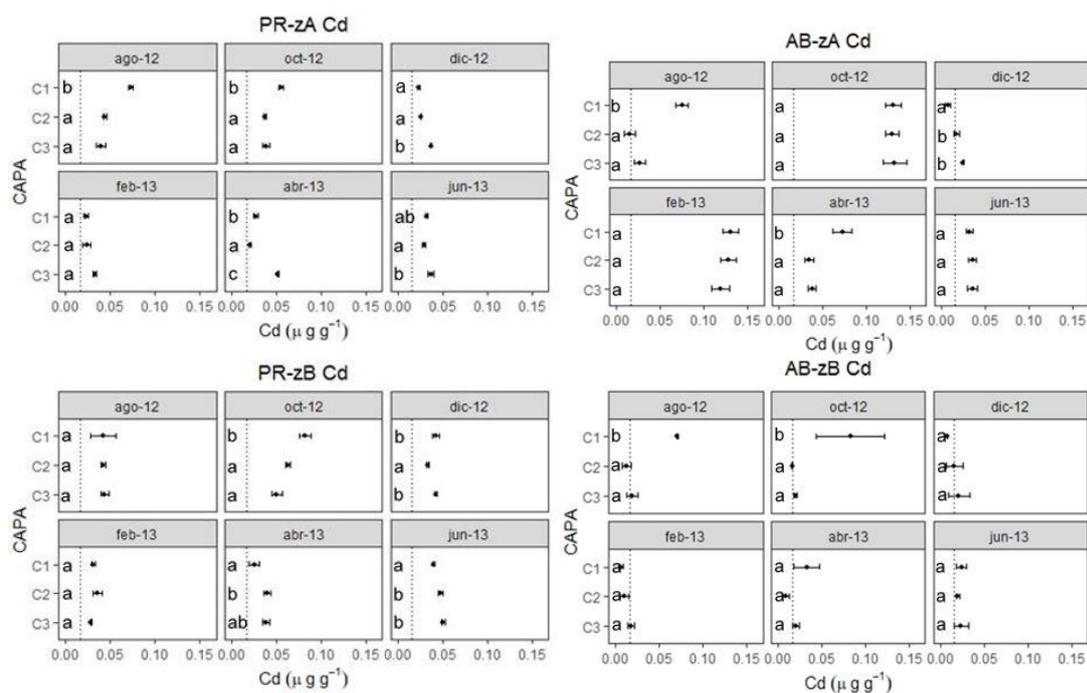


Figura 25. Variación en profundidad de la concentración de Cd en cada campaña realizada en PR (Puerto Rosales) y en AB (Almirante Brown), donde: zA= zona A, zB= zona B. Línea punteada= LDM.

ocurrió lo opuesto. No se observaron diferencias significativas entre C2 y C3, en ago/oct-12 y feb-13, mientras que, en el resto de las campañas, la C3 tuvo la mayor concentración. El mayor valor promedio se registró en ago-12 ($0,052 \pm 0,01 \mu\text{g g}^{-1}$). En PR-zB se registró un valor máximo de Cd en la C1 de la campaña de oct-12 ($0,082 \pm 0,07 \mu\text{g g}^{-1}$), disminuyendo su concentración hacia las capas más profundas, mientras que en el resto de las campañas evaluadas no se observaron variaciones en profundidad. Promediando las 3 capas, el mayor valor promedio se registró en el mes oct-12 ($0,065 \pm 0,01 \mu\text{g g}^{-1}$).

En el estuario interno, se observó en AB-zA una mayor concentración de Cd en la C1 respecto del resto de las capas en dos ocasiones: ago-12 ($0,075 \pm 0,007 \mu\text{g g}^{-1}$) y abr-13 ($0,073 \pm 0,011 \mu\text{g g}^{-1}$) (**Figura 25**). En dic-12 aumentó el contenido de Cd en profundidad (desde valores no detectables a $0,025 \pm 0,0003 \mu\text{g g}^{-1}$) y no se observó variación en el resto de los muestreos. En promedio, las mayores concentraciones de Cd se registraron en oct-12 y feb-13 con $0,014 \pm 0,01 \mu\text{g g}^{-1}$ en ambas fechas. En AB-zB, el Cd presentó concentraciones inferiores al LDM en más del 40% de los casos. Sin embargo, cabe mencionar que en ago/oct-12 y abr-13, el Cd mostró valores detectables y elevados en C1 en ago-12 y oct-12 ($0,070 \pm 0,001$ y $0,083 \pm 0,039 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente). El mayor promedio de concentración de Cd se registró en oct-12 ($0,04 \pm 0,02 \mu\text{g g}^{-1}$).

Cromo (Cr)

En el estuario medio, el contenido de Cr en el sitio PR-zA disminuyó desde la C1 hacia la C3 en ago/oct-12, fechas en las cuales se alcanzaron los máximos de concentración en esta capa ($18,4$ y $15,5 \mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente) (**Figura 26**). Se observó lo opuesto en abr-13, donde la concentración aumentó hacia la C3 ($6,62 \pm 0,29$ a $11,63 \pm 0,7 \mu\text{g g}^{-1}$). El mayor valor medio de este metal se registró en ago-12 ($11,50 \pm 2,37 \mu\text{g g}^{-1}$). En PR-zB, la concentración de Cr en oct-12 fue máxima en C1 ($13,80 \pm 1 \mu\text{g g}^{-1}$) y disminuyó en profundidad, mientras que en dic-12 y feb/abr/jun-13, los valores de Cr aumentaron desde la C1 ($\sim 6,5 \mu\text{g g}^{-1}$) hacia la C3 ($\sim 15,5 \mu\text{g g}^{-1}$). En ago-12 no se observaron variaciones entre capas. La concentración medida en abr-13 ($13,42 \pm 1 \mu\text{g g}^{-1}$) fue superior a la del resto de los meses evaluados.

En el estuario interno, no se detectó interacción entre los factores analizados en AB-zA (prueba ANOVA, $p=061$), por lo cual se analizaron por separado los promedios de cada factor (capas y meses de muestreo) (**Figura 26**). Se hallaron diferencias

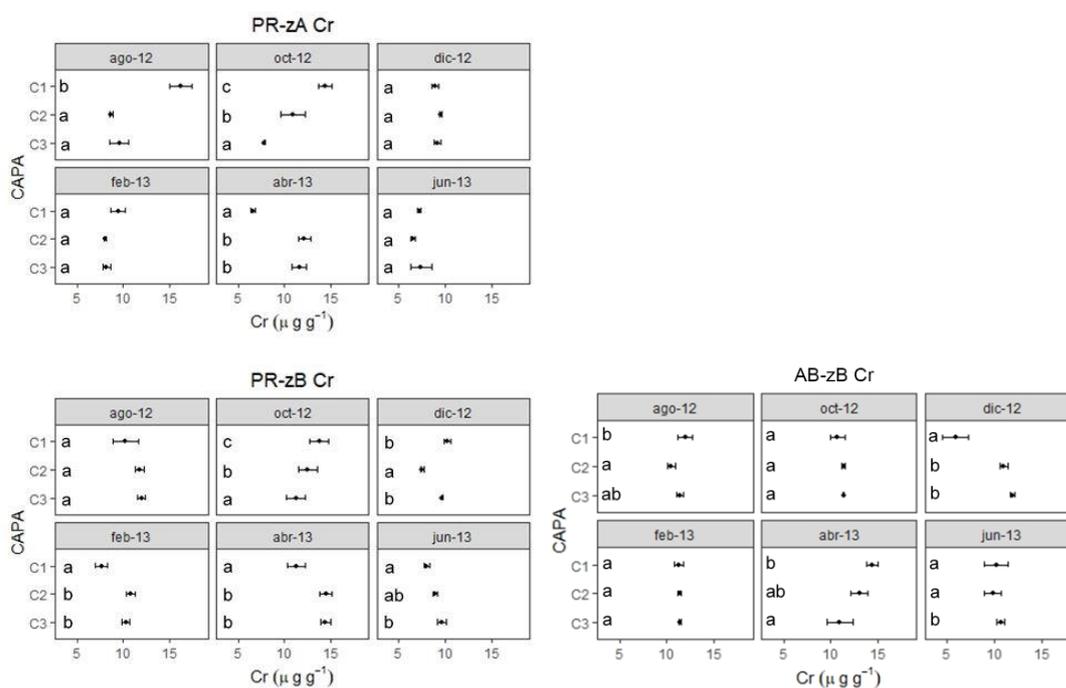


Figura 26. Variación en profundidad de la concentración de Cr en cada campaña realizada en PR (Puerto Rosales) y en AB (Almirante Brown), donde: zA= zona A, zB= zona B.

significativas entre la C1 y C2/C3, con una menor concentración de Cr en la C1. El análisis por fecha, mostró que la mayor concentración promedio se registró en abr-13 y fue estadísticamente diferente a lo registrado en ago/dic-12 y jun-13 ($p < 0,05$). El menor contenido de Cr se registró en jun-13. Por otro lado, en AB-zB, se detectó una disminución en abr-12 desde la C1 ($14,4 \pm 0,63 \mu\text{g g}^{-1}$) hacia C3 ($10,97 \pm 1,36 \mu\text{g g}^{-1}$) y lo opuesto en ago/dic-12 y jun-13.

Cobre (Cu)

En el estuario medio, el contenido de Cu medido en PR-zA mostró una mayor concentración en la C1 en cinco campañas, registrándose los valores máximos en oct-12 ($20,79 \pm 0,6 \mu\text{g g}^{-1}$) y jun-13 ($20,85 \pm 0,57 \mu\text{g g}^{-1}$) (**Figura 27**). No se observaron variaciones en la concentración de este metal en ago-12. El valor medio máximo de Cu fue medido en oct-12 ($17,65 \pm 1,61 \mu\text{g g}^{-1}$). Por otro lado, en PR-zB, la concentración de este metal aumentó en profundidad (similar entre C2-C3) en las campañas de ago-12, feb/abr mientras que en jun-13 hubo un aumento escalonado. El mayor valor promedio se registró en oct-12 ($16,96 \pm 0,49 \mu\text{g g}^{-1}$).

En el estuario interno, se observó en AB-zA un aumento de la concentración de Cu en profundidad en tres campañas (oct-12 y feb/abr-13), mientras que no varió en

ago/dic-12 y jun-13 (**Figura 27**). Se observó una mayor variabilidad en las concentraciones medidas en la C1 de la mayoría de las campañas. La mayor

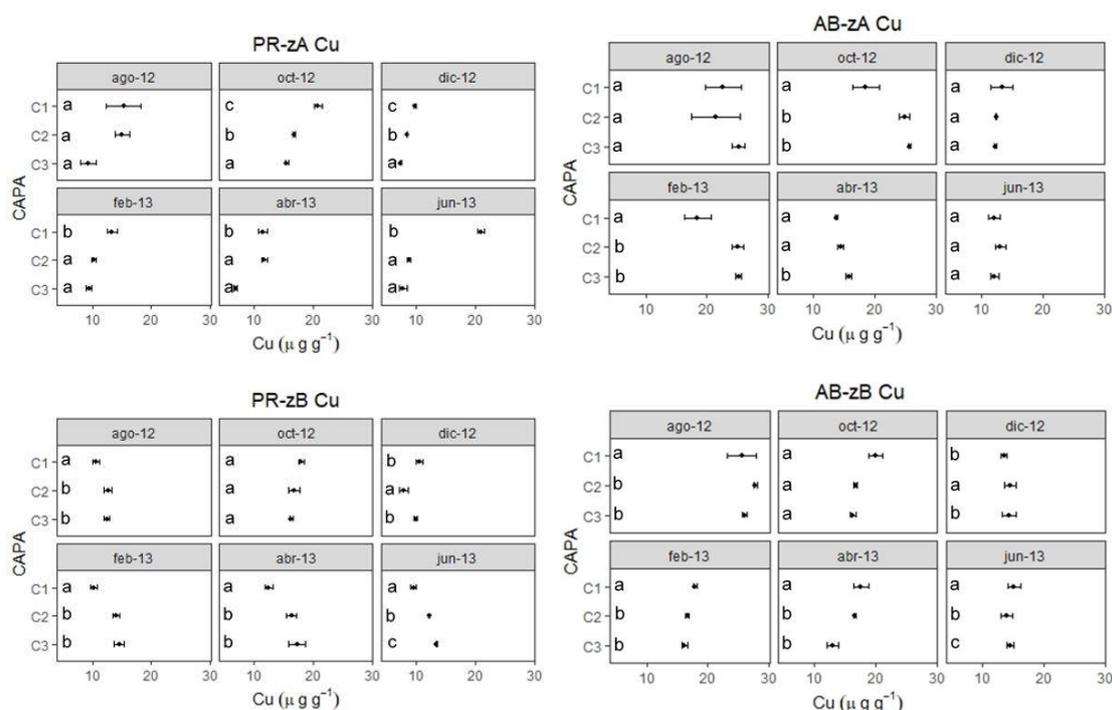


Figura 27. Variación en profundidad de la concentración de Cu en cada campaña realizada en PR (Puerto Rosales) y en AB (Almirante Brown), donde: zA= zona A, zB= zona B.

concentración promedio se midió en ago-12 ($23,08 \pm 1,09 \mu\text{g g}^{-1}$). En AB-zB se identificó un aumento del Cu en profundidad en la mayoría de las campañas y ausencia de variaciones solo en oct-12. En dic-12 se detectaron diferencias estadísticas significativas entre capas, pero sin una clara evidencia de aumento o disminución en profundidad. Al igual que en la zA la mayor concentración promedio se registró en ago-12 ($26,43 \pm 0,68 \mu\text{g g}^{-1}$).

Hierro (Fe)

En el estuario medio, en oct-12 y feb/abr-13, se registró en PR-zA un mayor valor medio de Fe en la C1. Si bien la tendencia no fue clara, en ago-12 y abr-13, puede señalarse una mayor concentración en C2 (**Figura 28**). En jun-13 el contenido de Fe no varió significativamente entre capas. El mayor valor medio de Fe correspondió al mes de ago-12 ($26996 \pm 5699 \mu\text{g g}^{-1}$). Por su parte, en PR-zB la concentración media de Fe en oct-12 fue mayor en la C1 respecto de las capas subyacentes ($29073 \pm 2335 \mu\text{g g}^{-1}$). Por otro lado, en feb/abr/jun-13 el valor medido fue significativamente menor en C1 respecto a las capas más profundas; y no se detectaron diferencias estadísticas entre

capas en ago y dic-12. La concentración media registrada en abr-13 ($25987 \pm 1700 \mu\text{g g}^{-1}$) fue superior al resto de los meses considerados.

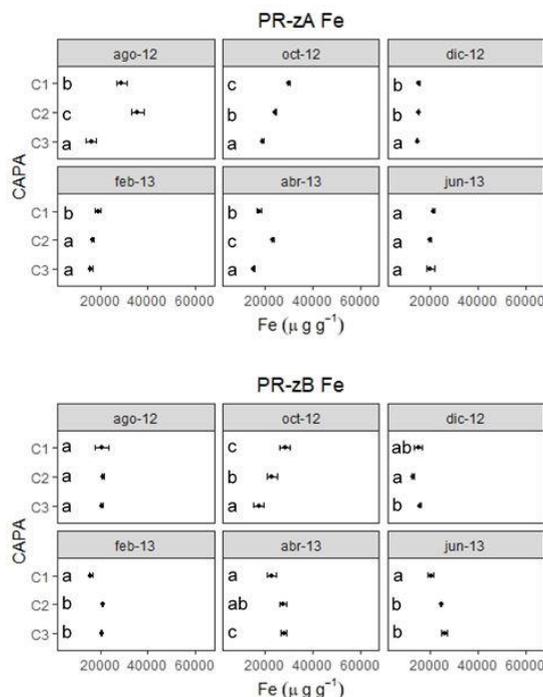


Figura 28. Variación en profundidad de la concentración de Fe en cada campaña realizada en PR (Puerto Rosales), donde: zA= zona A, zB= zona B.

En el estuario interno, no hubo interacción entre los factores analizados en ambas zonas de AB (AB-zA, $p= 0,355$; AB-zB, $p= 0,87$), por lo cual se analizaron por separado los promedios de cada factor (capas y meses de muestreo) (**Figura 28**). Así, AB-zA se hallaron diferencias entre la C1 y la C3 ($p= 0,0271$), siendo mayor la concentración en la C3. Asimismo, se detectó que en ago/oct-12 y feb-13 la concentración de Fe fue mayor respecto a las demás campañas evaluadas ($p < 0,001$). En AB-zB no se hallaron diferencias significativas entre capas en cuanto al contenido de Fe ($p= 0,47$), siendo mayor la concentración medida en ago-12 ($32967 \pm 6820 \mu\text{g g}^{-1}$) respecto al resto de las campañas ($p < 0,001$).

Manganeso (Mn)

En el estuario medio, en PR-zA se observó una tendencia a la disminución de la concentración media de Mn desde la C1 hacia las capas profundas en ago/oct-12, mientras que en dic-12 ocurrió lo opuesto (**Figura 29**). No varió la concentración entre capas en feb-13 mientras que en dic-12 la concentración aumentó hacia la C2 y fue similar a la de C3. En abr-13 se observó una mayor concentración de Mn en la C2. La

mayor concentración promedio se midió en oct-12 ($539,66 \pm 81,82 \mu\text{g g}^{-1}$). En PR-zB se detectó un mayor contenido de Mn en la C1 de la campaña oct/dic-12 ($470,25 \pm 22,72 \mu\text{g g}^{-1}$), mientras que en tres de las seis campañas (feb/abr/jun-13) la tendencia fue a un aumento de la concentración media de Mn en C2-C3 respecto a C1. En ago-12 el contenido de Mn no mostró variaciones entre las capas. La mayor concentración promedio de este metal se registró en abr-12 ($476,37 \pm 44,23 \mu\text{g g}^{-1}$).

En cuanto al contenido de Mn en el estuario interno, en AB-zA se observó que este metal aumentó desde C1 hacia la C3 en cinco de las fechas evaluadas (**Figura 29**). En ago-12 la tendencia fue similar, con la excepción de una clara disminución hacia la C2. Las variaciones entre fechas pueden resumirse mencionando la mayor concentración promedio en ago-12 ($413,87 \pm 58,52 \mu\text{g g}^{-1}$) feb-13. En AB-zB, no hubo interacción entre los factores analizados ($p=0,52$), el análisis individual de los factores reveló que la concentración media de Mn aumentó con la profundidad (C2 y C3 respecto a C1) en todas las campañas. La mayor concentración de Mn se registró en feb-13 ($430,58 \pm 49,17 \mu\text{g g}^{-1}$).

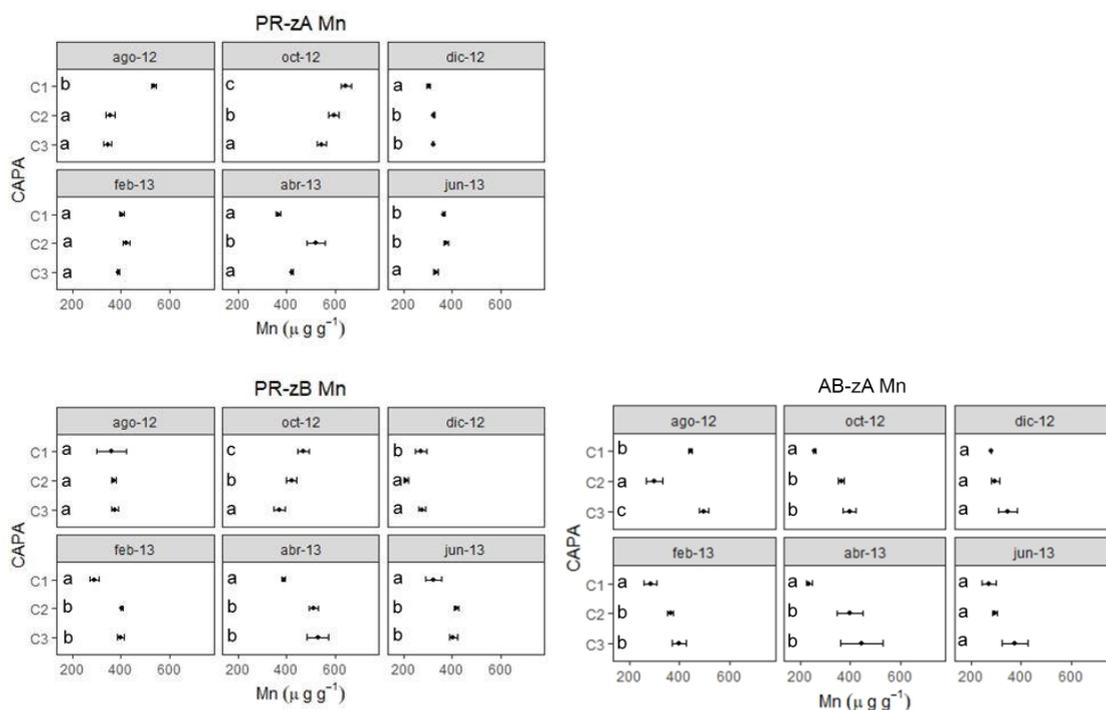


Figura 29. Variación en profundidad de la concentración de Mn en cada campaña realizada en PR (Puerto Rosales) y en AB (Almirante Brown), donde: zA= zona A, zB= zona B.

Mercurio (Hg)

En el estuario medio, solo en tres ocasiones se registraron concentraciones medias de Hg superiores al LDM (ago-12, feb-13 y jun-13) (**Figura 30**). En PR-zA el contenido de Hg en la C1 fue estadísticamente superior respecto al resto de las capas ($p < 0,01$). No se hallaron diferencias significativas entre las capas inferiores. El mayor valor medio se registró en ago-12 ($0,095 \pm 0,03 \mu\text{g g}^{-1}$). En PR-zB, el Hg mostró en ago-12 una amplia dispersión en los resultados en cada una de las capas analizadas, sin diferencia estadísticas entre ellas y con máximos valores en C1 ($0,12 \pm 0,003 \mu\text{g g}^{-1}$). También en feb-13 mostró una concentración media más alta en esta respecto a las subyacentes. Por su parte, en jun-13 el Hg no fue detectable en C1, y hubo un aumento de concentración hacia las capas profundas. El mayor valor medio se observó en ago-12 ($0,09 \pm 0,012 \mu\text{g g}^{-1}$).

En el estuario interno el mayor valor medio de Hg registrado en AB-zA se observó en ago-12 y correspondió a la C2 ($0,12 \pm 0,01 \mu\text{g g}^{-1}$) (**Figura 30**). En dic-12 se observó una concentración levemente detectable en la C1 de dic-12 ($0,044 \pm 0,06 \mu\text{g g}^{-1}$) mientras que en feb-13 los niveles de Hg disminuyeron desde la C1 ($0,05 \pm 0,01$) hacia la C3 ($0,039 \pm 0,01$), sin diferencias significativas entre ellas. La mayor concentración media de

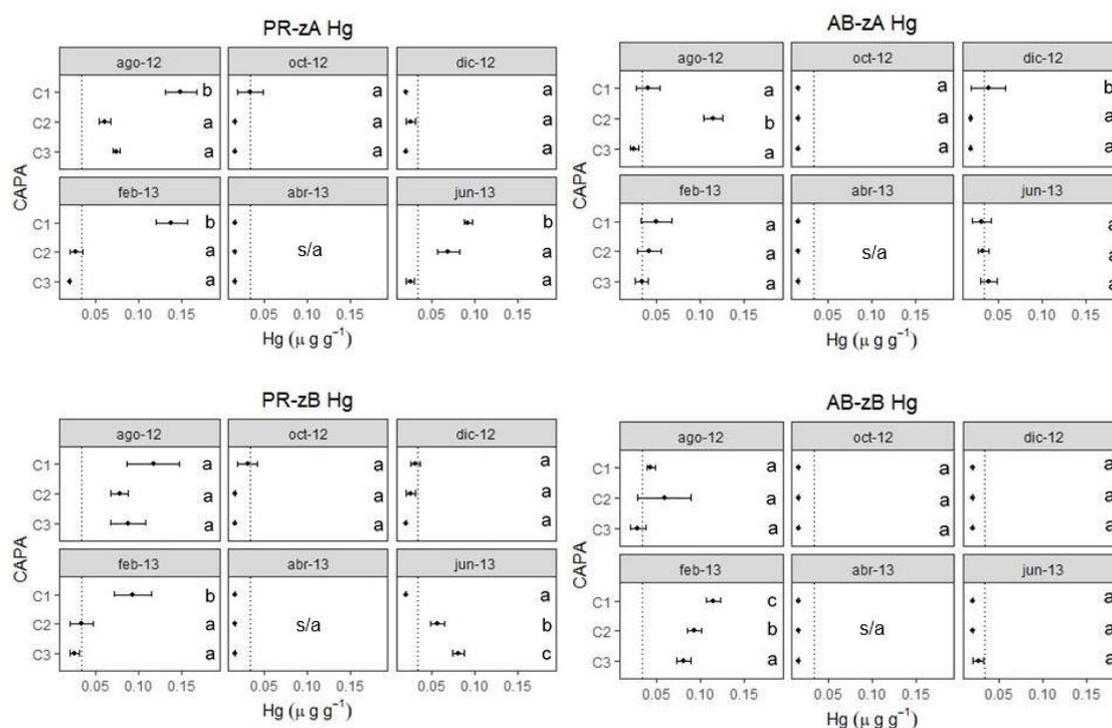


Figura 30. Variación en profundidad de la concentración de Hg en cada campaña realizada en PR (Puerto Rosales) y en AB (Almirante Brown), donde: zA= zona A, zB= zona B. s/a= sin analizar

este metal se registró en ago-12 ($0,06\pm 0,011$). En AB-zB se registró un mayor contenido de Hg en la C2 ($0,058\pm 0,031 \mu\text{g g}^{-1}$) en ago-12 mientras que en feb-13 se observó una disminución de la concentración de Hg desde C1 ($0,12\pm 0,01 \mu\text{g g}^{-1}$) hacia la C3 ($0,08\pm 0,01 \mu\text{g g}^{-1}$). La mayor concentración promedio de Hg fue registrada en feb-13 ($0,09\pm 0,01 \mu\text{g g}^{-1}$).

Niquel (Ni)

En el estuario medio, el análisis de la concentración de Ni en el sitio PR-zA reveló valores significativamente mayores en la C1 en ago/dic-12, feb/jun-13, disminuyendo progresivamente en profundidad (**Figura 31**). En oct-12 el valor promedio por capa fue similar mientras que abr-13 la concentración media fue variable, con un mayor valor en la C2. El valor medio de Ni se registró en oct-12 ($10,20\pm 0,04 \mu\text{g g}^{-1}$). En cuanto a PR-zB, se observó en tres ocasiones un menor contenido de Ni en la C1 respecto a C2 y C3 (feb/abr/jun-13). En ago-12 se observa una mayor concentración en profundidad, aunque no hubo diferencias significativas entre capas. En dic-12, se obtuvieron concentraciones superiores en C1 y C3 respecto a C2. No se detectaron diferencias entre capas en oct-12, siendo el mes con mayor concentración promedio de Ni ($10\pm 0,04 \mu\text{g g}^{-1}$).

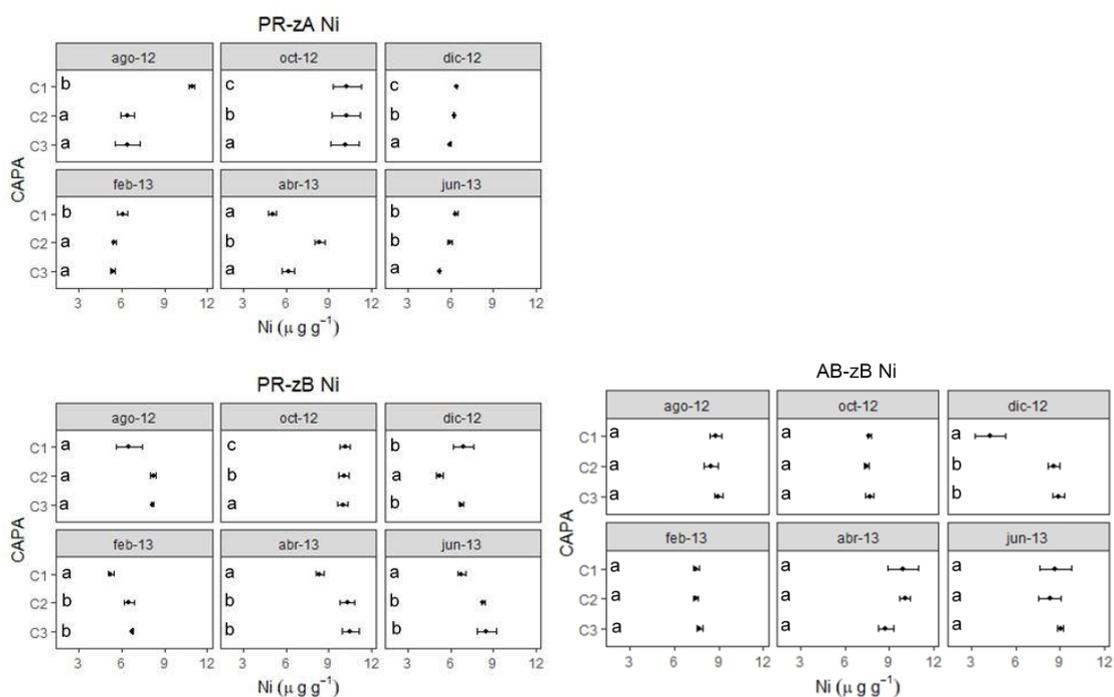


Figura 31. Variación en profundidad de la concentración de Ni en cada campaña realizada en PR (Puerto Rosales) y en AB (Almirante Brown), donde: zB= zona B.

