



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

Tesis Doctor en Química

**IDENTIFICACIÓN, CUANTIFICACIÓN Y DINÁMICA DE
LA MATERIA ORGÁNICA DISUELTA EN ZONAS
FRONTERALES DEL ATLÁNTICO SUDOCCIDENTAL.**

Qco. John Edison Garzón Cardona

BAHÍA BLANCA

ARGENTINA

2016

PREFACIO

Esta tesis se presenta como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Doctor en Química, de la Universidad Nacional del Sur y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad u otra. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en el ámbito del Departamento de Química, el periodo comprendido entre el 01 de Agosto de 2010 y de Febrero de 2016, bajo la dirección del Dr. Rubén José Lara (Instituto Argentino de Oceanografía, IADO) y Dr. Rubén Hugo Freije (Departamento de Química, UNS).

John E. Garzón Cardona



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

Secretaria General de Posgrado y Educación Continua

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

A mi familia y a Dios

RESUMEN:

El rol de la materia orgánica disuelta (DOM) en el ambiente marino como fuente o sumidero global de carbono es comprendido sólo parcialmente. Si bien la DOM representa una cantidad de carbono aproximadamente diez veces mayor que la materia orgánica particulada (POM), su estudio ha sido frecuentemente relegado por dificultades metodológicas. Sin embargo el avance en las técnicas y metodologías ha permitido el estudio de su distribución y fuentes en diferentes ambientes, y recientemente, se ha comenzado a conocer cuál es la distribución y rol de la DOM en la plataforma Argentina.

El objetivo general de esta tesis es profundizar en el conocimiento del origen y la composición de la DOM en el ambiente pelágico del Mar Argentino, en particular en sectores de alta producción biológica nueva o regenerada o influenciados por aportes continentales, con gradientes espaciales que cubren diferentes estados tróficos de aguas estuarinas y oceánicas como lo son las zonas de El Rincón y estuarios fríos de la Patagonia Atlántica.

Durante el desarrollo de la tesis doctoral, fue un punto de particular importancia la caracterización química y de patrones de fluorescencia de la DOM con la determinación de aminoácidos, carbohidratos y propiedades ópticas en ambas regiones de muestreo, utilizando métodos de separación y cuantificación como HPLC y espectrometría. Se utilizaron técnicas de biología molecular para estudiar la estructura de la comunidad bacteriana como hibridación *in situ* con sondas fluorescentes y adicionalmente, determinación de isótopos estables de nitrógeno con el propósito de determinar las fuentes de la DOM y posible dinámica de la zona.

Tras efectuar estas investigaciones, en la zona de El Rincón y transición, se llevó a cabo el estudio de la correlación de la estructura de la comunidad bacteriana y la abundancia del fitoplancton con cambios en la composición química de la materia orgánica disuelta. Se ha encontrado que

el principal componente de la fracción químicamente caracterizada está constituido por los aminoácidos, en primavera y carbohidratos en otoño; en ambas estaciones del año la fracción no caracterizada de la DOM contiene una alta proporción de carbono indicando una posible acumulación del mismo con características refractarias en una zona regenerativa como El Rincón. Esto es apoyado por las propiedades de la DOM fluorescente (FDOM) e índices derivados que nos indica un predominio de DOM con propiedades húmicas, especialmente en la zona de El Rincón.

Mediante la aplicación de métodos estadísticos multivariados y correlaciones entre variables se estableció la relación entre la composición química y fluorescente de DOM, con la comunidad planctónica y aportes alóctonos, ya que se observó una afinidad de las *betaproteobacterias* por la DOM alóctona con características refractarias y la asociación de DOM autóctona de propiedades proteínicas con las *alproteobacterias* y *citófagas/flavobacterias*. Estos patrones sugieren un primer camino de origen, transformación y remineralización de la materia orgánica disuelta en el área de El Rincón.

Finalmente, en el extremo sur de la plataforma argentina, las señales biogeoquímicas investigadas en la conexión del Pacífico-Atlántico presentan las siguientes tendencias. Entre los componentes disueltos, el carbono orgánico con características terrestres y la concentración de amonio mostraron una distribución espacial muy influenciada por la entrada de agua dulce del SE del Pacífico a través de la conexión con el Atlántico por la corriente del Cabo de Hornos, canal Beagle y probablemente también de fuentes continentales de Tierra del Fuego. A su vez, la distribución de nitrato, fosfato y silicato en la región mostró una fuerte influencia de la contribución de las aguas ricas en nutrientes de la Corriente Circumpolar Antártica. Además se pudo establecer que los valores positivos de $\delta^{15}\text{N}$ en el sector estudiado parecen excluir la entrada significativa de amonio al Atlántico por medio de la deposición húmeda en el SE del Pacífico, favoreciendo más bien la contribución de este nutriente por escorrentía continental.

ABSTRACT:

Only partially is understood the roll of Dissolved Organic Matter (DOM) in the marine environment as a global source or sink for carbon, even having in mind that it contributes in approximately ten times more of carbon´s content than the particulate form (POM), its study was frequently relegated for methodological reasons. Improvements in techniques and methodologies have conducted to a better knowledge on its distribution and sources in different environments, and recently in the Argentine Continental Shelf.

The general aim of this thesis work was to access the origin and composition of the Dissolved Organic Matter in the pelagic environment in the Argentinian Sea, particularly in regions of high biological production – both new and regenerated - or land-derived sources, having spatial concentration gradients and including diverse trophic states of estuarine and oceanic waters as El Rincon zone and cold estuarine regions of the Atlantic Patagonia.

An important focal point in the development of this work was the chemical characterization and the identification of fluorescence patterns of DOM, with the determination of amino acids, carbohydrates and optical properties in both sampling areas, by using separation and quantification methods as HPLC and spectrometry. Molecular biology techniques were applied to the sltudy of the bacterial community structure, such as in situ hybridation with fluorescent probes and additionally nitrogen stable isotopes determination with de aim of access on the sources and possible dynamics of DOM in the area.

After this studies, in the El Rincón and Transition zones, the bacterial community structure and phytoplankton abundance were correlated with changes in the chemical composition of dissolved organic matter. In this sense, it was defined that the principal component of the chemically characterized fraction was amino acids contents in spring and carbohydrates

in autumn. During both seasons the non-characterized fraction of DOM contains a high proportion of carbon, indicating, a possible accumulation of refractory forms in a regenerative region as El Rincon. This is in agreement with fluorescent (FDOM) properties of DOM and derived index showing a dominance of organic matter having humic properties in such a region.

By application of multivariate statistical methods and correlation among variables, it was established a relationship between chemical and fluorescence composition of DOM and planktonic community, and allochthonous sources, through an affinity of betaproteobacteriae and allochthonous DOM with refractory characteristics and also by the association of authochthonous DOM with proteinic properties and alproteobacteriae and citofagues/flavobacteriae. These kind of patterns suggest a first way about origin, transformation and remineralization of dissolved organic matter in the El Rincón area.

Finally, in the southermost part of the Argentinian shelf, studied biogeochemical signals in the Pacific-Atlantic connection show the following trends: Among dissolved components, organic carbon with terrestrial characteristics and ammonia concentrations show a spatial distribution with a dominance of freshwater arriving from de Ocean through the Cape Horn current, the Beagle Channel and may be by runoff of continental sources in Tierra del Fuego island. By the other side, nitrate, phosphate and silicate distribution in the region presents a strong influence of the nutrient rich waters of the Circumpolar Antarctic Current. Furthermore, it was established that positive values in $\delta^{15}\text{N}$ in the studied sector seems to exclude a significant arrival of ammonia to the Atlantic through wet deposition in the South-East Pacific, favouring instead the contribution of this nutrient by continental surface runoff.

ÍNDICE GENERAL

CAPÍTULO 1: *Introducción general*

1. Introducción	1
2. Caracterización de la fracción fluorescente de la DOM	4
3. Composición química de la DOM	6
3.1. Principales componentes de la DOM	6
3.1.1. Carbohidratos disueltos	6
3.1.2. Aminoácidos disueltos	6
4. Relación entre la composición de la DOM y la estructura de la comunidad bacteriana	10
5. Hipótesis	14
6. Objetivo General	15
7. Objetivos específicos	15

CAPÍTULO 2: *Materiales y métodos*

1. Área de estudio y sitios de muestreo	16
2. Metodología de trabajo	18
2.1. Parámetros Físicos	19
2.2. Fracción disuelta	19
2.2.1. Carbono orgánico disuelto	19
2.2.2. Caracterización de la FDOM	19
2.2.3. Cuantificación de aminoácidos disueltos	20
2.2.4. Cuantificación de carbohidratos disueltos	21
2.2.5. Fracción químicamente caracterizada disuelta	22
2.2.6. Nutrientes Inorgánicos	23
2.2.6.1. Amonio	23
2.2.6.2. Fosfato	23
2.2.6.3. Silicato	24
2.2.6.4. Nitrito	24
2.2.6.5. Nitrato	24
2.3. Fracción Particulada	24
2.3.1. Pigmentos	24

2.3.2.	Isotopos estables de nitrógeno 15	25
2.4.	Abundancia y composición de la comunidad bacteriana	26
3.	Cálculos y Análisis estadísticos	27
3.1.	Estimación del índice de degradación	27
3.2.	Análisis multivariado	28

CAPÍTULO 3: *Aminoácidos, carbohidratos disueltos y propiedades de DOM: patrones espaciales en aguas superficiales de las regiones sudbonaerense y norpatagónica*

1.	Resumen	29
2.	Hipótesis y objetivos	31
3.	Área de estudio y sitio de muestreo	32
4.	Resultados y discusión	33
4.1.	Características Hidrográficas	33
4.2.	Clorofila-a y Feopigmentos	35
4.3.	Composición y concentración de TDCHO	37
4.4.	Composición y concentración de TDAA	40
4.5.	Índice de degradación	45
4.6.	Composición química de la DOM	48
4.7.	Asociación entre las estaciones de muestreo en función de las propiedades químicas y físicas de la zona.	51
5.	Conclusiones	58

CAPÍTULO 4: *Distribución de la materia orgánica disuelta y su relación con la estructura de la comunidad bacteriana en El Rincón*

1.	Resumen	60
2.	Hipótesis y objetivos	62
3.	Área de estudio y sitio de muestreo	63
4.	Resultados y discusión	64
4.1.	Características Hidrográficas	64
4.2.	Caracterización de la FDOM y nutrientes inorgánicos	65
4.2.1.	FDOM	65

4.2.2.	Índices de fluorescencia	69
4.2.3.	Nutrientes Inorgánicos	71
4.3.	Asociación entre las estaciones de muestreo en función de las características de FDOM y nutrientes inorgánicos	73
4.4.	Composición química de la DOM	77
4.4.1.	Composición y concentración de TDCHO	77
4.4.2.	Composición y concentración de TDAA	80
4.4.3.	Índice de degradación	84
4.4.4.	Composición química de la DOM	85
4.5.	Variables biológicas	88
4.5.1.	Clorofila-a y feopigmentos	88
4.5.2.	Composición y abundancia de los principales grupos de bacterias	89
4.6.	Dinámica biogeoquímica en la zona de El Rincón	92
4.6.1.	Correlaciones entre las propiedades químicas-ópticas de la DOM y nutrientes inorgánicos	93
4.6.2.	Correlaciones entre Comunidad Bacteriana y propiedades químicas-ópticas de la DOM	95
4.6.3.	Correlación entre los aminoácidos específicos de TDAA, clorofila-a y comunidad bacteriana	98
5.	Conclusiones	100

CAPÍTULO 5: *Conexión Pacífico-Atlántico: señales biogeoquímicas en el extremo sur de la Plataforma Argentina*

1.	Resumen	102
2.	Hipótesis y objetivos	104
3.	Área de estudio y sitio de muestreo	105
4.	Resultados y discusión	106
4.1.	Características hidrográficas	107
4.2.	Distribución y relación entre los nutrientes inorgánicos y salinidad	108
4.3.	Distribución y relación entre FDOMc, HIX, DOC y la salinidad	111
4.4.	Distribución de Clo-a y $\delta^{15}\text{N}$ y las relaciones con los nutrientes	113

4.5. Distribución y de relación entre los nutrientes inorgánicos, DOM, Clo-a y $\delta^{15}\text{N}$	116
5. Conclusiones	117
CONCLUSIONES GENERALES	118
BIBLIOGRAFÍA	120
ANEXO	134
AGRADECIMIENTOS	139

ÍNDICE DE TABLAS

- Capítulo 1:**
- Tabla I.** Longitudes de onda de excitación y emisión, nomenclatura empleada para identificar las señales y tipo de compuesto asociado. **p 5**
 - Tabla II.** Composición y estructura química de aminoácidos naturales. **p 9**
- Capítulo 2:**
- Tabla I.** Gradiente de la fase móvil en el análisis de los aminoácidos por HPLC. A%=Buffer de Acetato de Sodio, B%=Metanol. **p 21**
 - Tabla II.** Coeficiente de cada aminoácido. Los valores se derivan de los resultados de análisis de componentes principales de Dauwe et al. (1999). **p 27**
- Capítulo 3:**
- Tabla I.** Coeficientes de correlación de Pearson entre los % mol de aminoácidos específicos de TDAA en las dos compañías oceanográficas y sus respectivos ID. **p 48**
 - Tabla II.** Análisis del porcentaje de similitud (SIMPER) en El Rincón. Composición química de DOM y variables físicas explican más del 90% de similitud en cada grupo formado a partir del análisis de agrupamientos. **p 54**
 - Tabla III.** Análisis de similitudes (ANOSIM) de los diferentes grupos formados en El Rincón. **p 55**
 - Tabla IV.** Análisis del porcentaje de similitud (SIMPER) en El Rincón-Golfo San Jorge. Composición química de DOM y variables físicas explican más del 90% de similitud en cada grupo formado a partir del análisis de agrupamientos. **p 57**

Capítulo 4:

Tabla I. Identificación de señales, compuestos asociados, concentraciones promedio de todas las estaciones y contribuciones porcentuales al total de FDOM (se definen como la suma de la señal fluorescente de cada fluoróforo). **p 66**

Tabla II. Análisis del porcentaje de similitud (SIMPER) en El Rincón. Componentes de la FDOM, índices de fluorescencia y nutrientes que explican más del 90% de similitud en cada grupo formado a partir del análisis de agrupamientos. **p 76**

Tabla III. Coeficiente de correlación de Spearman entre composición química del DOC, propiedades fluorescentes de DOM y nutrientes inorgánicos en El Rincón. **p 93**

Tabla IV. Coeficiente de correlación de Spearman entre la abundancia relativa de grupos bacterianos y propiedades ópticas-químicas de DOM en El Rincón. **p 96**

Tabla V. Coeficiente de correlación de Pearson entre algunas variables biológicas y aminoácidos particulares de TDAA en El Rincón. **p 98**

Capítulo 5:

Tabla I. Nutrientes inorgánicos (expresados en μM); NO_3^- (Nitrato), SiO_4^{-2} (Silicato), PO_4^{-2} (Fosfato); DOC (Carbono Orgánico disuelto) (expresado en $\mu\text{M-C}$), FDOM (Materia orgánica fluorescente) (expresada USQ), Índice de humificación (HIX), Clo-a, (clorofila-a) (expresada en $\mu\text{g L}^{-1}$), $\delta^{15}\text{N}$ (composición isotópica de nitrógeno estable) (expresado en ‰) en las tres zonas geográficas de la conexión Pacífico-Atlántico. BCW (Beagle Channel Waters) = Aguas del Canal de Beagle, CW (Coastal Waters) = Aguas Costeras, OW (Oceanic Waters) = Aguas Oceánicas. n = número de muestras. Número entre paréntesis = desviación estándar. **p 106**

ÍNDICE DE FIGURAS

- Capítulo 1:**
- Fig. 1.** Frentes costeros de la Plataforma Argentina. Adaptado de Acha et al. (2004). **p 2**
 - Fig. 2.** Estructura lineal y de anillo del carbohidrato simple glucosa. **p 7**
 - Fig. 3.** Algunos polisacáridos naturales: celulosa y quitina. **p 8**
 - Fig. 4.** (a) Condensación entre dos aminoácidos, EP: representación del enlace peptídico entre dos aminoácidos y (b) representación de una proteína. **p 10**
 - Fig. 5.** Trama trófica marina clásica y bucle microbiano. **p 11**
 - Fig. 6.** Árbol filogenético universal, destacando los principales componentes del bucle microbiano. CFB indica el linaje de las Citofagas-Flavobacter-Bacteroidete. **p 12**
- Capítulo 2:**
- Fig. 1.** Áreas de estudio en la plataforma Argentina. Líneas gruesas negras: frentes, rectángulo de línea interrumpida: área del Canal de Beagle. **p 16**
- Capítulo 3:**
- Fig. 1.** Área de estudio y estaciones de muestro. a) El Rincón, 2010, (b) El Rincón-Golfo San Jorge, 2012. **p 32**
 - Fig. 2.** Distribución espacial de salinidad y temperatura. Campaña oceanografía El Rincón, 2010: a) Temperatura; b) salinidad. **p 34**
 - Fig. 3.** Campaña oceanografía El Rincón-Golfo San Jorge, 2012: temperatura y salinidad. **p 34**
 - Fig. 4.** Distribución espacial de: a) clorofila-a y b) feopigmentos. Campaña oceanografía El Rincón, 2010. **p 36**
 - Fig. 5.** Campaña oceanografía El Rincón-Golfo San Jorge, 2012: clorofila-a y feopigmentos. **P 36**

Fig. 6. Distribución espacial de carbohidratos en la fracción disuelta. Campaña oceanografía El Rincón, 2010: a) carbohidratos totales (TDCHO); b) carbohidratos libres (DFCHO); c) carbohidratos combinados (DCCHO). **p 39**

Fig. 7. Distribución espacial de carbohidratos en la fracción disuelta. Campaña oceanografía El Rincón-Golfo San Jorge, 2012: a) carbohidratos totales (TDCHO); b) carbohidratos libres (DFCHO); c) carbohidratos combinados (DCCHO). **p 40**

Fig. 8. Distribución espacial de la concentración de aminoácidos en la fracción disuelta. Campaña oceanografía El Rincón, 2010: a) aminoácidos totales (TDAA); b) aminoácidos libres (DFAA); c) aminoácidos combinados (DCAA). **p 42**

Fig. 9. Distribución espacial de la concentración de aminoácidos en la fracción disuelta. Campaña oceanografía El Rincón-Golfo San Jorge, 2012: aminoácidos totales (TDAA), aminoácidos libres (DFAA), aminoácidos combinados (DCAA). **p 43**

Fig. 10. Promedio del porcentaje molar de los aminoácidos cuantificados en TDAA y DFAA para todas las estaciones, barras (desvío estándar) en la campaña oceanográfica El Rincón, 2010. **p 44**

Fig. 11. Promedio del porcentaje molar de los aminoácidos cuantificados en TDAA y DFAA para todas las estaciones, barras (desvío estándar) en la campaña oceanográfica El Rincón-Golfo San Jorge, 2012. **p 45**

Fig. 12. Distribución espacial del Índice de degradación en fracción disuelta. Campaña oceanografía ER-2010. **p 47**

Fig. 13. Distribución espacial del índice de degradación en la fracción disuelta. Campaña oceanografía El Rincón-Golfo San Jorge, 2012. **p 47**

Fig. 14. Composición química de carbono orgánico disuelto (% carbohidratos, % aminoácidos en términos de carbono) en la zona de (a) El Rincón, 2010 (ER-2010) y (b) El Rincón-Golfo San Jorge, 2012 (ER-GSJ). **p 50**

Fig. 15. Correlación entre DOC y Fracción no identificada en El Rincón, 2010 (ER-2010) y El Rincón-Golfo San Jorge, 2012 (ER-GSJ). **p 51**

Fig. 16. Análisis de agrupamiento basado en la composición química de DOM y variables físicas en El Rincón. **p 52**

Fig. 17. Ordenamiento por escalamiento multidimensional basado en la composición química de DOM y variables físicas en El Rincón. **p 52**

Fig. 18. Zonificación de El Rincón a partir de las asociaciones de estaciones obtenidas en el análisis de agrupamiento. Línea solida azul: gC, línea interrumpida: gT, línea solida rojo: gFS, línea puntos: gPM. **p 53**

Fig. 19. Análisis de agrupamiento basado en la composición química de DOM y variables físicas en El Rincón-Golfo San Jorge. **p 55**

Fig. 20. Ordenamiento por escalamiento multidimensional basado en la composición química de DOM y variables físicas en El Rincón-Golfo San Jorge. **p 56**

Fig. 21. Zonificación de El Rincón-Golfo San Jorge a partir de las asociaciones de estaciones obtenidas en el análisis de agrupamiento. Línea solida: gN y línea interrumpida: gS. **p 56**

Capítulo 4:

Fig. 1. Área de estudio y estaciones de muestreo, El Rincón 2013. **p 63**

Fig. 2. Distribución espacial de la temperatura y la salinidad en El Rincón. Est. 2: máxima temperatura y mínima salinidad; est. 6, 7, 8 y 9: máximas salinidades; est. 14 y 18: mínimas temperaturas. **p 65**

Fig. 3. Distribución y contribución porcentual espacial de cada fluoróforo de FDOM; compuestos húmicos: picos A, C y M; compuestos lábiles: Picos B y T en El Rincón. **p 67**

Fig. 4. Distribución y contribución porcentual espacial de cada fluoróforo de FDOM; compuestos húmicos: picos A, M y C; compuestos lábiles: Picos B y T en El Rincón. **p 68**

Fig. 5. Distribución espacial de los índices de fluorescencia (FIX), actividad biológica (BIX) y humificación (HIX) en El Rincón. **p 71**

Fig. 6. Distribución espacial de la concentración de nitrato y amonio en El Rincón. **p 73**

Fig. 7. Distribución espacial de la concentración de silicato y fosfato en El Rincón. **p 73**

Fig. 8. Análisis de agrupamiento basado en la composición de FDOM, índices fluorescentes y nutrientes inorgánicos. **p 75**

Fig. 9. Ordenamiento por escalamiento multidimensional (MDS) basado en la composición de FDOM, índices fluorescentes y nutrientes inorgánicos. **p 75**

Fig. 10. Zonificación de El Rincón a partir de las asociaciones de estaciones obtenidas en el análisis de agrupamiento. Línea sólida: gC, línea interrumpida: gT, línea puntos: gPM. **p 76**

Fig. 11. Distribución espacial de la concentración de carbohidratos libres disueltos (DFCHO), combinados (DCCHO) y totales (TDCHO) en El Rincón. **p 77**

Fig. 12. Distribución espacial del % contribución de carbohidratos libres disueltos (%DFCHO) y combinados (%DCCHO) a los carbohidratos totales disueltos (TDCHO) en El Rincón. **p 78**

Fig. 13. Distribución espacial de la concentración de aminoácidos libres disueltos (DFAA), combinados (DCAA) y totales (TDAA) en El Rincón. **p 80**

Fig. 14. Distribución espacial del % contribución de aminoácidos libres disueltos (%DFAA) y combinados (%DCAA) a los aminoácidos totales disueltos (TDAA) en El Rincón. **p 81**

Fig. 15. Promedio del porcentaje molar de los aminoácidos cuantificados en TDAA y DFAA para todas las estaciones, barras (desvío estándar). his: histidina, ala: alanina, asp: ácido aspártico, glu: ácido glutámico, thr: treonina, val: valina, arg: arginina, ile: isoleucina, tyr: tirosina, phe: fenilalanina, leu: leucina, gly: glicina, ser: serina. **p 82**

Fig. 16. Distribución espacial del índice de degradación a partir de los aminoácidos particulares de TDAA en El Rincón. **p 85**

Fig. 17. Composición química de carbono orgánico disuelto (% carbohidratos, % aminoácidos en términos de carbono) en la zona de (a) El Rincón y los tres grupos que dividen la región; (b) grupo costa, (c) grupo transición y (d) grupo plataforma media. **p 87**

Fig. 18. Distribución espacial de clorofila-a y feopigmentos en El Rincón. **p 88**

Fig. 19. Composición de la comunidad bacteriana en El Rincón, marzo de 2013. a) Abundancias relativas de bacterias detectadas con la sonda EUB338 referidas a DAPI, b) Abundancia relativa de alfa-, beta-, gammaproteobacterias y Citofaga/Flavobacterias detectadas por las sondas ALF968, BET42a, GAM424 y CF319a, respectivamente, referidas a la sonda EUB338. **p 90**

Capítulo 5:

Fig. 1. Zona de estudio (Conexión Pacífico-Atlántica) y estaciones de muestreo. **p 105**

Fig. 2. Diagrama de salinidad, temperatura y profundidad para las estaciones estudiadas. BCW: Aguas

del Canal de Beagle; CW: Aguas Costeras; OW: Aguas Oceánicas. **p 108**

Fig. 3. Distribución superficial de nutrientes en la conexión Pacífico-Atlántica: a) Nitrato; b) Silicato; c) Fosfato y d) Amonio. **p 109**

Fig. 4. Correlación entre intensidad de fluorescencia de la FDOMc y la concentración de amonio con la salinidad. **p 111**

Fig. 5. Correlación entre DOC y HIX con la salinidad. **p 112**

Fig. 6. Distribución superficial de Clorofila-a. **p 113**

Fig. 7. Distribución superficial de $\delta^{15}\text{N}$. *Valores de $\delta^{15}\text{N}$, Lara et al., 2010. **p 115**

ABREVIATURAS

AA: Aminoácidos

BCW: Aguas del Canal de Beagle

BIX: índice de actividad biológica

CH: Carbohidratos

Clo-a: Clorofila-a

CW: Aguas costera

DCAA: Aminoácidos combinados disueltos

DCCHO: Carbohidratos combinados disueltos

DFAA: Aminoácidos libres disueltos

DFCHO: Carbohidratos libres disueltos

DOC: Carbono orgánico disueltos

DOC-identificado: Fracción químicamente caracterizada

DOC-no identificado: Fracción químicamente no identificada

DOM: Materia orgánica disuelta

ER: El Rincón

ER-2010: Campaña oceanográfica El Rincón, octubre, 2010

ER-GSJ: Campaña oceanográfica El Rincón-Golfo San Jorge, 2012

FDOM: Materia orgánica disuelta fluorescente

FDOMc: Fluoróforo pico C

FIX: índice de fluorescencia

HIX: Índice de humificación

ID: Índice de degradación

OW: Aguas oceánicas

PCAS: Plataforma Continental del Atlántico Sudoccidental

POM: Materia orgánica particulada

TDAA: Aminoácidos totales disueltos

TDCHO: Carbohidratos totales disueltos

$\delta^{15}\text{N}$: Composición isotópica estable de nitrógeno orgánico particulado

Capítulo 1

Introducción general

1. Introducción

El Mar Argentino tiene como componentes geomorfológicos una extensa plataforma continental, el talud adyacente y parte de la llanura abisal o cuenca oceánica patagónica (**Fig. 1**). En su conjunto, este biotopo alberga uno de los mares templados más extensos y biológicamente más importantes del planeta (Longhurst, 1998).

La Plataforma Continental del Atlántico Sudoccidental (PCAS) es una planicie submarina de 1.000.000 km² de superficie, lo cual la convierte en la más extensa del hemisferio sur. Se extiende desde 55°S (Argentina) hasta 23°S (Brasil) y desde la costa hasta el talud y se caracteriza por poseer una pendiente relativamente suave, ser poco profunda (10-80 m) y de ancho variable siendo de 850 Km en los 50°S y de 70 Km a 31,5°S.

Dentro de la PCAS hay regiones de temperatura y salinidad características. Estas variables no cambian gradualmente con la distancia sino que existen grandes regiones en las cuales los gradientes horizontales son pequeños, bordeadas por regiones estrechas (denominadas *frentes*) donde los gradientes horizontales son muy altos. En términos generales los frentes *se definen como los cambios horizontales abruptos de temperatura y/o salinidad* y son causados por diferentes fenómenos tales como mareas, aporte continental de agua fluvial, convergencias de corrientes, vientos, batimetría (Acha et al., 2015) y a su vez tienen importantes implicancias biológicas, observándose en su entorno, elevadas concentraciones de varios organismos, desde bacterias, fitoplancton hasta grandes mamíferos (Belkin

et al., 2009). Esto resulta de la capacidad de las zonas frontales de concentrar plancton, material particulado y disuelto, induciendo el aumento en la productividad de las masas de agua, más acentuada que en el resto de la plataforma (Acha et al., 2015).

Entre los frentes costeros se distinguen aquellos que resultan de la confluencia de aguas de origen continental y aguas de plataforma, entre los que se encuentra el Frente costero El Rincón (ER) cuyas características dependen directamente de los aportes de los ríos Colorado y Negro (Guerrero y Piola, 1997; Acha et al., 2004). También se distingue el Frente de Valdés que es producto de la acción de mareas y corrientes (**Fig. 1**). Otro frente importante dentro de la PCAS es el frente costero frío de la Patagonia Atlántica que depende de la interconexión entre aguas sub-antárticas del extremo norte del pasaje del Drake, de la descarga continental a lo largo de la costa Oeste del continente Sudamericano y de las aguas de la Corriente del Cabo de Hornos provenientes del Pacífico.

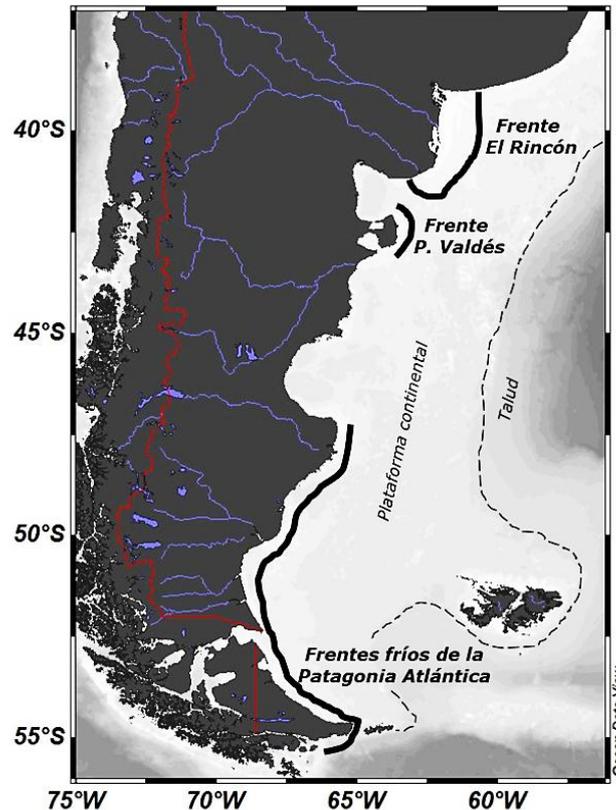


Fig. 1. Frentes costeros de la Plataforma Argentina. Adaptado de Acha et al., (2004).

La conexión de estas diferentes masas de agua en el extremo sur de la plataforma continental fluye hacia el sector Atlántico, entrando a la plataforma continental a través del Estrecho de Le Maire contribuyendo a la baja salinidad hasta el sur del Estrecho de Magallanes (Acha et al., 2004; Lara et al., 2010).

La PCSA presenta ambientes de especial interés en la dinámica de la materia orgánica, particularmente los sectores desde el ecosistema Costero de la Plataforma Bonaerense hasta la región Patagónica. ER posee sectores donde la producción de fito- zooplancton y biomasa bacteriana dependen predominantemente de la regeneración de nutrientes (Carreto et al., 1995) con el nitrógeno como factor limitante (Carreto et al., 1981; Carreto, 2001); mientras que otros sectores están conectados al ingreso de nutrientes a través de zonas frontales.

Por otro lado en la región Patagónica, las aguas estuarinas son relativamente pobres en nutrientes inorgánicos, siendo las aguas subantárticas la principal fuente (Silva y Neshiba, 1979). Esto hace que la exportación de sustancias orgánicas e inorgánicas disueltas desde ríos, humedales y corrientes tenga particular importancia como sostén de la producción primaria en las zonas costeras.

La materia orgánica disuelta (DOM: Dissolved Organic Matter) operacionalmente definida como las sustancias que atraviesan un filtro con un tamaño de poro menor a 0,2-0,7 μm de diámetro, en ecosistemas acuáticos consiste en una mezcla de productos de síntesis, degradación y re-síntesis procedente de procesos bióticos y abióticos. Esto hace que la DOM, especialmente en ambiente estuarino-oceánicos sea producto de la combinación de múltiples fuentes tanto alóctonas como autóctonas. Por lo tanto, la determinación de las fuentes y el estado diagenético de la DOM es una tarea compleja. Sin embargo, su caracterización se puede abordar mediante métodos ópticos sensibles e informativos como la espectrometría. Eso incluye no sólo su origen, sino también su grado de disponibilidad biológica que constituye un continuo desde los compuestos más lábiles hasta los más refractarios. Por conveniencia en este trabajo se denominan

refractarios aquellos componentes de la DOM con características de baja disponibilidad.

2. Caracterización de la fracción fluorescente de la DOM

Cuando una molécula absorbe energía suficiente para provocar una transición electrónica de su estado fundamental a un estado excitado, se producen cambios en los estados transicionales y rotacionales que pueden conducir a la emisión de energía en forma de radiación electromagnética de longitud de onda diferente. Este fenómeno es conocido como fluorescencia.

En el estudio de la materia orgánica fluorescente (FDOM: Fluorescent Dissolved Organic Matter), los compuestos que absorben y reemiten la energía mediante fluorescencia se los llama fluoróforos. Los componentes orgánicos fluorescentes más estudiados de aguas naturales incluyen sustancias húmicas, derivados de la descomposición del material vegetal mediante procesos biológicos y químicos en los ambientes terrestres y los aminoácidos en las proteínas y péptidos. Las longitudes de onda de excitación y emisión y la intensidad de la fluorescencia no sólo dependen de las propiedades de la DOM sino que también pueden ser afectadas por un número de factores tales como cambios en el pH, "quenching" por quelación de iones metálicos y variaciones de temperatura (Hudson et al., 2007).

En los primeros estudios, la FDOM se utilizó para el seguimiento del ingreso de materia orgánica de origen terrestre a través de los ríos en las aguas costeras (Kalle, 1966). Luego, numerosos estudios han demostrado que se pueden distinguir las diferentes fracciones del total de FDOM utilizando diversas medidas de fluorescencia e índices derivados (Coble et al., 1990; Coble, 1996).

En la **Tabla I** se presentan las longitudes de onda de excitación y emisión de los grupos de compuestos que pueden distinguirse en la mayoría de las muestras de ambientes acuáticos.

Tabla I: longitudes de onda de excitación y emisión, nomenclatura empleada para identificar las señales y tipo de compuesto asociado, según Coble, (1996).

$\lambda_{\text{excitación}}$	$\lambda_{\text{Emisión}}$	Identificación	Nombre del grupo de compuestos asociados
275	310	B	Proteínicos (Tirosina)
275	340	T	Proteínicos (Triptófano)
350	420 - 480	C	Húmicos-I
260	380 - 460	A	Húmicos-II
312	380 - 420	M	Húmicos-III

Grado de instauración: I-altamente insaturado, II-medianamente insaturado, III-baja saturación.

La tirosina y el triptófano, son dos aminoácidos indicativos de proteínas y péptidos (**Tabla I**). La fluorescencia de estos aminoácidos específicos es debido a la presencia del grupo indol o de otra estructura aromática (grupo fenólico) en la cual los electrones compartidos pueden ser promovidos a un nivel de energía superior. La fluorescencia en las proteínas se asocia a aminoácidos libres en el pool de DOM (Yamashita y Tanoue, 2003).

Las señales que se atribuyen a triptófano y tirosina son frecuentemente asociadas con producción autóctona de compuestos provenientes de degradación biológica (Mopper y Schultz, 1993; Stedmon y Markager, 2005).

Las señales correspondientes a los ácidos húmicos generalmente muestran una distribución con elevadas intensidades en aguas cerca de la costa disminuyendo hacia aguas abiertas mientras que las señales correspondientes a los aminoácidos libres o unidos a proteínas presentan una distribución altamente variable. Coble, (1996) propone que la intensidad, la posición y el cociente entre las intensidades de las señales A y C puede ser empleada como trazador de fuentes terrestres, debido a que:

- 1) la razón entre las intensidades (A:C) en agua de mar varía entre la costa y el océano abierto con mayores cocientes en muestras de aguas costeras y
- 2) que la posición del pico C se desplaza a menores longitudes de onda de excitación y emisión al aumentar la distancia de las fuentes de agua dulce (Del Castillo et al., 2000).

La señal del pico M es comúnmente denominada "húmicos marinos", dado que tiene menor grado de insaturación que los picos A y C (Nieto-Cid et al., 2005). Por las razones antes mencionadas este método ha sido utilizado como una herramienta útil para caracterizar e indicar las posibles fuentes de la DOM.

3. Composición química de la DOM

La biogeoquímica de la DOM es compleja e íntimamente conectada a procesos microbianos (Jiao et al., 2010). La DOM es generalmente cuantificada como carbono orgánico disuelto (DOC: Dissolved Organic Carbon) representando con frecuencia la fuente más grande de carbono en sistemas acuáticos, sosteniendo gran parte de la actividad microbiana en este medio (Ziegler y Fogel, 2003). Desde el punto de vista composicional, la DOM puede ser dividida en una fracción químicamente caracterizada, que consiste de compuestos derivados principalmente por procesos biológicos como carbohidratos (CH), aminoácidos (AA) ó lípidos y por otro lado, la fracción húmica, que se define como una componente heterogénea que en general es de alto peso molecular y se caracteriza por tener propiedades refractarias (Liebezeit y Dawson, 1982). Esta fracción representa aproximadamente el 60 % de DOC en sistemas marinos (Münster, 1993).

3.1. Principales componentes de DOM

3.1.1. Carbohidratos disueltos

Los carbohidratos (CH) en ambientes marinos comprenden entre 5% y 60% de DOC siendo una fracción altamente variable (Burney et al., 1982; Romankevich, 1984; Pakulski y Benner, 1992; Mykkestad y Børsheim, 2007; Khodse et al., 2010). Son compuestos versátiles que cumplen numerosas funciones en el metabolismo celular como fuente de energía y componente estructural (Panagiotopoulos y Sempéré, 2005). Son compuestos de carbono, hidrógeno y oxígeno con una relación molar de dos moles de hidrogeno por uno de carbono y de oxígeno ($C_n(H_2O)_n$). Los CH simples,

monómeros, monosacáridos (Gors et al., 2007) tienen estructura de carbono que varía de C₃ a C₆ (**Fig. 2**).

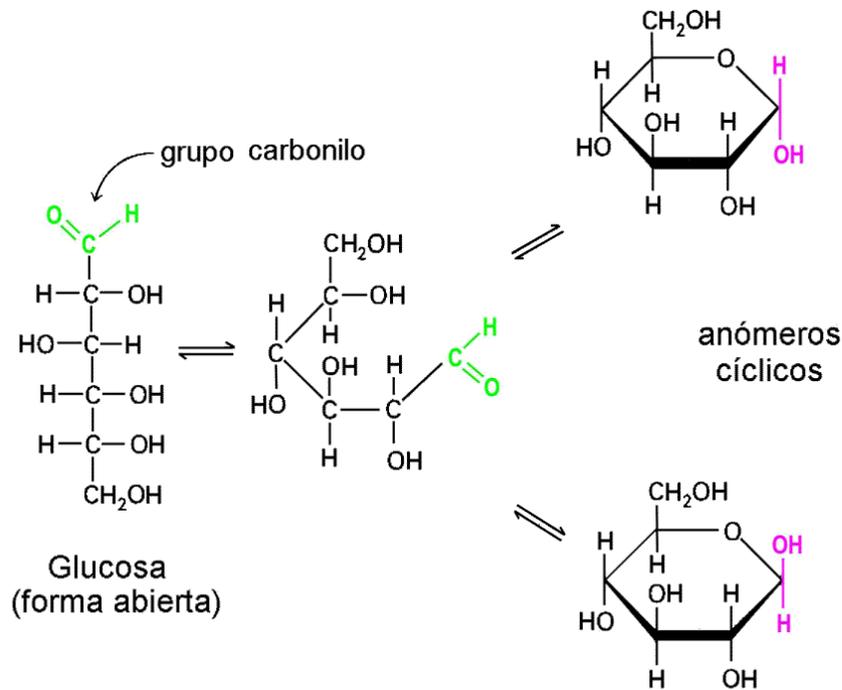


Fig. 2. Estructura lineal y de anillo del carbohidrato simple glucosa.

Cada carbono está unido a un grupo hidroxilo a excepción del carbono terminal que contiene un grupo funcional aldehído (grupo carbonilo). En los monosacáridos con 5 o 6 carbonos, el grupo funcional aldehído reacciona espontáneamente con un grupo hidroxilo vecino para formar un anillo (**Fig. 2**).

Estos anillos se abren y cierran continuamente, aunque las proporciones de las formas de cadena o anillo son dependientes del tipo de molécula monomérica, temperatura y composición química de la solución en la que están presentes. Por otro lado, estos monómeros pueden reaccionar entre ellos a través de una reacción de condensación. En esta reacción dos monosacáridos se combinan para dar un único producto (disacárido) acompañado de la formación de una molécula de agua. La reacción puede continuar hasta generar polímeros llamados polisacáridos (Gors et al., 2007). Entre los más comunes se encuentran la celulosa y quitina (**Fig. 3**).

La celulosa es la principal componente de las paredes celulares de las plantas. Algunos polisacáridos contienen nitrógeno en forma de amino azucres como es el polímero de quitina que compone el exoesqueleto de los crustáceos (Benner, 2003).

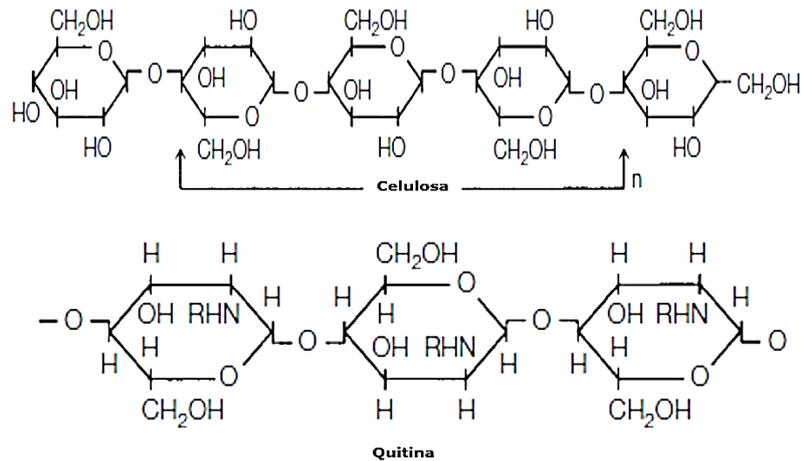


Fig. 3: Algunos polisacáridos naturales: celulosa y quitina.

3.1.2. Aminoácidos disueltos

Los aminoácidos son los monómeros que constituyen las proteínas y en su estructura química poseen un grupo amino (R-NH₂) y un grupo carboxilo (R-COOH). Según la estructura y características químicas los aminoácidos de origen natural se presentan en la **Tabla II**.

Tabla II. Composición y estructura química de aminoácidos naturales.

I.	Aminoácidos Alifáticos	Estructura condensada
A. Ácidos monoamino- monocarboxílicos		
	glicina	$C_2H_5NO_2$
	alanina	$C_3H_7NO_2$
	valina	$C_5H_{11}NO_2$
	leucina	$C_6H_{13}NO_2$
	isoleucina	$C_6H_{13}NO_2$
	serina	$C_3H_7NO_3$
	treonina	$C_4H_9NO_3$
B. Aminoácidos con azufre		
	cisteína	$C_3H_7NO_2S$
	taurina	$C_2H_7NO_3S$
	metionina	$C_5H_{11}NO_2S$
C. Ácidos monoamino-dicarboxílicos		
	ácido aspártico	$C_4H_7NO_4$
	ácido glutámico	$C_5H_9NO_4$
D. Aminoácidos básicos		
	arginina	$C_6H_{14}N_4O_2$
	histidina	$C_6H_9N_3O_2$
II. Aminoácidos aromáticos		
	tirosina	$C_9H_{11}N_1O_3$
	fenilalanina	$C_9H_{11}NO_2$

Los aminoácidos pueden reaccionar entre sí a través de la unión del grupo amino con un grupo carboxilo de otro aminoácido generando un péptido. Esta reacción (**Fig. 4**) es una reacción de condensación. La unión de 100 aminoácidos o más forman las proteínas. Los aminoácidos y proteínas son componentes importantes de enzimas y constituyentes de tejidos conectivos en las células.

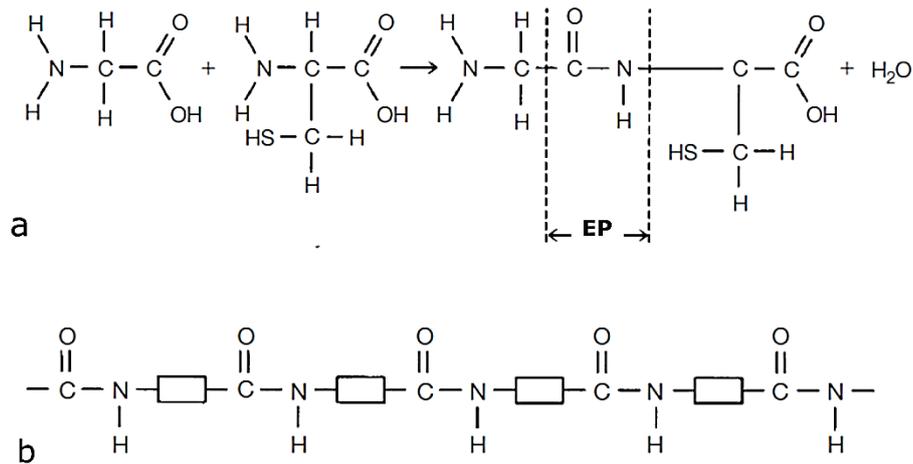


Fig. 4. (a) Condensación entre dos aminoácidos, EP: representación del enlace peptídico entre dos aminoácidos y (b) representación de una proteína.

La composición química de la DOM está asociada con sus fuentes y biodisponibilidad, en referencia al grado en que la misma es de fácil asimilación, degradación o mineralización (Benner, 2003). A su vez, la DOM tiene una estrecha relación con las bacterias heterótrofas ya que es su principal fuente de carbono y nitrógeno, ayudando al transporte de DOC a otros niveles tróficos en ambientes acuáticos (Jiao et al., 2010). Estas características hacen que los vínculos entre la diversidad y funciones de las comunidades bacterianas naturales sean esenciales para entender su papel en los ciclos biogeoquímicos.

4. Relación entre la composición de la DOM y la estructura de la comunidad bacteriana

La DOM está integralmente vinculada a los microorganismos que se encargan de llevar a cabo una amplia variedad de procesos. El concepto donde las bacterias proporcionan un enlace en el flujo de materia de energía es una adición a la teoría de la cadena trófica clásica: El bucle microbiano (“bacterial loop”, en inglés) (Pomeroy, 1974; Azam et al., 1983; Woese, 1987) (**Fig. 5**).

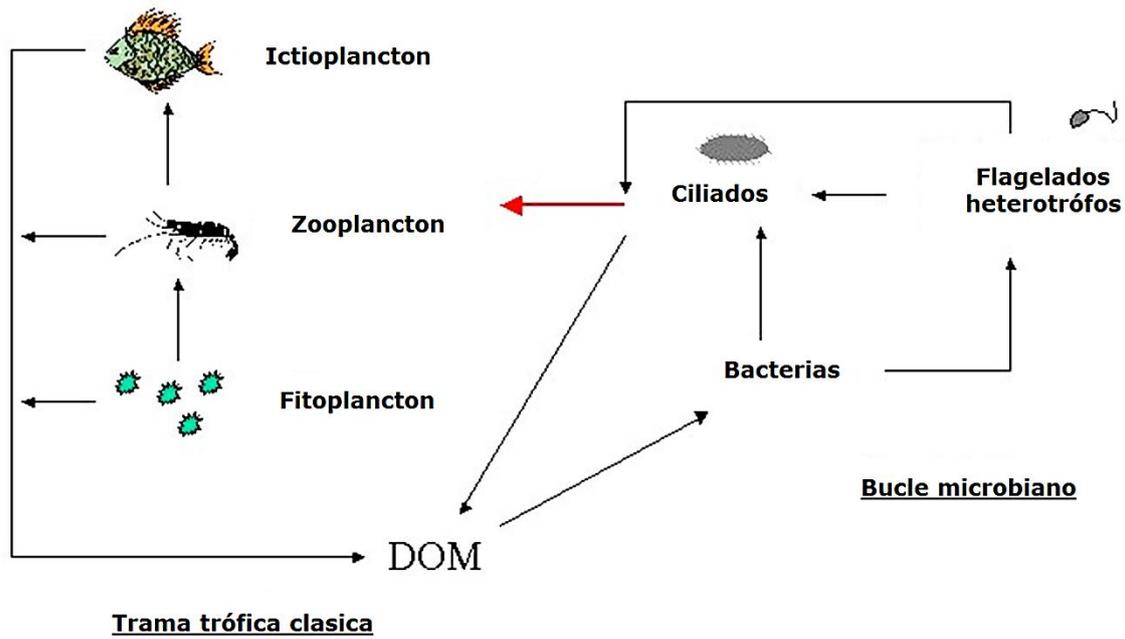


Fig. 5. Trama trófica marina clásica y bucle microbiano

Si bien es conocida la importancia de las bacterias y la DOM en los sistemas acuáticos (Hopkinson et al., 1989; Smith y Hollibaugh, 1993), la comunidad científica se ha enfocado recientemente en investigar el grado en que la DOM influye en la distribución y la abundancia de los microorganismos (Teira et al., 2009).