En el estuario interno no se encontró interacción entre factores en AB-zA ($p=0,52$). Al analizar los factores individualmente pudo observarse que la concentración de Ni fue mayor en C3, respecto a C1 y C2 ($p=0,0001$), y que esta tendencia no varió entre fechas ($p=0,16$). El mayor valor promedio de Ni se midió en abr-13 ($9,31\pm 0,58 \mu\text{g g}^{-1}$). Por otro lado, en AB-zB, con excepción de lo observado en dic-12 donde la concentración media aumentó en profundidad (C2 y C3 respecto a C1), se registró homogeneidad entre capas en el resto de las campañas (**Figura 31**). Al igual que en AB-zA, el mayor valor medio de concentración fue medido en abr-13 ($9,58\pm 0,42 \mu\text{g g}^{-1}$).

Plomo (Pb)

En el estuario medio, la concentración promedio de Pb en profundidad en PR-zA mostró una disminución hacia las capas profundas en ago-12 y lo opuesto en oct/dic-12 (**Figura 32**). En feb/jun-13 no se observaron variaciones significativas entre las capas, probablemente por la dispersión en los resultados obtenidos, mientras que en abr-13 aumentó levemente en C2. El mayor promedio de concentración fue medido en oct-12 ($15,46\pm 2,92 \mu\text{g g}^{-1}$). En PR-zB, el Pb fue estadísticamente superior en la C1 respecto a las capas profundas en dic-12, mientras que en ago/oct-12 y en feb/abr-13 el contenido de Pb fue menor en C1. No hubo variaciones entre las capas evaluadas en jun-13. Al igual que en la PR-zA, el contenido medio de Pb fue superior en oct-12 ($14\pm 2,4 \mu\text{g g}^{-1}$).

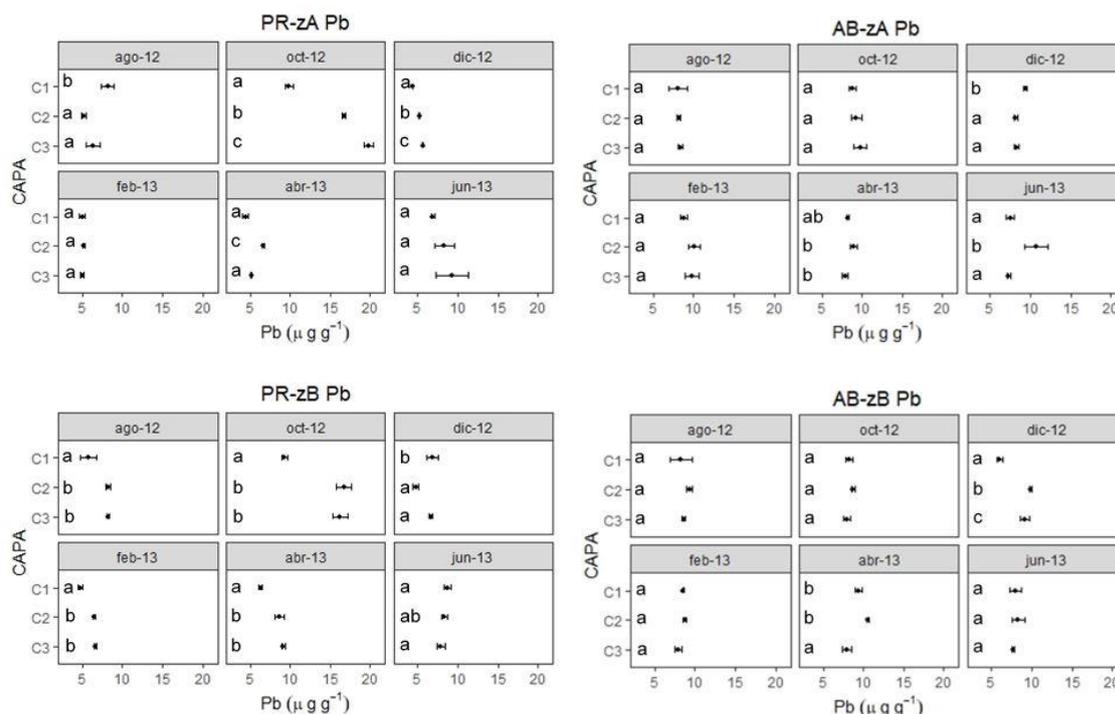


Figura 32. Variación en profundidad de la concentración de Pb en cada campaña realizada en PR (Puerto Rosales), donde: zA= zona A, zB= zona B.

En el estuario interno, la concentración medida en la C1 de AB-zA fue superior en dic-12 respecto a C2 y C3 mientras que en ago/oct-12 y feb/abr-13 la distribución en profundidad no mostró diferencias estadísticas entre capas en los 5 cm evaluados (**Figura 32**). En jun-13 se observó un incremento significativo del contenido de Pb en la C2. El valor medio registrado en oct-12 fue superior al resto de los meses evaluados ($9,32 \pm 0,26 \mu\text{g g}^{-1}$).

Zinc (Zn)

En el estuario medio, el contenido de Zn analizado en PR-zA fue mayor en C1 en ago/oct-12 y feb-13 disminuyendo hacia las capas subyacentes, mientras que no se detectaron variaciones significativas en dic/abr-12 y jun-12 (**Figura 33**). El mayor valor medio de Zn se registró en oct-12 ($57,96 \pm 2,75 \mu\text{g g}^{-1}$). Se pudo observar en PR-zB, que en oct-12 la concentración disminuyó en profundidad, en dic-12 la mayor concentración se registró en la C2 mientras que en ago-12 no varió entre capas. Hubo una tendencia al aumento de la concentración con la profundidad en las tres campañas de '13. La mayor concentración de Zn se registró en oct-12 ($57,06 \pm 2,74 \mu\text{g g}^{-1}$).

En el estuario interno, en AB-zA no se encontraron diferencias significativas entre las capas ($p=0,44$). En cuanto a la variación entre fechas, la mayor concentración media

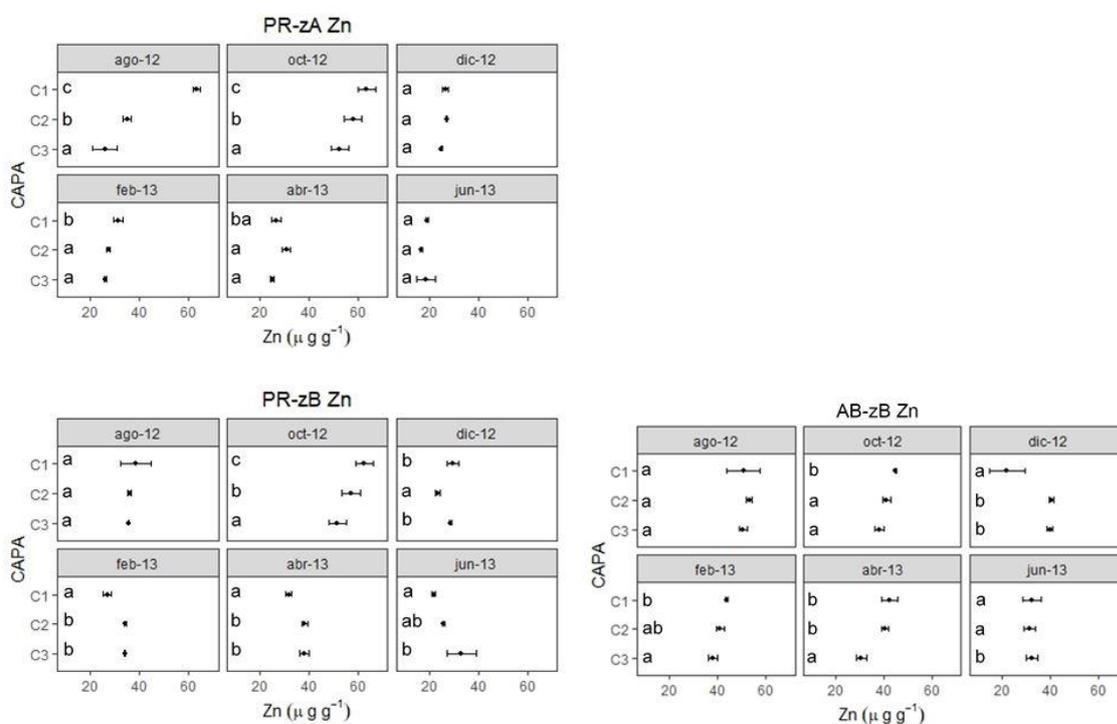


Figura 33. Variación en profundidad de la concentración de Zn en cada campaña realizada en PR (Puerto Rosales) y en AB (Almirante Brown), donde: zA= zona A, zB= zona B.

de Zn se registró en oct-12 ($51,26 \pm 0,71$). En la AB-zB, tres de las seis campañas realizadas mostraron una concentración media de Zn superior en C1 y disminución de la concentración de este metal hacia las capas más profundas (oct-12, feb/abr-13) (**Figura 33**). En dic-12 el contenido promedio de Zn fue significativamente inferior en C1 en relación a las otras dos capas ($p < 0,05$). En ago-12 no se detectaron variaciones significativas entre las capas, mientras que en jun-13 se observó una mayor concentración hacia las capas profundas mientras. El mayor valor medio se detectó en ago-12 ($51,4 \pm 0,8 \mu\text{g g}^{-1}$).

La **Tabla 8** resume la información de los nueve metales analizados en C1 y en las capas subyacentes (C2 y C3) durante las seis campañas de muestreo en la zA y zB de cada sitio (PR y AB). Se le asignó a cada celda un color en función del contenido de ese metal en C1 respecto a la concentración en capas inferiores (C2 y C3). En todos los casos las diferencias de concentración fueron estadísticamente significativas. Teniendo en cuenta la totalidad de mediciones que se realizaron en cada zona (9 metales x 6 campañas x 4 zonas = 216), se calculó la proporción de casos en la cual la concentración de metales fue superior en la mata activa (C1) respecto a las subyacentes (C2 y C3); y viceversa.

La tendencia general fue a una mayor concentración de metales en las capas subyacentes (C2 y C3 > C1; 38,35%), seguido por concentraciones sin diferencias significativas entre las capas (35,18%) y, por último, un contenido de metales en la mata microbiana mayor al de las capas subyacentes (C1 > C2 y C3; 24,07%). Sin embargo, cabe realizar algunas observaciones. Dentro de cada zona, la concentración de metales en C1 > C2 y C3 indicaron el siguiente orden: PR-zA (53,7%) > PR-zB (18,51%) > AB-zB (11,1%) > AB-zA (5,5%). El orden de los metales que se encontraron más frecuentemente concentrados en la C1 de PR son: Cu, Fe, Hg, Mn, Ni > Cd, Cr, Zn > Pb; mientras que en AB fue: Cd, Zn > Cr. Cabe destacar que los meses en los cuales se observaron la mayoría de las concentraciones fueron ago y oct-12.

En función del registro de la concentración en C2 y C3 > C1, se observa que: AB-zA (59,26%) > PR-zB (48,18%) > AB-zB (31,48) > PR-zA (20,37%). Considerando los metales que se encontraron más frecuentemente concentrados en C2 y C3 respecto a C1, se obtuvo en PR el siguiente ordenamiento: Pb > Mn, Ni > Cr, Cu, Fe, Zn > Cd > Hg. Por otro lado, en AB el ordenamiento fue: Mn > Cr, Cu, Ni > Fe > Pb > Cd, Zn > Hg. El metal que se encontró más frecuentemente en las capas subyacentes fue el Mn.

En función de las fechas donde se encontró la mayor cantidad de metales concentrados en C2 y C3 respecto a la C1, se observó el siguiente ordenamiento: abr-13> jun-13> dic-12> feb-13> ago-12> oct-12.

Tabla 8. Resumen de las concentraciones de metales en el perfil vertical (C1-C2-C3) analizadas en seis campañas de muestreo en la zA y zB de cada sitio (PR y AB). Celda verde: concentración del metal en C1> C2 y C3; celda negra: concentración en C1=C2 y C3; celda azul: concentración del metal en C2 y C3>C1. Celda amarilla: sin datos. En todos los casos las diferencias de concentración fueron estadísticamente significativas.

Zona	metal	Fecha						
		ago-12	oct-12	dic-12	feb-13	abr-13	jun-13	
PR-zA	Cd	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Cr	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Cu	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Fe	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Hg	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Mn	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Ni	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Pb	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Zn	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Cd	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Cr	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
PR-zB	Cu	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Fe	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Hg	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Mn	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Ni	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Pb	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Zn	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Cd	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Cr	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Cu	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Fe	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
AB-zA	Hg	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Mn	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Ni	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Pb	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Zn	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Cd	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Cr	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Cu	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Fe	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Mn	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Ni	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
AB-zB	Cd	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Cr	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Cu	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Fe	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Hg	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Mn	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Ni	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Pb	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Zn	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Cd	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde
	Cr	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde	Verde

3.4.3 Concentración de metales – Comparación entre zonas (zA y zB)

En la **Figura 34** se presenta la concentración media de metales en los testigos verticales (1 – 5 cm) colectados en las zonas A y B de de los sitios PR y AB y el contenido de metales presentes en la C1 (mata microbiana activa).

La concentración de **Cd** en el testigo vertical fue menor en el estuario medio que en el estuario interno ($p < 0,05$). Se hallaron diferencias entre las zonas de AB, registrándose una mayor concentración en AB-zA ($p = 0,0002$). El contenido de **Cr** fue similar en las dos zonas de PR ($p = 0,16$) y AB ($p = 0,97$), siendo significativamente inferior la concentración en PR-zA respecto a las concentraciones correspondientes a las zonas de AB ($p < 0,001$). Las concentraciones promedio de **Cu** fueron similares entre las zonas de PR ($p = 0,91$) y entre las de AB ($p = 0,80$). Por otro lado, el contenido de Cu fue mayor en ambas zonas del estuario interno respecto al estuario medio ($p < 0,01$).

En cuanto al contenido promedio de **Fe**, se detectaron diferencias significativas entre las zonas de AB, presentando AB-zB un valor superior ($p = 0,002$). Además, este valor promedio fue superior a los registrados en las zonas de PR ($p < 0,0001$). La diferencia en la concentración de Fe medida en las zonas de PR no fue significativa ($p = 0,93$). El valor promedio de **Mn** fue mayor en PR-zA respecto a PR-zB, aunque esta diferencia no fue significativa ($p = 0,27$). Además, el contenido de Mn registrado en PR-zA fue significativamente superior a los registrados en ambas zonas de AB ($p = 0,0001$). Por otro lado, las zonas de AB no difirieron entre sí ($p = 0,95$) en la concentración de Mn.

La concentración de **Ni** no presentó diferencias significativas entre las zonas de PR ($p = 0,25$) ni entre las de AB ($p = 0,47$), mientras que el contenido promedio en AB-zB fue significativamente superior ($p < 0,05$) a las dos zonas de PR. Con respecto al **Pb**, no se detectaron diferencias en su concentración promedio entre la zA y zB de PR ($p = 0,142$) ni entre las de AB ($p = 0,60$). La concentración media de **Zn** no fue diferente estadísticamente entre las zonas de PR ($p = 0,97$) ni entre las de AB ($p = 0,71$). Sin embargo, se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre los valores medios registrados en las zonas de PR y AB-zA ($p < 0,05$). Cabe mencionar que no se analizaron los niveles **Hg** en las zonas evaluadas debido a que el 40% los valores analizados en todas las zonas de ambos sitios no superaron el LDM.

Cuando se comparan las concentraciones de metales analizados solamente en

la C1 entre las diferentes zonas, se observa que los valores de **Cd** y **Fe** en AB-zA fueron superiores a los registrados en las demás zonas ($p < 0,05$). Las concentraciones de **Cu** halladas en las zonas de AB fueron estadísticamente diferentes a las de PR-zB ($p < 0,01$), mientras que la concentración de **Pb** en AB-zA fue similar a la de AB-zB, pero superior a los valores medios medidos en PR ($p < 0,01$). Por último, el **Mn** presentó una concentración superior en PR-zA ($p < 0,015$) respecto al resto de las zonas, mientras que no se observaron diferencias entre zonas en el contenido de **Cr**, **Ni** y **Zn** medido en la C1.

De las observaciones realizadas en los puntos anteriores, cabe resaltar que los contenidos de **Cu** y **Pb** en la C1 de ambas zonas de AB; **Cd** y **Fe** en AB-zA y de **Mn** en PR-zA muestran que los metales en el perfil vertical, estuvieron fuertemente influenciados por su contenido en la C1.

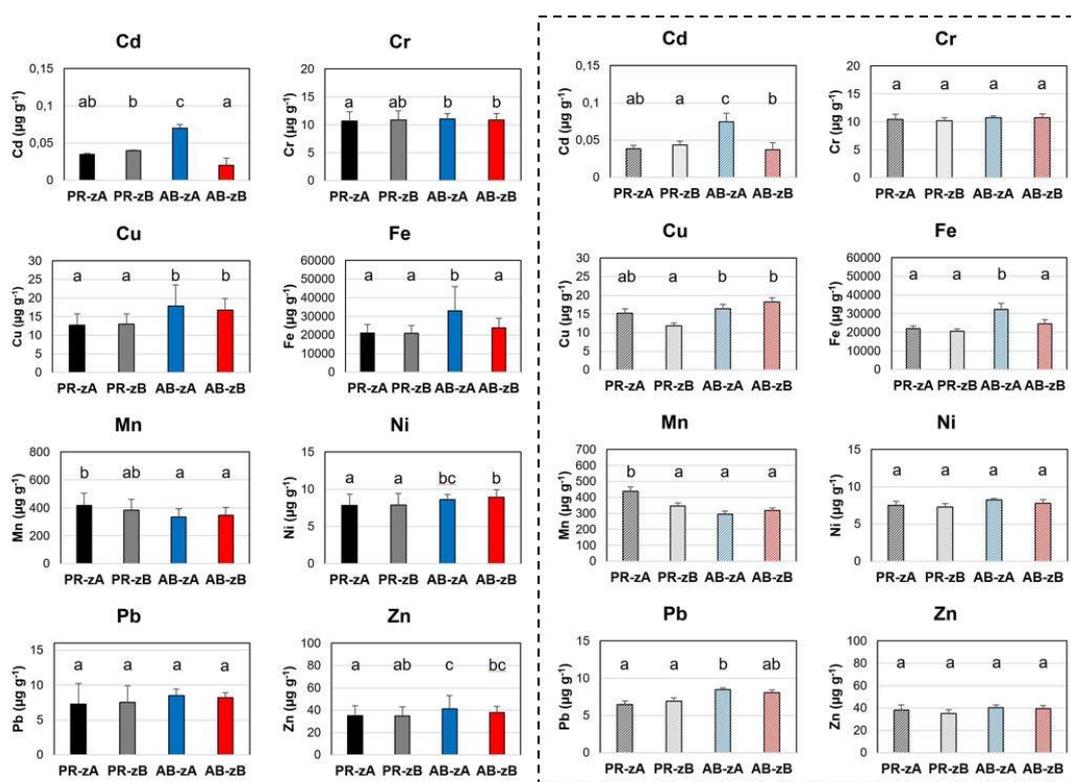


Figura 34. Concentración media de metales en las zA y zB de los sitios Puerto Rosales (PR) y Almirante Brown (AB). Los gráficos del lado izquierdo representan los valores medios de concentración en el testigo vertical. Los gráficos del lado derecho (línea punteada), corresponden a los promedios medidos en las matas microbianas (C1). Las letras indican diferencias estadísticamente significativas. Letras asignadas alfabéticamente de mayor a menor valor de media.

3.4.4 Concentración de metales – Comparación entre sitios (PR y AB)

Se realizó un análisis descriptivo de la presencia de metales en los sitios PR y AB para conocer el estado de ambos ambientes en cuanto a la presencia de estos contaminantes. Para ello, se utilizó el promedio de todas las capas (3) de los testigos (n=3) colectados en las zA y zB de cada sitio a lo largo de las seis campañas de muestreo. Por otro lado, se compararon entre sitios las concentraciones medias correspondiente a la mata microbiana activa (C1), considerando como réplica las concentraciones de las zonas en conjunto. Para ello, se promediaron las concentraciones obtenidas en la C1 de los tres testigos obtenidos en cada zona (zA y zB) durante seis campañas. Los resultados del análisis son presentados en la **Figura 35**.

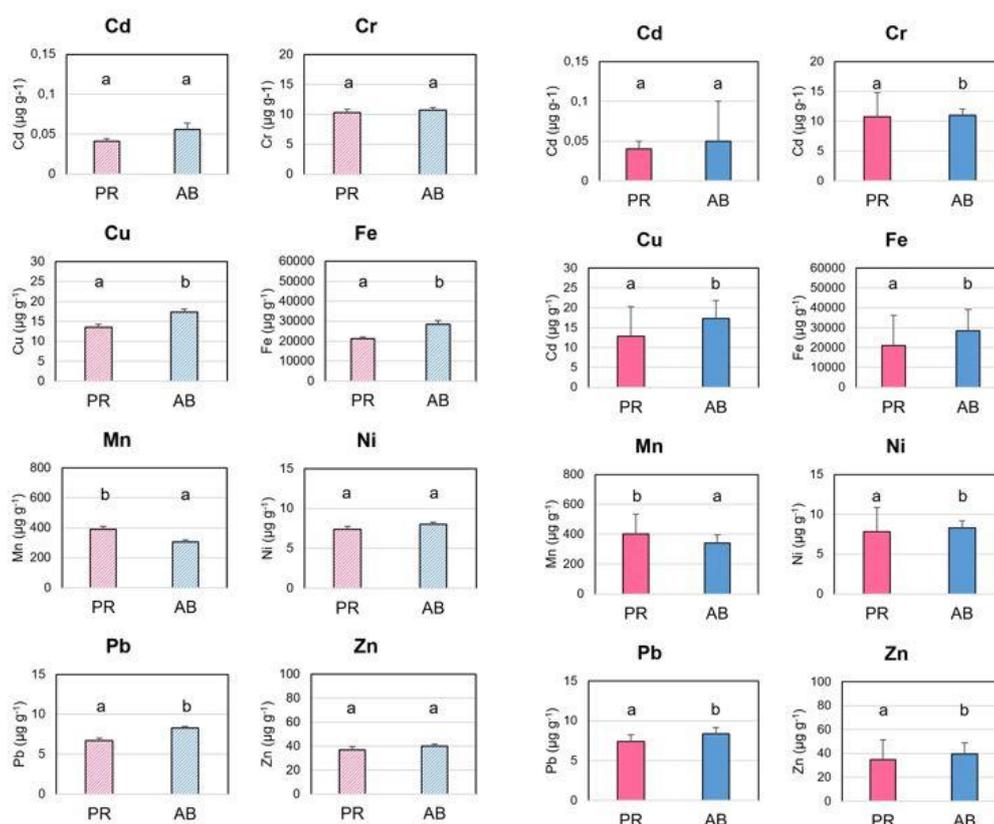


Figura 35. Concentración media de metales en los sitios Puerto Rosales (PR) y Almirante Brown (AB). Los gráficos del lado izquierdo representan los valores medios de concentración en el testigo vertical. Los gráficos del lado derecho (línea punteada), corresponden a los promedios medidos en las matas microbianas (C1). Las letras indican diferencias estadísticamente significativas. Letras asignadas alfabéticamente de mayor a menor valor de media.

Del análisis estadístico de la concentración de los metales presentes en ambos sitios, se observó que **Cr, Cu, Fe, Ni, Pb** y **Zn** fueron significativamente superiores en el sitio AB respecto a PR ($p < 0,001$). Por otro lado, en PR se registró un valor de **Mn** significativamente superior al de AB ($p = 0,0001$). El contenido medio de **Cd** mostró una distribución homogénea ya que no hallaron diferencias significativas entre sitios ($p = 0,43$). Al evaluar las diferencias entre ambos sitios en cuanto a la concentración metales en la C1, se encontró que el contenido de **Cu, Fe** y **Pb** fue estadísticamente superior en AB respecto a PR.

Tabla 9. Altura de marea (expresada en metros) respecto a Puerto Belgrano (para PR) y Puerto Ing. White (para AB) a la cual se inunda cada sitio de muestreo

Zona	Altura de marea
PR-zA	4,18
PR-zB	4
AB-zA	4,51
AB-zB	4,42

3.5 Frecuencia de inundación de la planicie

Teniendo en cuenta los registros de altura de marea obtenidos del mareógrafo de Puerto Belgrano y el del Puerto Ingeniero White, se determinó la altura de marea que inunda cada una de las zonas de muestreo (zA y zB) en cada sitio (PR, AB). Los resultados se muestran en la **Tabla 9**.

Con la altura de marea correspondiente a cada sitio estudiado se determinó la cantidad de veces (frecuencia) que la planicie se inundó consecutivamente durante 30 días previos a la campaña de muestreo. Como es de esperar, PR-zB se inundó más frecuentemente (14-35 veces por mes) que PR-zA (7 a 16 veces por mes) (**Figura 36**). El mes que más inundaciones sufrieron ambas zonas previo al muestreo fue ago-12. En AB, la frecuencia de inundación fue similar en ambas zonas (entre 5 y 15 veces por mes), observándose las mayores frecuencias de inundación (14-15 veces) en los meses dic-12 y feb-13.

El ordenamiento de las zonas en función de la frecuencia de inundación mostró

que PR-zB se inundó más frecuentemente que PR-zA y AB-zB; mientras que la zona que fue inundada con menor frecuencia en este estudio fue PR-zA.

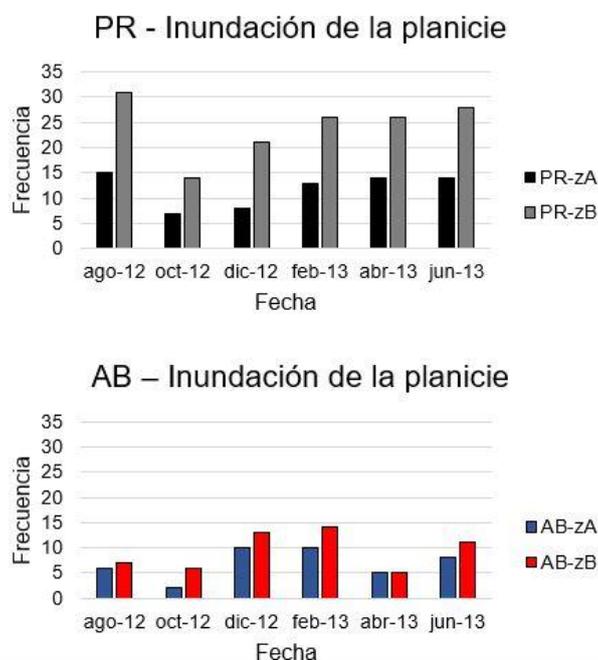


Figura 36. Frecuencia de inundación de las planicies de marea. PR= Puerto Rosales, AB= Almirante Brown, zA= zona A, zB= zona B.

3.6 Exposición de las planicies

De forma complementaria se consideró la cantidad de días consecutivos en que la planicie quedó expuesta (sin inundaciones) antes del muestreo. En la **Figura 37** se observa que, en PR, solamente en dic-12 ambas zonas no tuvieron exposición previa al muestreo porque estaban inundadas en el momento de la campaña. La planicie de PR-zA tuvo una mayor exposición que la de PR-zB, variando la misma entre 1–7 días previos a la toma de la muestra. Los máximos de exposición en PR-zA se registraron en ago/oct-12 y jun-12 y fue de entre 6-7 días. Por otro lado, PR-zB registró un máximo de exposición de 6 días en oct-12 y un mínimo de un día en jun-13. En AB, la exposición previa al muestreo fue la misma en las dos zonas (zA y zB) en todas las campañas, excepto oct-12, con un máximo de 15 días en abr-13 y mínimo de un día en dic-12 y feb-13. En oct-12 tuvo mayor exposición la zona A (zA).