Aunque el conocimiento de los procesos microbianos ha avanzado a lo largo de los años coincidiendo con los avances en las metodologías, el estudio de la relación entre las bacterias y la DOM se ha visto limitado por la dificultad para obtener cultivos puros de bacterias representativas del medio marino. De hecho, la gran mayoría de especies microbianas (90-99%) en ambientes naturales no pueden ser cultivadas por métodos microbiológicos tradicionales (Amann et al., 1995).

A pesar de carecer de aislamientos para la mayoría de los grupos de bacterias marinas, se ha recurrido a la biología molecular para identificar los diferentes grupos de bacterias. Woese, 1977, 1987 se centró en el gen 16S rRNA (RNA ribosómico del gen 16S), ya que este gen está presente en la mayoría de las bacterias, como consecuencia se reformuló el sistema de clasificación filogenética procariota y se estableció una codificación general:

Bacterias, Arqueas y Eucariotas (**Fig. 6**). Pace et al. (1986) introdujo esta técnica a estudios de microbiología ecológica.

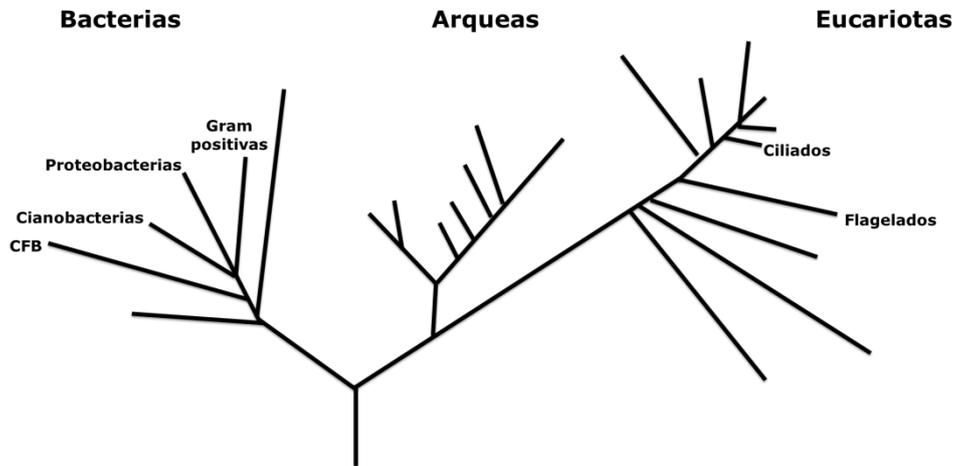


Fig. 6. Árbol filogenético universal, destacando los principales componentes del bucle microbiano. CFB indica el linaje de las Citofagas-Flavobacter-Bacteroidete.

Por otra parte, se han diseñado diferentes sondas fluorescentes para grupos específicos de bacterias, que permite su cuantificación directa, a través de la hibridación *in situ* fluorescente (FISH) (**Fig. 6**). La aplicación de esta técnica en muestras marinas, ha mostrado que el grupo de bacterias *Bacteroidetes* (CFB: *Cytophaga-Flavobacter-Bacteriodes*) fue el más abundante (Cottrell y Kirchman, 2000) y que las Arqueas tienen una significativa abundancia en la zona mesopelágica del océano (Karner et al., 2001). Sin embargo Giovanonni y Rappé, (2000) y Alonso et al. (2010) reportaron una importante abundancia del grupo *Alfaproteobacteria*, y en menor medida las *Gamaproteobacterias*. Por otro lado, en ambientes estuarinos Teira et al. (2009) reportaron una importante contribución del grupo *Betaproteobacterias* cuando hay una significativa contribución continental.

Aunque estos estudios indican la abundancia y diversidad microbiana, no la relacionan con las funciones biogeoquímicas de estos grupos de bacterias. Sin embargo esta situación ha cambiado, ya que se han aplicado simultáneamente métodos de biología molecular con métodos biogeoquímicos con el fin de elucidar la relación entre la estructura y la función de las bacterias y el ciclo de la DOM en sistemas acuáticos. La base

de estos estudios se divide de acuerdo a la naturaleza y composición orgánica de la DOM. Un primer enfoque consiste en exponer a comunidades bacterianas naturales en diferentes componentes definidos o caracterizados de la DOM como proteínas, quitina, carbohidratos (Pinhassi et al., 1999; Ouverney y Fuhrman, 1999, 2000; Foreman et al., 1999; Cottrell y Kirchman, 2003; Kawasaki et al., 2013). El segundo enfoque consiste en la respuesta de la comunidad bacteriana al enriquecimiento con compuestos de la DOM que han sido definidos por su peso molecular como DOM de alto y bajo peso molecular (HMW y LMW: High- and Low Molecular Weight) (González et al., 1996, 1999; Covert y Moran, 2001; Weinbauer y Hofle, 1998; Methe y Zehr 1999). Ambos han demostrado cambios en la estructura de la comunidad bacteriana en respuesta a los diferentes sustratos, exponiendo la relación estrecha entre la estructura de la comunidad bacteriana y la composición de la DOM. Por lo tanto la determinación *in situ* de la estructura de la comunidad bacteriana y la caracterización y cuantificación de la DOM brinda información importante de sus posibles relaciones y/o interconexiones.

Conforme a lo expresado anteriormente, el estudio de la biogeoquímica del frente costero El Rincón y el frente costero frío de la Patagonia Atlántica, incluyendo la relación entre la estructura de la comunidad bacteriana y las características de la DOM, y las posibles fuentes de nutrientes inorgánicos, es de particular interés para la comprensión de los patrones biogeoquímicos de las distintas regiones.

5. Hipótesis

Es de destacar que la cantidad de carbono en el reservorio de DOM en zonas oceánicas es 10 veces mayor que en el de POM (Kirchman, 2008) y por lo tanto, parece probable que una fracción de ese carbono disuelto representado en aminoácidos y carbohidratos sean sustrato fundamental para el crecimiento y supervivencia de bacterias marinas. Dentro del marco del cambio global, un aumento de la concentración de sustrato podría permitir una mayor actividad de distintos grupos bacterianos que se encuentran involucrados en diferentes procesos metabólicos en diversos ambientes (Cottrell y Kirchman, 2000; Salcher et al., 2008; Alonso et al., 2010), llevando a una aceleración de la producción de nutrientes remineralizados. Sin embargo, por otro lado una elevada radiación UV puede resultar en una inhibición de la actividad heterotrófica por daño celular, lo que teóricamente podría llevar a una acumulación, por lo menos temporaria, de componentes lábiles del DOC, entre ellos los aminoácidos y carbohidratos (Lara y Thomas, 1995). Así mismo la calidad y cantidad de sustrato son dependientes de sistemas caracterizados por fuertes gradientes, tales como regiones frontales o estuarinas. La plataforma del Mar Argentino es de especial interés en el contexto de la dinámica de la materia orgánica, particularmente los sectores del Ecosistema Costero de la Plataforma Bonaerense hasta la región Norpatagónica y el Sistema Estuarino Patagónico desde el Canal de Beagle hasta su zona externa. Dentro de estas regiones existen sectores donde la producción planctónica depende predominantemente de la regeneración de nutrientes (Carreto, 1995), mientras que otros ambientes están conectados al ingreso de nutrientes a través de zonas frontales, como por ejemplo los frentes de El Rincón y el frente estuarino frío del sur de Patagonia Atlántica.

De acuerdo a lo expresado, la hipótesis de esta tesis, *es que los distintos regímenes de circulación, aportes continentales y nutrientes de las regiones Bonaerense, Nor- y Surpatagonia Atlántica deberían reflejarse en los patrones de composición química y fluorescencia de la materia orgánica disuelta.*

6. Objetivo general

Profundizar en el conocimiento de la composición y dinámica de la materia orgánica disuelta y establecer una relación entre factores bióticos y abióticos en sectores influenciados por aportes continentales y/o frontales de alta producción biológica -nueva o regenerada-, particularmente en zonas poco estudiadas de su plataforma.

7. Objetivos específicos

- Caracterizar las fracciones lábiles y refractarias de la materia orgánica disuelta a partir de las propiedades ópticas del agua de mar de las diferentes zonas de estudio.

- Cuantificar y establecer los patrones de distribución espacial de los aminoácidos y carbohidratos de la fracción disuelta en zonas de diferentes regímenes oceanográficos.

- Detectar, cuantificar y establecer la estructura de la comunidad microbiana y su asociación con la distribución de nutrientes orgánicos e inorgánicos.

Capítulo 2

Materiales y métodos

1. Área de estudio y muestreo

Las áreas de estudio comprenden dos zonas ubicadas en el norte y sur de la Plataforma Continental Argentina:

Al norte las regiones de estudio fueron el frente costero de El Rincón, y el Frente de Península de Valdés hasta el Golfo San Jorge (**Fig. 1**). Al sur la zona de estudio fue el Frente mixto-estuarino frío de la Patagonia Austral y el Canal de Beagle (**Fig. 1**).

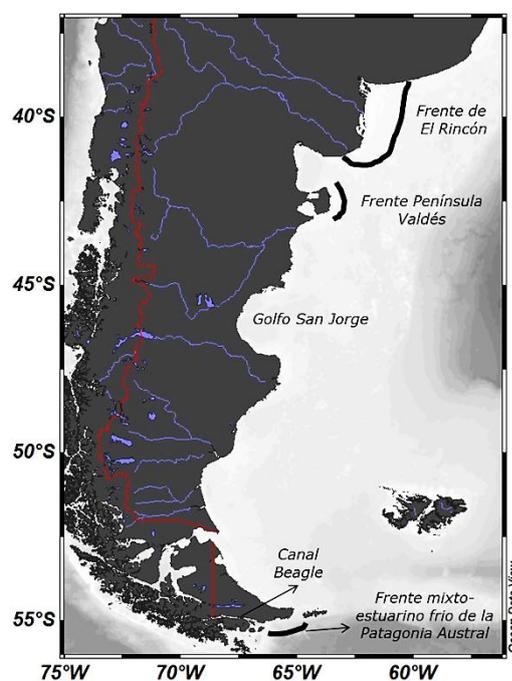


Fig. 1. Áreas de estudio en la plataforma Argentina y el canal Beagle. Líneas gruesas negras: frentes

Las muestras fueron tomadas durante tres campañas oceanográficas:

- La primera tuvo lugar en la zona de El Rincón, desde el 2 hasta el 13 de octubre de 2010 a bordo del Buque Oceanográfico ARA "Puerto Deseado". Se recolectaron muestras en 26 estaciones.
- La segunda campaña se realizó en el año 2012 en dos etapas: I). En el canal Beagle, desde el 7 hasta el 26 de marzo en la embarcación "Don Pedro". II). En el frente frío mixto de la Patagonia Austral y la transecta desde el Golfo San Jorge (46 °S) hasta Mar del Plata (38 °S) desde el 27 de marzo hasta el 13 de abril en el buque Oceanográfico ARA "Puerto Deseado". Se tomaron muestras en 26 estaciones.
- La tercera se llevó a cabo nuevamente en El Rincón, desde el 9 hasta 15 de marzo en el 2013 en la embarcación MVO "Dr. Bernardo Houssay". Se tomaron muestras en 12 estaciones (**Fig. 1**).

La zona de El Rincón se caracteriza por ser una zona poco profunda (<70 m), conectada con el estuario de Bahía Blanca y con Bahía Anegada en el oeste. Recibe aportes de agua dulce proveniente de los ríos Colorado y Negro, que en conjunto descargan un total promedio de $1000 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$. Al sur del área de El Rincón se encuentran el Golfo de San Matías y el Frente de península Valdés, producido por el efecto de mareas, siendo éstos de gran importancia ecológica en la plataforma Argentina.

El extremo sur de la plataforma argentina forma parte del sistema estuarino frío Patagónico. El sistema del Pacífico-Atlántico es de especial interés por su diversidad hidrológica y está interconectado por la corriente del Cabo de Hornos, que transporta el agua de baja salinidad del Pacífico Sureste (Acha et al., 2004), y continúa como la corriente de Malvinas (Longhurst, 1998), una fuente de agua subantártica rica en nutrientes a la plataforma argentina (Silva y Neshiba, 1979a).

2. Metodología de Trabajo

Se realizaron muestreos de agua mediante casting de botellas Niskin, a 5 y 10 metros de profundidad, con el propósito de caracterizar químicamente la fracción disuelta. Una vez obtenida la muestra de agua por medio de la botella Niskin se toma una alícuota de 50 mL en tubos de polipropileno transparente de fondo cónico de 50 mL y fueron fijadas con la adición de paraformaldehído (concentración final 2%, previamente filtrado por filtros 0,2 μm de policarbonato) y posteriormente fueron almacenadas a 4 °C en oscuridad por 12 horas. Después de la fijación, las muestras fueron filtradas a través de filtros de policarbonato de 0,2 μm con un soporte de filtro de 0,45 μm de nitrocelulosa, seguidamente el filtro fue lavado con agua ultra pura, secado y almacenado en cajas de Petri. Los filtros fueron procesados en el laboratorio con el propósito de describir la estructura de la comunidad bacteriana.

Las muestras para DOC, CH, AA y FDOM fueron obtenidas por filtración de agua de mar a través de filtros de fibra de vidrio GF/F (precalcínados por 4 h a 450 °C) y almacenadas en viales de vidrio precalcínados.

Las muestras para DOC fueron conservadas en ampollas de vidrio de 20 mL, adicionando H_3PO_4 21% hasta pH 2 y sellando las mismas inmediatamente empleando un soplete.

Las muestras para el análisis de TDCHO y TDAA fueron colectadas en recipientes de vidrio precalcínados de 10 mL e inmediatamente fueron selladas con tapas de junta de teflón. El filtro con el material retenido fue almacenado en un sobre de aluminio y fue usado para el análisis de pigmentos (clorofila "a" (Clo-a) y feopigmentos) y otro filtro fue almacenado en caja de Petri y secado a 50 °C, conservadas en desecador para posterior análisis de isótopos estables de nitrógeno 15 ($\delta^{15}\text{N}$). Todas las muestras colectadas, -excepto las de $\delta^{15}\text{N}$ - fueron conservadas a -20 °C hasta el análisis en el laboratorio.

2.1. Parámetros Físicos

En las campañas oceanográficas se realizaron medidas *in situ* de temperatura expresada en grados centígrados (°C), salinidad a través de un CTD "SEA-BIRD", Modelo Nº 19-04 plus, con roseta General Oceanic a la cual se le montaron 10 botellas de 5,5 litros. Con los datos obtenidos de temperatura y salinidad se calculó sigma t para representar la densidad en su forma operativa: $\text{Sigma } t = \rho_0 - 1000$.

2.2. Fracción Disuelta

2.2.1. Carbono Orgánico Disuelto

En el Alfred Wegener Institute, AWI (Bremerhaven, Alemania), el DOC fue determinado por medio de una oxidación catalítica de alta temperatura con un analizador de carbono orgánico, Shimadzu TOC-V_{CPN}. Las muestras fueron acidificadas con HCl y mantenidas bajo corriente de oxígeno durante 5 minutos para remover el carbono inorgánico. Alícuotas de 50 µL de muestra fueron inyectadas en el equipo y combustionadas en el catalizador de platino (calentado a 720°C). El CO₂ generado fue detectado con un detector infrarrojo (Skoog et al., 1997).

2.2.2. Caracterización de la FDOM

En el laboratorio de Usos Múltiples del Dpto de Química (UNS) las medidas para la caracterización de la FDOM (Coble, 1996) se llevaron a cabo a temperatura constante de 20 °C en celdas de cuarzo de 1 cm en un espectrofluorímetro SHIMADZU RF-5301. Las matrices de 16 x 314 fueron generadas a partir de los espectros de emisión obtenidos por excitación de las muestras entre 240 nm y 315 nm cada 5 nm registrando la emisión entre 260 nm y 610 nm cada 1 nm y procesadas y graficadas empleando Excel. La dispersión Raman fue corregida por sustracción del espectro de agua ultrapura en las mismas condiciones y para cada grupo de muestras. Como procedimiento preliminar y para minimizar el efecto de filtro interno,

se obtuvieron las señales de absorbancia correspondientes a cada muestra resultando todas menores a 0,02 unidades, no siendo necesaria la dilución de las muestras. Para la expresión de las señales en Unidades Equivalente de Sulfato de Quinina (USQ) se usó la calibración del instrumento a Ex/Em 350 nm/450 nm empleando una disolución de sulfato de quinina dihidratado (SIGMA) estándar en ácido sulfúrico 0,05 M y la equivalencia 1 USQ = $1\mu\text{g L}^{-1}$. Los índices derivados de la FDOM se obtienen de la siguiente manera: **FIX**: es el cociente entre las intensidades de fluorescencia a 450nm y 500nm (f_{450}/f_{500}) cuando se excita a 370nm. Este índice interpreta el desplazamiento del máximo de emisión de ácidos fúlvicos hacia longitudes de onda mayores si su procedencia es terrestre (>grado de aromaticidad), **HIX**: es la relación de áreas (H/L) del espectro de emisión al excitar a 250nm. L: área entre 300nm y 345nm y H: área entre 435nm y 480nm. Cuando el grado de humificación aumenta, el espectro de emisión se desplaza y la razón H/L aumenta y **BIX**: se basa en la contribución del fluoróforo beta; se calcula dividiendo la intensidad de fluorescencia emitida a 380nm (máxima emisión de M) por la intensidad de fluorescencia emitida a 430nm (máximo de emisión de la banda característica de material húmico) cuando la muestra es excitada a 310nm. El BIX constituye una estimación de la actividad biológica bacteriana en ambientes acuáticos. (Coble, 1996; Coble et al., 1998; Muller et al., 2008; Ghervase et al., 2010; Para et al., 2010).

2.2.3. Cuantificación de aminoácidos disueltos

En el laboratorio de geoquímica orgánica marina del Centro de Investigación Oceanográfica en el Pacífico Sur-Oriental (COPAS, Concepción, Chile) los AA fueron derivatizados con o-ftaldialdehído (OPA) y 2-mercaptoetanol (Lindroth y Mopper., 1979; Jones et al., 1981) y separados por cromatografía líquida de alta resolución con un autoinyector robótico (50 μL bucle) (HPLC - Shimadzu SIL-10A) y detección fluorescente (Pantoja et al., 1997).

Para la cuantificación de aminoácidos (AA) totales disueltos (TDAA), las muestras fueron previamente hidrolizadas con HCl 6M en una ampolla

sellada bajo N₂ a 150 °C durante 2 horas y posteriormente neutralizada con NaOH. Los 14 AA derivatizados -ácidos aspártico (asp) y glutámico (glu), serina (ser), histidina (his), glicina (gly), treonina (thr), arginina (arg), alanina (ala), tirosina (tyr), valina (val), metionina (met), fenilalanina (phe), isoleucina (ile) y leucina (leu)- fueron separados en una columna Altima C-18 a 35°C. La separación de los AA se llevó a cabo en 85 min usando un gradiente de fase móvil, que consiste en dos componentes: eluyente (A), buffer de acetato de sodio (25 mM, pH 5,7 con tetrahidrofurano (THF) al 5%) y eluyente (B), metanol (18-100%) a 1mL min⁻¹ (**Tabla. I**).

Las concentraciones de los AA derivatizados fueron determinados a una longitud de onda de excitación de 330 nm y una longitud de onda de emisión de 410 nm. Los AA libres disueltos (DFAA) fueron directamente medidos sin hidrólisis y la concentración de los AA combinados disueltos (DCAA) fueron obtenidos mediante la diferencia entre TDAA y DFAA. Los estándares de AA fueron obtenidos de Thermo Scientific (Pierce N° 20088). La composición de los AA fue expresada en %mol de la cantidad total. Los AA individuales fueron convertidos a carbono según su estructura molecular.

Tabla I. Gradiente de la fase móvil en el análisis de los aminoácidos por HPLC. A%=Buffer de Acetato de Sodio, B%=Metanol.

Tiempo (min)	A%	B%	Flujo (mL min ⁻¹)
0	78	22	1
30	65	35	1
42	50	50	1
60	40	60	1
72	0	100	1
80	0	100	1
84	78	22	1

2.2.4. Cuantificación de carbohidratos disueltos

En el laboratorio de Química Ambiental (UNS), los carbohidratos (CH) libres disueltos (DFCHO) y CH totales disueltos (TDCHO) fueron

determinados por el método espectrofotométrico de 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) (Myklestad et al., 1997).

Para DFCHO, a 1 mL de muestra se agregó 1 mL de solución de ferrocianuro de potasio, $K_3 [Fe (CN)_6]$ (0,7 mM) en un tubo de vidrio con tapa de teflón de 10 mL. La mezcla fue calentada por 10 min en un baño de agua a 100 °C. Una vez que la solución fue enfriada a temperatura ambiente se adicionó 1 mL de solución de cloruro férrico, $FeCl_3$ (2,0 mM) e inmediatamente se agregaron 2 mL de solución de TPTZ (2,5 mM), se esperó 5 min hasta reacción completa. La absorbancia fue medida a 596 nm con un espectrofotómetro UV-Visible Cary 60 Agilent Technologies.

Para TDCHO a 4 mL de muestra se agregó 0,40 mL de HCl 1 M en un tubo cerrado con respectiva tapa de teflón. Esta solución fue calentada a 150°C durante 1 h y posteriormente neutralizada con NaOH 1 M. Una vez que la solución fue enfriada se cuantificó siguiendo el método descrito anteriormente.

La concentración de CH combinados disueltos (DCCHO) fue calculada por diferencia entre la concentración de TDCHO y DFCHO.

La D-(+) glucosa fue usada como estándar externo para cada medida realizada. Los resultados fueron expresados en equivalente de glucosa (μM) y convertidos a carbono (μM C) por la multiplicación del factor 6 (acorde a la estructura molecular de la glucosa) asumiendo que todos los DFCHO en agua de mar fueran hexosas (Myklestad et al., 1997; Bhosle et al., 1998; Gors et al., 2007).

2.2.5. Fracción químicamente caracterizada disuelta

La cantidad de carbono en DOC que se explica con moléculas de AA y CH se denominó fracción químicamente caracterizada (DOC-Identificado) y la que no fue explicado por el contenido de C en moléculas de carbohidratos y aminoácidos fue considerada químicamente “no identificada” (DOC-no

identificado). Esta fracción consistiría de sustancias húmicas libres de carbohidratos y aminoácidos.

2.2.6. Nutrientes inorgánicos

Los nutrientes inorgánicos fueron analizados en el Alfred Wegener Institute, AWI (Bremerhaven, Alemania) y en el laboratorio de Química Ambiental (UNS). Los nutrientes realizados en el AWI fueron analizados en forma automática usando un analizador automático Evolution III, Alliance Instruments según Kattner y Becker (1991) y en la UNS fueron realizados de forma manual.

2.2.6.1. Amonio

Para la detección de amonio se utilizó una variante fluorométrica de análisis de aminoácidos por medio de la derivatización con orto-ftalaldehído (OPA). El amonio libre reacciona con el OPA formando un complejo con características fluorescentes. Las concentraciones de amonio fueron determinadas a una longitud de onda de excitación de 352 nm y una longitud de onda de emisión 410 nm (Kérouel y Aminot, 1997).

2.2.6.2. Fosfato

La determinación de la concentración de fosfato se realizó siguiendo el método de Eberlein y Kattner (1987), basado en el método original de azul de molibdeno de Murphy y Riley (1962).

Los iones ortofosfatos reaccionan con el molibdato de amonio para formar un complejo color amarillo, el fosfomolibdato de amonio, que luego de la reducción produce una coloración azul. Como agente reductor se utiliza el ácido ascórbico pues se obtienen resultados reproducibles y brinda la ventaja de poder utilizar un único reactivo formado por: ácido sulfúrico (H_2SO_4), molibdato de amonio hidratado $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 7\text{H}_2\text{O}]$, ácido ascórbico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$) y tartrato de antimonio y potasio $\text{C}_8\text{H}_4\text{K}_2\text{O}_{12}\text{Sb}_2\cdot 3\text{H}_2\text{O}$. La intensidad del color es medida a una longitud de onda de 885 nm.

2.2.6.3. Silicato

El procedimiento automático para la determinación de silicato soluble en agua de mar se basa en la reducción del silicomolibdato en solución acida "azul de molibdeno" por medio del ácido ascórbico. Ácido oxálico es adicionado a la muestra antes del agregado del ácido ascórbico para eliminar la interferencia producida el fosfato. La intensidad del color es medida a una longitud de onda de 800 nm.

2.2.6.4. Nitrito

La determinación colorimétrica de la concentración de nitrito en agua de mar se realizó haciendo uso de la reacción de diazotación entre el nitrito y la sulfanilamida en medio ácido. El compuesto obtenido reacciona con la amina aromática, N-(1 naftil) etilendiamina, a través de una reacción de acoplamiento diazoico para formar una compuesto azoico color rojo que presenta un máximo en absorción a 540 nm, siguiendo el método de Bendschneider y Robinson (1952).

2.2.6.5. Nitrato

Para determinar la concentración de nitrato se hizo pasar la muestra por una columna de reducción compuesta gránulos de Cd recubierto por Cu, en donde el nitrato es reducido a nitrito. El nitrito allí formado fue determinado colorimétricamente según el método de Bendschneider y Robinson (1952) descrito anteriormente.

2.3. Fracción particulada

2.3.1. Pigmentos

En el laboratorio de Química Ambiental (UNS), se determinaron clorofila-a (clo-a) y feopigmentos por fluorimetría (Holm-Hansen et al., 1965). Los pigmentos fueron extraídos con acetona 90% durante 24 horas en oscuridad a -20 °C. Se empleó un estándar de clorofila "a" pura

(*Anacystis nidulans*). Posteriormente se obtuvieron las señales en un Shimadzu RF-5301 a Ex/Em: 460/671nm. La corrección por feopigmentos fue realizada por acidificación con HCl 0.1 M.

2.3.2. Isótopos estables de nitrógeno 15

En el Centro Leibniz de Ecología Tropical, ZMT (Bremen, Alemania) los isótopos estables de nitrógeno (^{15}N y ^{14}N) de la fracción particulada fueron determinados con un espectrómetro de masas Thermo Finnigan Delta Plus acoplado a un analizador elemental Flash EA 1112, siguiendo lo descrito en Verado et al. (1990). Los filtros homogenizados fueron colocados en viales de plata, acidificados con HCl 0,1N, secados 12 horas a 50°C y completamente oxidados en un analizador elemental por combustión relámpago a temperaturas superiores a 1000°C bajo oxígeno puro. La composición isotópica del N_2 fue detectada por espectrometría de masas.

Los resultados fueron normalizados con los estándares: Pee Dee Belemnite y nitrógeno atmosférico, calculando las siguientes relaciones isotópicas:

$$R = {}^{15}\text{N} / {}^{14}\text{N} \quad \text{y} \quad \delta^{15}\text{N} (\text{‰}) = \left[\left(\frac{R_{\text{muestra}}}{R_{\text{estandar}}} \right) - 1 \right] * 1000$$

Donde el valor de notación delta (δ) se refiere a comparación con un estándar internacional. En este caso particular, las relaciones isotópicas fueron determinadas de acuerdo con los estándares internacionales de la Agencia Internacional de Energía Atómica (Viena): IAEA-N1 y IAEA-N2 para ^{15}N . Se utilizó peptona como estándar interno. R es la proporción de átomos del isótopo pesado en relación al liviano. De esta forma, valores de $\delta^{15}\text{N}$ positivos implican que la muestra está enriquecida en el isótopo más pesado en relación con el estándar y valores negativos implican que está empobrecida.

2.4. Abundancia y composición de la comunidad bacteriana

En el laboratorio de Ecología Molecular del Centro Universitario de la Región Este, (Rocha, Uruguay) los porcentajes de los diferentes taxones microbianos en muestras de agua fueron determinados mediante la fluorescencia de hibridación *in situ* (FISH) y deposición de moléculas cargadas por la actividad de la peroxidasa (CARD-FISH) (Pernthaler et al., 2002).

Los filtros fueron cortados en secciones hibridados con sondas usadas para caracterizar la comunidad microbiana; EUB338 (todas las bacterias) (Daims et al., 1999), ALF968 (principales *Alfaproteobacterias*) (Neef, 1997), BET42a (principales *Betaproteobacterias*) (Manz et al., 1992), GAM424 (principales *Gammaproteobacterias*) (Manz et al., 1992), CF319a (principal grupo de *Bacteroidetes (citófaga/ flavobacteria)*) (Manz et al., 1996).

La hibridación fue realizada por 12 horas a 35 °C. La solución de hibridación contiene NaCl 0,9 M, Tris-HCl 20 mM (pH 7.4), dodecilsulfato de sodio 0,01% y formamida. Todas las sondas fueron adquiridas de Biomers.net. Las señales de amplificaciones fueron realizadas con isoticianato de fluoresceína (FITC) marcados con tiramidas. La preparación de CARD-FISH se realizó junto con el DAPI a una concentración final de 1mg mL⁻¹. El DAPI y las células teñidas con CARD-FISH fueron contadas manualmente, con un conteo final y aproximado a un mínimo de 1000 células filtro⁻¹.

Los portaobjetos se examinaron bajo microscopio (Leika) equipado con una lámpara de mercurio de 100W y un juego de filtros adecuados para DAPI y sustrato fluorescente Alexa448. Para cada campo microscópico, dos diferentes categorías fueron enumeradas: (1) total de células teñidas con DAPI, (2) células teñidas con sonda específica. Se realizó un conteo de control positivo (hibridación con EUB338).

3. CALCULOS Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

3.1. Estimación del Índice de degradación de la DOM

El índice de degradación se estimó según la fórmula de Dauwe et al. (1999):

$$ID = \sum_i \left[\frac{var_i - AVGvar_i}{STDvar_i} \right] \cdot fac.coef_i$$

Donde var_i es el valor en % mol de cada aminoácido, $AVGvar_i$ y $STDvar_i$ son la media y la desviación estándar respectivamente de nuestro grupo de datos y $fac.coef_i$, son los factores de cada aminoácido derivado de Dauwe et al. (1999) (**Tabla II**):

Tabla II. Coeficiente de cada aminoácido. Los valores se derivan de los resultados de análisis de componentes principales de Dauwe et al. (1999).

Aminoácidos	PC1-Dauwe
asp	-0,13
glu	0,07
ser	0,02
his	0,16
gly	-0,10
thr	-0,13
arg	-0,12
ala	-0,04
tyr	0,18
met	0,13
val	-0,04
phe	0,13
ile	0,14
leu	0,17

3.2. Análisis multivariado

Con el propósito de caracterizar cada región en función de sus propiedades químicas y físicas y determinar grupos internamente homogéneos entre sí, se aplicó el análisis de conglomerado (Cluster) por el método jerárquico.

Una vez identificado los grupos, estos fueron dispuestos espacialmente a través de un análisis de escalonamiento multidimensional no métrico (no-metric Multidimensional Scalling, MDS) de acuerdo a la similitud entre las muestras (similitud Bray-Curtis). La bondad de ajuste de este método de ordenación se calcula mediante un valor *stress* que es una medida de la distorsión entre las similitudes y las distancias en el mapa de ordenación. Valores de *stress* superiores a 0,2 se asocia con malos ajustes y valores cercanos a cero representan buenos ajustes.

Para examinar la contribución de cada variable química y/o física a la similitud entre grupos, se aplicó el análisis de similitud porcentual (Similarity Percentage, SIMPER) utilizando el índice de similitud de Bray-curtis. Se aplicó un análisis de similitudes (Análisis of Similarities, ANOSIM) para detectar diferencias significativas entre los grupos discriminados.

Con el propósito de estimar la dinámica de las zonas de estudio en función de las diferentes variables químicas (composición de DOM), físicas (propiedades de las zonas de estudio) y biológica (composición de la comunidad bacteriana), se realizaron interrelaciones mediante el análisis de correlación no paramétrica Spearman. Los diferentes análisis estadísticos fueron realizados con los programas Primer 6 y Past.

Capítulo 3

Aminoácidos, carbohidratos disueltos y propiedades de DOM: patrones espaciales en aguas superficiales de las regiones sudbonaerense y norpatagónica

1. Resumen

Se analizaron los compuestos disueltos químicamente caracterizados como aminoácidos libres (DFAA), carbohidratos libres (DFCHO) y las fracciones poliméricas aminoácidos combinados (DCAA) y carbohidratos combinados (DCCHO) junto con el carbono orgánico disuelto (DOC), en muestras que fueron colectadas en la zona frontal de El Rincón (ER), influenciada por los ríos Negro y Colorado y estuario de Bahía Blanca, en dos oportunidades: en el mes de octubre de 2010 (ER-2010) y en una transecta desde 38°S hasta 46°S, abarcando ER hasta el Golfo San Jorge (ER-GSJ) en el mes de abril de 2012. Considerando la distribución horizontal de los componentes químicos de DOC, en ER-2010, el aporte de los ríos Colorado, Negro y el estuario de Bahía Blanca parecen contribuir a la concentración de carbohidratos (CH) y aminoácidos (AA). En ER-GSJ los CH y AA no presentaron un patrón latitudinal marcado, pero sí se destacaron máximos que fueron asociados con las ubicaciones geográficas. Los máximos de AA se evidenciaron en el Frente de Península Valdés, que se caracteriza por ser una de las zonas más productivas de la Plataforma Argentina. Los CH presentaron un patrón creciente desde la zona externa del golfo San Jorge (45°S) hasta su interior y fue asociado a la abundancia de dinoflagelados; un máximo de concentración de CH a la altura del Río Negro se asoció al aporte del río y a

la concentración de clorofila-a. Dentro de la fracción químicamente caracterizada, en ER-2010 los DCAA (25%) fueron la fracción más abundante pero en ER-GSJ fueron el DCCHO (17%). Esta diferencia se relacionó a la estación del año y a la posible actividad bacteriana, consumiendo preferencialmente los DCAA en ER-GSJ. La fracción químicamente caracterizada representó un $\sim 37\%$ de DOC, tanto en ER-2010 como ER-GSJ. La fracción no identificada se asoció a sustancias húmicas y estarían representando un elevado porcentaje del DOC, indicando un posible sumidero de carbono en forma de compuestos disueltos refractarios. Se determinó el índice de degradación (ID) basado en la composición de los aminoácidos totales disueltos, el cual reveló distintos patrones de distribución. En la zona ER, en la campaña ER-2010, el ID calculado indicó una contribución de materia orgánica disuelta (DOM) recientemente liberada por organismos autóctonos, en la salida del estuario de Bahía Blanca, mientras que en el resto del área de estudio la DOM estaría predominantemente compuesta por material envejecido. En ER-GSJ se diferenciaron dos áreas, norte y sur, con respecto al ID, la zona norte (38°S hasta 41°S) con DOM con alto grado de transformación y la zona sur (42°S hasta 46°S) con DOM reciente, concordante con un comportamiento aparentemente regenerativo de la zona de ER. La relación entre el ID y la proporción en términos de mol de AA específicos presentó una relación directa con la histidina, siendo este AA el de mayor contribución al total, lo que se asoció a la alteración biológica en la DOM autóctona. Por otro lado, una relación inversa entre ID con la valina, ácidos aspártico y glutámico sugieren que éstos AA fueron menos susceptibles a la degradación microbiana y/o física. Por último se asociaron las estaciones de muestreo en función de la composición química de DOM, pigmentos y variables físicas. Se observó que la salinidad, densidad y profundidad se asoció como otro factor que podría controlar distribución horizontal de los componentes químicos, principalmente de TDAA en ER-2010 y TDCHO en ER-GSJ.

2. Hipótesis y objetivos

En el presente capítulo, se plantea evaluar la distribución espacial y latitudinal de la materia orgánica disuelta en la zona de El Rincón con distintos niveles de aportes continentales y regímenes oceanográficos. En el marco de los antecedentes desarrollados se pretendió testear la siguiente hipótesis:

La distribución de los compuestos disueltos orgánicos y procesos biogeoquímicos del carbono y nitrógeno en el área de estudio son influenciados por las principales entradas fluviales. Por lo tanto la composición de DOM debe reflejar los aportes alóctonos, además de las condiciones ambientales y físicas del sistema.

Para ellos, se propusieron los siguientes objetivos.

- (i)** Cuantificar y caracterizar los carbohidratos y aminoácidos disueltos y su contribución al carbono orgánico disuelto y estimar la componente "no identificada" de la materia orgánica que podría ser atribuida a fracciones refractarias.
- (ii)** Identificar y cuantificar aminoácidos disueltos específicos y estimar con ellos el índice de degradación como indicador del estado de transformación de la materia orgánica disuelta.
- (iii)** Analizar la distribución horizontal de los parámetros mencionados en función de las características físicas y biológicas de la zona.

3. Área de estudio y sitios de muestreo

Las muestras analizadas fueron obtenidas durante dos campañas oceanográficas:

- I. Campaña El Rincón, 2010 (ER-2010): se tomaron muestras en 26 estaciones ubicadas en el área subbonaerense y norte de la Patagonia (entre 39.0 °S y 41.0 °S y entre 59.6 °O y 62.6 °O), durante la primavera (Octubre, 2010) (**Fig. 1a**).
- II. Campaña El Rincón-Golfo San Jorge, 2012 (ER-GSJ): se realizó una transecta de 10 estaciones desde la altura de Mar del Plata hasta el Golfo San Jorge, entre 38.0 °S y 46.2 °S, durante otoño (Abril, 2012) (**Fig. 1b**).

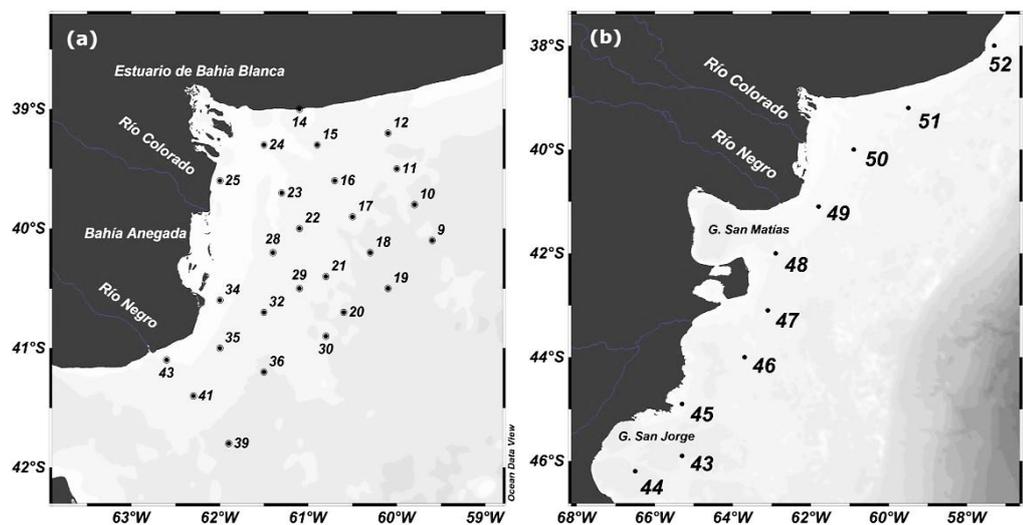


Fig. 1. Área de estudio y estaciones de muestreo. a) El Rincón, 2010, (b) El Rincón-Golfo San Jorge, 2012.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Características Hidrográficas.

En ER-2010 la distribución de la salinidad presentó una franja de menores valores (<33,0) en la zona costera, otra de mayor salinidad (>34,0) ubicada en la zona intermedia del área de estudio y por último otra franja en plataforma media con valores que variaron de 33,6 a 34,0 (**Fig. 2a**). La heterogeneidad en la salinidad se debe a diferentes razones: La zona costera es impactada por la descarga de los ríos Colorado y Negro que en conjunto presentan un caudal aproximado $1000 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$, con mayor contribución del Negro, lo que como resultado genera un área de salinidad inferior al resto de la zona de estudio (Barrera, 2015). Por otro lado, la franja de mayor salinidad (>34) ubicada entre aguas costeras y plataforma media, se asocia posiblemente a la entrada por advección de aguas del golfo de San Matías que son de mayor salinidad, ya que allí predomina la evaporación sobre la precipitación (Aquad y Martos, 2012; Guerrero, 1998; Lucas et al., 2005; Martos et al., 2005; Barrera, 2015).

La distribución superficial de temperatura presentó un gradiente horizontal, con tendencia decreciente de costa hacia plataforma media con un rango de variación entre $13,1^\circ\text{C}$ y $10,1^\circ\text{C}$ (**Fig. 2b**) que parece estar controlado principalmente por la batimetría del sistema. La zona costera tiene profundidades promedio de 24 m hasta llegar a profundidades de 57 m en la zona de muestreo más alejadas de la costa (**Anexo I**). Por lo tanto la temperatura de la columna de agua en la zona costera es mayor debido a la poca profundidad y producto de calor transferido desde la atmósfera en esta época del año comparado con las zonas de mayor profundidad (Guerrero y Piola, 1997; Guerrero, 1998).

En ER-GSJ, la salinidad y temperatura presentaron una tendencia creciente desde el golfo San Jorge (46°S) hasta la zona norte de ER (38°S). El rango de variación de salinidad fue de 33,3 – 34,2 y en el caso de la temperatura de $12,9^\circ\text{C}$ – $18, 8^\circ\text{C}$ (**Fig. 2c**). Estas tendencias se asocian a la transición/conexión entre aguas de golfo San Matías y la plataforma, y a

la batimetría del sistema ya que las profundidades incrementaron gradualmente de sur a norte (19m – 99m) de la transecta considerada (**Anexo I**). Estos datos fueron similares a los reportados por Acha et al. (2004) y Bianchi et al. (2005).

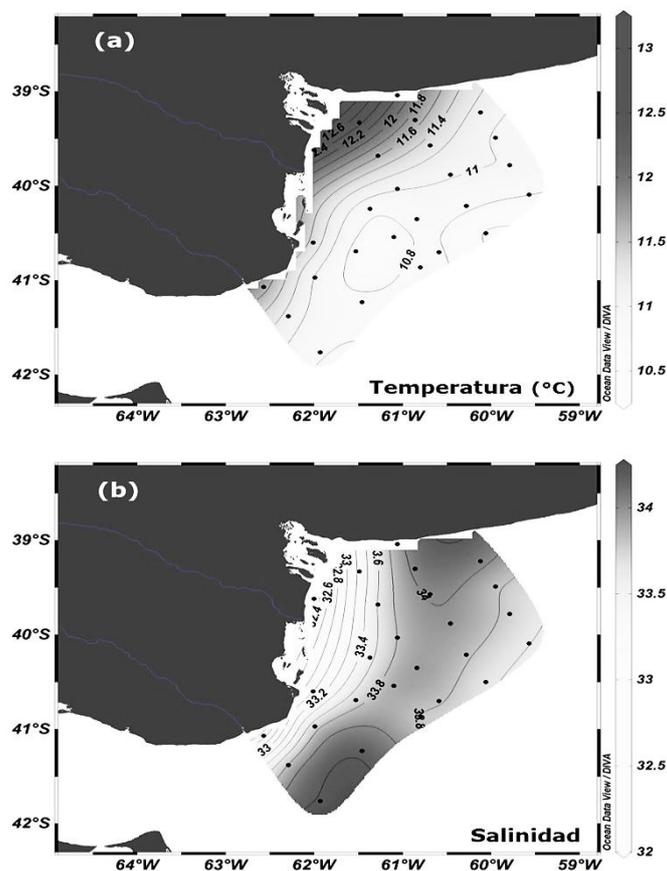


Fig. 2. Distribución espacial de salinidad y temperatura. Campaña oceanográfica El Rincón, 2010: a) Temperatura; b) salinidad.

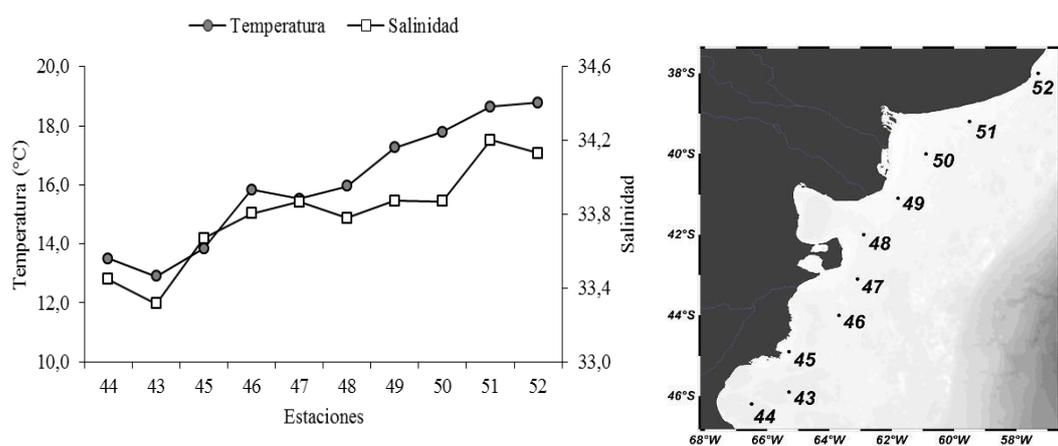


Fig. 3. Campaña oceanográfica El Rincón-Golfo San Jorge, 2012: temperatura y salinidad.

4.2. Clorofila-a y Feopigmentos

En ER-2010 las concentraciones de clorofila-a (clo-a) y feopigmentos variaron desde $0,2 \mu\text{g L}^{-1}$ hasta $3,0 \mu\text{g L}^{-1}$ y $0,2 \mu\text{g L}^{-1}$ hasta $1,7 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente (**Fig. 4a, b**). La concentración de ambos pigmentos correlacionan significativamente ($r = 0,82$, $n = 26$, $p < 0,001$) presentando en su distribución, dos núcleos de máxima concentración en la zona este de la región estudiada. Esto podría ser principalmente por mayor presión de pastoreo por parte del zooplancton. Según Hoffmeyer et al. (2009), esta zona, especialmente el Frente salino, es favorable para el crecimiento del zooplancton.

Por otro lado en ER-GSJ la concentración de clo-a y feopigmentos variaron desde $1,2 \mu\text{g L}^{-1}$ hasta $4,1 \mu\text{g L}^{-1}$ y $0,7 \mu\text{g L}^{-1}$ hasta $1,2 \mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente (**Fig. 5**). En la distribución espacial general se observó un incremento de concentración de Clo-a desde el norte (38°S) hasta el sur (46°S) y un patrón inverso para la concentración de feopigmentos, principalmente en la est. 43. Esto sugiere mayor actividad de pastoreo en ER o un desfase temporal entre la actividad fito- y zooplantónica en la escala de tiempo de los muestreos.

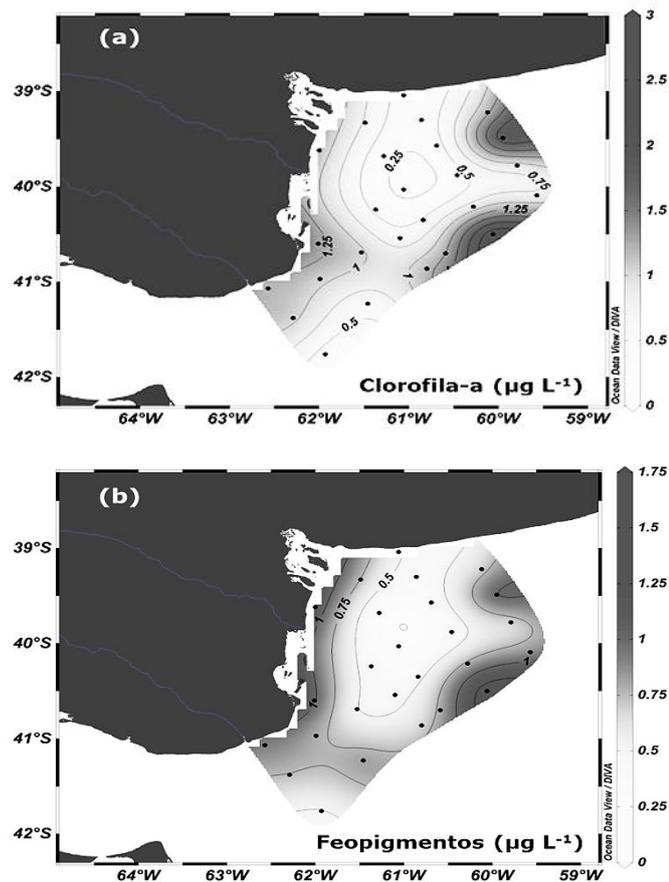


Fig. 4. Distribución espacial de: a) clorofila-a y b) feopigmentos. Campaña oceanográfica El Rincón, 2010.