Cabe señalar que en ago-12 todas las zonas evaluadas tuvieron un período de exposición (4,5-7 días) previo a la toma de las muestras. Por otro lado, mientras que las planicies de las zonas de AB siempre tuvieron entre 1-15 días de exposición, la planicie

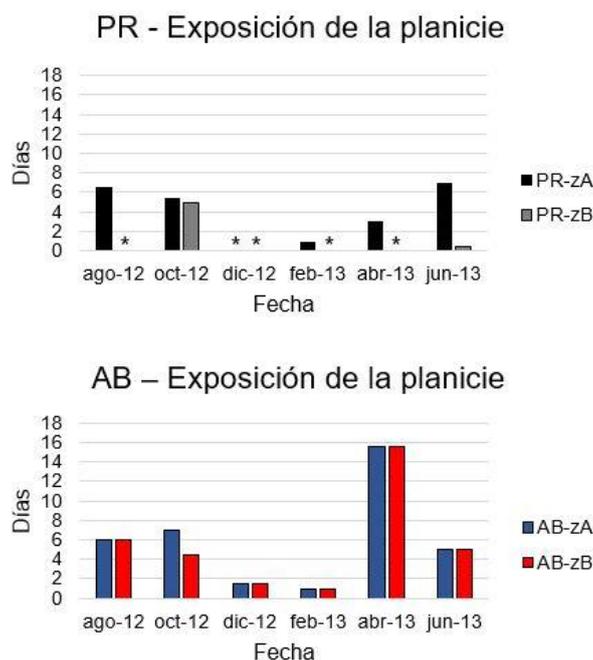


Figura 37. Cantidad de días en los que las planicies de marea estuvieron expuestas previamente a la colecta de las muestras. PR= Puerto Rosales, AB= Almirante Brown, zA= zona A, zB= zona B. Asterisco: mes en el que la planicie fue inundada horas previas al muestreo.

de PR mostró una gran variabilidad en tal sentido. Mientras que la zona bajo (zB) tuvo nula exposición en la mayoría de los días pre-campaña; la zona alta (zA), con excepción de dic-12, siempre estuvo expuesta en los días previos a la campaña.

3.6.1 Relación entre la presencia de metales en las capas superficiales y la influencia de las mareas

La actividad microbiana está en estrecha relación con la presencia de agua, por lo cual se exploró la relación entre las concentraciones de los metales con la inundación por mareas y la exposición de la planicie a la radiación solar y a los vientos. Para PR-zA la frecuencia de inundación y la exposición de la planicie fue variable. La menor frecuencia de inundación en los 30 días previos a la campaña se registró en oct-12 y dic-12, fechas en las cuales la pleamar cubrió a la planicie en 7-8 ocasiones, respectivamente. Coincidentemente, en PR-zB la menor inundación ocurrió en oct/dic-12, aunque la frecuencia de inundación fue mayor, de 14 a 21 veces. La menor exposición de la planicie en PR-zA fue de 0 a 1 día durante la época estival (dic-12 a feb-13). Se destaca que en la zona PR-zB la exposición de la planicie antes de las campañas fue exigua. Sólo quedó expuesta 5 días previos a la campaña en oct-12 y

durante 1 día en jun-13. Esto significa que la planicie fue inundada recurrentemente con alta frecuencia en los días previos a las campañas durante el período de medición de 1 año.

Contrariamente, para el estuario interno (AB) la frecuencia de inundación y la exposición de la planicie mostró un patrón de menor inundación en la zona alta (AB-zA) respecto a la zona baja (AB-zB), con máximos de frecuencia de 10 y 14 veces, respectivamente en el verano (dic-12 y feb -13). En cuanto a la exposición de la planicie, en ambas zonas (zA y zB) fue similar. En abr-13 la planicie quedó expuesta por más de 15 días previo a la campaña y en el verano (dic-12 y feb-13) la exposición fue de sólo 1 día previo a la campaña.

La **Figura 38** se presenta la concentración de los metales en las capas superficiales (biofilm y C1-mata microbiana activa) en función de la presencia de agua, es decir, de la frecuencia de inundación y los días de exposición. En PR-zA se observó en la C1 un pico de concentración de los metales **Cu, Fe, Mn, Ni, Pb** y **Zn** en oct-12, que fue el mes con la menor frecuencia de inundación y uno de los máximos períodos de exposición, mientras que esta relación no se observó en el biofilm. La C1 de PR-zB mostró la misma tendencia que para la zona alta (PR-zA), con picos de concentración de todos los metales en la C1 en oct-12 y de los metales **Cd, Cu, Fe, Mn, Pb** y **Zn** medidos en el biofilm.

Si bien en el estuario interior (AB), no se observó en AB-zA una tendencia clara, cabe mencionar que los metales disminuyeron tanto en la C1 como en el biofilm en los meses con menor inundación y mayor exposición dentro del período evaluado. Por otro lado, en AB-zB se observó en C1 un aumento de la concentración de los metales **Cr, Mn, Ni, Pb** en abr-13 cuando se registró el mínimo de inundación en los 30 días anteriores al muestreo y máxima exposición en los días previos. En el biofilm se observó un aumento para los metales **Cr, Fe** y **Ni**.

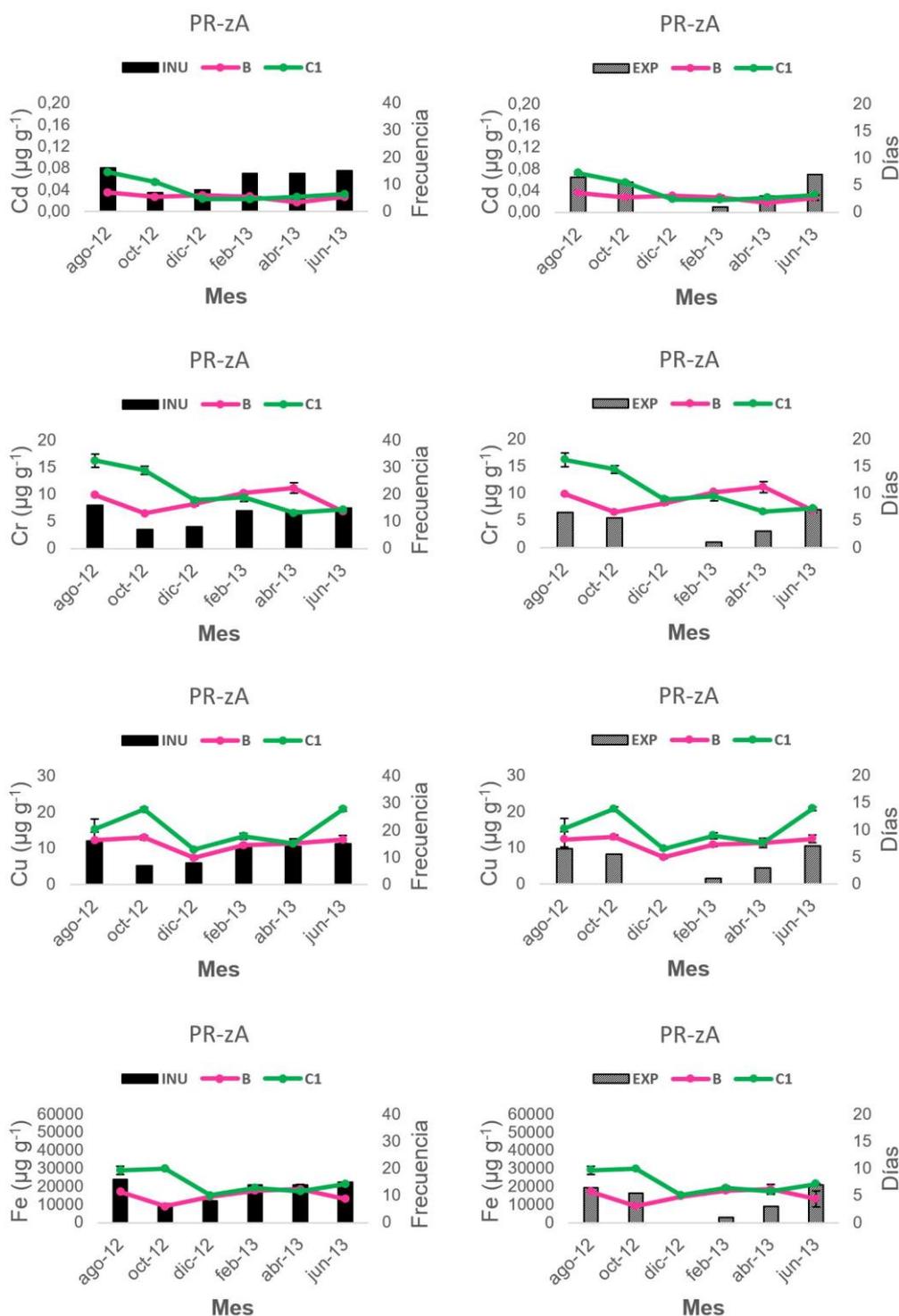


Figura 38 Concentración de los metales Cd, Cr, Cu y Fe en las capas superficiales en función de la frecuencia de inundación y los días de exposición donde B= Biofilm, C1= mata microbiana, PR= Puerto Rosales, zA= zona alta (continúa en la próxima página).

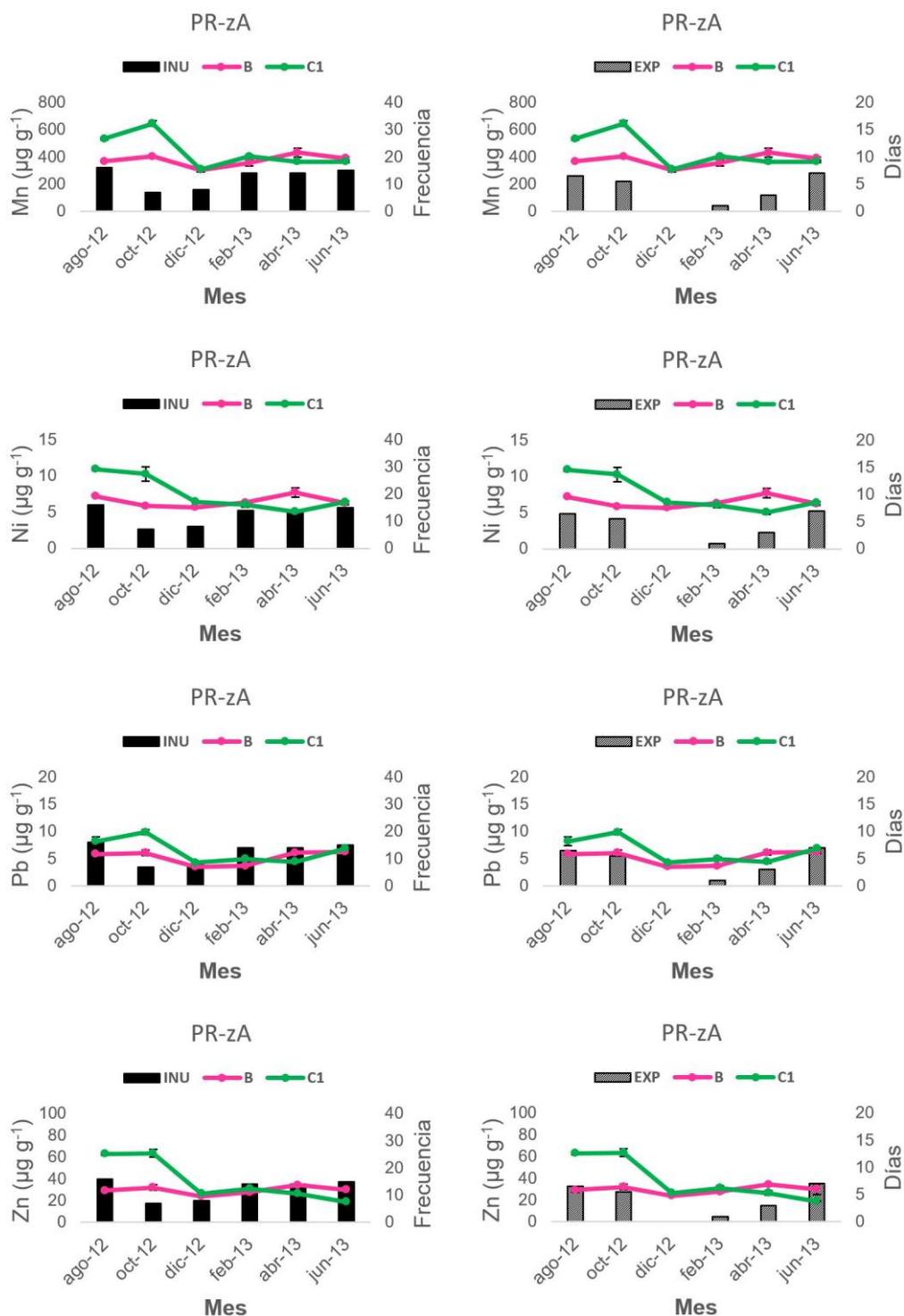


Figura 38. Concentración de los metales Mn, Ni, Pb y Zn en las capas superficiales en función de la frecuencia de inundación y los días de exposición donde B= Biofilm, C1= mata microbiana, PR= Puerto Rosales, zA= zona alta (continúa en la próxima página).

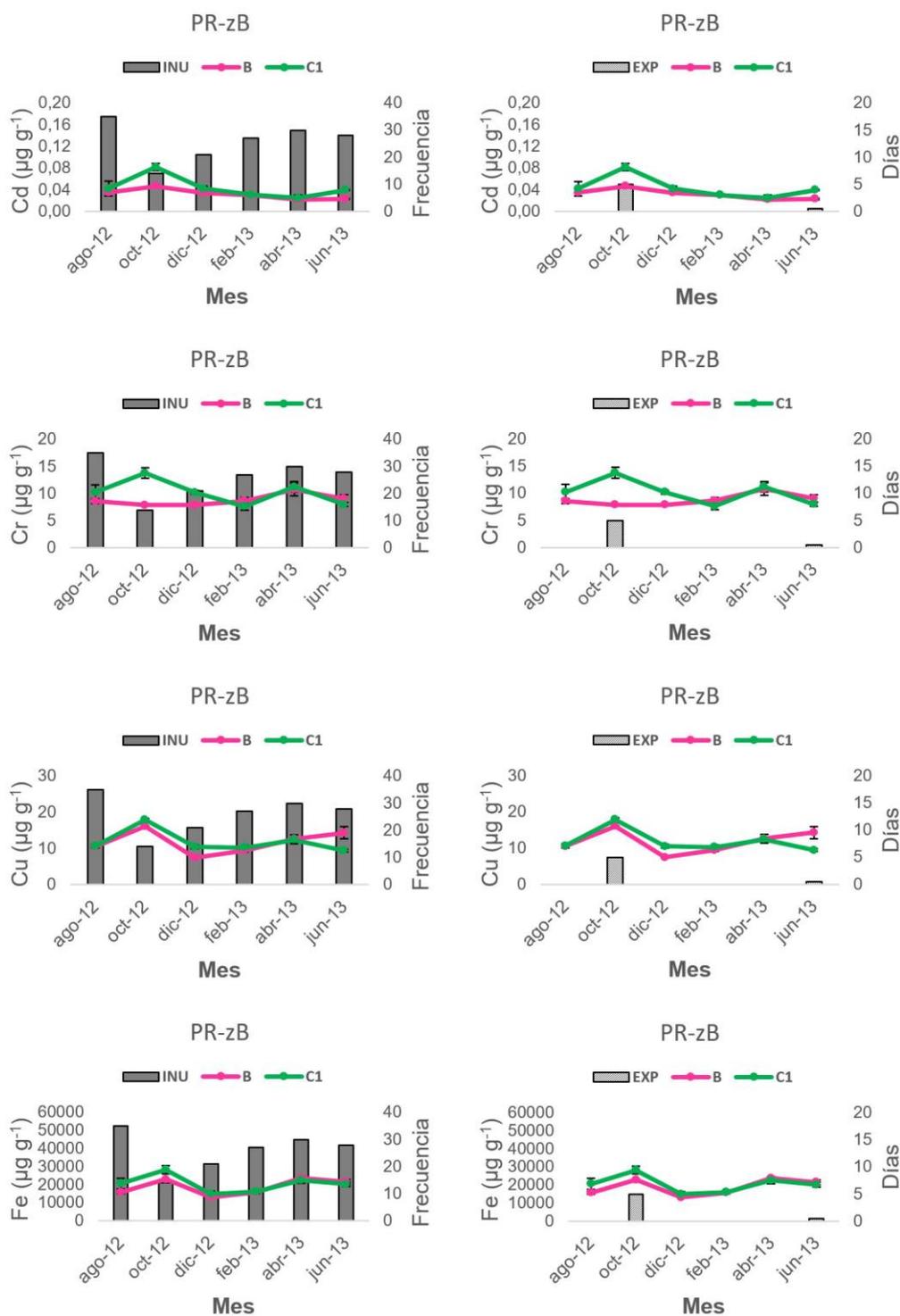


Figura 38. Concentración de los metales Cd, Cr, Cu y Fe en las capas superficiales en función de la frecuencia de inundación y los días de exposición donde B= Biofilm, C1= mata microbiana, PR= Puerto Rosales, zB= zona baja (continúa en la próxima página).

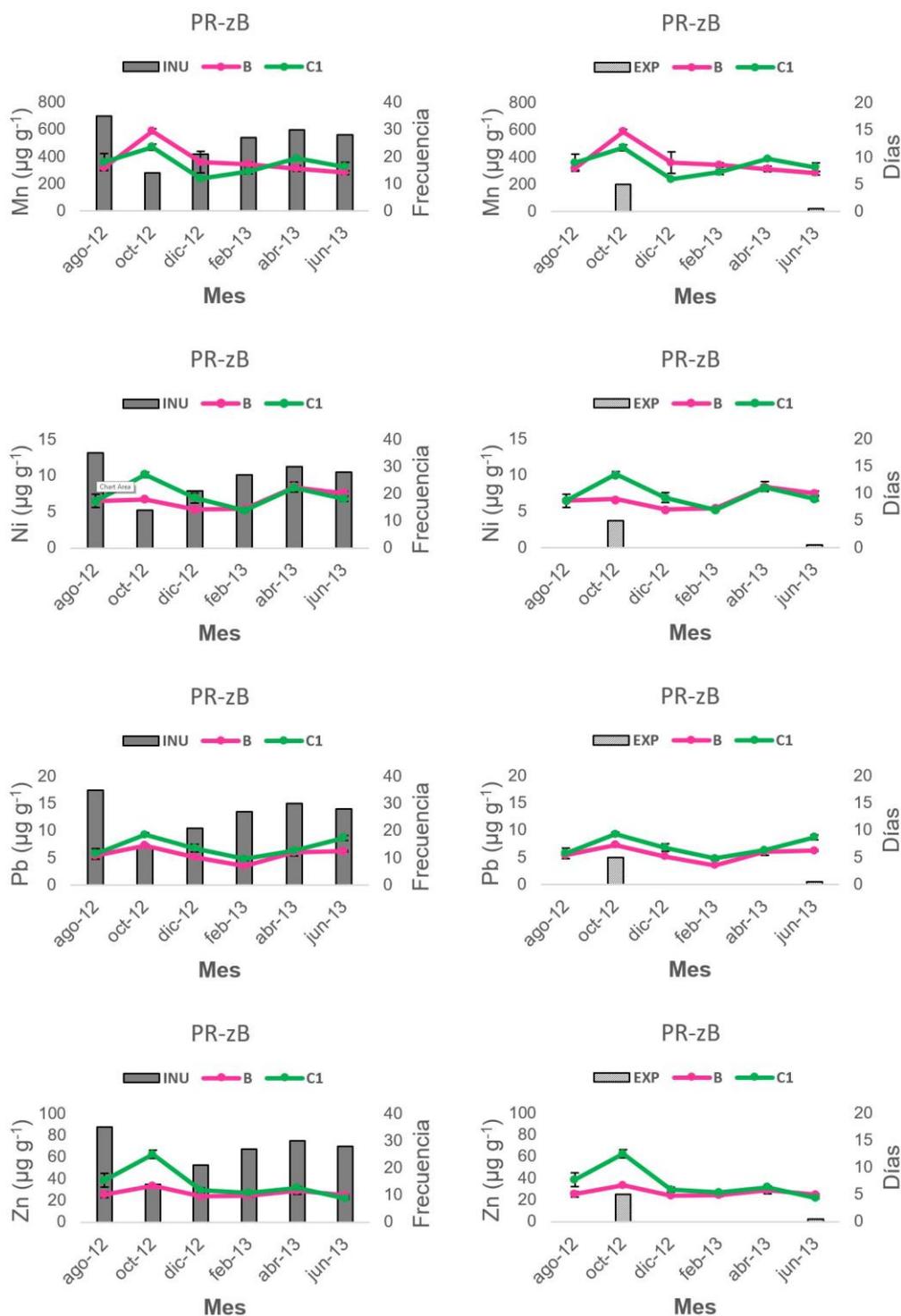


Figura 38. Concentración de los metales Mn, Ni, Pb y Zn en las capas superficiales en función de la frecuencia de inundación y los días de exposición donde B= Biofilm, C1= mata microbiana, PR= Puerto Rosales, zB= zona baja (continúa en la próxima página).

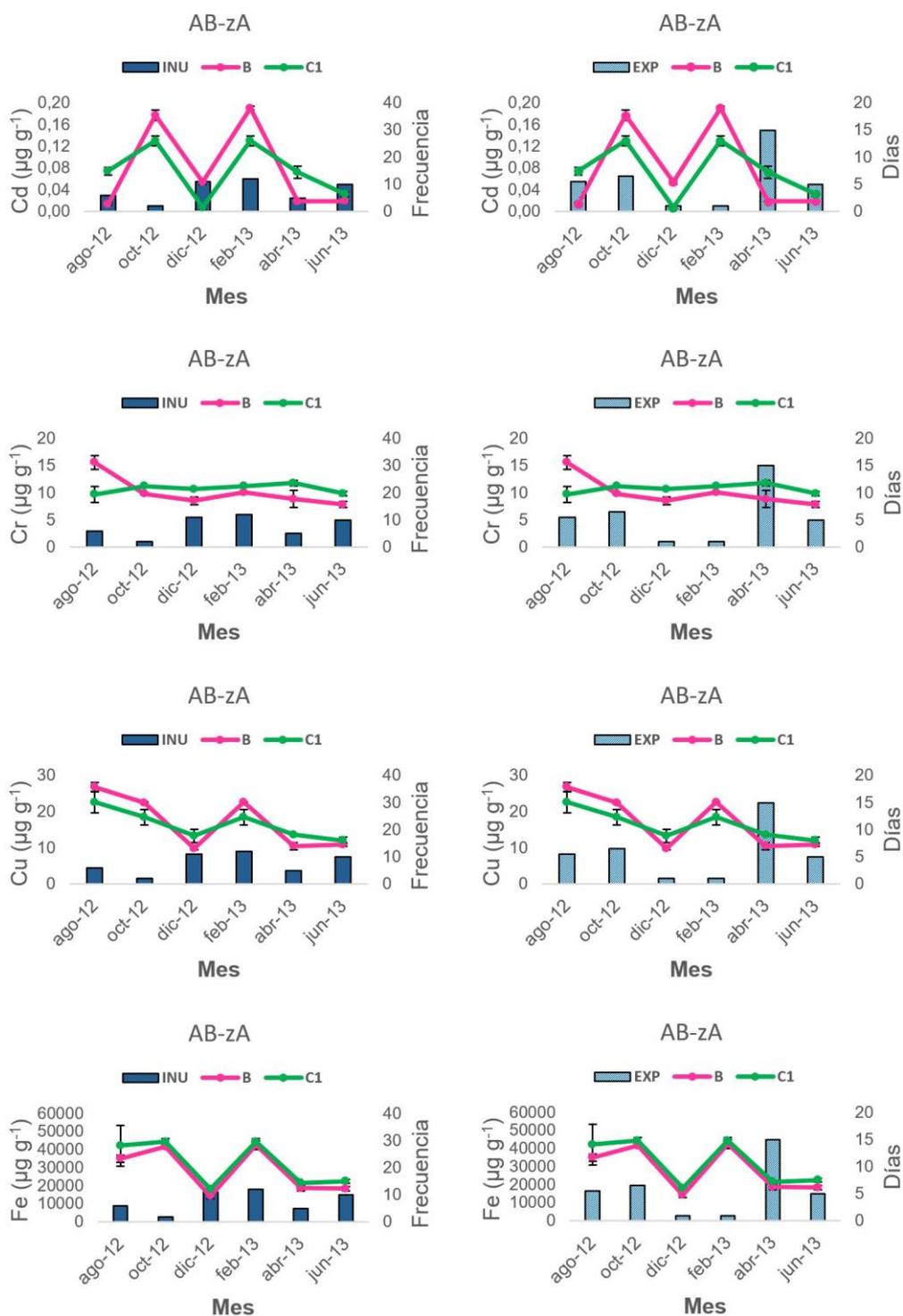


Figura 38. Concentración de los metales Cd, Cr Cu y Fe en las capas superficiales en función de la frecuencia de inundación y los días de exposición donde B= Biofilm, C1= mata microbiana, AB= Almirante Brown, zA= zona alta (continúa en la próxima página).

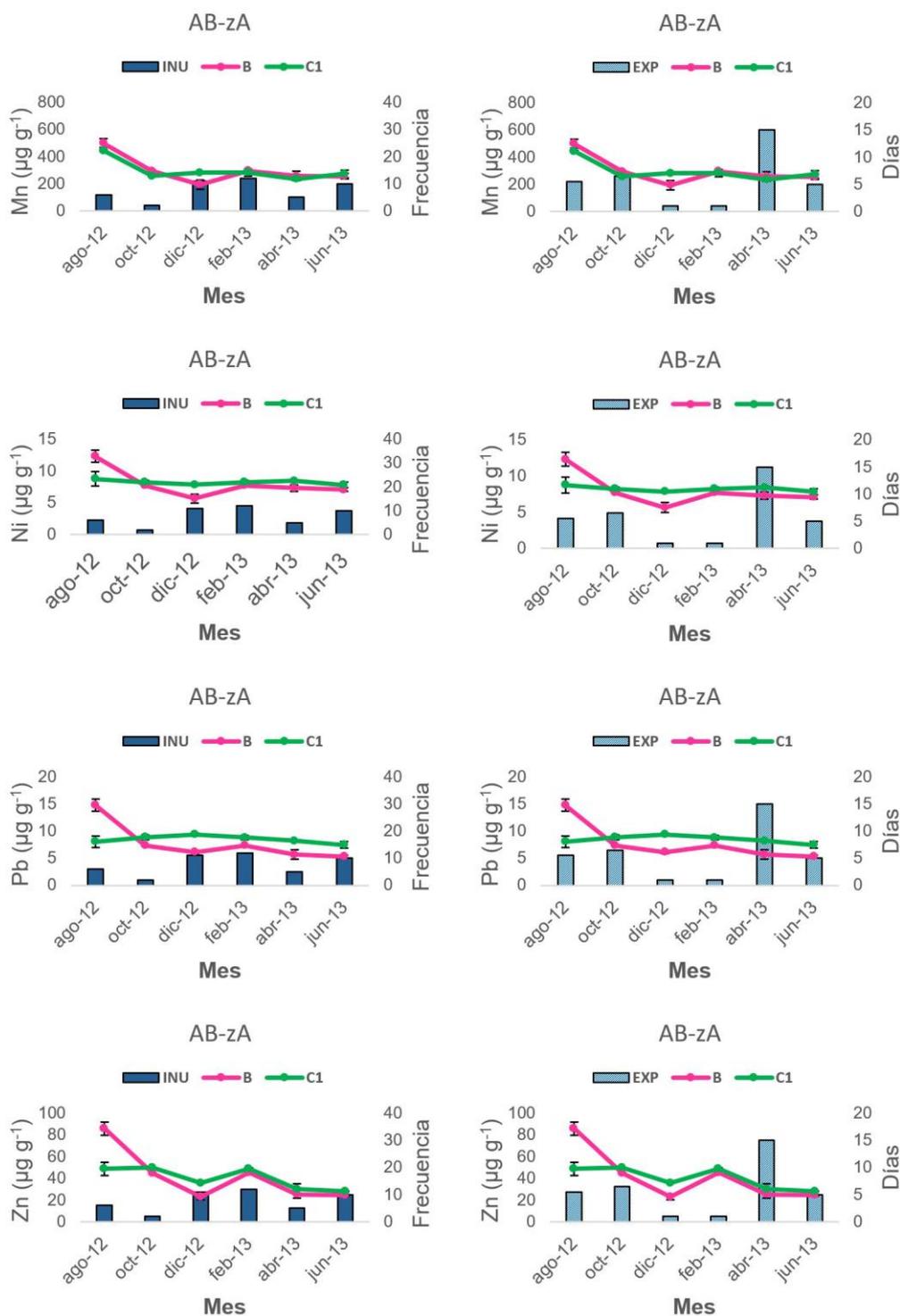


Figura 38. Concentración de los metales Mn, Ni, Pb y Zn en las capas superficiales en función de la frecuencia de inundación y los días de exposición donde B= Biofilm, C1= mata microbiana, AB= Almirante Brown, zA= zona alta (continúa en la próxima página).

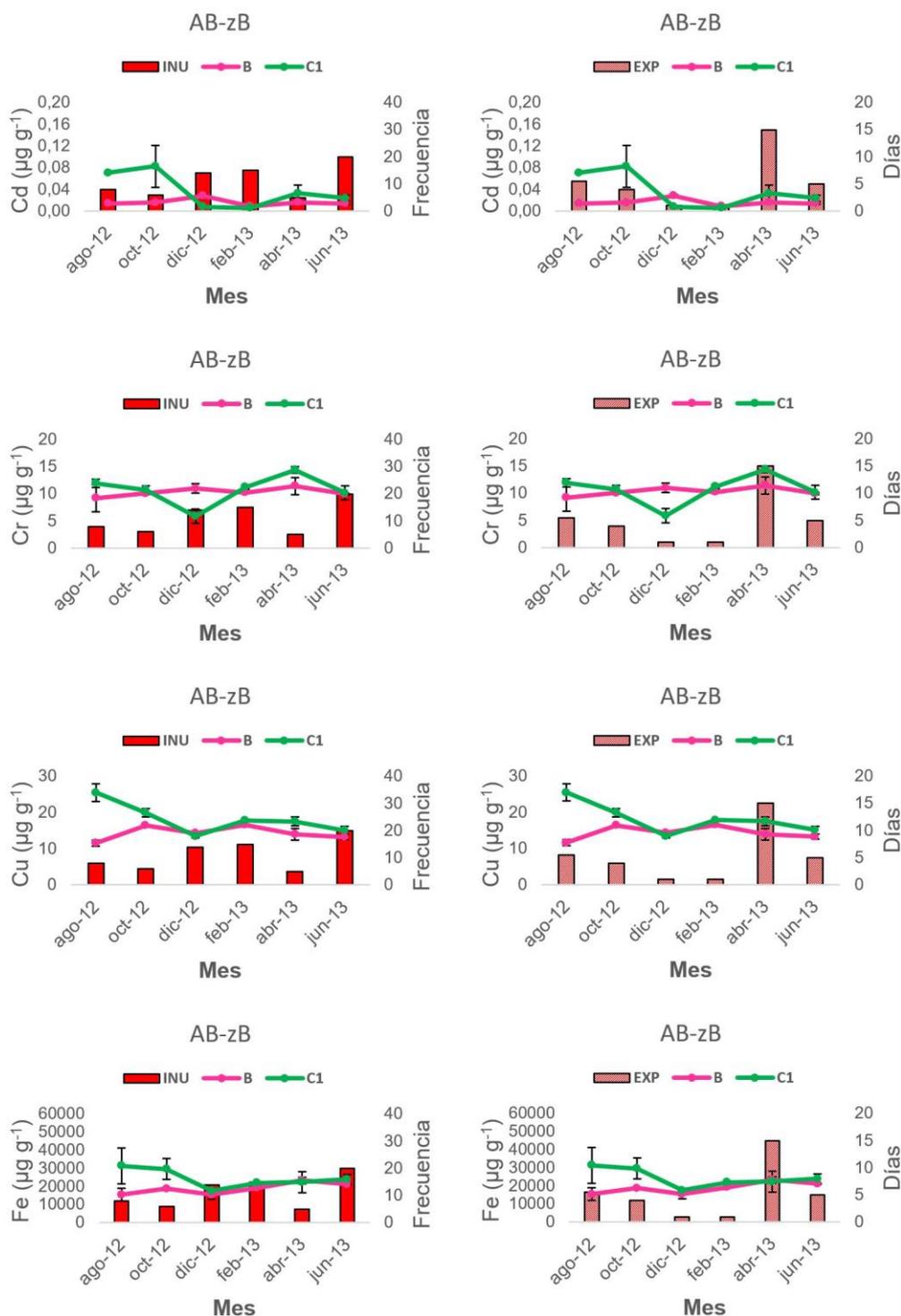


Figura 38. Concentración de los metales Cd, Cr, Cu y Fe en las capas superficiales en función de la frecuencia de inundación y los días de exposición donde B= Biofilm, C1= mata microbiana, AB= Almirante Brown, zB= zona baja (continúa en la próxima página).

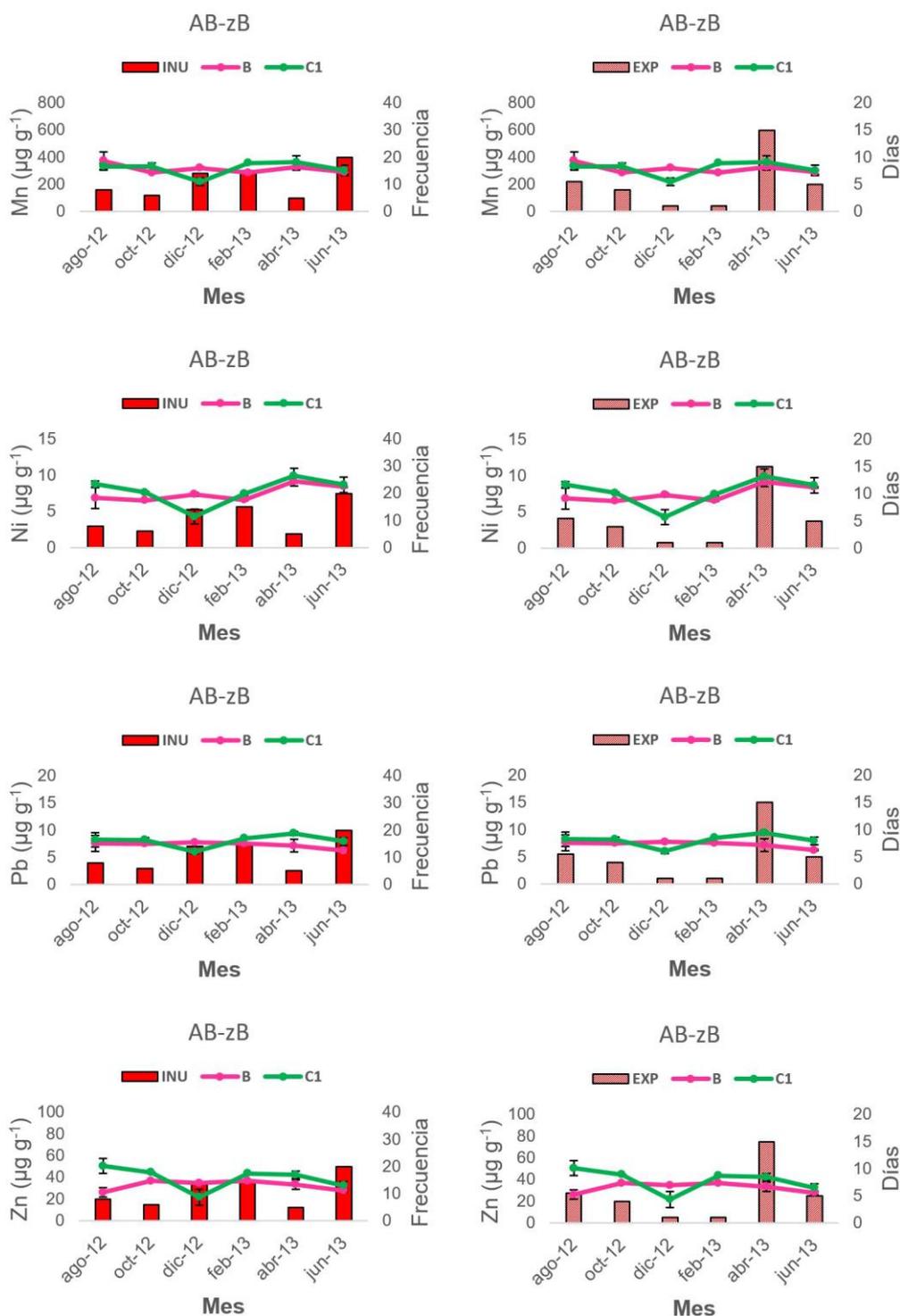


Figura 38. Concentración de los metales Mn, Ni, Pb y Zn en las capas superficiales en función de la frecuencia de inundación y los días de exposición donde B= Biofilm, C1= mata microbiana, AB= Almirante Brown, zB= zona baja (continúa en la próxima página).

3.6.2 Análisis de correlación entre metales y variables medidas en C1

Se presentan las matrices de correlaciones obtenidas para las muestras de la capa superficial de 1 cm (C1 considerada como la mata activa) entre las variables material fino (MF), porcentaje de materia orgánica (%MO), temperatura (T), pH y potencial redox (Eh), para cada una de las dos zonas de los sitios estudiados.

En la **Figura 39** se muestran los resultados de las correlaciones en C1 correspondientes a PR y AB, y a su vez en cada zona por separado. En la misma, se señalan las correlaciones estadísticas altamente significativas ($p < 0,01$) y con un coeficiente de correlación (r^2) superior a 0,7 (intensidad de color es proporcional entre 0,7 y 1,0). No se incluyó en el análisis al Hg debido a que más del 40% de los valores fueron inferiores al LDM.

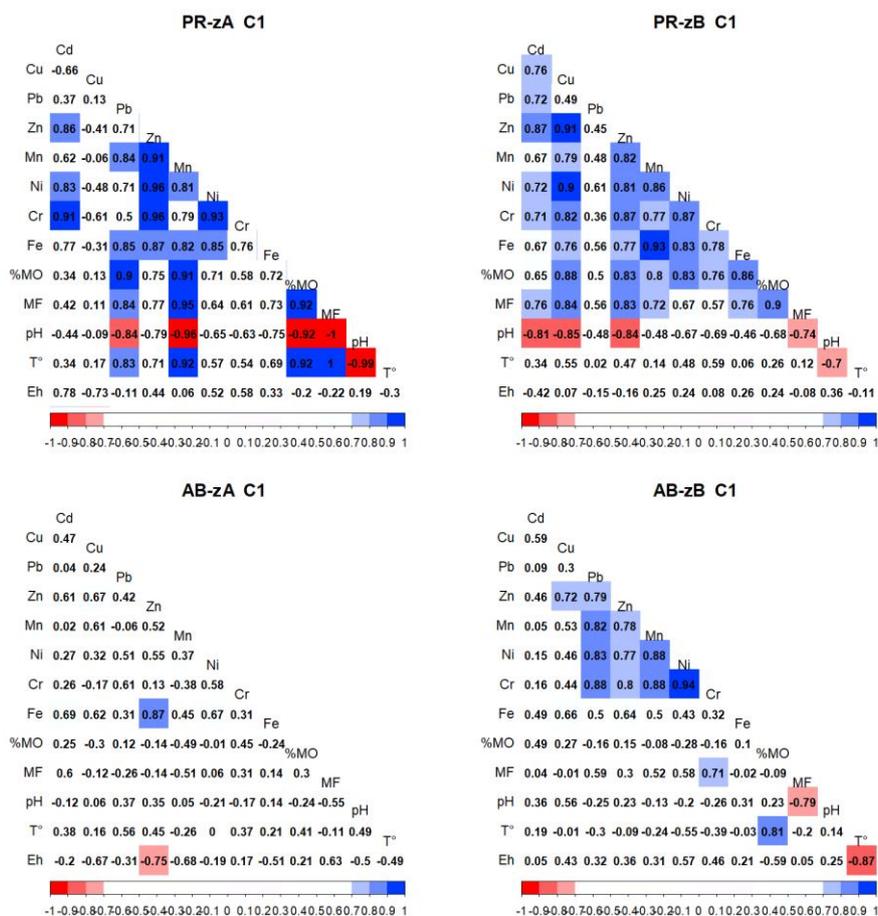


Figura 39. Correlación entre los metales, porcentaje de materia orgánica (%MO), material fino (MF) y parámetros fisicoquímicos (pH, T- temperatura, Eh –potencial redox) analizados en la C1 de PR (Puerto Rosales) y AB (Almirante Brown), donde: zA= zona A y zB= zona B. Las correlaciones positivas se indican con fondo azul, mientras que las negativas se resaltan con un fondo rojo.

Dentro del estuario medio, en PR-zA las correlaciones entre metales fueron significativas y positivas, con la excepción del Cu que no se correlacionó con otros metales y las variables consideradas. Las correlaciones más fuertes ($r^2 > 0,90$) se encontraron entre el Zn y los metales Mn ($r^2 > 0,91$), Ni ($r^2 > 0,96$) y Cr ($r^2 > 0,96$); entre Ni y Cr ($r^2 > 0,93$) y entre éste último y Cd ($r^2 > 0,91$). Las variables %MO, MF y T correlacionaron positivamente con los metales Pb y Mn, mientras que el pH correlacionó negativamente con estos metales. Por otro lado, el %MO correlacionó positivamente con el MF y la T, y negativamente con el pH.

En PR-zB se encontraron correlaciones significativas y positivas ($r^2 > 0,70$; $p < 0,01$) entre la mayoría de los metales considerados en este análisis, con excepción del Pb que solo correlacionó con el Cd ($r^2: 0,72$). Las correlaciones más fuertes y próximas a 1 se observaron entre el Cu y los metales Zn ($r^2: 0,91$) y Ni ($r^2: 0,9$); y entre Mn y Fe ($r^2: 0,93$). Respecto a las relaciones entre metales y variables; seis de los siete metales se correlacionaron positivamente con %MO (el principal fue el Cu), y cinco metales con el MF (particularmente Cu y Zn). Se observó también una fuerte correlación positiva entre el %MO y el MF ($r^2: 0,9$). Además, el pH correlacionó negativamente con tres metales: el Cd ($r^2: -0,81$), Cu ($r^2: -0,85$) y Zn ($r^2: -0,84$). No se observaron correlaciones entre el potencial redox y metales ni entre esta variable y el pH.

En la C1 correspondiente al estuario interno (AB) se observaron muy pocas correlaciones significativas tanto entre metales como entre estos y las variables estudiadas. Específicamente, en AB-zA se obtuvo una sola correlación positiva entre metales y fue entre Zn y Fe ($r^2 = 0,87$). Con respecto a las variables medidas se determinó una correlación significativa pero negativa entre el Zn y el potencial redox ($r^2 = -0,75$).

Por su parte, en AB-zB algunos metales correlacionaron positivamente, destacándose aquellas cercanas a 1 como el Mn con Ni y Cr (ambos con un $r^2 = 0,88$); Pb con Mn, Ni y Cr ($r^2 > 0,8$) y especialmente el Ni y Cr ($r^2 = 0,94$). En cuanto a las relaciones de los metales con las variables estudiadas solo se encontró una correlación positiva entre el Cr y el material fino ($r^2 = 0,71$). Por su parte, se obtuvo una correlación negativa entre pH y el material fino ($r^2 = -0,79$). Finalmente, la temperatura correlacionó positivamente con %MO ($r^2 = 0,81$) y negativamente con el potencial redox ($r^2 = -0,87$).

3.6.3 Análisis de componentes principales

Para analizar la relación existente entre las diversas variables cuantitativas analizadas se aplicó la técnica multivariada de componentes principales (ACP). Esta técnica se utiliza para reducir la dimensionalidad de un conjunto de variables originales en otro conjunto de nuevas variables no correlacionadas entre sí. Estas nuevas variables serían las que contienen la mayor variabilidad del conjunto de variables. Las variables originales utilizadas fueron: concentración de metales (Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn), porcentaje de materia orgánica (%MO), frecuencia de inundación (INU), material fino (MF), temperatura (temp), pH y potencial redox (redox) medidos en la mata microbiana activa (C1).

En la **Figura 40** se ordenan las muestras mediante el análisis de componentes principales. En la misma se muestran las dos primeras componentes (CP1 y CP2) que explican entre ambas el 64,73% de la variación total. El CP1 explicó el 40,91% de la varianza total y los vectores que más aportaron a la construcción de este componente fueron los metales Zn (0,92), Ni (0,88), Cr (0,82), Pb, (0,76) Fe (0,68), Mn (0,66), Cu (0,64) y la materia orgánica (0,61). La CP2 explicó el 23,82% de la varianza total, donde las variables que más aportaron fueron los parámetros fisicoquímicos como el potencial redox, pH y la temperatura, así como también la inundación. Específicamente, el pH (0,73) y temperatura (0,64) estuvieron positivamente relacionados con la CP2, mientras que el potencial redox (-0,85) y la inundación (-0,63) tuvieron una relación negativa con este componente.

Se puede resumir que la CP1 generó un contraste entre un grupo integrado por las variables metales y materia orgánica (que estuvieron correlacionadas entre sí) y otro integrado por la variable inundación y los parámetros fisicoquímicos (pH, T y Eh). La CP2 indica que el pH y la T están relacionados entre sí y ambos inversamente correlacionados con el potencial redox. Entonces, la CP2 está relacionada con las variables fisicoquímicas además de la exposición aérea.

Los sitios PR y AB fueron diferenciados a través de este análisis. En la porción superior del gráfico se observan los casos pertenecientes a AB caracterizados por presentar un mayor valor de pH y temperatura y un potencial redox negativo indicando un ambiente reductor, mientras que PR presentó pH más ácido, menor temperatura y potencial redox positivo. Al relacionar las variables y sitios con las fechas de campaña de muestreo se pudo observar que las muestras de PR-zA de oct-12 (primavera)

mostraron coordenadas altas en valores positivos de la CP1, mientras que las muestras de jun-13 lo hicieron en valores negativos. Esto indicaría que las concentraciones de metales estarían relacionadas con la estación del año, con una mayor presencia en primavera y una menor concentración en invierno. Las muestras de ago-12 se relacionaron con coordenadas altas y positivas del CP2, indicando que los contenidos de metales de estas muestras se relacionan, además, con el pH y la temperatura medidas. Al igual que en PR-zA, las muestras de PR-zB mostraron una distribución amplia en el CP1, evidenciándose un patrón de estacionalidad donde las muestras de oct-12 (primavera) se ubicaron en el cuadrante positivo de la CP1 y las muestras de ago-12 (invierno) y dic-12 (verano temprano) en el cuadrante negativo.

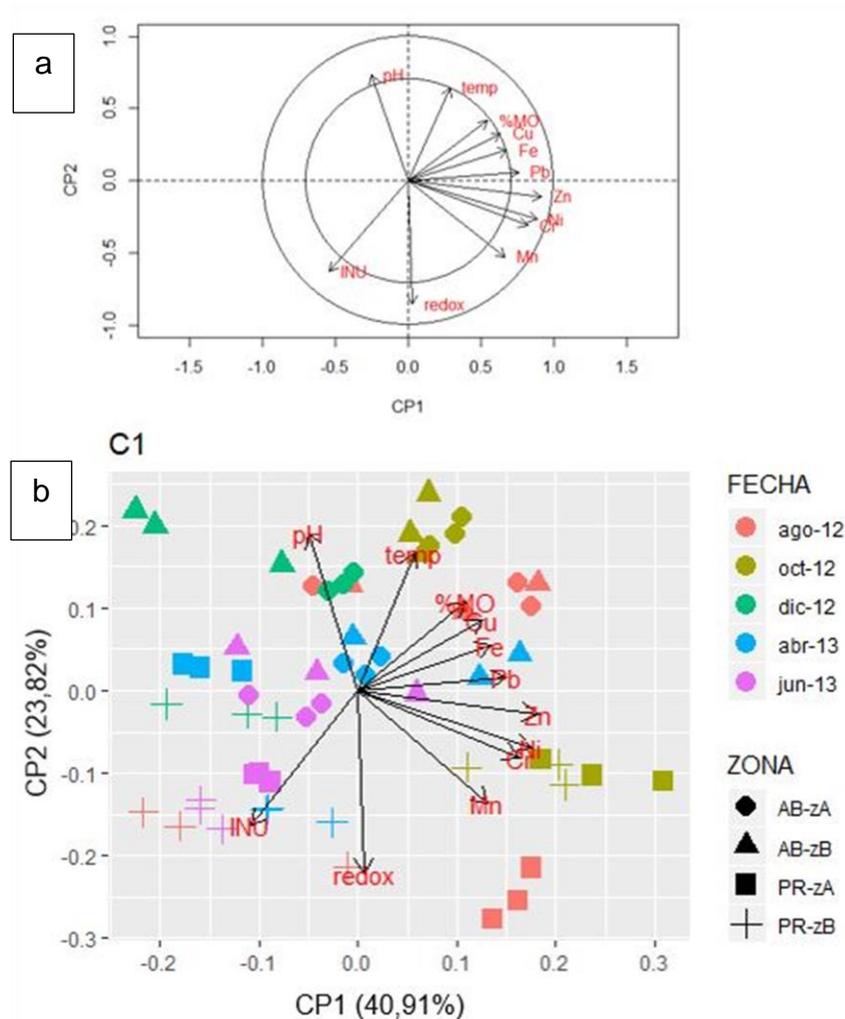
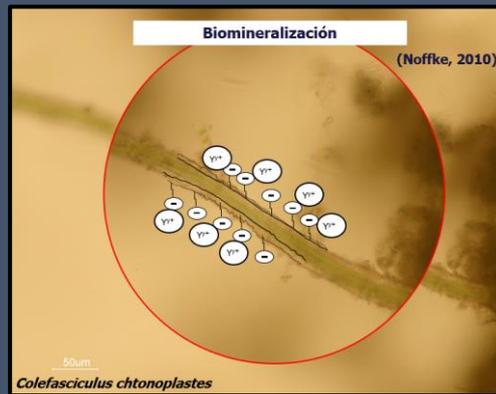


Figura 40. Ordenamiento de las variables medidas en la mata microbiana activa (C1): concentración de metales, porcentaje de materia orgánica (%MO) y parámetros fisicoquímicos pH, T y EH) y la frecuencia de inundación. **a** reconstrucción de las variables utilizadas para el ordenamiento según sus autovectores con los componentes principales. Los círculos indican valores de referencia de 0,75 y 1; **b** Gráfico biplot donde: formas= zonas, colores= fechas. No se incluyó el material fino por no mostrar una correlación alta con los componentes. No se incluyó la información de las fechas en las cuales no se contó con las mediciones de los parámetros fisicoquímicos.

las matas microbianas tendrían una tendencia a mostrar mayores concentraciones de metales en primavera respecto a las muestras de invierno y verano temprano. En el sitio AB, la mayoría de las muestras de ago-12 y oct-12 de ambas zonas estuvieron relacionadas positivamente con las componentes CP1 y el CP2.



Capítulo 4

DISCUSIÓN



Los estudios previos realizados en el estuario de Bahía Blanca (EBB) se han enfocado a describir la presencia, distribución, dinámica y biodisponibilidad de metales en el sedimento de planicies de marea de diferentes sectores (Botté, 2005; Botté et al., 2010; Simonetti et al., 2017; Negrin et al., 2021). Sin embargo, desde que fuera descripta la presencia de matas microbianas en las planicies de marea (Cuadrado y Pizani, 2007), solo dos estudios reflejaron la actividad microbiana *in situ* en relación con el contenido de metales en los sedimentos; uno de ellos como parte de la evaluación de las condiciones fisicoquímicas de sedimentos cubiertos por matas microbianas (Spetter et al., 2015), realizado en el estuario medio; y otro con resultados preliminares a la presente investigación (Serra et al., 2017). En este último trabajo, se presentaron datos de distribución vertical de metales en presencia de matas microbianas y sedimento subyacente en dos sistemas supramareales con diferente grado de impacto antrópico, incluyendo un ambiente del cual no se contaba con información previa sobre las matas microbianas (planicies de la zona Almirante Brown en el estuario interior).

Los trabajos publicados acerca del estudio de metales en sedimentos intermareales, submareales, en marismas y en representantes de la biota del EBB, indican que este sistema es un ambiente marino moderadamente impactado por estos contaminantes. Al mismo tiempo, existe poca información publicada sobre las comunidades microfítobentónicas que colonizan las planicies en el estuario, las cuales forman el biofilm y son constituyentes de las matas microbianas y su relación con la presencia de metales. Esta relación puede ser importante, debido a que se ha registrado la capacidad de las matas microbianas para secuestrar potenciales contaminantes (Perillo et al., 2020). En consecuencia, se analizó de manera exhaustiva la distribución y dinámica de metales que son ubicuos en el ambiente y esenciales para los organismos (por ejemplo, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni y Zn), así como metales no esenciales, como el Cd, Hg y Pb, teniendo en cuenta la presencia de biofilms y matas microbianas. Complementariamente, se estudió un conjunto de variables que podrían condicionar tanto la presencia como la distribución de los mismos en cada compartimiento en el sector interno y medio del estuario: contenido de materia orgánica, granulometría, parámetros fisicoquímicos y condiciones de inundación/exposición de las planicies de marea. Estas variables mostraron cambios tanto en el tiempo como en el espacio, indicando que son factores que pueden modificar el estado, concentración y distribución de los metales en las matas microbianas y biofilms evaluados en planicies del EBB y cuyo análisis conforma la presente discusión.

4.1 Sedimentos colonizados por microorganismos en planicies de marea

En la naturaleza, los microorganismos que se adhieren a una superficie sólida pueden formar desde biofilms monoespecíficos simples hasta matas microbianas multiespecíficas, que presentan una gran variedad de interacciones ecológicas (Prieto-Barajas et al., 2018). En planicies de marea, microorganismos fotoautótrofos pioneros (diatomeas o cianobacterias), comienzan la formación del biofilm al unirse al sustrato mediante la producción de las EPS. Los sustratos preferenciales son los que presentan tamaño de grano fino, compuestos de granos de cuarzo claros (translúcidos), debido a que la luz solar es una limitante para la fisiología de estos organismos (Martínez-Alonso y Gajú, 2005; Fagherazzi et al., 2013). El biofilm maduro se desarrolla en forma de capa continua y está compuesto por organismos procariotas y eucariotas embebidos en las EPS que producen, que a su vez adhieren y rodean a los granos de sedimento (Decho, 2000). Una vez que la energía hidráulica disminuye, los microorganismos bentónicos colonizan las capas superiores recién sedimentadas; favoreciendo el desarrollo por debajo de diversos microorganismos que luego darán lugar a matas microbianas estratificadas (Noffke et al., 1997; Cuadrado, 2020). En estas comunidades, los microorganismos se autoorganizan en diferentes profundidades en función de sus requerimientos fisiológicos (Costerton, 1995; Noffke, 2010).

Algunos autores vinculan la presencia de biofilms con un alto contenido de arcillas (Garwood et al., 2015), mientras que otros indican que las matas microbianas colectadas *in situ* están compuestas principalmente por arenas finas (Webster-Brown y Webster, 2007). En efecto, en el presente estudio se observó una predominancia de grano de tamaño fino en la mayoría de los biofilms y matas microbianas, con excepción de la zona topográficamente más baja de Puerto Rosales, que mostró un mayor contenido de arena. La granulometría del sedimento de las planicies estudiadas es similar a la reportada en trabajos previos, tanto en el estuario medio (Pizani, 2008, Pan et al., 2013; Spetter et al., 2015; Fernández et al., 2016), como en el estuario interior (Botté, 2005; Negrin et al., 2019). Esta constancia en el tamaño de grano de los sedimentos en las áreas evaluadas es indicativa de un ambiente estuarino donde las planicies de marea están caracterizadas por sedimentos finos, los que son solamente afectados por fuerzas físicas fuertes (ej. tormentas) que actúan normalmente como disruptores de características sedimentarias (Cuadrado et al., 2013).

El tipo de sedimento de las planicies de marea influye en la estabilidad y cohesión de la capa superficial, así como también en la presencia y depositación de partículas orgánicas e inorgánicas (Brotas et al., 1995; Whitton, 2012; Fagherazzi et al., 2012). La materia orgánica en estos ambientes puede tener origen autóctono (biomasa microfitobentónica y/o detritos de ésta) o alóctono (descargas cloacales, necromasa, presencia de invertebrados, etc.) (Reddy y DeLaune, 2008; Prieto-Barajas et al., 2018; Negrin et al., 2011). La principal fuente de energía y nutrición de biofilms y matas microbianas es a través de la fotosíntesis realizada por los productores primarios (Ley et al., 2006). La comunidad microfitobentónica es exitosa en tal sentido, contribuyendo con más del 50% a la productividad primaria estuarina (Baker y Banfield, 2003; Jesus et al., 2009; Peeters et al., 2012).