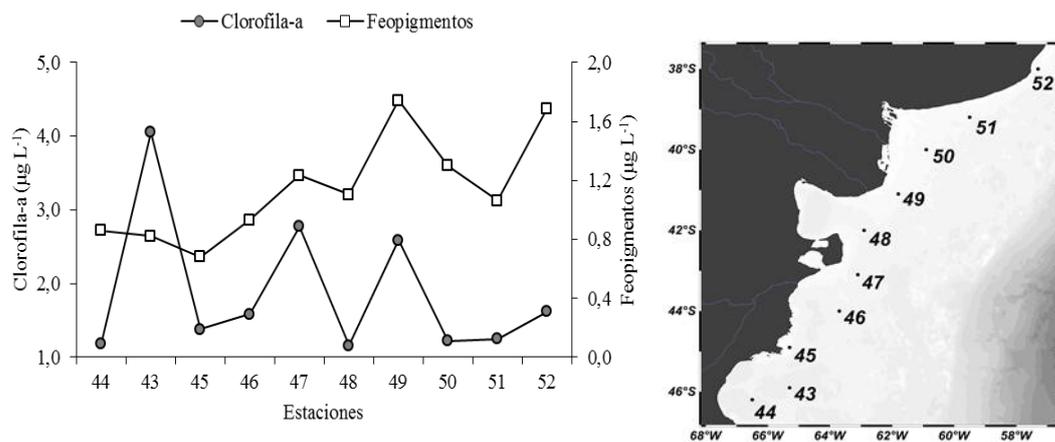


Fig. 5. Campaña oceanográfica El Rincón-Golfo San Jorge, 2012: clorofila-a y feopigmentos.

4.3. Composición y concentración de TDCHO

La concentración de TDCHO en ER varió de 1,5 $\mu\text{M-C}$ a 22,9 $\mu\text{M-C}$. Las concentraciones máximas se presentaron principalmente en dos zonas; 1) zona noreste, influenciada por el estuario de Bahía Blanca y parte del Río Colorado y 2) zona suroeste, influenciada por el Río Negro y aguas del Golfo San Matías (**Fig. 6a**).

La concentración de la fracción libre (DFCHO) varió de 0,9 $\mu\text{M-C}$ a 8,7 $\mu\text{M-C}$ y sus máximos se observaron en la zona suroeste y en menor medida en la salida del río Colorado, mientras que la concentración de la fracción combinada (DCCHO) varió de 0,1 $\mu\text{M-C}$ a 16,1 $\mu\text{M-C}$ y sus máximos fueron en la zona influenciada por el río Negro y estuario de Bahía Blanca (**Fig. 6b, c**).

El núcleo de mayor concentración de DFCHO ubicado en la zona sur coincide con el núcleo de mayor salinidad del frente salino, sugiriendo que ese ambiente de mayor salinidad podría favorecer las altas concentraciones de DFCHO ya que generalmente los frentes tienen importantes implicancias biológicas, observándose en su entorno, abundancia de individuos, desde el fitoplancton hasta grandes mamíferos (Belkin et al., 2009). Esto resulta por su capacidad de concentrar plancton, material particulado y disuelto, induciendo el aumento en la productividad de las masas de agua, más acentuadas que el resto de la plataforma. (Acha et al., 2015). Por otro lado, la pluma de menor intensidad de DFCHO ubicada en la salida del Río Colorado, estaría indicando una posible contribución del continente. En el caso de la pluma de mayor intensidad de DCCHO en la salida del Río Negro estaría indicando otro aporte continental pero particularmente de carbohidratos poliméricos.

En ER-GSJ la concentración de TDCHO varió de 1,5 $\mu\text{M-C}$ a 45,6 $\mu\text{M-C}$ y la concentración de las fracciones DFCHO y DCCHO variaron entre 0,3 $\mu\text{M-C}$ a 30,3 $\mu\text{M-C}$ y 1,0 $\mu\text{M-C}$ a 32 $\mu\text{M-C}$, respectivamente (**Fig. 7**).

Se observó un máximo de concentración para todas las fracciones de los carbohidratos en la est. 44 ubicada en el interior del golfo de San Jorge y posterior tendencia decreciente hasta la salida del Golfo (est.45). Este patrón está asociado a la abundancia de dinoflagelados reportados por Krock et al. (2015) en la misma campaña oceanográfica, sugiriendo que el fitoplancton es la fuente y posible influencia de la distribución de carbohidratos en el Golfo. Además ese patrón es asociado y/o relacionado con la alta concentración de sustancias mucilaginosas observadas durante la campaña "Coliols II" en 2014.

Por otro lado, otro máximo de concentración para el total y las dos fracciones de carbohidratos fue observado en la est. 49, por la influencia del río Negro, sugiriendo que ese pico de máxima concentración puede ser aportado por el continente o también puede haber una posible aporte por parte del fitoplancton, coincidiendo con un máximo de pigmentos fotosintéticos (**Fig. 5**). Por último, el pico de máxima concentración de TDCHO, DFCHO y mínimo de DCCHO en la est. 51 es asociado al producto de hidrólisis de DCCHO por radiación UV o procesos descomposición por bacterias, dando como resultado mayores concentraciones de DFCHO y menores DCCHO (Hung et al., 2001; Khodse et a., 2010).

Para la zona de estudio no se han encontrado altos valores de concentración de carbohidratos de la fracción disuelta. Los valores obtenidos en este trabajo, fueron similares a los informados por Pakulski y Benner, (1994); Myklestad y Børsheim, (2007) y He et al. (2015) en diferentes áreas estuarinas y oceánicas, como el Océano Atlántico norte, Ártico, y el mar este de China.

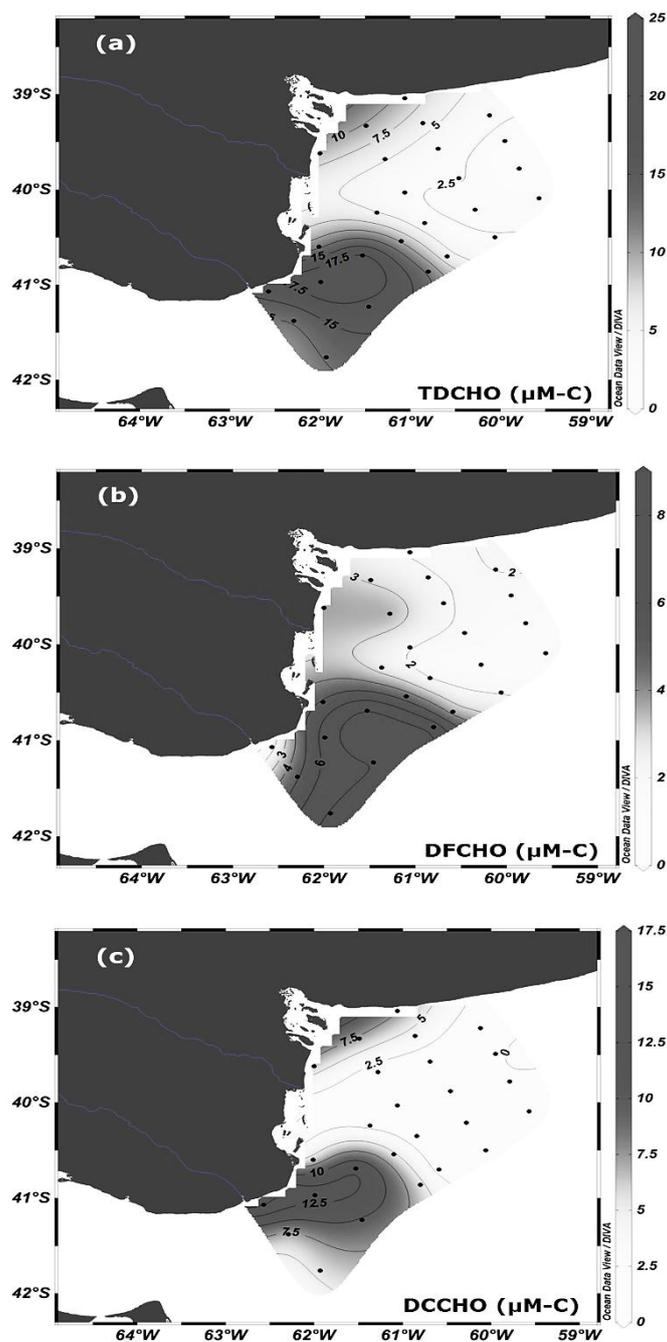


Fig. 6. Distribución espacial de carbohidratos en la fracción disuelta. Campaña oceanográfica El Rincón, 2010: a) carbohidratos totales (TDCHO); b) carbohidratos libres (DFCHO); c) carbohidratos combinados (DCCHO).

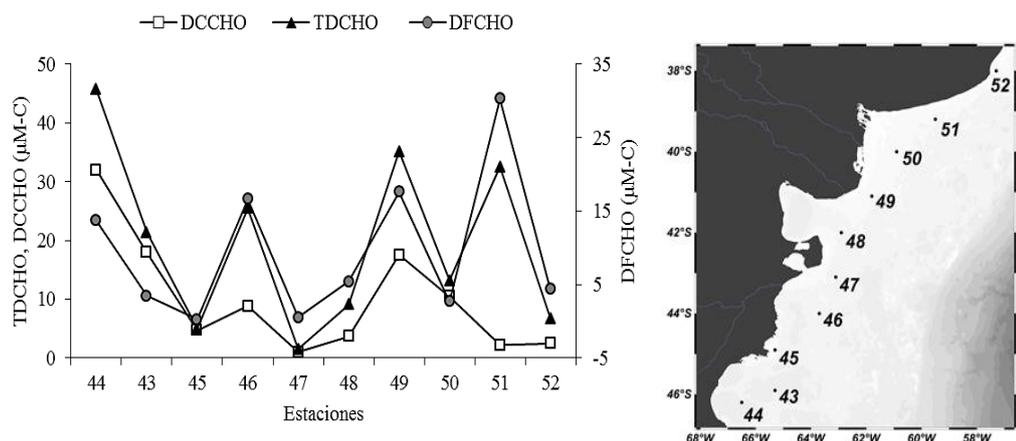


Fig. 7. Distribución espacial de carbohidratos en la fracción disuelta. Campaña oceanográfica El Rincón-Golfo San Jorge, 2012: a) carbohidratos totales (TDCHO); b) carbohidratos libres (DFCHO); c) carbohidratos combinados (DCCHO).

4.4. Composición y concentración de TDAA

La concentración de TDAA en ER varió de $7,4 \mu\text{M-C}$ a $50,0 \mu\text{M-C}$. Las concentraciones máximas se evidenciaron en la zona costera y un núcleo de menor concentración en la zona oeste del área de estudio. Esta misma distribución también fue observada para DCAA y su concentración varió de $7,3 \mu\text{M-C}$ a $49,1 \mu\text{M-C}$. La fracción combinada representó el 98 % del total de los aminoácidos (**Anexo II**). En el caso de la fracción libre (DFAA), la concentración varió de $0,1 \mu\text{M-C}$ a $0,9 \mu\text{M-C}$. Se evidenció una pluma de máxima concentración con tendencia decreciente de sur a norte y un núcleo de menor magnitud en la zona oeste de la región de estudio (**Fig. 8a, b, c**).

La distribución de DFAA es similar a la de DFCCCHO, con elevadas concentraciones en la costa y un núcleo de máxima concentración que coincide con el núcleo de máxima salinidad. Esto estaría indicando que el frente salino también podría ser uno de los factores que controlaría la distribución de DFAA en ER.

En el caso de la fracción DCAA parece estar influenciada en primera medida por el aporte del continental, dado la pluma pronunciada en la desembocadura del Río Colorado. Por otro lado, la concentración de DCAA en la zona oeste se asocia a un aporte del fitoplancton ya que en esa misma

zona se evidenció un pico de máxima concentración de pigmentos fotosintéticos (**Fig. 4**).

En ER-GSJ la concentración de TDAA varió de 1,9 $\mu\text{M-C}$ a 15,0 $\mu\text{M-C}$ y la concentración de las fracciones DFAA y DCAA variaron entre 0,1 $\mu\text{M-C}$ a 0,3 $\mu\text{M-C}$ y 1,7 $\mu\text{M-C}$ a 14,7 $\mu\text{M-C}$, respectivamente (**Fig. 9**).

La concentración de la fracción combinada (DCAA) fue similar en toda la transecta, sin embargo se observó un pico de máxima concentración en la est. 47 que se asoció con el máximo de abundancia de picoplancton autotrófico reportado por Krock et al. (2015) durante la misma campaña oceanográfica.

La distribución de DFAA no presentó un patrón de distribución definido pero se destaca un máximo en el Frente de Península Valdés (est. 48). Esta zona se caracteriza por presentar alta productividad con respecto a las diferentes áreas de la plataforma argentina (Acha et al., 2004; Alder y Franzosi, 2004). Por lo tanto el máximo en de DFAA y el máximo de DCAA pueden ser asociados directamente con el Frente de Península Valdés.

Estos valores fueron comparables con diferentes sistemas estuarinos y de plataforma (Chen et al., 2013; Pettine et al., 2001; Gors et al., 2007; He et al., 2010).

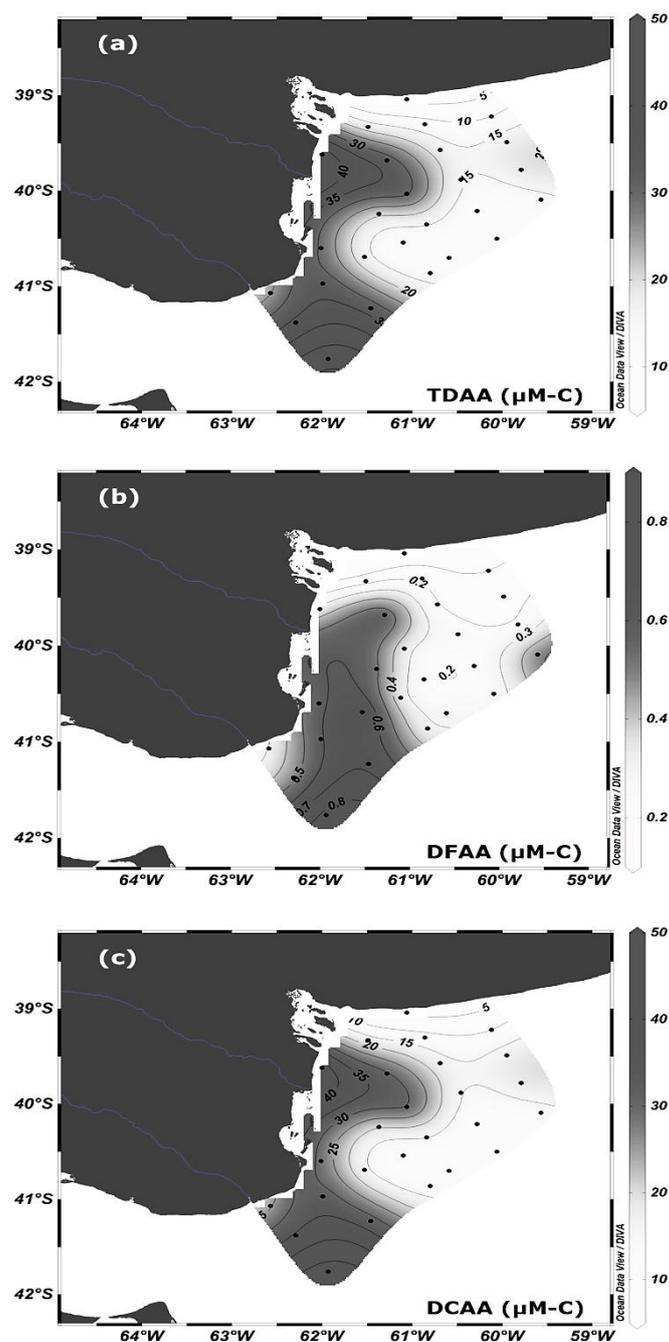


Fig. 8. Distribución espacial de la concentración de aminoácidos en la fracción disuelta. Campaña oceanográfica El Rincón, 2010: a) aminoácidos totales (TDAA); b) aminoácidos libres (DFAA); c) aminoácidos combinados (DCAA).

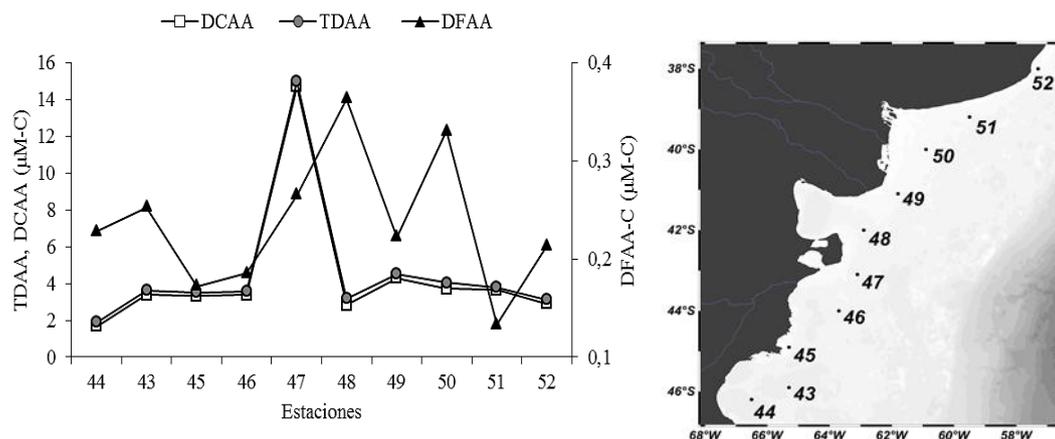


Fig. 9. Distribución espacial de la concentración de aminoácidos en la fracción disuelta. Campaña oceanográfica El Rincón-Golfo San Jorge, 2012: aminoácidos totales (TDAA), aminoácidos libres (DFAA), aminoácidos combinados (DCAA).

En la **Fig. 10** se presenta la composición de aminoácidos específicos en TDAA y DFAA en ER. Se identificaron y cuantificaron 14 aminoácidos. Los aminoácidos mayoritarios en el área de estudio fueron la his, glu y asp que sumados, aportan 49% a TDAA y el 66% a los DFAA.

Por otro lado, en ER-GSJ se identificaron y cuantificaron 9 aminoácidos en TDAA y 8 en DFAA. Los principales aminoácidos en la transecta realizada fueron la his, val, asp con una contribución de 66 % en TDAA y 60 % en DFAA (**Fig. 11**).

La composición y cuantificación de aminoácidos específicos en ER-GSJ fue menor que en ER-2010. La posible causa de esto se asocia a la baja productividad fitoplanctónica en esa época del año (otoño) para ER-GSJ y alta actividad microbiana, como consecuencia de esto un mayor consumo de aminoácidos biodisponibles. En esta misma transecta Krock et al. (2015) reportaron un incremento latitudinal de abundancia de bacterias heterótrofas desde el golfo San Jorge hasta Mar del Plata que podría explicar la baja cuantificación de algunos aminoácidos como también el enriquecimiento de los aminoácidos his, glu y asp que se debe posiblemente a la baja capacidad de asimilación por las bacterias (Ietswaart et al., 1994).

Dauwe y Middelburg, (1998) y Dauwe et al., (1999) propusieron que los aminoácidos con mayor contribución de porcentaje mol reflejan el

estado diagenético de la materia orgánica en procesos de sedimentación, después Gors et al., (2007) propuso un índice de degradación alternativo en la fracción disuelta donde sus mayores contribuyentes porcentuales molares fueron asp, glu, ser, gly y ala. En consecuencia, en ER-2010 los aminoácidos his, asp, glu; y en ER-GSJ la his, val y asp sustentarían un alto grado de alteración en la DOM.

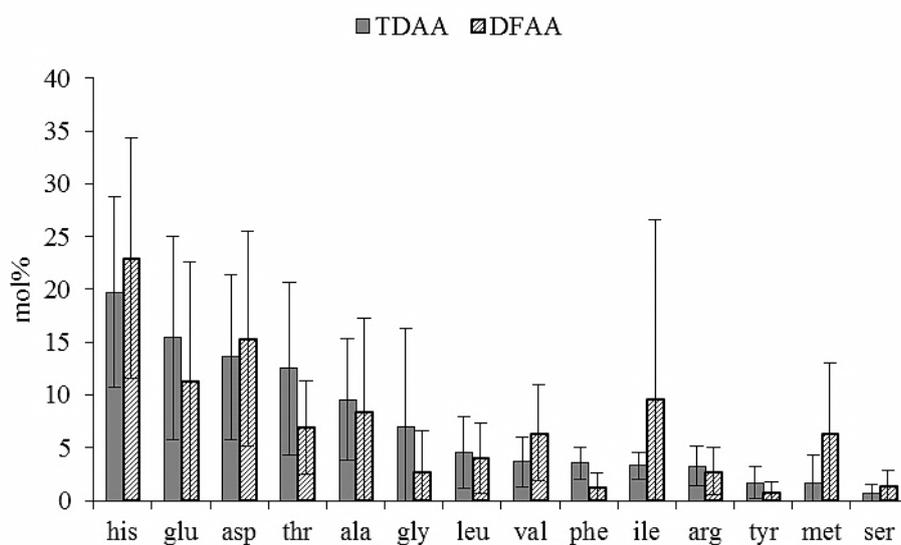


Fig. 10. Promedio del porcentaje molar de los aminoácidos cuantificados en TDAA y DFAA para todas las estaciones, barras (desvío estándar) en la campaña oceanográfica El Rincón, 2010.

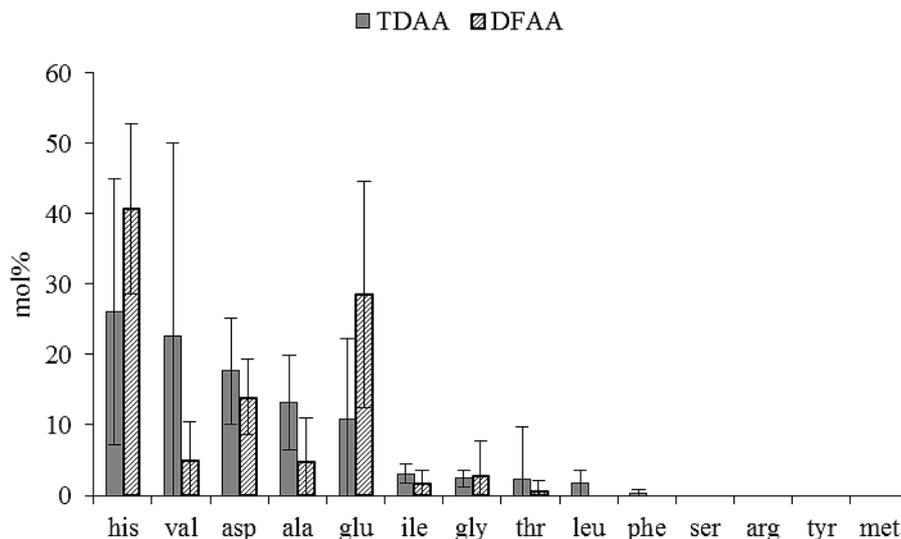


Fig. 11. Promedio del porcentaje molar de los aminoácidos cuantificados en TDAA y DFAA para todas las estaciones, barras (desvío estándar) en la campaña oceanográfica El Rincón-Golfo San Jorge, 2012.

4.5. Índice de degradación

El Índice de degradación (ID) en ER varió desde -0,6 hasta 1,2. Los valores positivos se observaron en la salida del estuario de Bahía Blanca en un rango de 0,1 a 1,2, mientras que los valores negativos (-0,2 a -0,5) se observaron en la zona sur y costa (**Fig. 12**).

En ER-GSJ los valores de ID variaron desde -0,4 hasta 0,2. La transecta fue dividida en dos zonas según sus valores de ID. Los valores positivos (0,0 a 0,2) se observaron en la zona sur, desde la est. 48 (42,0 °S) hasta las est. 43 (45,9 °S) cubriendo la plataforma, sin la est. 44, que presentó valor negativo (-0,2), pero se encuentra dentro del Golfo San Jorge. Por otro lado los valores negativos (-0,3 a -0,2) cubren la zona denominada ER (entre 41,1 °S y 38,0 °S) (**Fig. 13**).

Este índice ha sido aplicado para estimar la biodisponibilidad o el estado de degradación de los aminoácidos en la materia orgánica disuelta (Amon et al., 2001; Yamashita y Tanoue, 2003a), indicando de forma general que los valores positivos corresponden a aminoácidos frescos y posiblemente materia orgánica reciente, mientras que los valores negativos a aminoácidos y/o materia orgánica biológica o físicamente alterada.