El contenido de materia orgánica analizada en los biofilms de la zona topográficamente más alta de Puerto Rosales y de las zonas de Almirante Brown, caracterizadas por poseer sedimento fino, fue mayoritariamente superior respecto a la mata microbiana, representando un punto muy significativo dado que la mata microbiana analizada en su primer centímetro, la contiene. Esto podría deberse a la presencia de los microorganismos epipélicos que migran a las superficies de los sedimentos durante el primer período luego de que se retiran las mareas, lo que se evidencia a simple vista por una coloración verde parduzca en el sedimento (**Figura 41**) (Paterson et al., 1998; Consalvey et al., 2004; García de Lomas et al., 2005; MacIntyre et al., 1996; Stal, 2010). Este fenómeno ocurre como respuesta de las cianobacterias y diatomeas móviles en la búsqueda de luz y es facilitado por la producción de EPS (Paterson et al., 1998). Un comportamiento inverso ocurre antes de la inundación de las mareas o la oscuridad, donde los microorganismos migran hacia el sedimento más profundo (Perkins et al., 2001; Stal y Défarge, 2005; Cereja et al., 2021). Los EPS pueden aportar entre el 50 % y el 80 % de la materia orgánica y son el principal componente estructural de los biofilms (Rosenberg et al., 2013). Un estudio previo realizado por Fernández et al. (2016) en Puerto Rosales, mostró que las matas microbianas de la zona alta presentaron una mayor proporción de fracción capsular respecto a la zona baja. Dicha fracción es insoluble en agua y los autores atribuyen esta observación al tamaño de grano y la humedad de esta zona. Esta observación resulta relevante dado que la fracción capsular de las EPS es, además, recalcitrante a la degradación, representando una importante fuente de carbono. Asimismo, el mayor contenido de materia orgánica en el biofilm de la zona alta de Puerto Rosales respecto a la zona baja coincidió con lo observado por Fernández et al. (2016) a través del análisis de clorofila *a*, como una medida indirecta



Figura 41. Aspecto de la superficie de una mata microbiana del EBB, fotografiada luego de la inundación de la planicie. Obsérvese la coloración verde parduzca superficial, atribuible a la presencia de microorganismos fotosintéticos móviles.

de biomasa en los 0,5 cm superficiales de estas zonas.

Las matas microbianas de Puerto Rosales presentaron en primavera un mayor contenido de materia orgánica respecto al biofilm. Lo mismo se observó en el verano (feb-13) en la zona alta de Puerto Rosales y en ambas zonas de Almirante Brown. Esto evidencia la alta variabilidad temporal en la biomasa que presentan estas comunidades, la cual depende de cambios ambientales locales como eventos de erosión, depositación y desecación relacionada con la exposición de las planicies, así como a las condiciones climáticas (Underwood, 2010). Por otro lado, las matas microbianas presentaron en casi todas las fechas, un mayor contenido de materia orgánica respecto de las capas subyacentes. Como fuera mencionado anteriormente, la producción *in situ* de biomasa por parte de los microorganismos del biofilm, constituye un importante aporte al contenido de materia orgánica medido en las matas microbianas. Por otro lado, varios autores coinciden en que los principales factores que afectan la distribución espacial de la biomasa microfitobentónica son el tipo de sedimento y la altura de las mareas (Brotas et al., 1995 y referencias allí citadas). En particular, las matas microbianas ubicadas en la zona supramareal alta de las planicies de Puerto Rosales mostraron casi el doble de porcentaje de materia orgánica, respecto a la zona baja. Esto coincide con lo observado por Pizani (2008), Cuadrado et al. (2011) y Pan et al. (2013) para esta área y con lo descrito por Noffke (2010) para este tipo de ambiente, denominándose a las matas microbianas de esas características como “matas microbianas epibentónicas”. Estas

comunidades pueden alcanzar un espesor de hasta 1,5 cm, son planas y pueden permanecer sin disturbarse durante largos períodos de tiempo. Además, pueden formar estructuras sedimentarias inducidas por actividad microbiana (ESIAM; Bournod et al., 2014) que se pueden preservar y encontrar en el ambiente fósil. Como fuera descrito en estudios previos, el predominio de las cianobacterias en las matas microbianas de Puerto Rosales, y en particular la especie *Coleofasciculus chthonoplastes* (anteriormente llamada *Microcoleus chthonoplastes*, Siegesmund et al., 2008), son características de este tipo de matas microbianas (Pan et al., 2013a, 2013b). Por último, este tipo de comunidades se desarrollan durante la primavera y el verano y se las considera perennes dado que no se descomponen durante el otoño/invierno. Esto pudo ser comprobado en este estudio, resultando en los picos de máximos de materia orgánica en primavera y verano. Además de la producción local, la materia orgánica presente en las planicies de marea colonizadas por matas microbianas puede tener un origen alóctono. Debido a las características típicas de la zona alta de Puerto Rosales, algunos estudios atribuyen los picos de concentración de materia orgánica en el área, al aporte de necromasa proveniente de la especie vegetal *Spartina alterniflora* como resultado de períodos de fuertes vientos y altas temperaturas (Negrin et al., 2011; Spetter et al., 2015). Los picos de materia orgánica detectados en el estuario interno en la época estival podrían estar relacionados con la bioturbación generada por el cangrejo cavador *Neohelice granulata*, en base a la correlación directa encontrada entre el contenido de materia orgánica y el nivel de bioturbación (Botto e Iribarne, 2000; Escapa et al., 2007). La biomasa microbiana, que queda inmovilizada tanto en biofilms como en las matas microbianas, es el componente más dinámico de la materia orgánica, ya que contiene organismos vivos que pueden responder a los cambios ambientales, mediante la formación de EPS u otros metabolitos (Flemming, 1995; Brown y Parks, 2001). Esto resulta relevante al presente estudio, debido a que la materia orgánica, compuesta de sustancias húmicas, desechos y biomasa microbiana, juega un papel importante en la sorción de iones metálicos.

El entorno de un biofilm o una mata microbiana está determinado por las características físicas (luz, temperatura, humedad) y químicas (pH, alcalinidad, potencial de oxidación/reducción, salinidad, concentración de oxígeno y composición orgánica) (Riding et al., 2000; Ansari et al., 2004). Como se ha expuesto, el entorno físico-químico de las matas microbianas se caracteriza por gradientes pronunciados en escasos milímetros de profundidad y microambientes distintos que sustentan una gran diversidad de especies que tienen una disposición laminar con una amplia gama de procesos

metabólicos (Visscher y Stolz, 2005; Fike et al., 2008). Es por ello que las matas microbianas son ecosistemas dinámicos y complejos que exhiben heterogeneidad espacial y temporal. Asimismo, los procesos que se dan en cada microambiente, a menudo dan como resultado reacciones acopladas, las cuales pueden causar distribuciones verticales distintivas de los metales (Windom et al., 2006; Huerta-Díaz et al., 2012).

Las zonas internas y medias del estuario de Bahía Blanca mostraron diferencias en cuanto al conjunto de variables fisicoquímicas (temperatura, pH y potencial redox) que condicionan la presencia de metales. Existen óptimos de temperatura para el establecimiento de poblaciones densas de diatomeas y cianobacterias, por lo que se ha señalado que la distribución temporal de microfitorobentos puede explicarse en parte por la variación estacional de la temperatura del sedimento (Admiraal y Peletier, 1980). En coincidencia con estudios previos realizados en el estuario medio (Cuadrado et al., 2012; Pan et al., 2013, Spetter et al., 2015, Fernández et al., 2016), la temperatura medida en las matas microbianas mostró una fluctuación estacional en concordancia con la variación de la temperatura del aire. Si bien no existen en Almirante Brown registros previos de temperatura en sedimento y/o matas microbianas, los resultados en este trabajo mostraron un patrón similar al observado en Puerto Rosales, siguiendo la curva de variación sinusoidal típica descrita para sedimentos de estuarios templados (Kelly-Gerreyn et al., 2001; Ribbe, 2006; Sylaios et al., 2006). Por otro lado, la mayor temperatura promedio medida en las matas microbianas del estuario interno (Almirante Brown), podría atribuirse a que estas planicies estuvieron expuestas (entre 1 y 15 días), en los días previos a las mediciones a diferencia de Puerto Rosales cuya zona baja estuvo casi siempre inundada.

Las variables pH y potencial redox, en conjunto con la temperatura, pueden contribuir a la movilidad, biodisponibilidad y potencial toxicidad de los metales (Du Laing et al., 2007, 2008; Acosta et al., 2011; Huerta-Díaz et al., 2012). Los efectos individuales y combinados de ambas variables tienen un impacto bien documentado en la partición de metales entre los sedimentos y la columna de agua (Foster y Charlesworth, 1996).

Los valores de pH medidos en las matas microbianas del estuario de Bahía Blanca se encontraron entre los valores del rango normal para sedimentos estuarinos (Reddy y DeLaune, 2008). Por un lado, Puerto Rosales mostró un pH cercano a la neutralidad con una variación estacional (con valores más bajos en primavera y más

altos en verano), mientras que en Almirante Brown el pH mostró valores moderadamente alcalinos, sin grandes fluctuaciones a lo largo del período evaluado. La similitud entre las zonas dentro de cada sitio denota homogeneidad entre las áreas altas y bajas, a pesar del diferente grado de exposición/inundación. Los valores registrados en Puerto Rosales fueron similares a los documentados por Spetter et al. (2015), Simonetti et al. (2017) y en particular en sedimentos no vegetados (Negrin et al., 2011; 2013). Por otro lado, el valor medio de pH registrado en Almirante Brown fue similar al reportado por Negrin et al. (2019) en sedimentos de una marisma ubicada en la zona interna del estuario de Bahía Blanca y resultan ser los primeros valores medidos en planicies de marea para esta área cubierta de matas microbianas.

Los sedimentos de Puerto Rosales se consideran oxidantes, con valores mayormente positivos que representan condiciones moderadamente anaeróbicas típicas de humedales en una zona de transición (Cronk y Fennessy, 2001; Reddy y DeLaune, 2008). Cabe destacar que las matas microbianas poseen un fuerte gradiente de sedimentos óxicos en superficie a sedimentos anóxicos a pocos milímetros de profundidad. El potencial redox más alto medido en Puerto Rosales podría deberse a la actividad de los organismos fotótrofos que influyen en el Eh del sedimento, dando como resultado valores tan altos como 400 mV en la zona óxica. Los valores altos de Eh observados en la zona más elevada de Puerto Rosales podrían deberse a su ubicación topográfica. Al encontrarse en el área supramareal superior, esta zona de la planicie se encuentra sometida a la exposición aérea durante varios días, con períodos cortos de inundación, lo cual favorecería la penetración del oxígeno en los sedimentos. Por otro lado, en la zona topográficamente más baja de este sitio, estos valores podrían estar relacionados con la bioturbación producida por el cangrejo cavador *Neohelice granulata* (Angeletti et al., 2018). La actividad cavadora del cangrejo promovería un aumento en la retención de agua por parte del sedimento, con la consecuente oxigenación de la planicie de marea (Botto e Iribarne, 2000; Escapa et al., 2007), lo cual representa un efecto común de los organismos detritívoros (Levinton, 1995; Rhoads y Young, 1971). Por otro lado, la relación pH-potencial redox observada en Puerto Rosales podría vincularse con la formación de materiales sulfídicos, principalmente pirita, que ocurren en estos ambientes como consecuencia de la interacción entre los sulfatos del agua de mar y los óxidos de hierro de los sedimentos (Van Breemen 1982; Soil Survey Staff 1999).

En el estuario interno, área de Almirante Brown, el ambiente reductor medido en

las matas microbianas podría estar relacionado con el crecimiento de las comunidades bacterianas, estimulado por la influencia de las descargas de materia orgánica oxidable proveniente de la 3^{ra}. cuenca que suministra aguas residuales urbanas de la ciudad de Bahía Blanca al estuario (Pierini et al., 2012; CTE, 2017). El aumento en la densidad de bacterias heterótrofas aeróbicas y anaeróbicas provocaría un aumento de la actividad respiratoria y una disminución concomitante del oxígeno disuelto. Por otra parte, los valores negativos de Eh en este sitio podrían deberse a la porosidad reducida debido al tamaño limo-arcilla del sedimento, con una probable influencia en el menor contenido de oxígeno (Dupraz y Visscher, 2005). A pesar de la similitud en el contenido de materia orgánica entre las dos zonas de Almirante Brown, se observaron diferencias en la fluctuación estacional del potencial redox. Por un lado, en el nivel más alto, el potencial redox fluctuó desde valores negativos en invierno/primavera a valores positivos en otoño-invierno (2013), pudiendo estar relacionados estos últimos con una combinación de un máximo de exposición de la planicie con una escasa inundación. Por otro lado, en el nivel inferior de la planicie, los valores de Eh siempre fueron negativos. Esto podría atribuirse a una mayor influencia de las inundaciones, lo cual disminuye la penetración del oxígeno del aire en esa zona de la planicie.

4.2 Posibles fuentes de los metales presentes en sedimentos

Los valores de base de los metales en sedimentos son los que permiten valorar el enriquecimiento de los mismos respecto a aquellos sedimentos no contaminados (Salomons y Förstner, 1984). En el estuario de Bahía Blanca se han estudiado planicies de marea no funcionales de 3000 años de antigüedad, cuyos resultados son utilizados como valores de base para el EBB (Grecco et al., 2006).

Las concentraciones de los metales evaluados difirieron entre el estuario medio y el estuario interno. El estuario medio presentó una mayor concentración de Mn respecto al área interna. Por el contrario, en Almirante Brown, los valores promedio de la mayoría de los metales analizados (Cd, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb y Zn) fueron superiores a los hallados en Puerto Rosales. Aunque las concentraciones medias estuvieron en el mismo orden de magnitud que las obtenidas en estudios anteriores de planicies de marea del estuario de Bahía Blanca (Botté, 2005; Botté et al., 2010; Spetter et al., 2015) cabe mencionar algunas diferencias. La concentración de metales medida en zonas intermareales de Puerto Rosales informados por Martínez et al. (2012) y Spetter et al.

(2015) mostraron, en general, valores más bajos respecto a los reportados en el presente estudio, con excepción del Fe y Zn en la zona alta de Puerto Rosales (Spetter et al., 2015) y el Cd (Martínez et al., 2012). Por otro lado, en Almirante Brown se observó un contenido de Cr, Cu, Fe y Mn ligeramente superior y concentraciones de Cd, Ni, Pb y Zn inferiores a las reportadas por Botté et al. (2010) en otras zonas internas del estuario. Esto podría deberse a que los sitios considerados se encuentran bajo diferentes grados de influencia antrópica.

En Almirante Brown, la influencia del canal de descarga de la planta de tratamiento de líquidos cloacales sobre el área de estudio queda revelada en estudios previos con registro de altos niveles de nutrientes, metales y sobre todo contaminación fecal, con la presencia de *Escherichia coli* en sedimentos (Streitenberger y Baldini, 2010, 2016; Martínez et al., 2012; Spetter et al., 2015; Simonetti et al., 2017; Truchet et al., 2021). Por otra parte, entre las actividades portuarias desarrolladas en Puerto Rosales, se destacan el uso de pinturas antiincrustantes para barcos pequeños y embarcaciones que podrían representar un aporte significativo de metales a las planicies (Botté et al., 2011; Spetter et al., 2015; Simonetti et al., 2017; Truchet et al., 2021).

En el estuario interno desemboca el arroyo Maldonado, que drena las aguas del

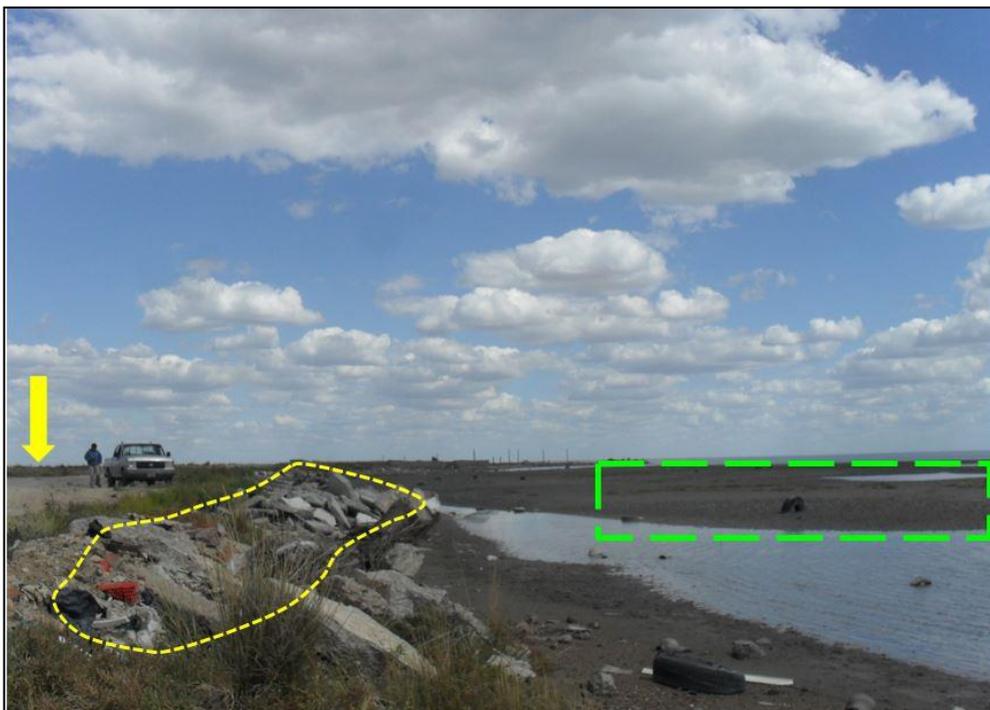


Figura 42. Ubicación de los focos de basura (en amarillo) en relación al sitio de estudio Almirante Brown. En verde se delimita la zona de estudio.

sector alto – norte y noreste de la ciudad de Bahía Blanca. El agua de este arroyo contiene aguas residuales urbanas, así como productos de las tierras vecinas que se utilizan para la producción agrícola y ganadera (Botté et al., 2010). Asimismo, en inmediaciones al sitio de estudio, y con descarga sobre el arroyo Saladillo de García, una planta de tratamiento de efluentes cloacales que comenzó a operar en septiembre de 2008 vierte aproximadamente 4.800 m³ diarios de líquidos insuficientemente tratados (Pierini et al., 2012). Los recuentos bacteriológicos sostenidos, la presencia constante de indicadores fecales y la tendencia a acumularse en los sedimentos de las zonas aledañas, son evidencia del impacto que está sufriendo el sistema en los últimos años a raíz de este hecho (Streitenberger y Baldini, 2010, 2016). Este desagüe puede afectar al agua de mar que cubre la planicie de marea de Almirante Brown durante la pleamar. Por otra parte, Almirante Brown se encuentra en cercanías al ex basurero municipal que funcionaba a cielo abierto. El basurero, localizado en un nivel más alto respecto a la planicie de marea, estuvo activo durante 25 años hasta dos años antes del inicio de este estudio (2010) (**Figura 42**). Sin embargo, la población ha continuado con el vertido de desechos en forma clandestina, cuya lixiviación se ve favorecida por las lluvias. Ello podría ser determinante dado que representa una fuente intermitente de metales. El agua de lluvia interactúa tanto con el material de origen natural como antropogénico (antiguo) presente en el basurero, promoviendo la lixiviación de los metales desde la superficie del terreno hacia estratos inferiores. Estos llegarían a la planicie de marea de Almirante Brown a través del agua subterránea (**Figura 43**). En el proceso de aporte entre agua subterránea y agua costera, ocurre una zona de mezcla/transición a la altura de la planicie de marea, en la cual se produce la infiltración del agua dulce y los compuestos disueltos en ella (Burnett et al., 2001).

En Almirante Brown se registraron concentraciones superiores respecto a los niveles de base, aunque en el mismo orden de magnitud, de Cr, Cu, Mn, Pb y Zn. La misma tendencia se encontró en Puerto Rosales respecto al Cr, Cu, Mn y Pb. Cabe señalar que los valores de Cu encontrados en las matas microbianas de la zona alta de Puerto Rosales fueron ligeramente inferiores ($17,31 \pm 4,55$) al valor TEL (Threshold Effect Level – nivel de efecto umbral: 18,8), que es la concentración en sedimentos en la cual se comienza a observar una respuesta tóxica en organismos bentónicos (Buchman, 2008). Por otro lado, los valores promedio de Cd, Cu, Hg, Pb y Zn encontrados en ambos

sitios fueron superiores a lo esperado para sedimentos no contaminados (Bryan y Langston, 1992). Estas observaciones indican que es de especial importancia hacer un seguimiento de este ambiente. El presente estudio mantiene las observaciones vertidas por Grecco et al. (2006) y Botté et al. (2010), en las cuales hacen referencia a que los sitios evaluados se encuentran bajo impacto antrópico. Esto pone en relevancia que tanto el volcado de aguas residuales urbanas como el producido por otras fuentes como las industrias petroquímicas, los puertos y las embarcaciones, estarían influyendo en el suministro creciente de metales en estos ambientes costeros y podrían estar siendo concentradas por la actividad microbiana.

4.3 Concentración de metales en relación a la presencia de biofilms y matas microbianas (capas superficiales)

Del análisis del contenido de metales en los biofilms del estuario de Bahía Blanca, se encontró que solo en ocasiones aisladas presentaron una mayor concentración respecto a la mata microbiana. Esto podría deberse a que los microorganismos del biofilm presentes en la capa fótica superficial se encuentran en constante adaptación a las condiciones fluctuantes bajo las cuales se encuentran, como la incidencia del sol, la exposición subaérea, la depositación de sedimentos y la disponibilidad de nutrientes (Dupraz y Visscher, 2005; Hanlon et al., 2006; Passarelli et

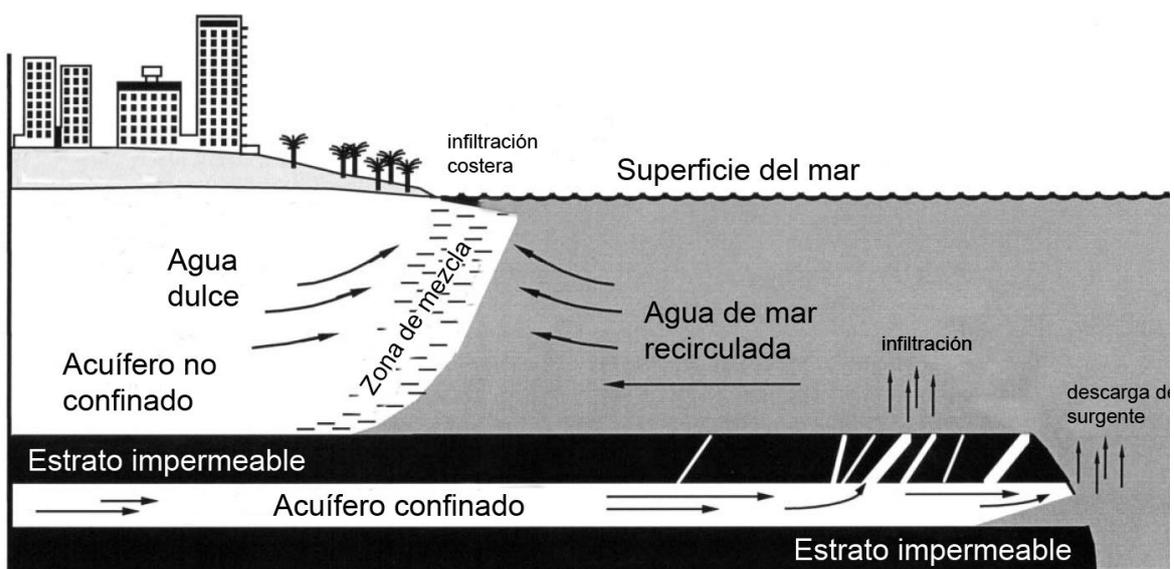


Figura 43. Diagrama de la relación entre acuífero costero, agua de mar y la descarga de agua subterránea (Extraído de Burnett et al., 2001)

al., 2014). En el caso del estuario medio, Pan et al. (2013) encontraron que la comunidad microfítobentónica superficial (primeros 0,2 cm) estaba constituida por diatomeas epipélicas unicelulares y cianobacterias filamentosas embebidas en la matriz de EPS. Como las EPS son abundantes, no permiten el contacto directo entre los granos debido a que son rodeados por estas sustancias. Cabe mencionar que se ha observado una relación inversa entre el contenido de EPS y el tamaño de grano de sedimento, en concordancia a lo documentado por de Brouwer et al. (2003). Por otro lado, Pan et al. (2013) observaron un claro dominio de las diatomeas pennadas en el proceso de colonización de sedimentos desprovistos de materia orgánica acumulada. Como estrategia de supervivencia a la desecación y para facilitar el desplazamiento en el perfil de sedimento, las diatomeas y cianobacterias bentónicas exudan EPS principalmente durante el día y la emersión del sedimento (Stal y de Brouwer 2005). Resulta de interés la presencia de las EPS dada la afinidad que tiene para unir iones metálicos gracias a la presencia de diversos grupos funcionales cargados negativamente (García-Meza et al., 2005; Di Pippo et al., 2009; Rossi y De Phillipis, 2015; Ma et al., 2021). Sin embargo, se ha descrito en Puerto Rosales que la mayor proporción de los carbohidratos superficiales que presentan estas sustancias, corresponden a la fracción coloidal (Pizani, 2005; Fernández et al., 2016). Si bien es eficiente en la unión de los contaminantes inorgánicos considerados, esta fracción es soluble en agua, por lo cual se degrada fácilmente, liberando al medio acuoso los metales unidos en primera instancia (Pal y Paul, 2008). Las concentraciones de todos los metales contenidos en el biofilm resultaron menores, pero en el mismo grado de magnitud respecto a trabajos previos realizados en las capas superficiales (0,05 cm) en el estuario medio (Spetter et al., 2015).

Es interesante señalar que en las escasas ocasiones donde se encontró una mayor concentración de metales en el biofilm respecto a la mata microbiana, coincidió con la presencia de Cr en la zona media y la de Cd en la zona interna. Ambos son elementos tóxicos, incluso a bajas concentraciones, por lo que reviste especial importancia evaluar en el futuro la posibilidad que este consorcio actúe como potencial reservorio y/o fuente de dichos elementos (De Vries et al., 2007; Hasan et al., 2013; Binbin et al., 2014; Prasad et al., 2005). Diversos estudios han demostrado que los biofilms secuestran y/o precipitan metales, incluido el Cr(VI) por adsorción en la superficie o por cambios en el entorno químico circundante (Kamaludeen et al., 2003; Bender y Phillips, 2004; Shukla et al., 2012). Sin embargo, se demostró que la acumulación continua de Cr reduce el crecimiento microbiano e induce un cambio en la

estructura de la comunidad de la mata microbiana en ambientes marinos, así como también en los biofilms de agua dulce (Mona et al., 2011; Focardi et al., 2013; Golby et al., 2014). Por otro lado, resulta interesante destacar que los biofilms podrían influir en la presencia de Cd, ya que cuando el Cd es adsorbido por sedimentos o partículas de sedimento cubiertas de EPS, la disponibilidad de este metal en el ambiente disminuye (Harvey y Luoma, 1985). Las bajas concentraciones de Cd medidas podrían atribuirse en parte a que el Zn, Mn y Cu ligados a sedimentos compiten por los sitios de unión del Cd (Bryan y Langston, 1992). Sin embargo, otra explicación plausible podría ser los bajos registros de este metal en la columna de agua de este sistema en fechas cercanas a la toma de la muestra (CTE, 2012; CTE, 2013).

La concentración de metales en las matas microbianas fue superior a la observada en los biofilms, siendo esta tendencia más notoria en la zona alta de Puerto Rosales. El análisis de componentes principales permitió determinar que el 64,73% de la variabilidad del conjunto original de datos medidos se concentran en las dos primeras componentes. El primer componente principal relaciona los metales con la materia orgánica, mientras que el segundo componente principal contrasta la inundación y el potencial redox con el pH y la T. En tal sentido, reduciendo la dimensionalidad del grupo original de datos, estas componentes no correlacionadas se pueden atribuir a: i) la unión de los metales a la materia orgánica posiblemente con influencia de la actividad microbiana (CP1), y ii) la reacción de los metales (Eh, pH y la T) en la matriz de la mata microbiana (CP2). El primero, probablemente tenga incorporado el proceso de la fotosíntesis que convierte la materia inorgánica en orgánica, característico de las matas microbianas donde se llevó a cabo el estudio. Además, la materia orgánica presenta una alta CIC, lo que hace que los metales se encuentren adsorbidos en el complejo de intercambio. La alta CIC de la materia orgánica podría atribuirse principalmente a los ácidos húmicos (radicales carboxílicos y fenólicos) (Stevenson 1994). El segundo componente estaría relacionado con la influencia que tendrían las matas microbianas en la capacidad reductora de los sedimentos por la presencia de bacterias; lo cual se vería afectada por la presencia de agua.