Estos datos estarían sugiriendo principalmente que en ER, la zona influenciada por estuario de Bahía Blanca habría materia orgánica reciente, mientras que en las zonas costeras influenciadas por los ríos y la zona sur, prevalece materia orgánica "vieja" o transformada, por efectos físicos como la radiación UV o microbianos. Si bien según el ID se evidenció materia orgánica fresca en la zona de ER, en la mayoría de las estaciones prevalece la materia orgánica alterada (ID negativos), sugiriendo que ER actúa como una región regenerativa. Estas observaciones son consistentes con lo postulado por Carreto et al. (1981) y Carreto, (1995), (2001) dentro de esta región existen sectores donde la producción de fito- zooplancton y biomasa bacteriana dependen predominantemente de la regeneración de nutrientes. Lo antes mencionado, coincide con el ID de ER-GSJ, ya que precisamente en la estaciones que abarcan el área de ER (entre 41,1 °S y 38,0 °S) de esa transecta presentaron valores negativos. Cabe acotar que los conceptos de sistema regenerativo y acumulación de material refractario podrían parecer en primera instancia contradictorios. Sin embargo existe evidencia que la actividad microbiana puede producir significativas cantidades de material orgánico con características refractarias (Ogawa et al., 2001) constituyendo este aspecto una de las principales líneas de investigación que se derivan de este trabajo.

Por otro lado, se realizó una matriz de correlación entre el ID y el mol% de los aminoácidos específicos de TDAA con el propósito de estimar cuál de ellos presentaban características de baja biodisponibilidad (**Tabla I**). Se halló una relación inversa entre ID y % mol de asp, glu, thr, arg y val, indicando que estos aminoácidos presentarían una menor biodisponibilidad a bacterias por formar parte de las sustancias húmicas y/o estar presentes en forma estabilizada de péptidos/proteínas (Keil y Kirchman, 1993). Estos aminoácidos fueron los que más contribuyeron al total, tanto en ER como ER-GSJ.

En el caso de la his se observó correlación directa con ID, lo que indicaría una relativa biodisponibilidad en el pool de TDAA en ER.

Capítulo 3 - Aminoácidos, carbohidratos disueltos y propiedades de DOM: patrones espaciales en aguas superficiales de las regiones subbonaerense y norpatagónica

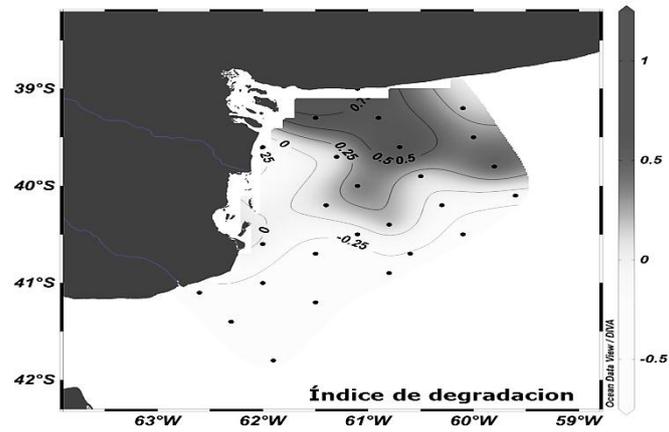


Fig. 12. Distribución espacial del Índice de degradación en fracción disuelta. Campaña oceanografía ER-2010.

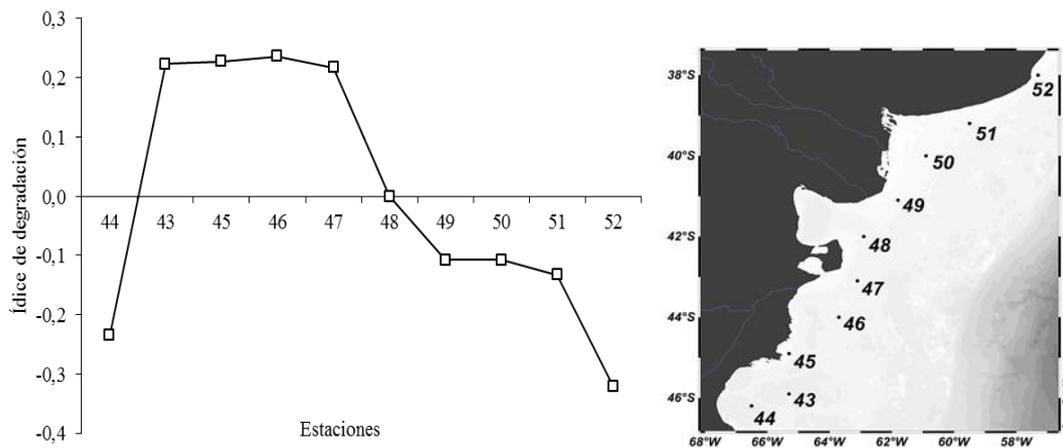


Fig. 13. Distribución espacial del índice de degradación en la fracción disuelta. Campaña oceanográfica El Rincón-Golfo San Jorge, 2012.

Tabla I. Coeficientes de correlación de Pearson entre los % mol de aminoácidos específicos de TDAA en las dos compañías oceanográficas y sus respectivos ID.

% mol	Índice de degradación	
	ER, 2010 n = 29	ER-GSJ, 2012 n = 10
asp	-0,71	-
glu	-0,49	-
ser	-	-
his	0,64	-
gly	0,67	-
thr	-0,79	-
arg	-0,41	-
ala	-	0,86
tyr	0,45	-
met	0,55	-
val	-	-0,65
phe	-	-
ile	0,50	0,77
leu	-	0,81

Los números representan correlaciones significativas ($p < 0,05$), (-) correlación no significativa, asp: ácido aspártico, glu: ácido glutámico, ser: serina, his: histidina, gly: glicina, thr: treonina, arg: arginina, ala: alanina, tyr: tirosina, val: valina, phe: fenilalanina, ile: isoleucina, leu: leucina.

4.6. Composición química de la DOM

A continuación se presentaran los porcentajes de los componentes de la fracción químicamente caracterizada expresada en carbono del DOC total.

En ER-2010 la concentración de DOC varió de 67,8 $\mu\text{M-C}$ a 130,0 $\mu\text{M-C}$ con un promedio de 85,5 $\mu\text{M-C} \pm 13,6 \mu\text{M-C}$ (**Anexo 1**). En términos generales, los DCAA fueron el grupo dominante contribuyendo al DOC en un 25 %, seguido los DCCHO con 6%. Los DFCHO y DFAA fueron los componentes que contribuyeron en menor medida al DOC, representaron el 5% y 1%, respectivamente (**Fig. 14a**)

En ER-GSJ la concentración de DOC varió de 63,1 $\mu\text{M-C}$ a 84,0 $\mu\text{M-C}$ con un promedio de 73,1 $\mu\text{M-C} \pm 7,5 \mu\text{M-C}$ (**Anexo 1**). Los DCCHO (17%) fueron la fracción más abundante en la mayoría de las muestras, seguido por DFCHO (15%), DCAA (6%) y DFAA (1%) (**Fig. 14b**).

Los componentes químicamente caracterizados en ER-2010 y ER-GSJ representaron el ~37 de DOM. Esto está en acuerdo con Simon et al. (1998), según quienes la fracción químicamente caracterizada en aminoácidos y carbohidratos puede llegar a aproximadamente 36% de DOM en ambientes marinos, riverinos y lacustres.

Dentro del DOC-identificado, se observó una variabilidad entre las dos campañas, en ER-2010 predominaron DCAA y en ER-GSJ los DCCHO (**Fig. 14a, b**). Esta diferencia se asocia a la época del año. Romero et al. (2006) reportaron patrones marcados de clorofila-a en la Plataforma Argentina donde establecen que en primavera (campaña ER-2010) se da el máximo florecimiento fitoplanctónico, -principal fuente de DOM- y en otoño (campaña ER-GSJ) hay decaimiento del mismo y posible agotamiento de nutrientes, disminuyendo el sustrato para las bacterias. Por lo tanto en zonas relativamente oligotróficas, las bacterias para su crecimiento consumen preferencialmente aminoácidos como fuente de nitrógeno (Vallino et al., 1996). Ese motivo hace que, posiblemente en ER-GSJ, las bacterias hayan consumido esas moléculas, por lo que es razonable pensar que los aminoácidos contribuyan en menor medida que los carbohidratos a la composición química de DOC en esa región.

En aguas oceánicas o de plataforma, los procesos biológicos, particularmente la dinámica del fitoplancton se encuentra entre los principales factores que podrían controlar la distribución de TDCHO y TDAA como fuente de los mismos. Sin embargo, estos componentes químicos no correlacionaron significativamente con clorofila-a que es nuestro parámetro de estimación de abundancia fitoplanctónica. Este mismo comportamiento fue reportado por Gors et al. (2007) en el mar Báltico, Zhang et al. (2009) y Gui-Peng, (2010) en la bahía de Jiaozhou, sugiriendo que esto puede ser debido a que la distribución de los carbohidratos y aminoácidos está controlada por varios factores, como la composición y condiciones fisiológicas del fitoplancton, así como la abundancia bacteriana.

La fracción no caracterizada del DOC, tanto en ER-2010 como ER-GJS representaron el ~63% del mismo, que podría ser atribuido principalmente a sustancias húmicas (Liebezeit y Dawson, 1892) y compuestos de bajo peso molecular como ácidos grasos, fenoles y vitaminas (Zhang et al., 2009). Se sugiere que probablemente exista una acumulación de carbono con características refractarias ya que existe una correlación significativamente directa entre DOC y la fracción no identificada – “sustancias húmicas”- ($r=0,70$, $n=31$, $P<0,001$) (**Fig. 15**). Tanto la dinámica de esa acumulación, como la de su disminución no es conocida para esta región.

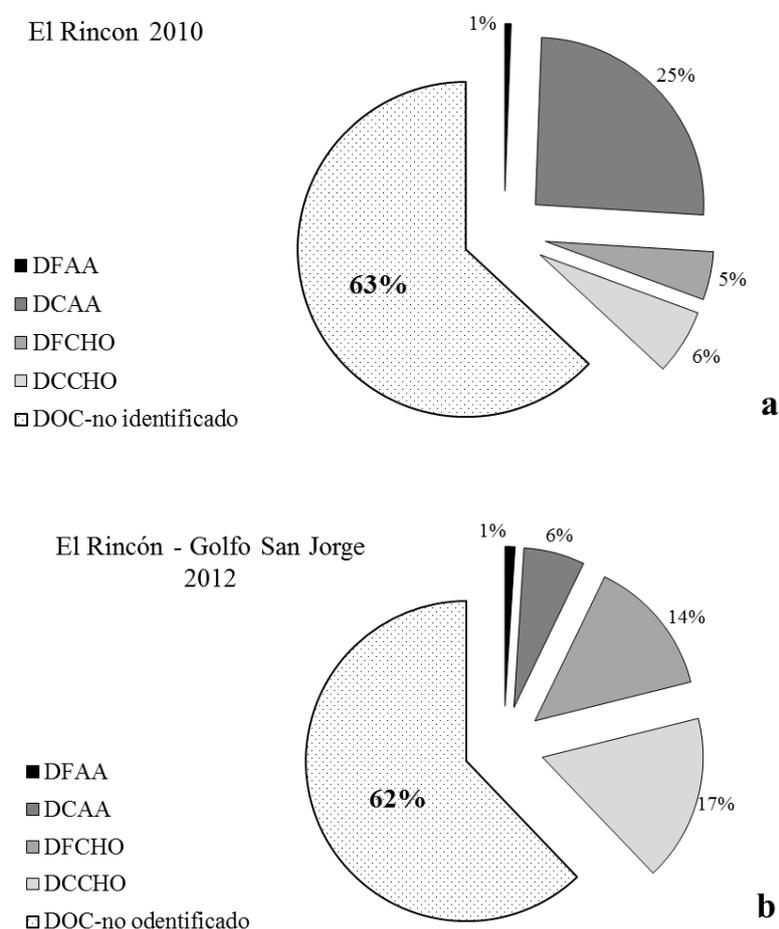


Fig. 14. Composición química de carbono orgánico disuelto (% carbohidratos, % aminoácidos en términos de carbono) en la zona de (a) El Rincón, 2010 (ER-2010) y (b) El Rincón-Golfo San Jorge, 2012 (ER-GSJ).

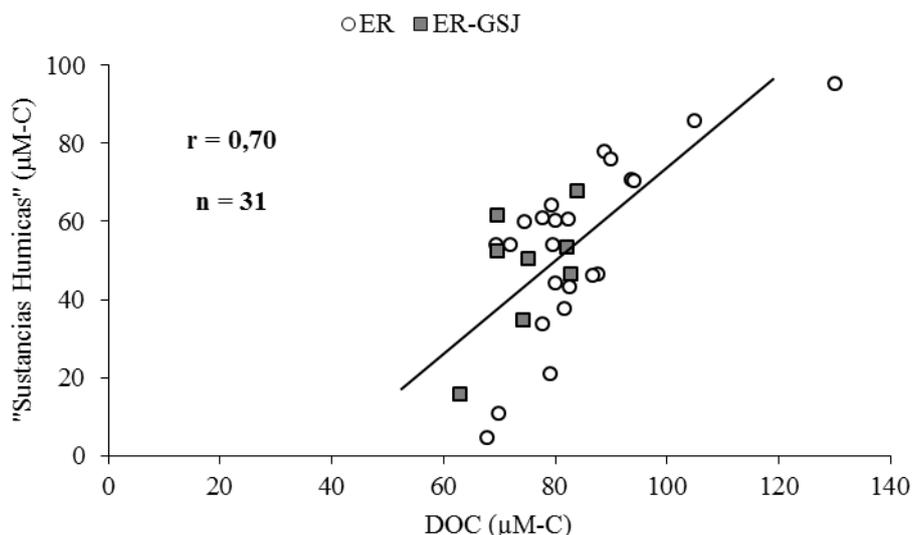


Fig. 15. Correlación entre DOC y Fracción no identificada en El Rincón, 2010 (ER-2010) y El Rincón-Golfo San Jorge, 2012 (ER-GSJ).

4.7. Asociación entre las estaciones de muestreo en función de las propiedades químicas y físicas de la zona

Con el propósito de caracterizar la zona en función de las propiedades químicas y físicas de ER-2010 y ER-GSJ y determinar grupos internamente homogéneos entre sí, se aplicó análisis de agrupamiento (cluster) y ordenamiento (MDS).

Las variables utilizadas en el análisis estadístico, fueron la concentración de los componentes químicos de DOM (DFAA, DCAA, TDAA, DFCHO, DCCHO y TDCHO), pigmentos (Clorofila-a y feopigmentos) y las propiedades físicas de la zona (temperatura, salinidad, densidad, distancia a la costa y profundidad). Los resultados obtenidos a partir de los análisis de agrupamiento y de ordenamiento se presentan a continuación.

En ER-2010 el análisis de agrupamiento determinó, con un 80 % de similitud, 4 grupos principales de estaciones: el grupo Costa (gC), grupo Transición (gT), grupo Frente Salino (gFS), grupo Plataforma Media (gPM). El gC estuvo constituido por 5 estaciones, gT por 4 y gFS por 11 y gPM por 6 puntos de muestreo (**Fig. 16**). El análisis de ordenamiento fue una buena representación de los grupos formados (estrés de 0,1) (**Fig. 17**). Este

análisis estadístico generó una zonificación en la región de estudio (**Fig. 18**).

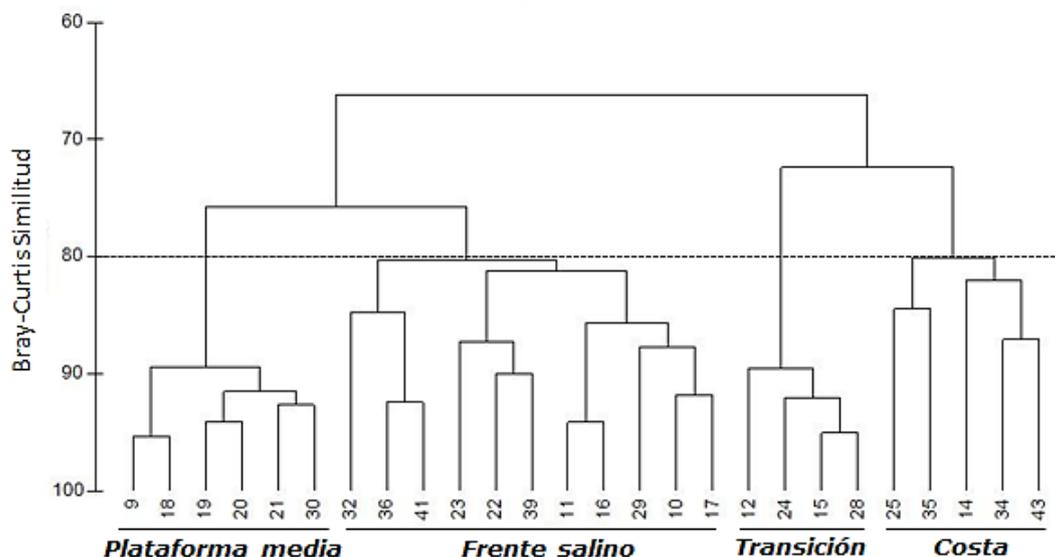


Fig. 16. Análisis de agrupamiento basado en la composición química de DOM y variables físicas en El Rincón.

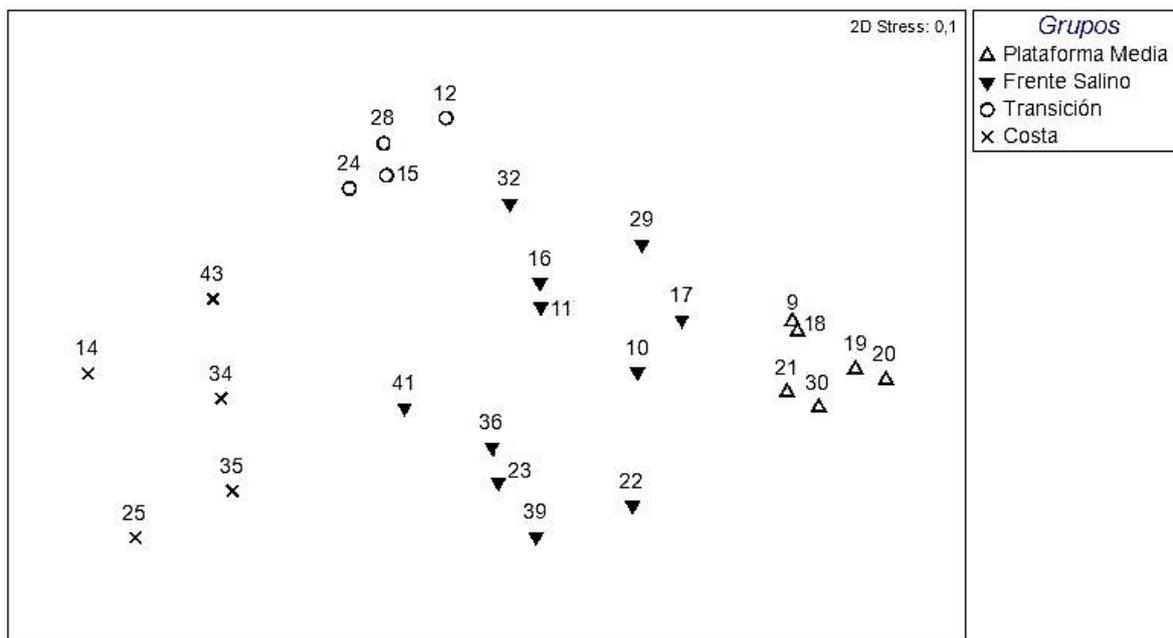


Fig. 17. Ordenamiento por escalamiento multidimensional basado en la composición química de DOM y variables físicas en El Rincón.

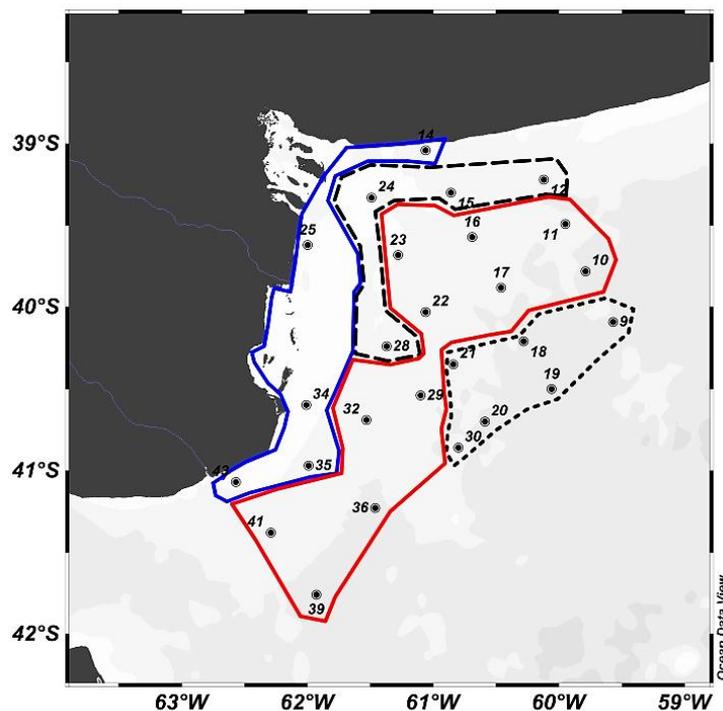


Fig. 18. Zonificación de El Rincón a partir de las asociaciones de estaciones obtenidas en el análisis de agrupamiento. Línea sólida azul: gC, línea interrumpida: gT, línea sólida rojo: gFS, línea puntos: gPM.

Dentro del gC, las estaciones que lo constituyen se agruparon con un promedio de similitud de 81%, en el gT la similitud promedio fue de 91%, en gFS la similitud fue de 82 y en el gPM fue 90% (**Fig. 16**). Estos porcentajes son buenos indicadores de homogeneidad en cada grupo ya que representaron más del 80% de la similitud.

La salinidad y TDAA contribuyeron el 52% de similitud y TDCHO el 5,67 de similitud en gC. Este grupo se asocia principalmente a la posible contribución continental de TDAA y en menor medida de TDCHO.

Las estaciones dentro de los grupos gT y gFS se asociaron principalmente por presentar, altas salinidades, profundidades promedio de 50 m, estaciones relativamente alejadas de la costa y altas concentraciones de TDAA. Estas variables físicas y químicas contribuyeron mayormente a la similitud con > 67%. Estas características se relacionaron directamente con el frente salino.

En gPM las variables físicas contribuyeron al 90% de similitud y los componentes químicos no presentaron contribución a ese porcentaje (**Tabla II**).

Estos grupos fueron significativamente diferenciados ($p = 0,001$) con un estadístico R global de 0,85 (**Tabla III**).

Tabla II. Análisis del porcentaje de similitud (SIMPER) en El Rincón. Composición química de DOM y variables físicas explican más del 90% de similitud en cada grupo formado a partir del análisis de agrupamientos.

Grupo de estaciones	VARIABLES de similitud	Contribución %	Similitud acumulada %
gC	Salinidad	20	20
	TDAA	16	36
	DCAA	16	52
	Densidad	15	67
	Profundidad	9	76
	Temperatura	7	83
	TDCHO	6	89
	Distancia costa	4	93
gT	Distancia costa	25	25
	Salinidad	21	46
	Densidad	16	62
	Profundidad	12	74
	Temperatura	7	81
	TDAA	7	88
	DCAA	7	95
gFS	Distancia costa	33	33
	Profundidad	16	49
	Salinidad	15	64
	Densidad	11	75
	TDAA	8	83
	DCAA	7	90
gPM	Distancia costa	52	52
	Profundidad	16	68
	Salinidad	10	78
	Densidad	8	86
	Temperatura	4	90

Tabla III. Análisis de similitudes (ANOSIM) de los diferentes grupos formados en El Rincón.

Grupo	Grupo	Estadístico (R)	Nivel de significancia (p)
Plataforma media	Frente salino	0,69	0,001
Plataforma media	Transición	0,99	0,005
Plataforma media	Costa	0,99	0,002
Frente salino	Transición	0,72	0,001
Frente salino	Costa	0,89	0,001
Transición	Costa	0,95	0,008

En ER-GSJ el análisis de agrupamiento determinó, con un 75 % de similitud, 2 grupos principales de estaciones: el grupo Norte (gN) y el grupo Sur (gS) cada uno constituido por 5 estaciones (**Fig. 19**). El análisis de ordenamiento fue una buena representación de los grupos formados (estrés de 0,03) (**Fig. 20**). Este análisis estadístico generó una zonificación en la región de estudio (**Fig. 21**). Estos grupos fueron significativamente diferenciados ($p = 0,005$) con un estadístico R global de 0,6.