La bibliografía ha abordado ampliamente la importancia que tiene la biomasa de las comunidades microfítobentónicas, en la absorción de metales (Castenholz, 2009; Subashchandrabose et al., 2011; Rossi y De Phillipis, 2015). Asimismo, estas comunidades mostraron características típicas de matas microbianas desarrolladas, lo cual reviste importancia dado que se ha observado que matas microbianas

evolucionadas, presentan una amplia gama de microorganismos con diferentes mecanismos de captación de metales. Macroscópicamente, esto puede distinguirse por la presencia de una serie de laminaciones de diferentes colores en función de la composición taxonómica que presentan y de su propia fisiología (ver Figura 6) (Cohen et al., 1984; Cohen y Rosenberg, 1989; Stahl y Caumette, 1994). Las capas superficiales consisten en poblaciones fototróficas oxigénicas y bacterias heterotróficas que consumen materia orgánica y oxígeno. Por debajo de éstas, si las condiciones son adecuadas, se sitúan las capas anaeróbicas dominadas por bacterias anaeróbicas fototróficas y heterotróficas (Noffke, 2010). Pan et al. (2013) describieron que las cianobacterias filamentosas dominan en el microfítobentos de Puerto Rosales, siendo la más abundante la especie *Colefasciculus chthonoplastes* mientras que las diatomeas ocupan el segundo lugar en dominancia. La especie *C. chthonoplastes* presenta tricomas dentro de una vaina común enroscada en forma de espiral, formando una malla de filamentos de cianobacterias entretejidos junto con las EPS secretadas por los microbios que atrapan la fracción de sedimento más fina; una fracción que, debido a su relación área-superficie, también es relativamente rica en metales traza (de Winder et al., 1991, 1999). Además, se encontraron fuertes correlaciones entre los metales, el contenido de material fino (las arcillas tienen una alta CIC) y a su vez con el contenido de materia orgánica, que en Puerto Rosales presentó los mayores valores promedio.

Este comportamiento coincidiría por lo descrito por Noffke (2010) acerca de la relación entre la célula bacteriana y las primeras etapas del proceso de “biomineralización destructiva” en el cual ocurre el reemplazo de materia orgánica por minerales (**Figura 44**). Resumidamente, la pared celular bacteriana se compone de biomoléculas grandes y complejas que se disponen espacialmente de manera que los compuestos cargados electronegativamente llegan al agua de mar circundante. Todos

esos micrositios de electronegatividad juntos contribuyen a una carga negativa general de la pared celular bacteriana. A pesar de esta disposición estructural de las biomoléculas, la carga neta de la pared celular bacteriana, es neutra. En el curso de la síntesis de ATP, las células vivas bombean protones. Los protones se liberan en el microambiente circundante de la célula, igualando así la carga negativa. La distribución de protones y micrositios electronegativos no siempre es homogénea. Los micrositios salientes atraen moléculas de agua que se acumulan alrededor de la célula, formando una envoltura de hidratos. Esta envoltura de agua es importante para la formación de EPS y también sirve para proteger a la célula de su entorno químico. Cuando la célula bacteriana muere, la situación cambia rápidamente. La bomba ATP deja de funcionar, cesando la liberación de protones a la pared celular externa, por lo cual la pared celular se vuelve cada vez más negativamente cargada. En este punto, el agua de mar que contiene una enorme cantidad de iones disueltos y altamente móviles, como los iones metálicos que se encuentran cargados electropositivamente, son atraídos por los micrositios cargados electronegativamente de las biomoléculas de la pared celular. Los

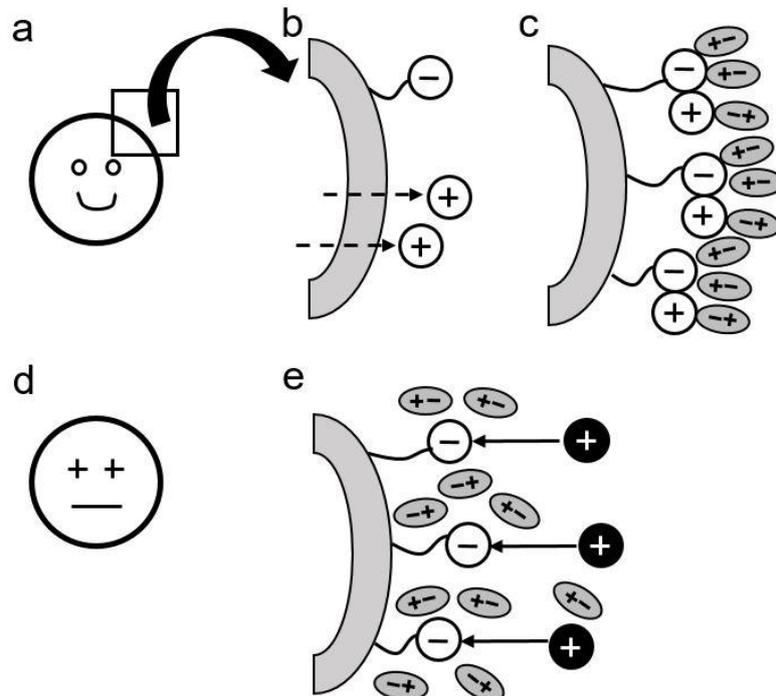


Figura 44. Biomineralización de una célula bacteriana. **a** Célula bacteriana viva. **b** En detalle, las biomoléculas imparten a la pared celular una carga mayormente electronegativa. La bomba de ATP produce protones que amortiguan la electronegatividad y generan una carga neutra. **c** Las moléculas de agua se ensamblan en los micrositios negativos de las biomoléculas de la pared celular. **d** La célula muere y la bomba de ATP cesa, por lo que las biomoléculas de la pared celular ahora presentan carga negativa, lo cual atrae los iones metálicos del agua de mar. **e** Los iones positivos se unen a los micrositios negativos de las biomoléculas.

iones metálicos se adhieren a los micrositios y, posteriormente, atraen aniones cargados negativamente del agua de mar. Los primeros minerales precipitan y, debido a que las moléculas de agua bloquean los micrositios de las biomoléculas, estos primeros precipitados minerales están hidratados y por lo tanto amorfos. Estos primeros precipitados amorfos pueden ser tenorita (FeS – el precursor de la pirita FeS_2), entre otros. Los minerales precursores que se forman dependen del tipo de iones proporcionados por el agua de mar y, por lo tanto, son una consecuencia de la química del agua de mar considerada.

Las condiciones de inundación por mareas, identificado en el ACP dentro del segundo componente (contrastando con las condiciones de óxido reducción), determinan el estado y la distribución de los metales tanto en la dimensión de los primeros milímetros como en el perfil vertical de la planicie de marea (Windom et al., 2006; Huerta-Díaz et al., 2012). Es así que, la concentración de metales en la mata microbiana activa (1 cm de espesor) fue mayor cuando las planicies estuvieron expuestas, disminuyendo la concentración de metales ante eventos de inundación. Cuando no se registró exposición previa al muestreo, no se observaron diferencias entre ambas capas superficiales. En la zona alta de Puerto Rosales se registraron picos de Cu, Fe, Mn, Ni, Pb y Zn en primavera, en concordancia con una menor frecuencia de inundación y un período de exposición de 5 días. Por lo tanto, la mayor presencia de metales podría atribuirse a la mayor producción de EPS por diatomeas y/o bacterias sujetas a una desecación lenta de la superficie sedimentaria. Esta producción natural del mucílago se origina como respuesta de los microorganismos cuando se ven sometidos a períodos de estrés hídrico y tienen tiempo suficiente para producir gran cantidad protectora de EPS. Estas sustancias reducen efectivamente la tasa de pérdida de agua y retrasan los efectos de la deshidratación (Coehlo y Serodio, 2009). Asimismo, la matriz polimérica extracelular actúa como protección contra los metales tóxicos, que pueden ser secuestrados, inmovilizados, mineralizados y precipitados, disminuyendo su efecto sobre las bacterias (Kazy et al., 2002). Se suma a lo anterior que las EPS pueden ser producidas por los microorganismos en respuesta a la presencia de metales en el ambiente (de Araujo y Melo de Oliveira, 2020). Fernández et al. (2016) describieron un mayor porcentaje de la fracción capsular del EPS en primavera (oct-12), la cual es recalcitrante a la descomposición y podría relacionarse con la presencia de metales en las matas de la zona alta de Puerto Rosales. La fracción coloidal del EPS muestra un comportamiento dinámico dado que se produce y es consumido constantemente por organismos heterotróficos, mientras que la fracción capsular se encuentra más

conservada (Stal y Defargé, 2005). Dado que esta fracción es difícilmente extraíble en condiciones naturales, los metales unidos a ellas tienden a permanecer en el ambiente (Schultze-Lam et al., 1996; García Meza et al., 2005). Por otro lado, una mayor exposición de las planicies también podría reflejar el aporte atmosférico de metales (La Colla et al., 2021).

La principal diferencia entre biofilms y matas microbianas en cuanto a su respuesta frente a los metales podría ser que los biofilms en una etapa temprana de colonización han sido citados como más vulnerables a la exposición a metales que las matas maduras (Ivorra et al., 2000). Por otro lado, la mata microbiana de 1 cm superficial abarcaría una porción rica en materia orgánica, en material fino y una amplia variedad de especies fototróficas (reflejado en las diferentes capas observables), con diferentes mecanismos de captación de metales. La dominancia de cianobacterias en las matas microbianas de la zona alta de Puerto Rosales sugiere que podrían tener un rol importante en el destino de los metales que se midieron en esta zona de la planicie. La mayoría de las especies de cianobacterias son capaces de producir EPS principalmente de naturaleza polisacárida (Pereira et al., 2011). Las EPS pueden permanecer asociados a la superficie celular formando una vaina, a la cápsula o ser liberados al ambiente circundante como polisacáridos (De Philippis y Vincenzini, 2003; Pereira et al., 2009). Además de la protección contra la deshidratación o la radiación UV, las EPS sirven como límite entre la célula de las cianobacterias y su entorno inmediato y presenta otras funciones, como la biomineralización y la fagocitosis. Además, la carga negativa general del EPS de las cianobacterias puede ser esencial para secuestrar cationes metálicos que son esenciales para el crecimiento celular pero que están presentes en bajas concentraciones en su entorno, y/o para evitar el contacto directo entre las células y los metales tóxicos dispersos en el medio ambiente (De Philippis y Vincenzini, 2003; Pereira et al., 2009). La capacidad de las cianobacterias productoras de EPS para eliminar metales de soluciones acuosas ha sido ampliamente reportada en la literatura, enfocándose principalmente en su potencial biotecnológico (De Philippis et al., 2001, 2007; De Philippis y Micheletti, 2009; De Philippis y Vincenzini, 2003; Li et al., 2001). Las cianobacterias pueden disminuir la absorción de metales secuestrando los iones metálicos en sus superficies extracelulares y/o liberando ligandos al entorno circundante. Una vez que los iones metálicos ingresan a la célula, su toxicidad puede evitarse mediante su reducción a un estado de oxidación menos tóxico, la formación de complejos intracelulares (por ej., metalotioneínas, cuerpos de polifosfato) o la salida de metales mediante sistemas de exportación, como ATPasas tipo P (Baptista y

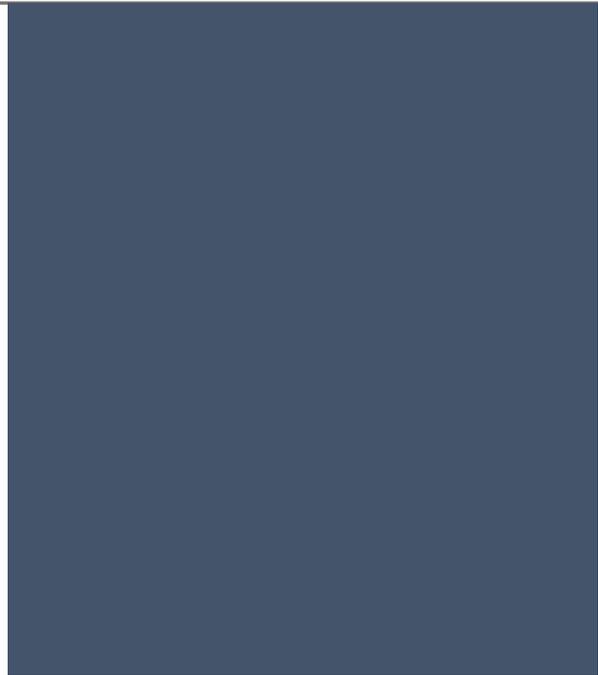
Vasconcelos, 2006; Nies, 1999; Roy et al., 2008). Cuando estos mecanismos de protección fallan, la célula experimenta los efectos tóxicos de la alta concentración de metales que pueden causar la desintegración y desorganización de las membranas de los tilacoides y de los grandes espacios intratilacoidales, aumento de los cuerpos de polifosfato e incluso la muerte celular. En aquellas cianobacterias que poseen vaina, como es el caso de *C. chthonoplastes*, existe una preferencia de unión de los metales a ésta y no a las EPS liberadas al medio intersticial (Micheletti et al., 2008). Por otro lado, se ha reportado que cuando se han encontrado metales almacenados dentro del citoplasma (como el Cd, Cu, Hg, Ni y Zn), éstos se encuentran localizados en cuerpos de polifosfato (Fiore et al., 1998; Burgos et al., 2004; Puyen et al., 2012).

4.4 Concentración de metales en las capas subyacentes a la mata microbiana activa

Además de haber evaluado la concentración diferencial de metales entre el biofilm y la mata microbiana en su primer centímetro, también se estudió la distribución en profundidad en los sedimentos subyacentes a las matas. Con excepción de la zona alta del estuario medio, la concentración de metales mostró picos en los sedimentos de las capas más profundas al primer centímetro superficial (C2 y C3). Teniendo en cuenta el bajo contenido de materia orgánica medido en estas capas y la dominancia de material fino, es probable que los óxidos de Fe y Mn hidratados estén desempeñando un papel dominante en la determinación de las concentraciones de metales (Newman et al., 1985). Por otro lado, Des Marais (1995) y Granger y Ward (2003) sugieren que las matas microbianas pueden conducir a la concentración de metales en sedimentos subyacentes. Una vez que parte de los microorganismos de la mata microbiana mueren, los procesos de descomposición de esta materia orgánica transferirían los metales adsorbidos a ella, al sedimento subyacente. Asimismo, los microorganismos característicos de la profundidad considerada como las bacterias reductoras de azufre y sulfato, tendrían un rol geoquímicamente importante en la precipitación reductora de metales tóxicos (Gadd, 2004). Teniendo en cuenta la alta y sostenida concentración de metales en las capas subyacentes de las planicies de Almirante Brown, y asumiendo al pH alcalino medido en las matas microbianas como descriptor del ambiente fisicoquímico de este sitio, podrían estar ocurriendo procesos de precipitación de metales a causa de la disminución de su solubilidad como iones. Además, la especiación de metales y la cantidad de sitios de unión en los componentes orgánicos también se verían afectados por el pH (Barranguet et al., 2000).

El estudio de la presencia de metales en biofilms, matas microbianas y sedimento subyacente, mostró que la mayoría de éstos estuvieron mayormente concentrados en los sedimentos subyacentes. Esto podría atribuirse a la influencia de los microorganismos característicos de los sedimentos ubicados en esta profundidad (1 - 5 cm), así como a la dominancia de sedimento de tamaño de grano fino. Asimismo, se encontró que Almirante Brown se encuentra bajo un mayor impacto antrópico dado que las concentraciones promedio de seis de los nueve metales analizados, fueron mayores respecto a las de

Puerto Rosales, que se podría explicar por su proximidad a un basurero. En cuanto a las capas superficiales, las matas microbianas mostraron una mayor captación de metales respecto al biofilm y, en la zona topográficamente más alta de Puerto Rosales, la concentración de éstos fue superior a la del sedimento subyacente. Al realizar un análisis integrador de las variables, se encontró que el mayor contenido de materia orgánica de origen autóctono, sumado a la adhesión de materia orgánica de origen alóctono y a la secreción de EPS por parte de los microorganismos, podría influir en la presencia de mayores concentraciones de metales en las matas microbianas. Además, se observó que los períodos de exposición de las comunidades microbianas, favorecieron la captación de metales por parte de éstas, lo cual podría atribuirse a una mayor producción de EPS como estrategia de supervivencia ante un estrés hídrico.



Capítulo 5

CONCLUSIONES



El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo estudiar en dos ambientes estuarinos bajo impacto antrópico el rol de los biofilms y las matas microbianas en el secuestro y acumulación de metales, así como la influencia de estas comunidades en la presencia de metales en las capas subyacente a la mata microbiana activa. Para ello, además de la concentración de metales, se estudiaron variables complementarias como el contenido de materia orgánica, la granulometría de los sedimentos, la influencia de la marea y, en el caso de las matas microbianas, los parámetros fisicoquímicos (pH, temperatura y potencial redox). Se realizaron diferentes análisis relacionando las variables observadas con el fin de hallar relaciones entre éstas y la presencia de los metales en el biofilm y las matas microbianas tanto vertical como espacialmente, considerando además la ubicación topográfica de las mismas. Los resultados obtenidos y la discusión generada a partir de ellos permiten destacar los puntos más relevantes a modo de conclusión.

El análisis de los datos obtenidos permitió, en parte, aceptar la hipótesis planteada. Se acepta la hipótesis de que las matas microbianas tienen un rol importante en la captura de metales influyendo en la distribución de estos potenciales contaminantes, mientras que, en cuanto al biofilm, se rechaza esta afirmación.

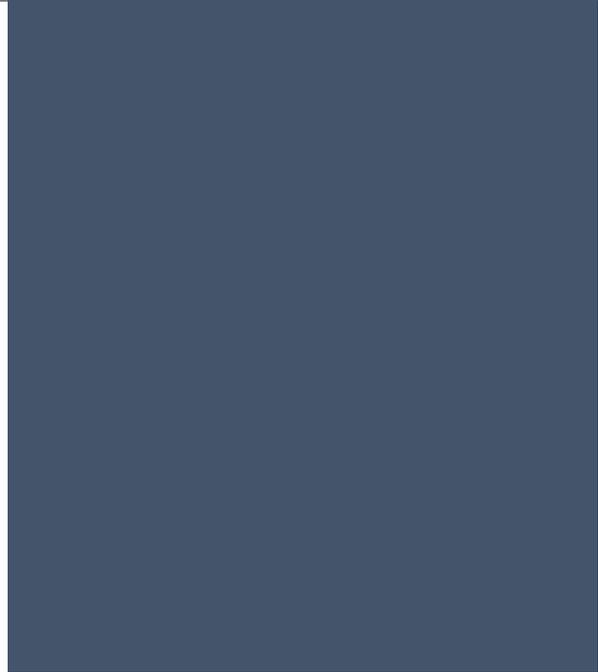
Las matas microbianas de planicies de marea (abordadas en este trabajo como el conjunto de sus componentes: microorganismos, EPS y sedimento), concentraron metales aun cuando los niveles en el ambiente fueron bajos. Esto indicaría que esta comunidad microfítobentónica es sensible a la presencia de los contaminantes inorgánicos considerados. Los biofilms, en cambio, no mostraron una tendencia clara en relación al contenido de metales y las variables asociadas analizadas y presentaron una menor concentración respecto a la mata microbiana. Esto podría estar relacionado a su constante adaptación a las condiciones ambientales fluctuantes, lo cual podría derivar en que no se encuentran las condiciones adecuadas para que ocurran los procesos de captación de metales y, en caso de que los hubiera, éstos serían transferidos a la mata microbiana al crecer un nuevo biofilm sobre ellos. Por otro lado, la mata microbiana presenta una mayor diversidad de microorganismos respecto a los biofilms, lo cual le confiere ventajas en cuanto a la captación de metales debido a los diferentes mecanismos que presentan los microorganismos.

Como se mencionó anteriormente, se midieron una importante cantidad de variables asociadas como el contenido de materia orgánica, la granulometría, la

influencia de la marea y, en el caso de las matas microbianas, los parámetros fisicoquímicos. Sin embargo, la mayor variabilidad está representada por la materia orgánica y la exposición aérea de los sedimentos. El rol de las matas microbianas en cuanto a la captación de metales se relacionó con el mayor contenido de materia orgánica y se encontró restringido a las matas microbianas que estuvieron bajo una menor influencia de la marea. Las comunidades microbianas sometidas a frecuentes períodos de exposición promoverían la producción de EPS por parte de diatomeas y cianobacterias, los cuales tienen afinidad por la unión de iones metálicos.

Los metales estuvieron más concentrados en las capas más profundas a las matas microbianas activas. Si bien podría haber una influencia de aporte por parte de las matas microbianas luego de su descomposición, la mayor concentración en las capas subyacentes podría atribuirse a la presencia de material fino y a los procesos geoquímicos mediados por los microorganismos bacterianos presentes en ellas. Un estudio taxonómico complementario de la diversidad bacteriana presente en profundidad permitiría corroborar esta observación. Asimismo, un estudio geoquímico de los sulfuros de metales, generados en ambientes reductores como el descrito para Almirante Brown, complementaría los estudios realizados en ésta tesis.

Se encontró que las matas microbianas estudiadas presentaron características fisicoquímicas diferentes entre el estuario medio (Puerto Rosales) e interno (Almirante Brown), y en cuanto a los contaminantes inorgánicos. Así, Almirante Brown mostró que se encuentra bajo una mayor presión antrópica respecto a Puerto Rosales. Esto podría deberse tanto a la influencia del ex basurero municipal Belisario Roldán como a los efluentes domiciliarios que son liberados a través del canal Maldonado. Su efecto sería de mayor envergadura al producido por los residuos cloacales y residuos de actividades portuarias emitidos en el estuario medio en la zona de Puerto Rosales.



Bibliografía



Abed RMM, Shanti M, Muthukrishnan T, Al-Riyami Z, Pracejus B, Moraetis D (2020) The role of microbial mats in the removal of hexavalent chromium and associated shifts in their bacterial community composition. *Frontiers in Microbiology* 11: 12. DOI: 10.3389/fmicb.2020.00012

Acosta, JA, Jansen B, Kalbitz K, Faz A, Martínez-Martínez S (2011) Salinity increases mobility of heavy metals in soils. *Chemosphere* 85(8), 1318-1324.

Admiraal W (1984) The ecology of estuarine sediment-inhabiting diatoms. En: *Progress in Phycological Research* (Eds.) Round FE y Chapman DJ (Bristol: Biopress), 269–322.

Admiraal W, Peletier H (1980) Distribution of diatom species on an estuarine mudflat and experimental analyses of the selective effect of stress. *J Exp. Mar, Biol. Ecol*, 46(2): 157-175. DOI: 10.1016/0022-0981(80)90029-5

Aguilera A, Souza-Egipsy V, San Martín-Uriz P, Amils R (2008) Extracellular matrix assembly in extreme acidic eukaryotic biofilms and their possible implications in heavy metal adsorption. *Aquatic Toxicology* 88: 257–266.

Alloway (1990) *Heavy metals in soils*. Blackie, New York. Halsted Press.

Andrade S, Pucci A, Marcovecchio J (2000) Cadmium concentrations in the Bahía Blanca Estuary (Argentina). Potential effects of dissolved cadmium on the diatom *Thalassiosira curviseriata*. *Oceanología* 42 (4): 505-520.

Angeletti S, Cervellini P, Lescano L (2018) Burrowing activity of the *Neohelice granulata* crab (Brachyura, Varunidae) in southwest Atlantic intertidal areas. *Ciencias Marinas* 44(3): 155–167. DOI: 10.7773/CM.V44I3.2851

Ansari TM, Marr IL, Tariq N (2004) Heavy metals in marine pollution perspective-A mini review. *Journal of Applied Sciences* 4(1): 1-20. DOI: 10.3923/jas.2004.1.20

Araújo LCA, Oliveira MBM (2020) Effect of heavy metals on the biofilm formed by microorganisms from impacted aquatic environments. En *Bacterial Biofilms*, Dincer S, Özdenefe MS, Arkut A (Eds.) *Bacterial biofilms*. DOI: 10.5772/intechopen.89545

Arias AH, Spetter CV, Freije RH, Marcovecchio JE (2009) Polycyclic aromatic hydrocarbons in water, mussels (*Brachidontes sp.*, *Tagelus sp.*) and fish (*Odontesthes sp.*) from Bahía Blanca Estuary, Argentina. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 85(1): 67-81.

Arias AH, Vazquez-Botello A, Tombesi N, Ponce-Velez G, Freije H, Marcovecchio J (2010) Presence, distribution, and origins of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in sediments from Bahía Blanca estuary, Argentina. *Environmental Monitoring and Assessment* 160(1), 301-314.

Baptista M, Vasconcelos, MT (2006) Cyanobacteria metal interactions: requirements, toxicity and ecological implications. *Critical Reviews in Microbiology* 32:127–137. DOI: 10.1080/10408410600822934.

Barranguet C, Charantoni E, Plans M, Admiraal W (2000) Short-term response of monospecific and natural algal biofilms to copper exposure. *Eur J Phycol.* 35:397–406.

Bellinger et al., 2009 Bender J, Washington JR, Graves B, Phillips P, Abotsi G (1994) Deposit of zinc and manganese in an aqueous environment mediated by microbial mats. *Water, Air, and Soil Pollution* 75, 194-204. DOI: 10.1007/BF00482937

Bender J, Duff MC, Phillips P, Hill M (2000) Bioremediation and bioreduction of dissolved U (VI) by microbial mat consortium supported on silica gel particles. *Environmental science & technology* 34(15): 3235-3241.

Bender J, Gould JP, Vatcharapijarn Y, Young JS, Phillips P (1994) Removal of zinc and manganese from contaminated water with cyanobacteria mats. *Water Environ Res.* 66: 679–683.

Bender J, Lee RF, Phillips P (1995) Uptake and transformation of metals and metalloids by microbial mats and their use in bioremediation. *J Ind Microbiol.* 14:113–118.

Bender J, Phillips P (2004) Microbial mats for multiple applications in aquaculture and bioremediation. *Bioresource Technology* 94, 229–238.

Binbin W, Guoqiang W, Jin W, Qing F, Changming L (2014) Sources of heavy metals in surface sediments and an ecological risk assessment from two adjacent plateau reservoirs 9(7): e102101. PLoS ONE. DOI:10.1371/journal.pone.0102101

Blanchard GF, Paterson DM, Stal LJ, Richard P, Galois R, Huet V, Kelly JJ, Honeywill C, De Brouwer J, Dyer K, Christie, M (2000) The effect of geomorphological structures on potential biostabilization by microphytobenthos on intertidal mudflats. *Continental Shelf Research* 20 (10-11): 1243-1256.

Botté SE (2005) El rol de la vegetación en el ciclo biogeoquímico de metales pesados, en humedales del estuario de Bahía Blanca. Ph.D. thesis, Universidad Nacional del Sur, Argentina, p 290.

Botté SE, Freije RH, Marcovecchio JE (2010) Distribution of several heavy metals in tidal flats sediments within Bahía Blanca Estuary (Argentina). *Water Air Soil Pollut* 210(1-4):371–388.

Botto F, Iribarne O (2000) Contrasting effects of two burrowing crabs (*Chasmagnathus granulata* and *Uca uruguayensis*) on sediment composition and transport in estuarine environments. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 51, 141–151.

Bournod CN, Cuadrado DG, Carmona NB, Ponce JJ, Pan J (2014) Estructuras sedimentarias inducidas por actividad microbiana (ESIAM) en la planicie de marea de Puerto Rosales, estuario de Bahía Blanca, Argentina. *RAGA* 71: 331-344.

Brotas V, Cabrita T, Portugal A, Serôdio J, Catarino F (1995) Spatio-temporal distribution of the microphytobenthic biomass in intertidal flats of Tagus Estuary (Portugal). *Hydrobiologia* 300/301: 93-104 En *Space partition within aquatic ecosystems*, pp. 93-104 pp. Springer, Dordrecht.