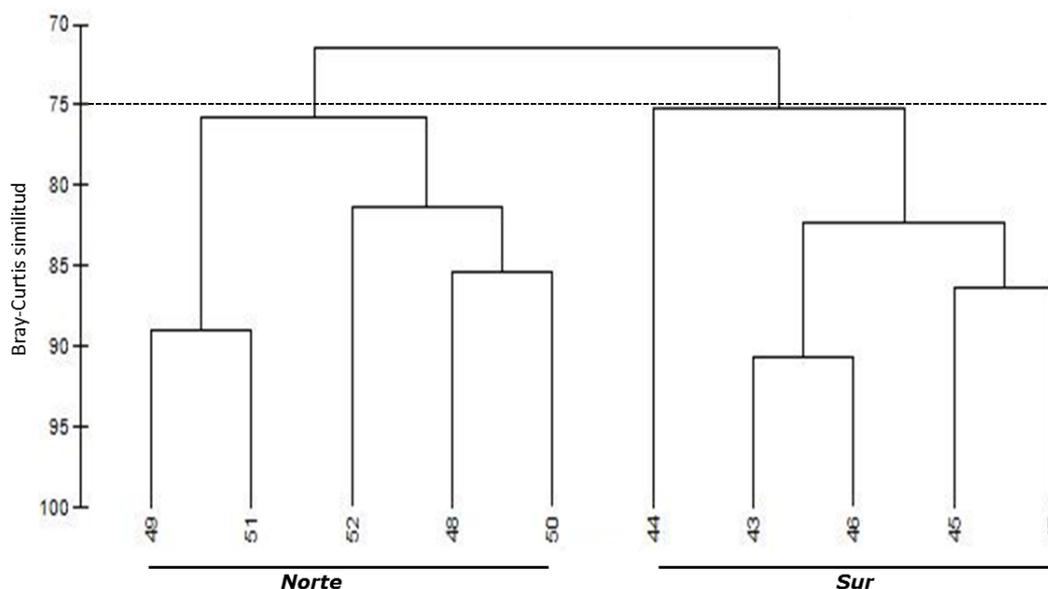


Fig. 19. Análisis de agrupamiento basado en la composición química de DOM y variables físicas en El Rincón-Golfo San Jorge.

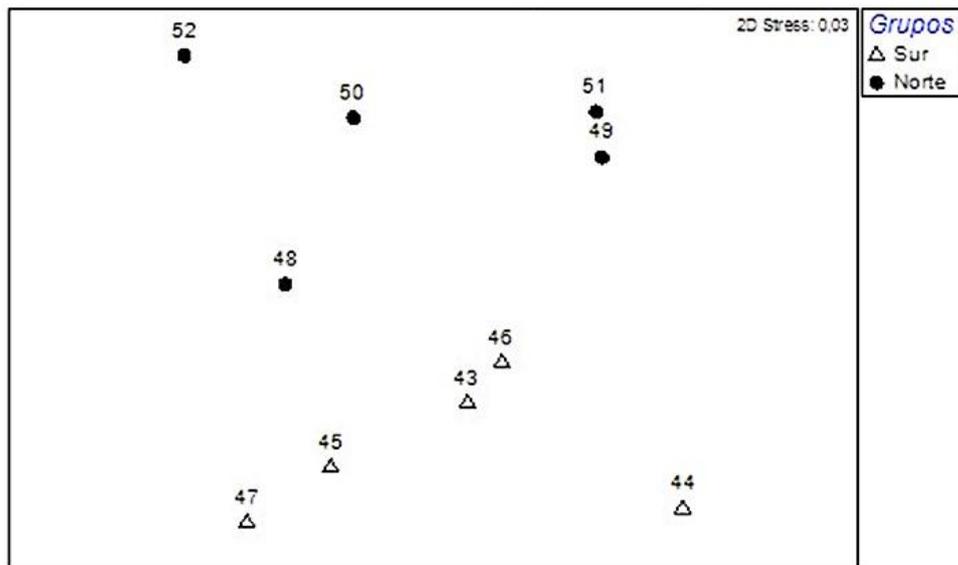


Fig. 20. Ordenamiento por escalamiento multidimensional basado en la composición química de DOM y variables físicas en El Rincón-Golfo San Jorge.

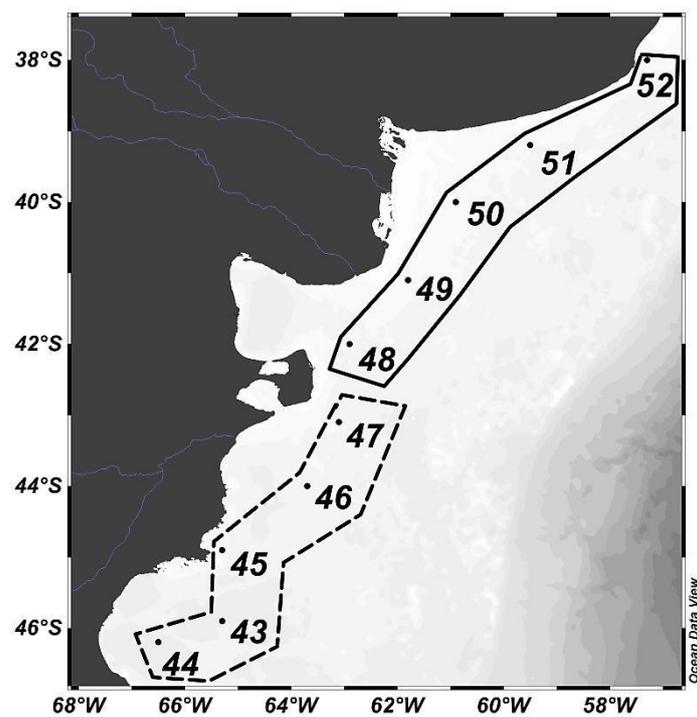


Fig. 21. Zonificación de El Rincón-Golfo San Jorge a partir de las asociaciones de estaciones obtenidas en el análisis de agrupamiento. Línea sólida: gN y línea interrumpida: gS.

Las estaciones dentro del gN se asociaron principalmente por ser menos profundas, por presentar mayor temperatura y salinidad y alto contenido de TDCHO y TDAA, comparado con gS (**Tabla IV**). Además en gS, dentro del grupo de datos, los TDAA no presentaron contribución porcentual dentro del 90% de similitud.

Este análisis con este grupo de datos nos lleva a suponer que habría uno o varios factores físicos (EJ: descarga de ríos, frente salino, fenómenos de resuspensión) que podrían influenciar en la concentración de TDAA en el gN.

Tabla IV. Análisis del porcentaje de similitud (SIMPER) en El Rincón-Golfo San Jorge. Composición química de DOM y variables físicas explican más del 90% de similitud en cada grupo formado a partir del análisis de agrupamientos.

Grupo de estaciones	Variables de similitud	Contribución %	Similitud acumulada %
gN	Salinidad	31	31
	Profundidad	27	58
	Temperatura	15	73
	TDCHO	10	83
	DFCHO	5	88
	TDAA	3	91
gS	Profundidad	51	51
	Salinidad	22	73
	Temperatura	10	83
	TDCHO	6	89
	DCCHO	3	92

5. Conclusiones

Las distribuciones horizontales de los compuestos disueltos investigados en las zonas de El Rincón y El Rincón-Golfo San Jorge presentaron las siguientes tendencias.

El ingreso de los ríos Colorado y Negro a El Rincón contribuyeron a la distribución de las concentraciones de TDCHO y TDAA, lo que se evidencia en una tendencia creciente desde el interior de la plataforma hacia la costa. Por otro lado, la clorofila no presentó un patrón definido, lo que estaría indicando que el fitoplancton no fue el principal factor que controla la distribución de los TDCHO y TDAA.

La contribución de TDCHO y TDAA al carbono orgánico disuelto fue del ~37% tanto para los muestreos en El Rincón-2010 como El Rincón-Golfo San Jorge 2012. Sin embargo el porcentaje de contribución de las fracciones de estos componentes químicos variaron porcentualmente (diferencia 19% de DCAA) entre las dos campañas oceanográficas, asociados a una posible mayor actividad bacteriana a comienzos del otoño temprano y un mayor consumo de DCAA. La fracción no caracterizada, atribuidas a sustancias húmicas, representó el ~63% del carbono orgánico disuelto, este porcentaje se asocia a sustancias húmicas, estimando una acumulación de carbono con características refractarias en la zona de El Rincón, que actuaría como un sumidero funcional de carbono en forma disuelta.

El índice de degradación indica que en la zona influenciada por el estuario de Bahía Blanca predominó la materia orgánica recientemente producida, sin embargo en la mayoría de las estaciones predomina la materia orgánica envejecida o transformada. Esta tendencia, es apoyada por lo observado en la campaña El Rincón-Golfo San Jorge, en la cual valores de ID en el área de El Rincón fueron de materia orgánica transformada. Esto fortalece la visión de que esa zona podría actuar de manera regenerativa, con un intenso reciclado de materia orgánica que deja como "residuo" una fracción refractaria.

La relación inversa entre el índice de degradación y la contribución molar relativa de los aminoácidos ácido glutámico, ácido aspártico y valina podría indicar que estos aminoácidos se hallan presentes en compuestos de baja

biodisponibilidad. En el caso de la histidina, su contribución molar relativa presentó una relación directa con el índice de degradación, indicando mayor biodisponibilidad, producto de una posible fuente autóctona.

Las distribuciones de los componentes químicos parecen también estar moduladas por algunas características abióticas de la zona, entre esos el aporte continental reflejado en el parámetro de salinidad, la profundidad y la distancia a la costa, especialmente los TDAA en El Rincón y los TDCHO en El Rincón-Golfo San Jorge. Una profundización en estos aspectos requerirá de logística y esquemas de muestreo que permitan tener en cuenta patrones de circulación locales y regionales y sus variaciones estacionales.

Capítulo 4

Distribución de la materia orgánica disuelta y su relación con la estructura de la comunidad bacteriana en El Rincón.

1. Resumen

En este estudio se analizó la concentración de los aminoácidos y carbohidratos disueltos incluyendo sus fracciones monoméricas y poliméricas (DOC-Identificado) y las propiedades fluorescentes de la DOM (FDOM) en relación a la abundancia del fitoplancton y los principales grupos de bacterias en la zona de El Rincón. De acuerdo a la distribución de FDOM y de los nutrientes inorgánicos, se definieron tres grupos: *Costa*, *Transición* y *Plataforma Media*. Los fluoróforos que caracterizaron la DOM presentaron tendencia decreciente de costa a plataforma media, con predominio en término general de FDOM con características húmicas. El DOC identificado representó un cuarto del total de DOM, siendo los aminoácidos combinados la fracción dominante con 12% del DOC total. Los aminoácidos histidina, alanina, ácido aspártico, ácidos glutámico y treonina representaron el 66% mol en aminoácidos totales disueltos (TDAA), pero solo el 18% mol de TDAA representados en los aminoácidos alanina, leucina y serina correlacionaron significativamente con la clorofila-a (clo-a). Los polisacáridos correlacionaron con la abundancia del microfitoplancton en las zonas de transición y plataforma media; en la zona costera los polisacáridos correlacionaron negativamente con la salinidad. Las *alfaproteobacterias* y las citofagas/flavobacterias fueron los dos grupos más abundantes de la

comunidad bacteriana y correlacionaron inversamente con el pico B de la FDOM, mientras que el grupo *betaproteobacterias* fue el menos abundante y correlacionó negativamente con los polisacáridos aportados por el continente y el %mol de gly de TDAA. El Grupo *gammaproteobacterias* correlacionó positivamente con el índice de degradación, indicando una posible afinidad de este grupo por los aminoácidos con bajo grado de alteración biogeoquímica (aminoácidos frescos).

La relación entre la composición química y fluorescente de DOM, con la comunidad planctónica y aportes alóctonos, permite establecer: 1. Afinidad de las *betaproteobacterias* por la DOM alóctona con características refractarias, 2. Aporte de DOM al sistema por parte del fitoplancton y posterior consumo de DOM con propiedades proteínicas autoctonas por parte de las *alfaproteobacterias* y *citófagas/ flavocaterias*. Conforme a lo expresado anteriormente se construye un primer camino de origen, transformación y remineralización de la metería orgánica disuelta en el área de El Rincón.

2. Hipótesis y objetivos.

El objetivo general de este capítulo es evaluar la distribución espacial de la materia orgánica fluorescente disuelta (FDOM: Fluorescent Dissolved Organic Matter) y compuestos orgánicos disueltos en la zona de El Rincón y su relación con la estructura de la comunidad bacteriana. En el marco de los antecedentes desarrollados se pretende testear la siguiente hipótesis:

La distribución de los compuestos disueltos orgánicos y procesos biogeoquímicos del carbono y nitrógeno en el área de estudio son potencialmente influenciados y regulados por las principales entradas fluviales y contribución autóctona. Por lo tanto la composición de DOM se debe ver asociada con las comunidades planctónicas, entre esas las bacterias y el fitoplancton. A su vez, dicha relación se encuentra modulada por las condiciones ambientales, ya que distintos grupos bacterianos se encuentran involucrados en diferentes procesos metabólicos de la DOM.

Se propusieron los siguientes objetivos específicos.

- (i) Examinar la composición y distribución de la FDOM.
- (ii) Evaluar químicamente la materia orgánica disuelta a través de la cuantificación de carbohidratos y aminoácidos y su posible calidad nutricional como sustrato para las bacterias.
- (iii) Correlacionar los cambios de la composición química y fluorescente de la DOM, con cambios en la abundancia de los principales grupos de bacterias (*Alfaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*, *Gammaproteobacteria* y Citofaga/Flavobacteria (*Bacteroidetes*)) en el área costera de El Rincón.

3. Área de estudio y muestreo

Durante una campaña realizada en Marzo del 2013 en el Motovelero "Dr. Bernardo Houssay" se tomaron muestras en 12 estaciones ubicadas en el área bonaerense/norpatagónica (entre 39.0 °S y 41.0 °S y entre 60.5°O y 63.1 °O) (**Fig. 1**).

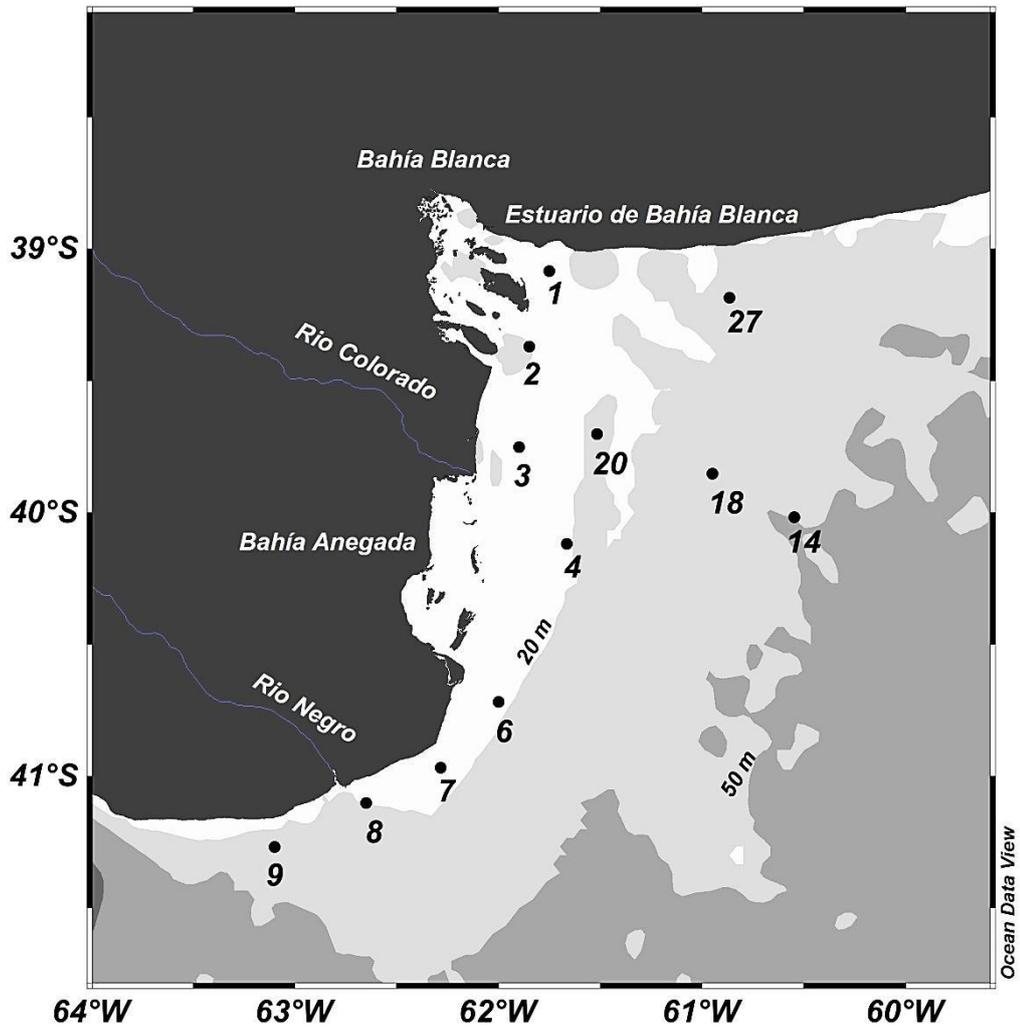


Fig. 1. Área de estudio y estaciones de muestreo, El Rincón 2013.

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. Temperatura y salinidad

El rango de temperatura en El Rincón varió desde un mínimo de 16,3 °C en la est. 18 a un máximo de 18,9 °C en la est. 2. La salinidad se registró entre 31,9 (est. 2) y un 34,4 (est. 9). El máximo de temperatura y mínimo de salinidad se presentó en la est. 2, ubicada en la desembocadura del Río Colorado (**Fig. 2**). En las estaciones cercanas a la desembocadura del Río Negro (est. 6, 7, 8, 9) se obtuvieron mayores salinidades y las ubicadas en la plataforma media (est. 14, 18) presentaron las menores temperaturas. Las marcadas variaciones y la distribución superficial estarían asociadas a las características oceanográficas e hidrológicas de la zona. El sector norte tiene profundidades que oscilan entre 10 m y 22 m en la costa, mientras que el sector sur tiene profundidades entre 10 a 83 m. El máximo de temperatura y el mínimo de salinidad en la zona norte (est. 2) estarían relacionados con la baja profundidad (10 m) y la descarga fluvial del Río Colorado, aunque la señal de su intrusión es débil debido principalmente a su bajo caudal (Barrera, 2015). Por otro lado en las estaciones cercanas a la desembocadura del Río Negro (est. 6, 7, 8, 9) se observaron salinidades altas y temperaturas medias asociadas con la influencia de aguas del Golfo de San Matías. Las características batimétricas hacen que al norte la temperatura de la columna de agua sea mayor que al sur, debido a la poca profundidad y producto de calor transferido desde la atmósfera en esta época del año (Guerrero, 1998; Guerrero y Piola, 1997). En el caso de la salinidad, en la zona sur, hay mayor influencia del Golfo San Matías que del Río Negro. Esto se asocia a que en las aguas del Golfo de San Matías predomina la evaporación sobre la precipitación generándose aguas más salinas, y por advección la masa de agua del golfo genera una continuidad/conectividad con aguas de la costa y plataforma, como consecuencia provoca un solapamiento de la señal de salinidad del Río Negro (Lucas et al., 2005). Las salinidades y temperaturas de las estaciones ubicadas en la zona más externa (est. 14 y 18) del área de estudio coinciden con valores de plataforma media (Lucas et al., 2005; Barrera, 2015).

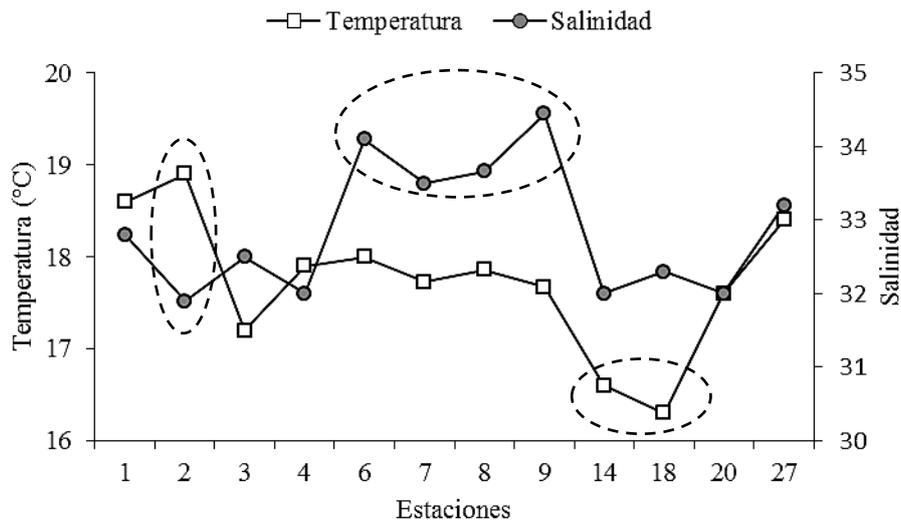


Fig. 2. Distribución espacial de la temperatura y la salinidad en El Rincón. Est. 2: máxima temperatura y mínima salinidad; est. 6, 7, 8 y 9: máximas salinidades; est. 14 y 18: mínimas temperaturas.

4.2. Caracterización de la FDOM y nutrientes inorgánicos

4.2.1. FDOM

Se identificaron 5 bandas principales según las características fluorescentes de la DOM en todas las estaciones. La FDOM con características húmicas: Pico A (Ex/Em: $250 \pm 5\text{nm}/420\text{-}430\text{nm}$), Pico C (Ex/Em: $310 \pm 5\text{nm}/430\text{-}435\text{nm}$) y Pico M (Ex/Em: $310 \pm 5\text{nm}/380\text{-}385\text{nm}$); FDOM de origen proteínico: Pico B (Ex/Em: $260 \pm 5\text{nm}/300\text{-}305\text{nm}$), Pico T (Ex/Em: $270 \pm 5\text{nm}/330\text{-}345\text{nm}$) (**Tabla I**).

Tabla I. Identificación de señales, compuestos asociados, concentraciones promedio de todas las estaciones y contribuciones porcentuales al total de FDOM (se define como la suma de la señal fluorescente de cada fluoróforo).

Pico	Clase	Grado de insaturación y clase Proteínica	Concentración (USQ)	% de cada pico	% total de sustancias húmica y proteínicas
C	Húmicos	I	1,0±0,5	13	(A+C+M) = 58%
A		II	2,0±0,8	26	
M		III	1,6±0,8	19	
B	Proteínico	i	1,7±0,7	23	(B+T) = 42%
T		ii	1,7±1,2	19	

Grado de insaturación: I-altamente insaturado, II-medianamente insaturado, III-baja insaturación. Proteínico: i: transformado por factores biológicos o fisicoquímicos, ii: frescos.

Entre los fluoróforos detectados se observó la siguiente secuencia según su contribución porcentual a la fluorescencia total, A (26±5%) ~ B (23±5%) >M (19±3%) ~ T (19±8%) >C (13±4%) donde el pico A, característico de sustancias húmicas medianamente insaturadas, fue el fluoróforo dominante seguido de una contribución importante del pico B característico de sustancias de origen proteínico que han sufrido transformación biológica o fisicoquímica. El fluoróforo C es el de menor aporte a la fluorescencia total. En promedio, la contribución de las sustancias húmicas (A+C+M) predominan (58%) comparado con los proteínicos (42%) (**Tabla I**).

Considerando la composición porcentual, de cada estación y para la época del año muestreada, predominarían estructuras moleculares con características húmicas en las est. 1, 2 18, 14 y 27 (Fig. 3) mientras que las est. 3, 4, 20, 7, 8, y 9 están particularmente enriquecidas en compuestos lábiles, de origen proteínico.