Bryan GW, Langston WJ (1992) Bioavailability, Accumulation and effects of heavy metals in sediments with special reference to United Kingdom estuaries: A review. *Environmental Pollution* 76, 89-131. DOI: 10.1016/0269-7491(92)90099

Bulleri F, Chapman MG (2010) The introduction of coastal infrastructure as a driver of change in marine environments. *Journal of Applied Ecology*. 47(1): 26–35. DOI: 10.1111/j.1365-2664.2009.01751.x

Burnett WC, Taniguchi M, Oberdorfer J (2001) Measurement and significance of the direct discharge of groundwater into the coastal zone. *Jour. Sea Research* 46(2): 109–116. DOI: 10.1016/S1385-1101(01)00075-2

Cahoon LB (1999) The role of benthic microalgae in neritic ecosystems. En Ansell AD, Gibson RN, Barnes M (Eds.) *Oceanogr. Mar. Biol.* CRC Press, pp 55–94.

Calvo-Marcilese L, Pratolongo P (2009) Foraminíferos de marismas y llanuras de marea del estuario de Bahía Blanca, Argentina: distribución e implicaciones ambientales. *Revista Española de Micropaleontología* 41 (3), 315–332.

Cartaxana P, Cruz S, Gameiro C, Kühn M (2016) Regulation of intertidal microphytobenthos photosynthesis over a diel emersion period is strongly affected by diatom migration patterns. *Front. Microbiol.* 7: 872. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00872

Castenholz RW (2009) Mats, microbial. En: Schaechter M, ed. *Encyclopedia of Microbiology*, 3rd edn. Oxford, UK: Academic Press, pp. 278–92.

Cereja R, Brotas V, Cruz JPC, Rodrigues M, Brito AC (2021) Tidal and physicochemical effects on phytoplankton community variability at Tagus estuary (Portugal). *Front. Mar. Sci.* DOI: 10.3389/fmars.2021.675699.

Chazarreta J, Dutto S, Berasategui AA, Paniagua GF, Fritz LJ, Cuadrado DG, Hoffmeyer MS (2020). Zooplankton community modulated by spatial and tidal changes in the Bahía Blanca Estuary, Argentina. *Regional Studies in Marine Science* 36, 101277.

Christensen BE, Charaklis WG (1989) Physical and chemical properties of biofilms. In: Characklis WG, Marshall KC (Eds.) *Biofilms*. New York: John Wiley. pp 93–130.

Cloern JE, Abreu PC, Carstensen J, Chauvaud L, Elmgren R, Grall J, Greening H, Johansson JOR, Kahru M, Sherwood ET, Xu J (2016) Human activities and climate variability drive fast-paced change across the world's estuarine–coastal ecosystems. *Global change biology* 22(2): 513-529.

Coelho H, Vieira S, Serôdio J (2009) Effects of desiccation on the photosynthetic activity of intertidal microphytobenthos biofilms as studied by optical methods. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 381(2), 98-104.

Cohen Y, Rosenberg E (1989). Microbial mats: physiological ecology of benthic microbial communities.

Commendatore MG, Esteves JL (2004) Natural and anthropogenic hydrocarbons in sediments from the Chubut River (Patagonia, Argentina). *Marine Pollution Bulletin* 48, 910-918.

Consalvey M, Paterson DM, Underwood GJC (2004). The ups and downs of life in a benthic biofilm: migration of benthic diatoms. *Diatom Res.* 19, 181–202. DOI: 10.1080/0269249X.2004.9705870.

Costanza R, Anderson S, Bohensky E, Butler J, Edyvane K, Howe S, Kirkman H, Kubiszewski I, Pert P, Stoeckl N, Sutton P (2014) Ecosystem Services From Healthy Oceans and Coasts 1-18.

Costerton JW, Cheng KJ, Geesey GG, Ladd TI, Nickel JC, Dasgupta M, Marrie TJ (1987) Bacterial biofilms in nature and disease. *Annual Reviews in Microbiology* 41(1), 435-464.

Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM (1995) Microbial biofilms. *Annual Review of Microbiology* 49: 711-745.

Cronk JK, Fennessy MS (2001) *Wetland Plants: Biology and Ecology*. Lewis Publishers, Boca Raton, Florida. DOI: 10.1672/0277-5212(2002)022[0632:R]2.0.CO;2

CTE (Comité Técnico Ejecutivo) (2003). Programa integral de monitoreo Bahía Blanca. <http://www.bahiablanca.gov.ar/areas-degobierno/medioambiente/comite-tecnico-ejecutivo/>

CTE (Comite Tecnico Ejecutivo) (2014). Programa integral de monitoreo Bahía Blanca. <http://www.bahiablanca.gov.ar/areas-de-gobierno/medio-ambiente/comite-tecnico-ejecutivo/>

Cuadrado DG, Bournod CN, Pan J, Carmona NB (2013) Microbially-induced sedimentary structures (MISS) as record of storm action in supratidal modern estuarine setting. *Sedimentary Geology* 296: 1-8.

Cuadrado DG, Carmona NB, Bournod CN (2011) Biostabilization of sediments by microbial mats in a temperate siliciclastic tidal flat, Bahía Blanca estuary (Argentina). *Sed Geol* 237: 95-101.

Cuadrado DG, Carmona NB, Bournod CN (2012) Mineral precipitation on modern siliciclastic tidal flats colonized by microbial mats. *Sediment Geol* 271:58–66.

Cuadrado DG, Federici GA, Gómez EA, Natali M (2000). Modification on Rosales Port sedimentation rate, Argentina. *Profil 18: CD-Room 13: 6*.

Cuadrado DG, Ginsberg SS, Gómez EA (2004) Geomorfología. En: Piccolo MC, Hoffmeyer MS (Eds.) *Ecosistema del Estuario de Bahía Blanca*. Instituto Argentino de Oceanografía, Bahía Blanca, Argentina, pp 29-42.

Cuadrado DG, Perillo GME, Vitale AJ (2013) Modern microbial mats in siliciclastic tidal flats: evolution, structure and the role of hydrodynamics. *Mar. Geol.* 352: 367-380. DOI: 10.1016/j.margeo.2013.10.002.

Cuadrado DG, Pizani NV (2007) Identification of microbially induced sedimentary structures over a tidal flat. *Latin American Journal of Sedimentology and Basin Analysis* 14: 105-116.

D'Surney SJ, Smith MD (2005) Chemicals of Environmental Concern. En *Encyclopedia of Toxicology* (segunda edición). Wexler P (ed.), 526-530. DOI: 10.1016/B0-12-369400-0/00206-4.

De Marco SG, Botté SE, Marcovecchio JE (2006) Mercury distribution in abiotic and biological compartments within several estuarine systems from Argentina: 1980–2005 period. *Chemosphere* 65:213–223.

De Smedt F, Vuksanovic V, Van Meerbeeck S, Reynes D (1998) A time-dependent flow model for heavy metals in the Scheldt estuary. *Hydrobiologia* 366:143–155.

De Vries W, Römkens PF, SchutzeG (2007) Critical soil concentrations of cadmium, lead and mercury in view of health effect on humans and animals. *Rev Environ Contam Toxicol* 191:91–130.

Decho AW (2000). Microbial biofilms in intertidal systems: an overview. *Continental Shelf Research* (20): 1257-1273.

Des Marais DJ (1995) The biogeochemistry of hypersaline microbial mats. In: Jones JG (ed.) *Advances in microbial ecology*. Plenum Press, New York, pp 251–274.

Di Pippo F, Bohn A, Congestri R, De Philippis R, Albertano P (2009) Capsular polysaccharides of cultured phototrophic biofilms. *Biofouling*, 25(6): 495-504. DOI: 10.1080/08927010902914037.

Diestra E, Solé A, Esteve I (2004) A comparative study of cyanobacterial diversity in polluted and unpolluted microbial mats by means of CLSM. *Ophelia*. 58: 151-156. DOI: 10.1080/00785236.2004.10410222.

Donlan R (2001) Biofilm Formation: A clinically relevant microbiological process. *Clinical Infectious Diseases* 33: 1387-1392. DOI: 10.1086/322972

Donlan RM (2002) Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerg Infect Dis*. 8(9): 881-90. DOI: 10.3201/eid0809.020063.

Du Laing G, Vanthuyne DRJ, Vandecasteele B, Tack FMG, Verloo MG (2007) Influence of hydrological regime on pore water metal concentrations in a contaminated sediment-derived soil. *Environmental Pollution* 147: 615-625. DOI: 10.1016/j.envpol.2006.10.004.

Du Laing G, De Vos R, Vandecasteele B, Lesage E, Tack FMG, Verloo MG (2008) Effect of salinity on heavy metal mobility and availability in intertidal sediments of the Scheldt estuary Estuarine. *Coastal and Shelf Science* 77: 589–602. DOI: 10.1016/j.ecss.2007.10.017

Duffus JH (2001) “Heavy metals” a meaningless term. *Chemistry International* 23, 793-807.

Dupraz C and Visscher PT (2005) Microbial lithification in marine stromatolites and hypersaline mats. *Trends in Microbiology* 13: 429-438.

Dutto MS, López Abbate MC, Biancalana F, Berasategui AA, Hoffmeyer MS (2012) The impact of sewage on environmental quality and the mesozooplankton community in a highly eutrophic estuary in Argentina. *ICES Journal of Marine Science*, 69(3): 399–409. DOI:10.1093/icesjms/fsr204.

Dutto S, Kopprio G, Hoffmeyer MS, Alonso T, Graeve M, Kattner G (2014) Planktonic trophic interactions in a human-impacted estuary of Argentina: A fatty acid marker approach. *Journal of Plankton Research* 36(28): 1-12. DOI: 10.1093/plankt/fbu012.

Dyer KR, Christie MC, Wright EW (2000) The classification of intertidal mudflats. *Continental Shelf Research* 20(10):1039-1060. DOI: 10.1016/S0278-4343(00)00011-X.

EPA Environmental Protection Agency's (2016) Definition and procedure for the determination of the method detection limit, 40 CFR 136 Appendix B; Revision 2, EPA Office of Water, EPA 821-R-16- 006.

Escapa M, Minkoff DR, Perillo GM, Iribarne O (2007) Direct and indirect effects of burrowing crab *Chasmagnathus granulatus* activities on erosion of southwest Atlantic Sarcocornia-dominated marshes. *Limnology and Oceanography* 52(6):2340-9. DOI: 10.4319/lo.2007.52.6.2340.

Esteve I, Martínez-Alonso IM, Mirl J, Guerrero R (1992). Distribution, typology and structure of microbial mat communities in Spain: a preliminary study. *Limnetica* 8:185-195.

Fagherazzi S, Mariotti G, Banks AT, Morgan EJ, Fulweiler RW (2014) The relationships among hydrodynamics, sediment distribution, and chlorophyll in a mesotidal estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 144: 54–64. DOI: 10.1016/j.ecss.2014.04.003.

Farías ME, Contreras M, Rasuk MC, Kurth D, Flores MR, Poiré DG, Novoa F, Visscher PT (2014) Characterization of bacterial diversity associated with microbial mats, gypsum evaporites and carbonate microbialites in thalassic wetlands: Tebenquiche and La Brava, Salar de Atacama, Chile. *Extremophiles*. 18(2):311-29. DOI: 10.1007/s00792-013-0617-6.

Federal Register (1984) Definition and procedure for determination of the method detection limit. EPA, 40 CFR Part 136, Appendix B, Revision 1.11 1 (11), pp. 198–199.

Federici GA, Cuadrado DG, Gómez EA (2004) Procesos hidrosedimentológicos y meteorológicos relacionados con la sedimentación de un puerto. *Geoacta* 29: 58-69. (ISSN 03267237).

Fernández C, Lara RJ, Parodi ER (2021) Influence of microphytobenthos on the sedimentary organic matter composition in two contrasting estuarine microhabitats. *Environ Monit Assess*, 193: 201. DOI: 10.1007/s10661-021-08888-4.

Fernández EM, Spetter CV, Martínez AM, Cuadrado DG, Avena MJ, Marcovecchio JE (2016) Carbohydrate production by microbial mats communities in tidal flat from Bahía Blanca Estuary (Argentina). *Environ Earth Sci*, 75:641. DOI: 10.1007/s12665-016-5405-z.

Ferris FG (2005) Biogeochemical properties of bacteriogenic iron oxides. *Geomicrobiology Journal* 22(3-4): 79-85.

Ferris FG, Hallberg RO, Lyvén B, Pedersen K (2002) Retention of strontium, cesium, lead and uranium by bacterial iron oxides from a subterranean environment *Appl. Geochem.* 15 (7): 1035-1042.

Fike DA, Gammon CL, Ziebis W, Orphan VJ (2008) Microscale mapping of sulfur cycling across the oxycline of a cyanobacterial mat: a paired nanoSIMS and CARD-FISH approach. *ISME J* 2:749–759.

Fiore MF, Moon DH, Trevors JT (1998) Metal resistance and accumulation in cyanobacteria. En *Wastewater treatment with algae*, Wong YS y Tam N (Eds.) DOI: 10.1007/978-3-662-10863-5_7, 111-124.

Flemming HC, Wingender J (2001) Relevance of microbial extracellular polymeric substances (EPSs) – Part I: Structural and ecological aspects. *Water science and technology*, 43(6): 1-8. DOI: 10.2166/wst.2001.0326.

Foster IDL, Charlesworth SM (1996) Heavy metals in the hydrological cycle: Trends and explanation. *Hydrological processes* 10(2): 227-261.

Freije RH, Spetter CV, Marcovecchio JE, Popovich CA, Botté SE, Negrín V, Arias A, Delucchi F, Astesuain RO (2008) In: Neves R, Barreta J, Mateus M (Eds.) Perspectives on integrated coastal zone management in South America. IST Press Lisbon, Portugal, pp 243-256.

García de Lomas J, Corzo A, García CM, van Bergeijk SA (2005) Microbenthos in a hypersaline tidal lagoon: factors affecting microhabitat, community structure and mass exchange at the sediment-water interface. *Aquat Microb Ecol* 38: 53–69. DOI: 10.3354/AME038053.

García-Meza JV, Barranguet C, Admiraal W (2005) Biofilm formation by algae as a mechanism for surviving on mine tailings. *Environ Toxicol Chem* 24(3): 573-81. DOI: 10.1897/04-064r.1.

Garwood JC, Hill PS, MacIntyre HL, Law BA (2015) Grain sizes retained by diatom biofilms during erosion on tidal flats linked to bed sediment texture. *Continental Shelf Research* 104, 37-44.

Gaur A, Adholeya A (2004) Prospects of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of heavy metal contaminated soils. *Current Science* 528-534.

Genter RB, Cherry DS, Smith EP, Cairns Jr J (1988) Attached-algal abundance altered by individual and combined treatments of zinc and pH. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal* 7(9), 723-733.

Gerdes G, Krumbein WE (1987) *Biolaminated Deposits*: Springer-Verlag, Berlin, 183 p.

Golubic S, Le Campion-Alsumard T, Campbell SE (1999) Diversity of marine cyanobacteria. *Bulletin-Institut Oceanographique Monaco* 53-76.

Granger J, Ward BB (2003) Accumulation of nitrogen oxides in copper-limited cultures of denitrifying bacteria. *Limnology and Oceanography* 48(1): 313-318. DOI: 10.4319/lo.2003.48.1.0313.

Grecco LE, Marcos AO, Gomez EA, Botté S, Marcovecchio JE (2006) Natural content and anthropogenic input of heavy metals in sediments from Bahia Blanca estuary (Argentina). *J Coast Res* 39:1021–1025.

Halpern BS, Selkoe KA, Micheli F, Kappel CV (2007) Evaluating and Ranking the Vulnerability of Global Marine Ecosystems to Anthropogenic Threats. *Conservation Biology* 21: 1301-1315. DOI: 10.1111/j.1523-1739.2007.00752.x

Hanlon ARM, Bellinger B, Haynes K, Xiao G, Hofmann TA, Gretz MR, Ball AS, Osborn AM, Underwood GJC (2006) Dynamics of extracellular polymeric substance (EPS) production and loss in an estuarine, diatom-dominated, microalgal biofilm over a tidal emersion—immersion period. *Limnology and Oceanography* 51(1): 79-93.

Harrison J J, Turner RJ, Marques LL, Ceri H (2005) Biofilms: a new understanding of these microbial communities is driving a revolution that may transform the science of microbiology. *Am. Sci.* 93, 508–515. DOI: 10.1038/nrmicro1774

Harvey RW, Luoma SN (1985) Effect of adherent bacteria and bacterial extracellular polymers upon assimilation by *Macoma balthica* of sediment-bound Cd, Zn and Ag. *Marine ecology progress series*. Oldendorf, 22(3): 281-289.

Hasan AB, Kabir S, Selim Reza AHM, Nazim Zaman M, Ahsan A, Rashid M (2013) Enrichment factor and geo-accumulation index of trace metals in sediments of the ship breaking area of Sitakund Upazilla (Bhatiary–Kumira), Chittagong, Bangladesh. *J Geochem Explor* 125:130–137.

Hill WR, Larsen IL (2005) Growth Dilution of Metals in Microalgal Biofilms *Environmental Science & Technology* 39 (6), 1513-1518. DOI: 10.1021/es049587y

Hill WR, Bednarek AT, Larsen IL (1999) Cadmium sorption and toxicity in autotrophic biofilms. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 57(3): 530-537. DOI: 10.1139/f99-286

Holland AF, Zingmark RG, Dean JM (1974) Quantitative evidence concerning the stabilization of sediments by marine benthic diatoms. *Marine Biology* 27, 191–196 DOI: 10.1007/BF00391943

Hubas C, Jesus B, Passarelli C, Jeanthon C (2011) Tools providing new insight into coastal anoxygenic purple bacterial mats: Review and perspectives. *Research in microbiology* 162(9): 858-868.

Huerta-Diaz MA, Delgadillo-Hinojosa F, Siqueiros-Valencia A., Valdivieso-Ojeda JA, Reimer J, Segovia-Zavala JA (2012) Millimeter-scale resolution of trace metal distributions in microbial mats from a hypersaline environment in Baja California, Mexico. *Geobiology*, 10(6): 531-47. DOI: 10.1111/gbi.12008

Jang Am, Kim SM, Kim SY, Lee SG, Kim IS (2001) Effect of heavy metals (Cu, Pb, and Ni) on the compositions of EPS in biofilms. *Water science and technology: a journal of the International Association on Water Pollution Research* 43 (6): 41-8. DOI: 10.2166/WST.2001.0336

Jesus B, Brotas V, Ribeiro L, Mendes CR, Cartaxana P, Paterson DM (2009) Adaptations of microphytobenthos assemblages to sediment type and tidal position. *Continental Shelf Research* 29 (13): 1624–1634. DOI: 10.1016/j.csr.2009.05.006

Kazy SK, Sar P, Singh SP, Sen AK, D'souza S (2002) Extracellular polysaccharides of a copper-sensitive and a copper-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strain: synthesis, chemical nature and copper binding. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 18(6): 583-588.

Kehrig HA, Pinto FN, Moreira I, Malm O (2003) Heavy metals and methylmercury in a tropical coastal estuary and a mangrove in Brazil. *Org Geochem* 34:661–669.

Kelly-Gerreyn BA, Trimmer M, Hydes DJ (2001) A diagenetic model discriminating denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium in a temperate estuarine sediment. *Marine Ecology Progress Series* 220: 33-46.

Kühl M, Glud RN, Ploug H, Ramsing NB (1996) Microenvironmental control of photosynthesis and photosynthesis-coupled respiration in an epilithic cyanobacterial biofilm 1. *Journal of Phycology* 32(5): 799-812.

La Colla NS, Botté SE, Simonetti P, Negrin VL, Serra AV, Marcovecchio JE (2021) Water, sediments and fishes: First multi compartment assessment of metal pollution in a coastal environment from the SW Atlantic. *Chemosphere* 282: 131131. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2021.131131

Lebreton B, Rivaud A, Picot L, Prevost B, Barillé L, Sauzeau T, Pollack JB, Lavaud J (2019) From ecological relevance of the ecosystem services concept to its socio-political use. The case study of intertidal bare mudflats in the Marennes-Oléron Bay, France. *Ocean & Coastal Management* 172: 41-54.

Legge O, Johnson M, Hicks N, Jickells T, Diesing M et al. (2020) Carbon on the Northwest European Shelf: Contemporary budget and future influences. *Frontiers in marine science* 143(7): 1-23. DOI: 10.3389/fmars.2020.00143 Levinton 1995

López Abbate MC, de Cao MSB, Pettigrosso RE, Guinder VA, Dutto MS, Berasategui AA, Chazarreta CJ, Hoffmeyer MS (2016) Seasonal changes in microzooplankton feeding behavior under varying eutrophication level in the Bahía Blanca estuary (SW Atlantic Ocean). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 481: 25-33.

Louriño-Cabana B, Lesven L, Charriau A, Billon G, Ouddane B, Boughriet A (2011). Potential risks of metal toxicity in contaminated sediments of Deûle River in Northern France. *Journal of Hazardous Materials* 186(2-3), 2129–2137. DOI:10.1016/j.jhazmat.2010.12.124.

Ma J, Zhou B, Chen F, Pan K (2021) How marine diatoms cope with metal challenge: Insights from the morphotype-dependent metal tolerance in *Phaeodactylum tricorutum*. *Ecotoxicol Environ Saf.* 208: 111715. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2020.111715

Mai YZ, Peng SY, Lai ZN (2020) Structural and functional diversity of biofilm bacterial communities along the Pearl River Estuary, South China. *Regional Studies in Marine Science* 33, 100926. DOI: 10.1016/j.rsma.2019.100926

Maldonado J, de los Rios A, Esteve I, Ascaso C, Puyen ZM, Brambilla C, Solé A (2010) Sequestration and *in vivo* effect of lead on DE2009 microalga, using high-resolution microscopic techniques *Journal of Hazardous Materials* 183, 44–50. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2010.06.08

Mantzorou A, Ververidis F (2019) Microalgal biofilms: A further step over current microalgal cultivation techniques. *Science of the Total Environment* 651: 3187–3201. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.09.355

Marcovecchio J, Botté S, Delucchi F, Arias A, Fernandez Severini M, De Marco S, Tombesi N, Andrade S, Ferrer L, Freije H (2008) Pollution processes in Bahía Blanca estuarine environment. In: Neves R, Baretta JW, Mateus M (Eds.) Perspectives on integrated coastal zone management in South America (pp. 303–316). Lisbon: IST Press.

Marcovecchio JE, Andrade S, Ferrer LD, Asteasuain RO, De Marco SG, Gavio MA, Scarlato N, Freije RH, Pucci AE Mercury distribution in estuarine environments from Argentina: the detoxification and recovery of salt marshes after 15 years. *Wetlands Ecology and Management* 9(4): 317-322.

Marcovecchio JE, Botté SE, Fernández Severini MD (2016) Distribution and behavior of zinc in estuarine environments: An overview on Bahía Blanca estuary (Argentina). *Environmental Earth Sciences* 75(16): 1-16.

Martinez MV, Buzzi N, García F, Botté SE (2012) Dinámica de contaminantes inorgánicos en sedimentos intermareales en el estuario de Bahía Blanca. Libro de resúmenes VIII Jornadas Nacionales de Ciencias del Mar, XVI Coloquio de Oceanografía, p 87.

Mehrabi S, Ekanemesang UM, Aikhionbare FO, Kimbro KS, Bender J (2001) Identification and characterization of *Rhodopseudomonas* spp., a purple, non-sulfur bacterium from microbial mats. *Biomolecular engineering* 18(2): 49-56.

Méléder V, Savelli R, Barnett A, Polsenaere P, Gernez P, Cugier P, Lerouxel A, Le Bris A, Dupuy C, Le Fouest V, Lavaud, J (2020) Mapping the intertidal microphytobenthos gross primary production part I: coupling multispectral remote sensing and physical modeling. *Frontiers in Marine Science* 7: 520.

Mil-Homens M, Blum J, Canario J, Caetano M, Costa AM, Lebreiro SM, Trancoso M, Richter T, de Stigter H, Johnson M, Branco V, Cesario R, Mouro F, Mateus M, Boer W, Melo Z (2013) Tracing anthropogenic Hg and Pb input using stable Hg and Pb isotope ratios in sediments of the central Portuguese margin. *Chem Geol* 336:62–71.

Mohapatra BR, Gould WD, Dinardo O, Koren DW (2008) An overview of the biochemical and molecular aspects of microbial oxidation of inorganic sulfur compounds. *CLEAN—Soil, Air, Water* 36(10-11): 823-829.

Montagna PA, Blanchard GF, Dinét A (1995) Effect of production and biomass of intertidal microphytobenthos on meiofaunal grazing rates. *Journal of experimental marine biology and ecology* 185(2): 149-165.

Mouget JL, Perkins R, Consalvey M, Lefebvre S (2008) Migration or photoacclimation to prevent high irradiance and UV-B damage in marine microphytobenthic communities. *Aquatic Microbial Ecology* 52(3): 223-232.

Murray NJ, Keith DA, Bland LM, Ferrari R, Lyons MB, Lucas R, Pettorelli N, Nicholson E (2018) The role of satellite remote sensing in structured ecosystem risk assessments. *Science of the Total Environment* 619: 249-257.

Ndimele PE, Jimoh AA (2011) Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms.) in phytoremediation of heavy metal polluted water of Ologe lagoon, Lagos, Nigeria. *Res J Environ Sci* 5:424–433.

Negrin VL, de Villalobos AE, Trilla GG, Botté SE, Marcovecchio JE (2012) Above- and belowground biomass and nutrient pools of *Spartina alterniflora* (smooth cordgrass) in a South American salt marsh. *Chem Ecol* 28(4):391–404.

Neu TR (1994) Biofilms and microbial mats. In: Krumbein WE, Paterson D, Stal L (Eds.) *Biostabilization of sediments*

Noffke N (2010) *Microbial Mats in Sandy Deposits from the Archean Era to Today*. Springer-Verlag, Berlin.

Noffke N, Gerdes G, Klenke T, Krumbein WE (1997) A microscopic sedimentary succession of graded sand and microbial mats in modern siliciclastic tidal flats. *Sedimentary Geology* 110, 1-6.

Orazi MM, Arias AH, Oliva AL, Ronda AC, Marcovecchio JE (2020). Characterization of atmospheric and soil polycyclic aromatic hydrocarbons and evaluation of air-soil relationship in the Southwest of Buenos Aires province Argentina. *Chemosphere* 240: 124847. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2019.124847

Paerl HW, Pinckney JL (1996) A Mini-review of Microbial Consortia: Their roles in aquatic production and biogeochemical cycling. *Microb Ecol* 31: 225-247.

Pan J, Bournod CN, Cuadrado DG, Vitale A, Piccolo MC (2013a) Interaction between estuarine microphytobenthos and physical forcings: the role of atmospheric and sedimentary factors. *International Journal of Geosciences* 4 (2): 352-361. DOI:10.4236/ijg.2013.42033

Pan J, Bournod CN, Pizani NV, Cuadrado DG, Carmona NV (2013b) Characterization of microbial mats from a siliciclastic tidal flat (Bahía Blanca Estuary, Argentina). *Geomicrobiology Journal* 30, 665-674.

Pan K; Wang WX (2013) Trace metal contamination in estuarine and coastal environments in China. *Science of the Total Environment*, 421-422, 3–16. DOI:10.1016/j.scitotenv.2011.03.013

Passarelli C, Meziane T, Thiney N, Boeuf D, Jesus B, Ruivo M, Jeanthon C, Hubas C (2005) Seasonal variations of the composition of microbial biofilms in sandy tidal flats: Focus of fatty acids, pigments and exopolymers. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, Elsevier 153: 29-37. DOI: 10.1016/j.ecss.2014.11.013

Paterson DM, Black KS (1999) Water flow, sediment dynamics and benthic biology. *Advances in ecological research* 29: 155-193.

Paterson DM, Crawford RM and Little C (1990) Subaerial exposure and changes in the stability of intertidal estuarine sediments. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 30:541-556.

Peng SH, Wang WX, Li X, Yen YF (2004) Metal partitioning in river sediments measured by sequential extraction and biomimetic approaches. *Chemosphere* 57(8): 839-851.

Pereira S, Micheletti E, Zille A, Santos A, Moradas-Ferreira P, Tamagnini P, De Philippis R (2011) Using extracellular polymeric substances (EPS)-producing cyanobacteria for the bioremediation of heavy metals: do cations compete for the EPS functional groups and also accumulate inside the cell? *Microbiology*. 157(2):451-458. DOI: 10.1099/mic.0.041038-0.

Pereira S, Zille A, Micheletti E, Moradas-Ferreira P, De Philippis R, Tamagnini P (2009) Complexity of cyanobacterial exopolysaccharides: composition, structures, inducing factors, and putative genes involved in their biosynthesis and assembly. *FEMS Microbiol Rev* 33, 917–941.

Perillo GME (1995) Definitions and geomorphologic classifications of estuaries. In *Developments in sedimentology* 53: 17-47.

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

Perillo GME, Piccolo MC (1999) Geomorphologic and physical characteristics of the Bahía Blanca Estuary. Argentina. In: Perillo GME, Piccolo MC, Pino Quivira M (Eds.) *Estuaries of South America: their geomorphology and dynamics Environmental Science Series*. Springer, Berlín, pp 195–216. ISBN 3-540-65657-X

Perillo GME, Piccolo MC (1999) Geomorphological and Physical Characteristics of the Bahía Blanca Estuary, Argentina. En: Perillo GME., Piccolo MC, Pino-Quivira M (Eds.) *Estuaries of South America. Environmental Science*. Springer, Berlin, Heidelberg. DOI: 10.1007/978-3-642-60131-6_9

Perillo GME, Piccolo MC, Parodi E, Freije RH (2001) The Bahía Blanca Estuary, Argentina. In Seeliger U, Kjerfve B (Eds.) *Coastal Marine Ecosystems of Latin America, Ecological Studies* 144, Springer, Berlin pp 205-217.

Perillo GME, Syvistki J, Amos C, Depetris P, Milliman J, Pejrup M, Saito Y, Snoussi M, Wolanski E, Zajaczkowski M, Stallard R (2007) Estuaries and the sediments: How they deal with each other. *INPRINT* 3: 3-5.

Phillips P, Bender J (1995) Biological remediation of mixed waste by microbial mats. *Federal Facilities Environmental Journal* 6(3): 77-85.

Phillips P, Bender J, Simms R, Rodriguez-Eaton S, Britt C (1994) Manganese and iron removal from coal mine drainage by use of a green algae-microbial mat consortium. In *Proceedings from the National Meetings of the American Society of Mining and Reclamation* 99-108.

Phillips P, Bender J, Simms R, Rodriguez-Eaton S, Britt C (1995). Manganese removal from acid coal-mine drainage by a pond containing green algae and microbial mat. *Water Science and Technology* 31(12): 161-170.

Piccolo MC, Perillo GME, Melo WD (2008) The Bahía Blanca estuary: an integrated overview of its geomorphology and dynamics. In: Neves R, Barreta J, Mateus M (Eds.) *Perspectives on integrated coastal zone management in South America*. IST Press Lisbon, Portugal, pp 219-229.

Pierini JO, Streitenberger ME, Baldini MD (2012) Evaluation of faecal contamination in Bahía Blanca estuary (Argentina) using a numerical model *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 47 (2): 193-202. ISSN-e 0717-3326.

Piovan MJ (2016) Controles geomorfológicos sobre la presencia y estructura de humedales costeros en el estuario de Bahía Blanca. Tesis doctoral, Universidad Nacional del Sur.

Pizani NV (2008) Valorización de las interacciones microfítobentos – sedimentos en planicies de marea impactadas por el dragado hidráulico. Tesis doctoral, Universidad Nacional del Sur.

Pourret O, Bollinger JC (2018) “Heavy metal”- What to do now: To use or not to use? *Science of the total environment*, 610-611: 419-420. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.08.043

Prasad MNV, Freitas H, Pratas J (2005) Metal tolerant plants and biodiversity prospecting to promote phytotechnologies for cleanup of metals in the environment. *Trace elements in the environment: Biogeochemistry, Biotechnology and Bioremediation*. Vol CRC Press, USA, 483-506.

Pratolongo P, Leonardi N, Kirby JR, Plater A (2019) Temperate coastal wetlands: Morphology, sediment processes, and plant communities. In *Coastal Wetlands* (pp. 105-152). Elsevier.

Pratolongo P, Mazzon C, Zapperi G, Piován MJ, Brinson MM (2013) Land cover changes in tidal salt marshes of the Bahía Blanca estuary (Argentina) during the past 40 years. *Estuarine Coastal and Shelf Science* 133: 23 – 23.

Pratolongo PD, Piovan MJ, Cuadrado DG (2016) Coastal Environments in the Bahía Blanca Estuary, Argentina. In: Khan M, Boër B, Öztürk M, Clüsener-Godt M, Gul B, Breckle SW (Eds.) Sabkha Ecosystems. Tasks for Vegetation Science, vol 48. Springer, Cham. DOI: 10.1007/978-3-319-27093-7_10

Prieto-Barajas CM, Valencia-Cantero E, Santoyo G (2015) Microbial mat ecosystems: Structure types, functional diversity, and biotechnological application. *Electronic Journal of Biotechnology* 31: 48-56. DOI: 10.1016/j.ejbt.2017.11.001

Puyen ZM, Villagrasa E, Maldonado J, Diestra E, Esteve I, Solé A (2012) Biosorption of lead and copper by heavy-metal tolerant *Micrococcus luteus* DE2008. *Bioresource Technology* 126, 233–237. DOI: 10.1016/j.biortech.2012.09.036.

Reddy KR, DeLaune RD (2008) Biogeochemistry of wetlands: science and applications. CRC Press, Boca Raton, p 744.

Reinfelder JR, Chang SI (1999). Speciation and microalgal bioavailability of inorganic silver. *Environmental science & technology* 33(11): 1860-1863.

Rhoads DC, Young DK (1971) Animal-sediment relations in Cape Cod Bay, Massachusetts II. Reworking by *Molpadia oolitica* (Holothuroidea). *Marine Biology* 11(3): 255-261.

Ribbe J (2006) A study into the export of saline water from Hervey Bay, Australia. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 66(3-4): 550-558.

Riding R (2000) Microbial carbonates: The geological record of calcified bacterial–algal mats and biofilms. *Sedimentology* 47: 179-214.

Rijstenbil JW (2005) UV-and salinity-induced oxidative effects in the marine diatom *Cylindrotheca closterium* during simulated emersion. *Marine biology* 147(5): 1063-1073.

Rossi F y De Phillipis, R (2015) Role of cyanobacterial exopolysaccharides in phototrophic biofilms and in complex microbial mats. *Life* 5(2): 1218-1238. DOI: 10.3390/life5021218

Salomons W, Förstner (1984) *Metales in the hydrocycle*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 349 pp.

Shepard FP (1954) Nomenclature Based on Sand-Silt-Clay Ratios. *Journal of Sedimentary Petrology*, 24: 151-158.

Schlekat C, Decho A, Chandler T (1998) Sorption of cadmium to bacterial extracellular polymeric sediment coatings under estuarine conditions. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17(9): 1867–1874. DOI: 10.1002/etc.5620170930

Schlekat C, Decho A, Chandler T (1999) Dietary assimilation of cadmium associated with bacterial exopolymer sediment coatings by the estuarine amphipod *Leptocheirus plumulosus*: effects of Cd concentration and salinity. *Marine ecology progress series* 183: 205-216. DOI: 10.3354/meps183205

Schlekat C, Decho A, Chandler T (2000) Bioavailability of particle-associated silver, cadmium, and zinc to the estuarine amphipod *Leptocheirus plumulosus* through dietary ingestion. *Limnol. Oceanogr.* 45(1): 11–21. DOI: 10.4319/lo.2000.45.1.0011

Schultze-Lam S, Fortin D, Davis BS, Beveridge TJ (1996) Mineralization of bacterial surfaces. *Chemical Geology* 132, 171-181.

Seder-Colomina M, Burgos A, Maldonado J, Solé A, Esteve I (2013) The effect of copper on different phototrophic microorganisms determined in vivo at cellular level by confocal laser microscopy. *Ecotoxicology* 22(1):199–205.

Serra AV, Botté SE, Cuadrado DG, La Colla NS, Negrin VL (2017) Metals in Tidal Flats Colonized by Microbial Mats within a South-American Estuary (Argentina). *Environmental Earth Sciences* 76:1–10. DOI: 10.1007/s12665-017-6577-x

Shine JP, Ika R, Ford TE (1998) Relationship between oxygen consumption and sediment water fluxes of heavy metals in coastal marine sediments. *Environ Toxicol Chem.* 17(11): 2325–2337.

Siegesmund MA, Johansen JR, Karsten U, Friedl T (2008) *Coleofasciculus* Gen. Nov (Cyanobacteria): morphological and molecular criteria for revision of the Genus *Microcoleus* Gomont. *J Phycol.* 44: 1572-1585.

Simonetti P, Botté SE, Marcovecchio J (2017) Occurrence and spatial distribution of metals in intertidal sediments of a temperate estuarine system (Bahía Blanca, Argentina). *Environmental Earth Sciences* 76: 636. DOI: 10.1007/s12665-017-6975-0

So AKC, Espie GE (2005) Cyanobacterial carbonic anhydrases. *Canadian Journal of Botany*, 83(7): 721-734. DOI: 10.1139/b05-057

Stal LJ (2010) Microphytobenthos as a biogeomorphological force in intertidal sediment stabilization. *Ecological Engineering*, 36: 236-245.

Soil Survey Staff 1999, *Soil Taxonomy A basic system of soil classification for making and interpreting soil surveys*; 2da edición. Agricultural Handbook 436; Natural Resources Conservation Service, USDA, Washington DC, USA, pp. 869

Spetter CV, Popovich CA, Arias A, Asteasuain RO, Freije RH, Marcovecchio JE (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* 31(1): 76-87.

Stal LJ (2000) Cyanobacterial mats and stromatolites. En: Whitton BA, Potts M (Eds.) *The ecology of cyanobacteria. Their diversity in time and space*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 61–120, 669 pp.

Stevenson FJ (1994) *Humus chemistry: Genesis, composition, reactions*. Wiley, New York.

Stolz J (2000) Structure of microbial mats and biofilms. In: Riding R, Awramik S (Eds.) *Microbial sediments*. Springer-Verlag, Berlin

Stoodley P, Sauer K, Davies DG, Costerton JW (2002) Biofilms as complex differentiated communities. *Annu Rev Microbiol* 56: 187-209. DOI: 10.1146/annurev.micro.56.012302.160705

Streitenberger ME, Baldini MD (2016) Aporte de los efluentes a la contaminación fecal del estuario de Bahía Blanca. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 32(2): 243-248. DOI: 10.20937/RICA.2016.32.02.10

Subashchandrabose SR, Ramakrishnan B, Megharaj M, Venkateswarlu K, Naidu R (2011) Consortia of cyanobacteria/microalgae and bacteria: Biotechnological potential. *Biotechnology Advances* 29 (6): 896–907. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2011.07.009

Sundbäck K, Miles A, Goransson E (2000). Nitrogen fluxes, denitrification and the role of microphytobenthos in microtidal shallow-water sediments: an annual study. *Marine Ecology Progress Series* 200: 59–76. DOI: 10.3354/meps200059.

Sutherland IW (2001) The biofilm matrix—an immobilized but dynamic microbial environment. *Trends Microbiol* (9): 222-227. DOI: 10.1016/s0966-842x(01)02012-1

Suzuki Y, Takahashi M (1995) Growth responses of several diatom species isolated from various environments to temperature. *Journal of Phycology* 31(6), 880-888.

Sylaios G, Koutrakis E, Kallianiotis A (2006) Hydrographic variability, nutrient distribution and water mass dynamics in Strymonikos Gulf (Northern Greece). *Continental Shelf Research* 26(2), 217-235.

Tonatiuh Sánchez Palacios J, Torres-Alvarado MR (2005) Estructura y aspectos biotecnológicos de las comunidades acuáticas microbianas: biopelículas y tapetes microbianos. *ContactoS* 58, 63–71.

Truchet DM, Buzzi NS, Negro CL, Mora MC, Marcovecchio JE (2021) Integrative assessment of the ecological risk of heavy metals in a South American estuary under human pressures. *Ecotoxicological and environmental safety* 208, 111498. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2020.111498

Underwood GJ (2010) Microphytobenthos and phytoplankton in the Severn estuary, UK: present situation and possible consequences of a tidal energy barrage. *Marine Pollution Bulletin* 61(1-3), 83-91.

Underwood GJC, Kromkamp JC (1999). Primary production by phytoplankton and microphytobenthos in estuaries. *Advances in Ecological Research* 29: 93-153. DOI: 10.1016/S0065-2504(08)60192-0

Underwood GJC, Paterson DM (2003) The Importance of Extracellular Carbohydrate Production by Marine Epipellic Diatoms. *Advances in Botanical Research* 40:183-240.

Van Breemen N (1982) Genesis, morphology and classification of acid sulphate soils in coastal plains. En: Kittrick JA, Fanning DS, Hossner LR (Eds.) Acid sulphate weathering. Special Publication. Soil Science Society of America, Madison (10) pp 95–108. DOI: 10.2136/sssaspecpub10.c6

Van Colen C, Montserrat F, Vincx M, Herman PM, Ysebaert T, Degraer S (2010) Long-term divergent tidal flat benthic community recovery following hypoxia-induced mortality. *Marine Pollution Bulletin* 60(2), 178-186.

Van de Koppel J, Herman PM, Thoolen P, Heip CH (2001). Do alternate stable states occur in natural ecosystems? Evidence from a tidal flat. *Ecology* 82(12): 3449-3461.

Van Gernerden H (1983) Physiological ecology of purple and green bacteria. In *Annales de l'Institut Pasteur/Microbiologie* 134 (1), pp. 73-92). Elsevier Masson. DOI: 10.1016/S0769-2609(83)80098-2

Vermaas WFJ (2001) Photosynthesis and Respiration in Cyanobacteria. En eLS; American Cancer Society: Atlanta, GA, USA, 2001.

Visscher PT, Stolz JF (2005) Microbial mats as bioreactors: populations, processes, and products. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 219:, 87–100.

Walter MR (1976) Geyserytes of Yellowstone National Park: An example of abiogenic “stromatolites”. In *Developments in Sedimentology* 20: 87-112.

Waring J, Baker N, Underwood G (2007) Responses of estuarine intertidal microphytobenthic algal assemblages to enhanced ultraviolet B radiation. *Global Change Biology* 13: 1398-1413. DOI:10.1111/J.1365-2486.2007.01378.X

Webster-Brown JG, Webster KS (2007) Trace metals in cyanobacterial mats, phytoplankton and sediments of the Lake Vanda region Antarctica. *Antarct Sci* 19(3):311–319. DOI: 10.1017/S0954102007000417

Wentworth, C.K. (1922) A Scale of Grade and Class Terms for Clastic Sediments. *Journal of Geology*, 30, 377-392.

Widdows J, Blauw A, Heip CHR, Herman PMJ, Lucas CH, Middelburg JJ, Schmidt, S, Brinsley MD, Twisk F, Verbeek H (2004) Role of physical and biological processes in sediment dynamics of a tidal flat in Westerschelde Estuary, SW Netherlands. *Marine Ecology Progress Series* 274: 41-56.

Widerlund A (1996) early diagenetic remobilization of copper in near-shore marine sediments: a quantitative pore-water model. *Mar Chem* 54:41–53.

Wingender J, Neu TR, Flemming HC (1999) What are bacterial extracellular polymeric substances? In *Microbial extracellular polymeric substances* (pp. 1-19). Springer, Berlin, Heidelberg.

Zamora-Castro J, Paniagua-Michel J, Lezama-Cervantes C (2008). A novel approach for bioremediation of a coastal marine wastewater effluent based on artificial microbial mats. *Marine biotechnology* 10(2):181-9.

Zapperi G, Piován MJ, Pratolongo P (2018) Community Structure and Spatial Zonation of Benthic Macrofauna in Mudflats of the Bahía Blanca Estuary, Argentina. *Journal of Coastal Research* 3(2): 318-327. DOI: 10.2112/JCOASTRES-D-17-00016.1

Zobell CE (1943) The effect of solid surfaces upon bacterial activity. *J. Bacteriol.* 46:39–56.

ANEXO

Puerto Rosales (PR)

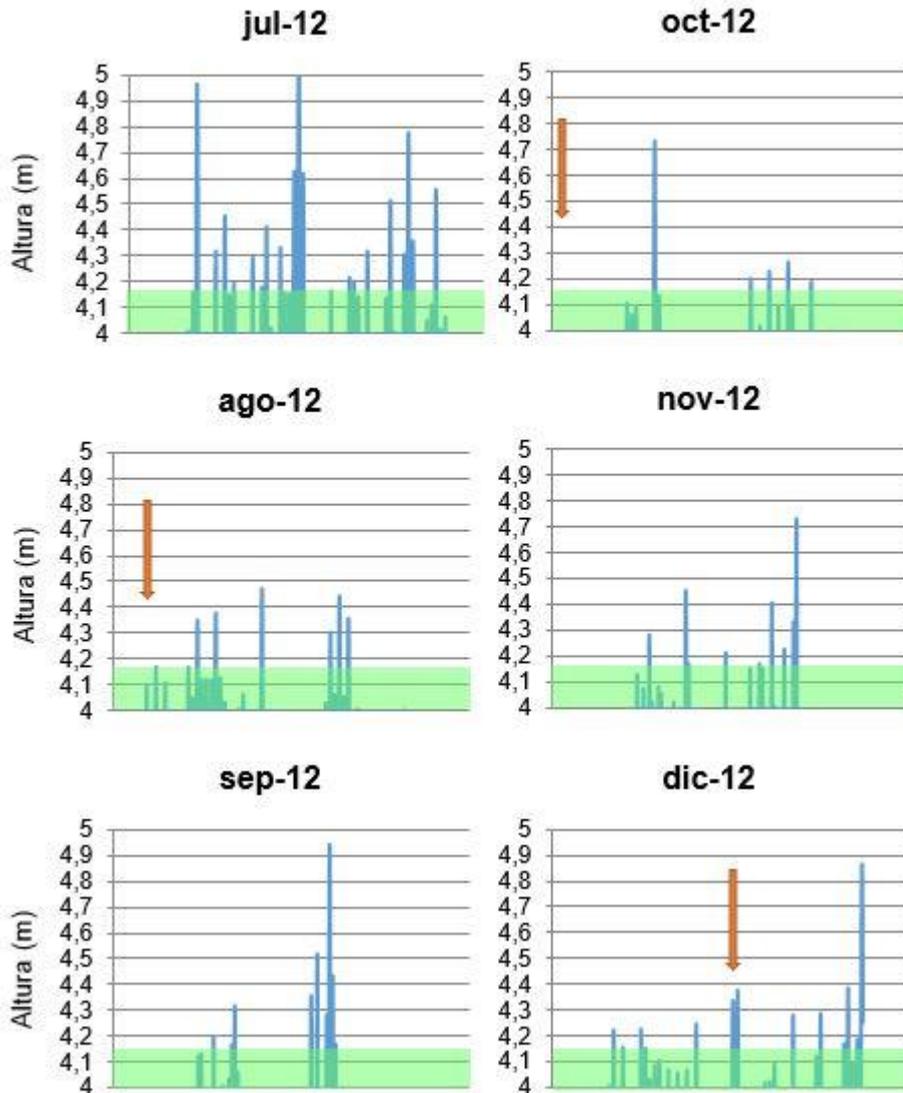


Figura 49. Registro de mareas del sitio Puerto Rosales (PR). La banda verde demarca la altura topografica a la cual se encuentran las zonas A y B (zA y zB). Las flechas indican la fecha de campaña (continúa en la próxima página).

Puerto Rosales (PR)

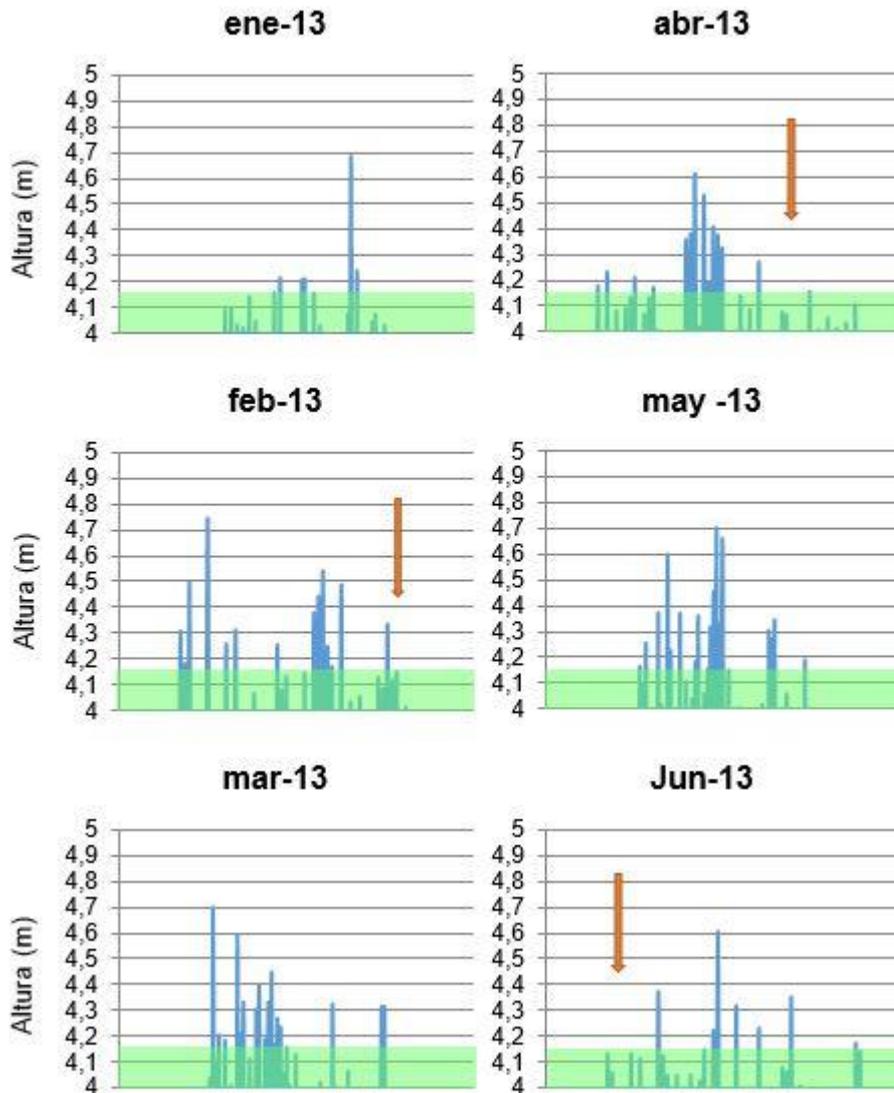


Figura 49. Registro de mareas del sitio Puerto Rosales (PR). La banda verde demarca la altura topografica a la cual se encuentran las zonas A y B (zA y zB). Las flechas indican la fecha de campaña.

Almirante Brown (AB)

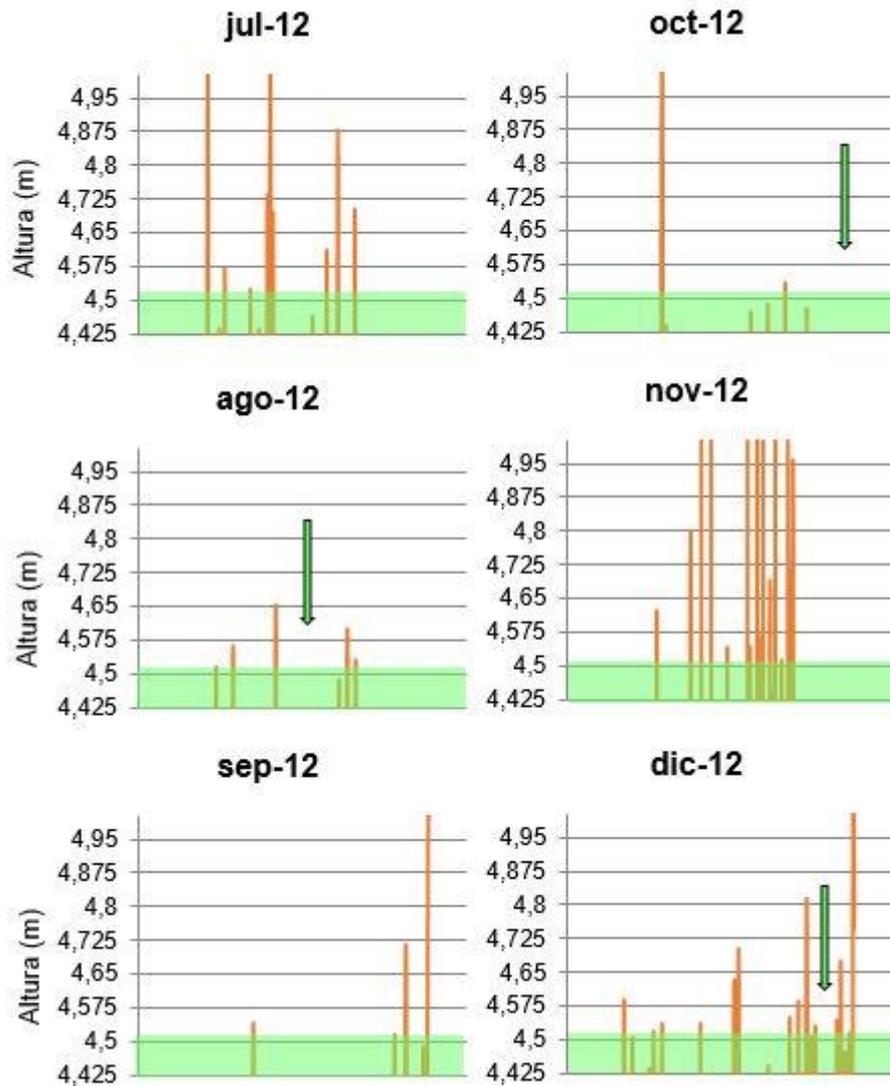


Figura 50. Registro de mareas del sitio Almirante Brown (AB). La banda verde demarca la altura topografica a la cual se encuentran las zonas A y B (zA y zB). Las flechas indican la fecha de campaña (continúa en la próxima página).

Almirante Brown (AB)

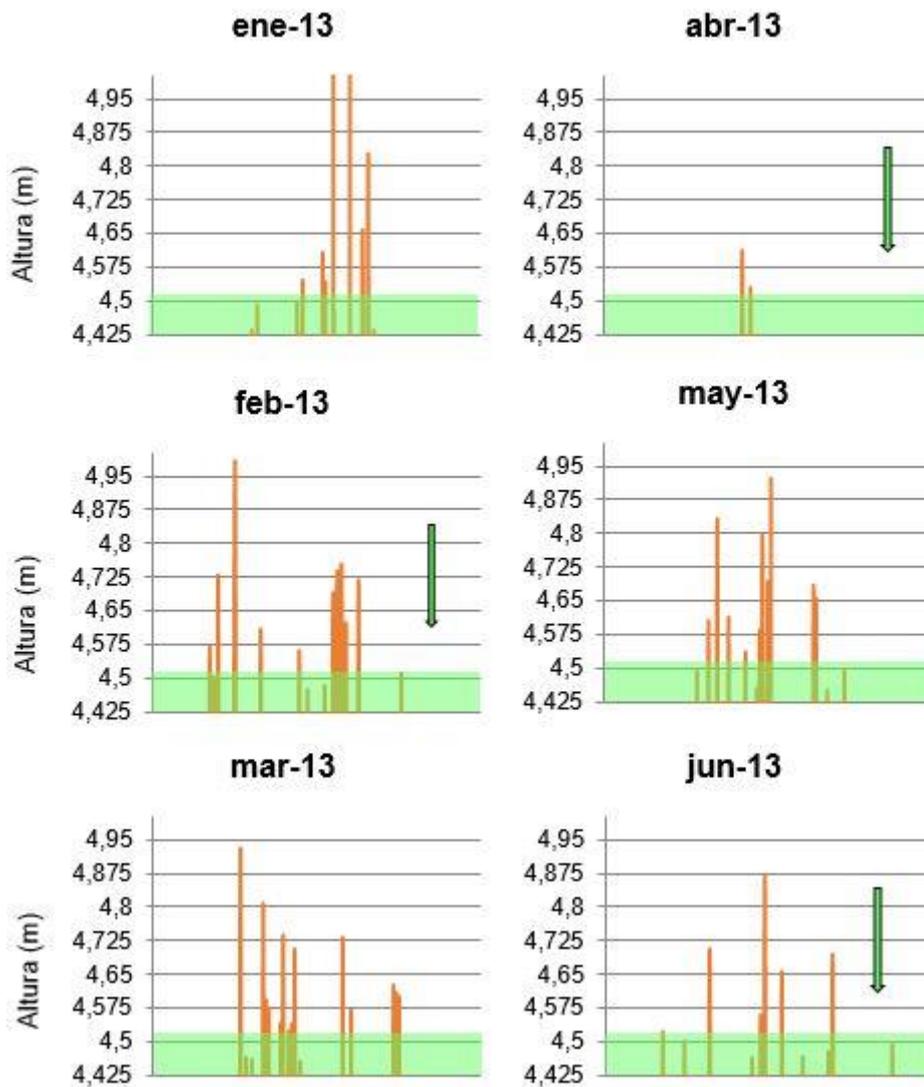


Figura 50. Registro de mareas del sitio Almirante Brown (AB). La banda verde demarca la altura topografica a la cual se encuentran las zonas A y B (zA y zB). Las flechas indican la fecha de campaña.