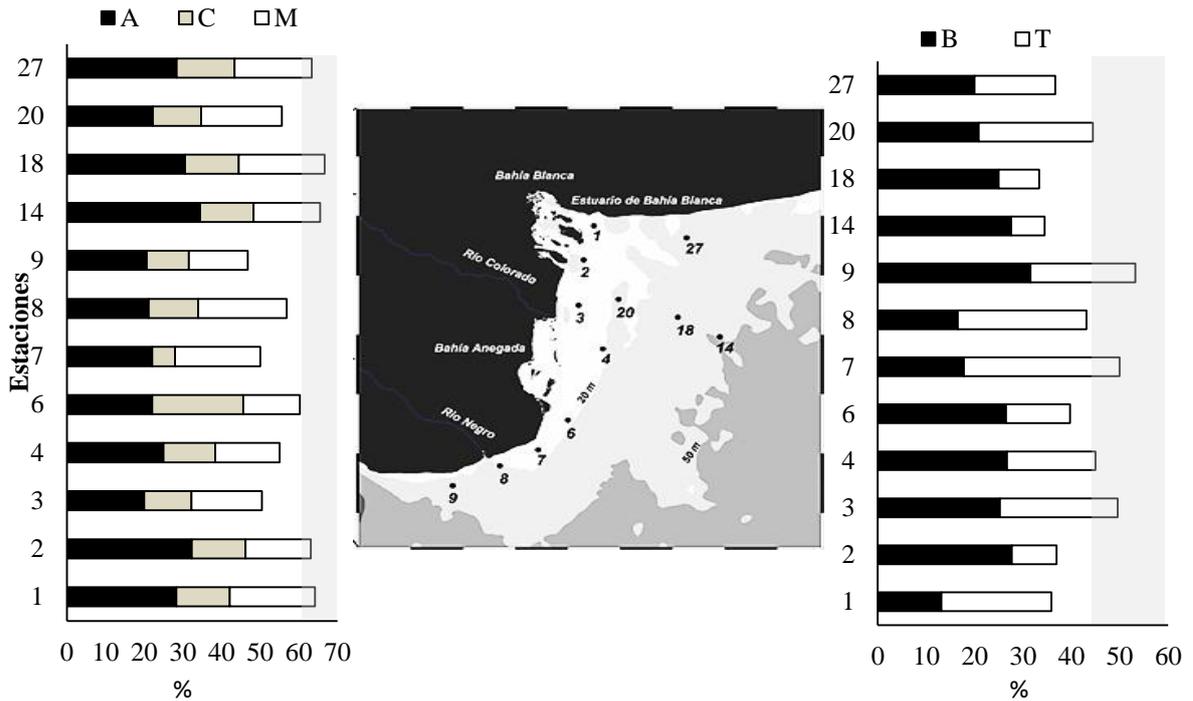


Fig. 3. Distribución y contribución porcentual espacial de cada fluoróforo de FDOM; compuestos húmicos: picos A, C y M; compuestos lábiles: Picos B y T en El Rincón.

Las intensidades en USQ (**Fig. 4**) fueron mayores en la est. 1 con valores en un rango de 2,0-4,1 USQ y menores en la est. 14 con valores entre 0,4 USQ hasta 1,0 USQ, observándose un patrón de distribución general decreciente de costa a plataforma media. Considerando la distribución que se observa en la **Fig. 4**, la contribución de compuestos húmicos a la zona presentaría este orden: estuario de Bahía Blanca > Río Negro > Río Colorado.

Capítulo 4 - Distribución de la materia orgánica disuelta y su relación con la estructura de la comunidad bacteriana en El Rincón.

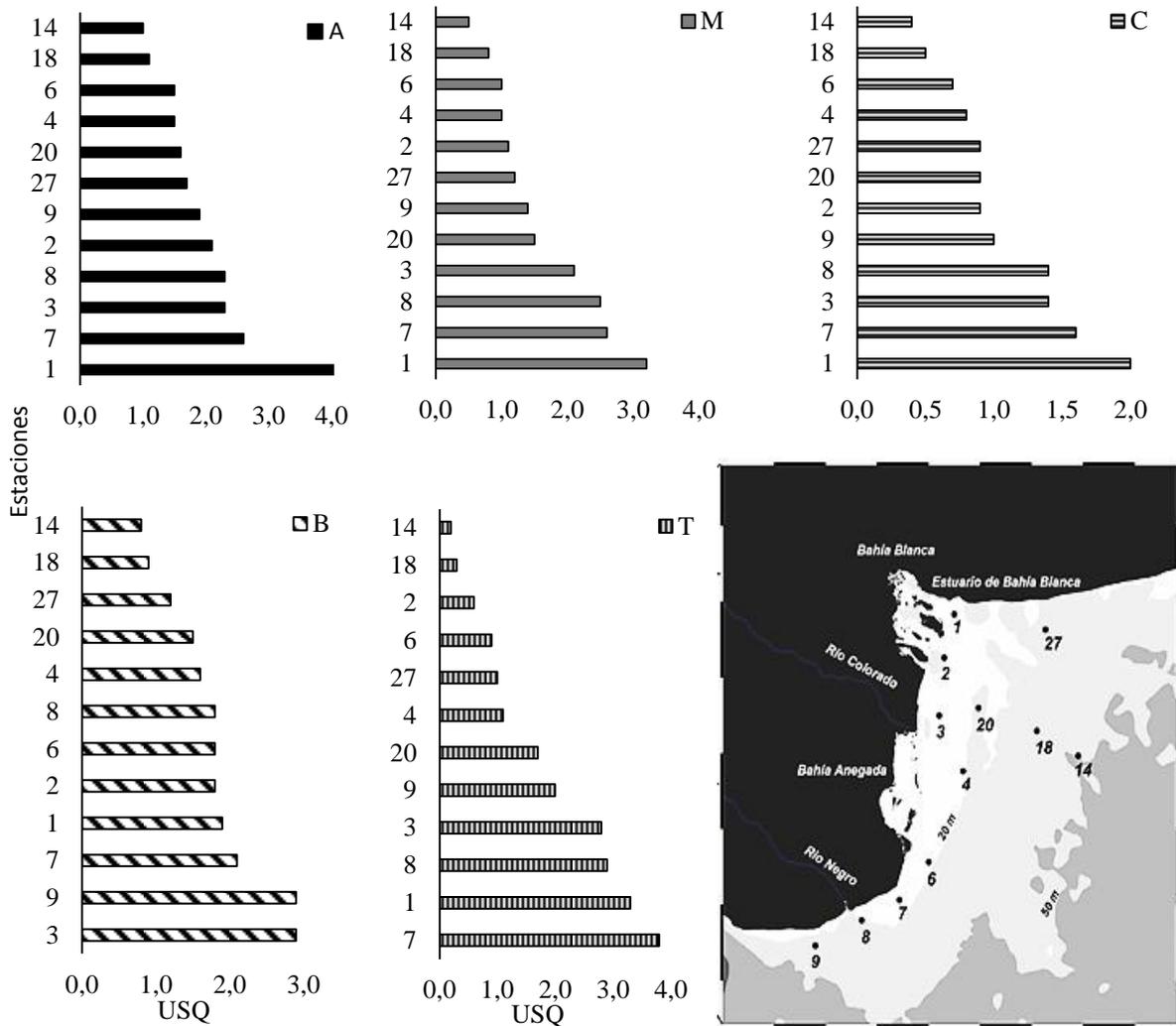


Fig. 4. Distribución y contribución porcentual espacial de cada fluoróforo de FDOM; compuestos húmicos: picos A, M y C; compuestos lábiles: Picos B y T en El Rincón.

En el caso de los compuestos proteínicos, se presentaron mayores intensidades del pico B en las estaciones 3 (Río Colorado) y 9 (Golfo San Matías). El pico T presentó mayor intensidad de fluorescencia en la est. 7 (Río Negro) con 3,8 USQ y 1 (estuario de Bahía Blanca); ambos fluoróforos aparecen con valores mínimos en la est. 14 (0,8 USQ y 0,2 USQ) (**Fig. 4**).

En términos generales los compuestos húmicos contribuyeron a la fluorescencia total en mayor medida que los compuestos proteínicos, sugiriendo un posible sumidero de carbono con características refractarias.

Se evidenció mayor contribución de compuestos húmicos orgánicos en la zona costera influenciada por el estuario de Bahía Blanca, mientras

que el aporte de compuestos proteínicos se observó en mayor medida en la zona costera influenciada por los ríos de la región. En la zona noreste el grado de degradación del material lábil es mayor posiblemente por una alta actividad bacteriana y en que la zona sur está influenciada por las aguas de golfo San Matías con características productivas autóctonas aportando compuestos proteínicos.

4.2.2. Índices de fluorescencia

Los resultados obtenidos de los diferentes índices de fluorescencia en la fracción disuelta de las diferentes muestras estudiadas se presentan en la **Fig. 5.**

El índice FIX fue introducido por McKnight et al. (2001) con el propósito de discriminar las fuentes de DOM. Se acepta en general que valores de FIX alrededor de 1,3 se asocian a fuentes alóctonas (continentales); y que se obtienen valores de alrededor de 1,9 asociados a fuentes autóctonas producto de la actividad biológica; bacterias, fito- y zooplancton. El índice de fluorescencia (FIX) en la zona de estudio presentó un mínimo de 1,8 en la est. 1 y un máximo de 2,3 en la est. 14. Tomando para la zona en estudio estos valores orientativos, el FIX obtenido en la zona de El Rincón estaría asociado a DOM autóctona producto de actividad bacteriana, sin embargo en las estaciones 1, 2 y 3 las fuentes de DOM sería una mezcla continental y bacteriano autóctono.

El rango de índice de actividad biológica (BIX) empleado por Huguet et al. (2009) para estimar la actividad biológica, varió desde un mínimo de 1,2 en la est. 2 a un máximo de 1,9 en la est. 8 ubicada en la desembocadura del Río Negro.

El índice de humificación HIX fue introducido por Zsolnay et al. (1999) para estimar el grado de maduración de DOM, presentando el mínimo valor (0,7) en la est. 7 y los máximos (1,5 y 1,6) se observaron en las estaciones ubicadas en la salida del estuario de Bahía Blanca, al noroeste de la zona de estudio (est. 1 y 2).

Los autores de estos índices asociaron valores de $BIX > 1$ a DOM producto de alta actividad biológica y $HIX < 4$ como expresión de sustancias húmicas de bajo grado de humificación. Los índices calculados para la zona en estudio, HIX y BIX presentaron valores en el rango de 0,67-1,59 y 1,17-1,87 respectivamente. Estos resultados indican que en la zona de El Rincón, las sustancias húmicas disueltas tienen mediano grado de maduración o humificación y un predominio de alta actividad biológica posiblemente producto de la dinámica microbiana característica de un área regenerativa (Carreto et al., 1995).

Es importante destacar que si bien los valores de HIX y BIX en términos generales describen las características de DOM antes mencionada con respecto a las referencias bibliográficas, los datos obtenidos presentan además patrones importantes que describen la zona según sus características hidrológicas. Por ejemplo, en la zona noroeste los mínimos de BIX y FIX se relacionan con el máximo de HIX, indicando un relativo predominio de DOM alóctono (contribución del Río Colorado), sustancias húmicas relativamente humificadas y relativa baja actividad biológica, lo contrario ocurre en la zona suroeste máximo FIX y mínimo HIX (contribución autóctona por posible aporte de aguas del Golfo San Matías). Estos índices concuerdan con la descripción de las intensidades de fluorescencia de las sustancias húmicas y proteínicas.

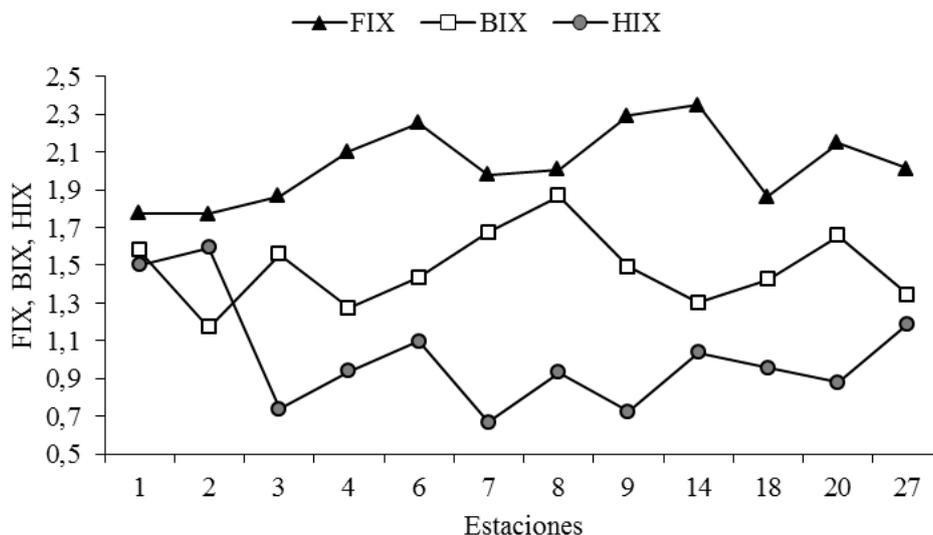


Fig. 5. Distribución espacial de los índices de fluorescencia (FIX), actividad biológica (BIX) y humificación (HIX) en El Rincón.

4.2.3. Nutrientes Inorgánicos

En términos generales los nutrientes nitrato, silicato y fosfato presentaron una distribución espacial con tendencia decreciente desde la costa hacia plataforma media.

La mínima concentración de nitrato ($0,1 \mu\text{M}$) y silicato ($2,8 \mu\text{M}$) se observaron en la est. 18, y para el fosfato la mínima concentración ($0,7 \mu\text{M}$) se observó en la est. 14. Ambas estaciones son las más alejadas de la costa. Por otro lado las máximas concentraciones de nitrato ($1,6 \mu\text{M}$), silicato ($31,3 \mu\text{M}$) y fosfato ($1,5 \mu\text{M}$) se observaron en las ests. 7, 2, 20, respectivamente (**Fig. 6**) (**Fig. 7**).

Si bien se esperaba una distribución asociada a la posible contribución de nutrientes por parte de ríos adyacentes, sin embargo no se evidenció un patrón lineal inverso entre los nutrientes mencionados con la salinidad (principal parámetro indicador de contribución continental).

La concentración de amonio no presentó un claro patrón de distribución. Presenta un aumento de concentración hacia las estaciones más alejadas a la costa (ests. 14 y 18). Los máximos de concentración

estuvieron en las estaciones 27 (1,16 μM) y 18 (1,39 μM), ubicadas en la zona nor-este y plataforma media, respectivamente. La mínima concentración de amonio (0,1 μM) se observó en la est. 8, en la desembocadura del Río Negro (**Fig. 6**).

Una de las posibles causas podría ser la excreción de amonio por parte del zooplancton. Hoffmeyer et al. (2009) estudiaron la variación espacial del ictionplanton en la zona, encontrando una fuerte relación entre la abundancia de ictioplancton con el frente salino. La mayor abundancia de ictioplancton está asociada con la mayor abundancia de zooplancton que coincide con la ubicación de las estaciones de máxima concentración de amonio en este estudio.

Otro patrón importante en la diferenciación espacial se presenta en la zona costera noroeste (est. 1, 2, 3, 4), con un decrecimiento de concentración de nutrientes en orden latitudinal, presentando mayor concentración de estos en la entrada del estuario de Bahía Blanca (est. 1) y menor en la est. 4, ubicada en la zona externa de Bahía San Blas. El estuario de Bahía Blanca se caracteriza por presentar altas concentraciones de nutrientes y ser un sistema altamente productivo, se espera que los nutrientes del estuario de Bahía Blanca sean exportados a la zona de El Rincón, este transporte se puede dar por los vientos y mareas característicos de la región (Iturriaga et al., 1974). En la zona suroeste los nutrientes no presentaron una clara diferenciación espacial. Tanto en la zona noroeste y suroeste las concentraciones de nutrientes no se asociaron con la salinidad. Esto estaría indicando una baja participación o contribución de nutrientes inorgánicos por parte de los ríos adyacente a la zona costera de El Rincón.

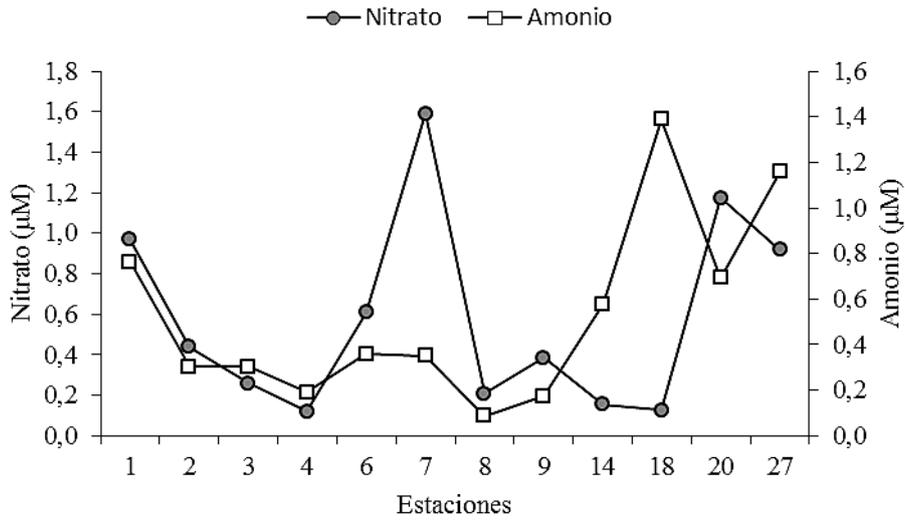


Fig. 6. Distribución espacial de la concentración de nitrato y amonio en El Rincón.

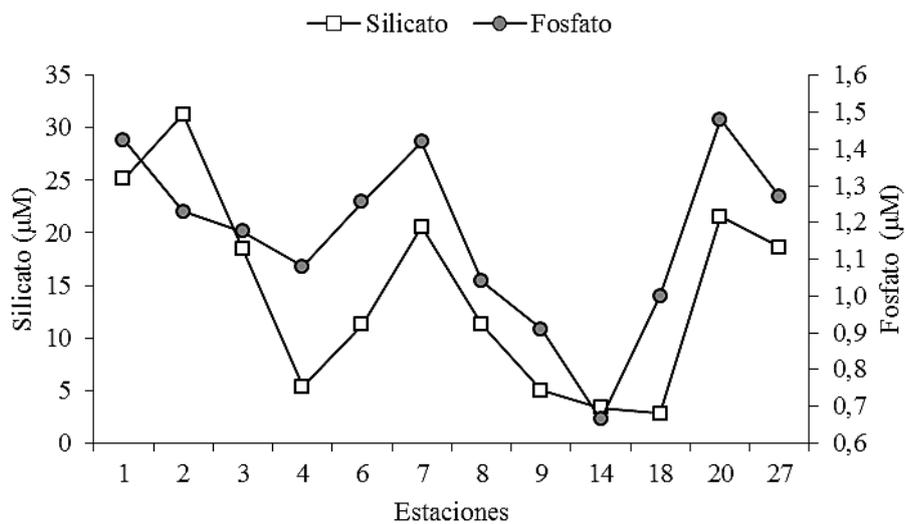


Fig. 7. Distribución espacial de la concentración de silicato y fosfato en El Rincón.

4.3. Asociación entre las estaciones de muestreo en función de las características de FDOM y nutrientes inorgánicos

Aplicando análisis multivariante se determinaron asociaciones entre las estaciones de muestreo y la distribución de las mismas en la zona de El Rincón. Los resultados obtenidos a partir de los análisis de agrupamiento (clusters) y de ordenamiento (MDS) se presentan a continuación.

El análisis de agrupamiento determinó, con un 82% de similitud, tres grupos principales de estaciones: el grupo Costa (gC), grupo Transición

(gT) y grupo Plataforma Media (gPM). El gC constituido por 5 estaciones, gT representando 5 estaciones y gPM constituido por 2 estaciones (**Fig. 8**). El análisis de ordenamiento fue una buena representación estadística de los grupos formados (estrés de 0,03) (**Fig. 9**). Este análisis estadístico generó una zonificación en la región de estudio (**Fig. 10**).

Dentro del gC, las estaciones que lo constituyen se agruparon con un promedio de similitud de 81%, en el gT la similitud promedio fue de 82% y en el gPM fue 89% (**Fig. 8**).

Los fluoróforos (A, M, C, B, T) que caracterizan a la FDOM y el silicato contribuyeron al 92% de similitud en el gC.

Para el gT, los componentes de la FDOM, silicato y FIX contribuyeron al 92 % de similitud, indicando predominio del nutriente inorgánico silicato, DOM con moléculas proteínicas y sustancias húmicas medianamente insaturadas. La similitud en este grupo se asocia principalmente a las altas concentraciones de silicato favoreciendo el desarrollo de las diatomeas, que a su vez secretarían DOM con características lábiles (pico B).

En el caso del gPM, los componentes de la FDOM, silicato, FIX y BIX contribuyeron al 91% de similitud (**Tabla II**). Las dos estaciones se agrupan por poseer 8 variables en común, destacándose el pico M que indica la presencia de sustancia húmicas de origen autóctono de baja insaturación.

Estos grupos fueron significativamente diferenciados ($p = 0,001$) con un estadístico R global de 0,83. El gPM se diferenció del gC ($R = 0,99$; $p = 0,008$) y del gT ($R = 0,95$; $p = 0,045$) formando un grupo bastante compacto en el ordenamiento. El gT también se diferenció significativamente del gC ($R = 0,72$; $p = 0,045$).

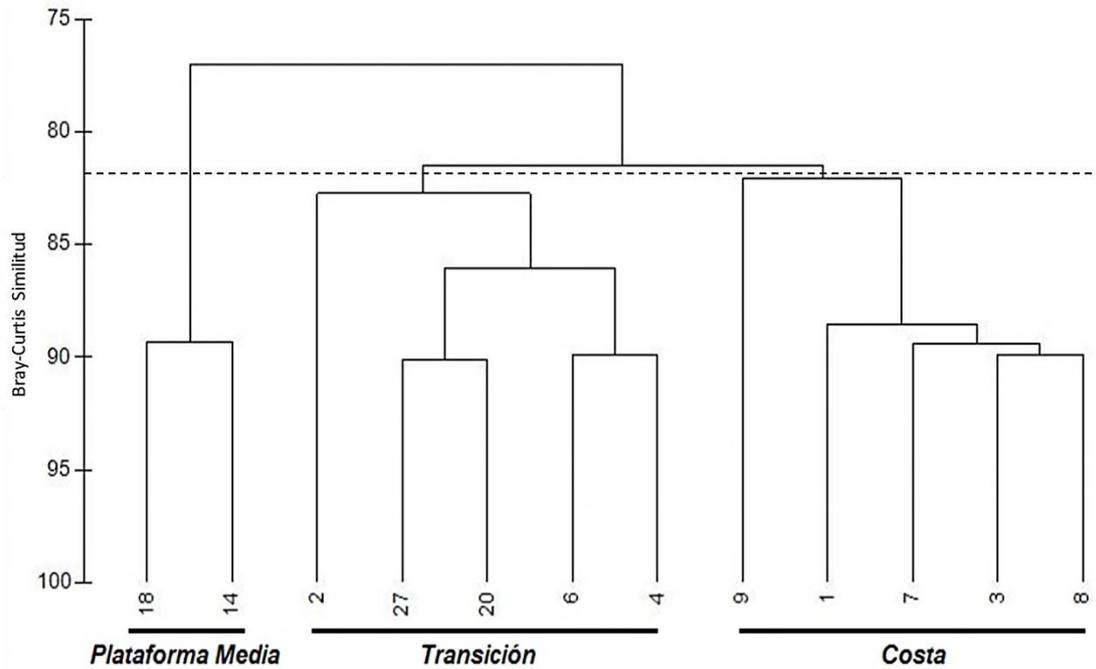


Fig. 8. Análisis de agrupamiento basado en la composición de FDOM, índices fluorescentes y nutrientes inorgánicos.

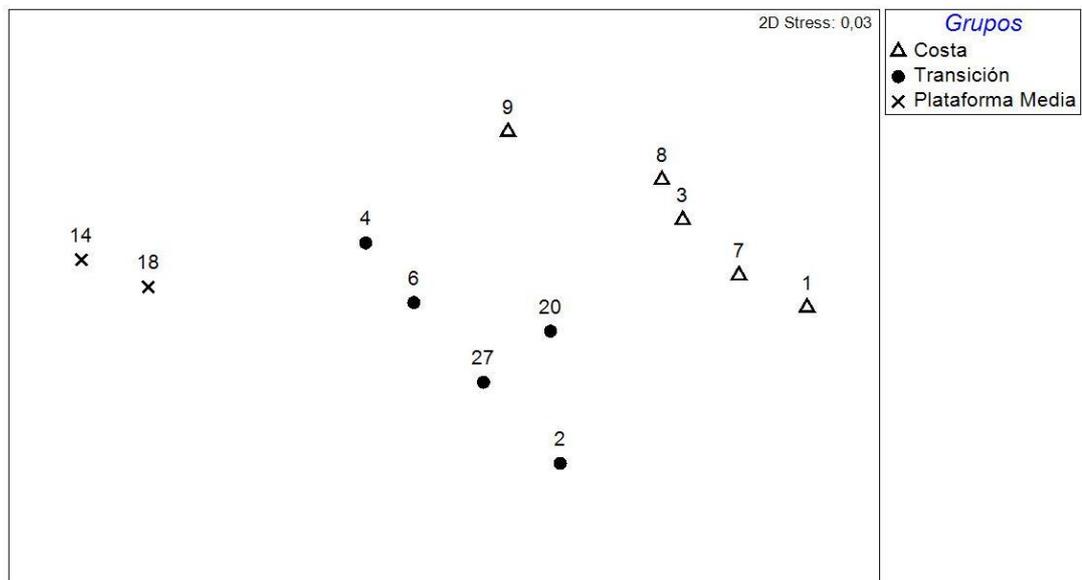


Fig. 9. Ordenamiento por escalamiento multidimensional (MDS) basado en la composición de FDOM, índices fluorescentes y nutrientes inorgánicos

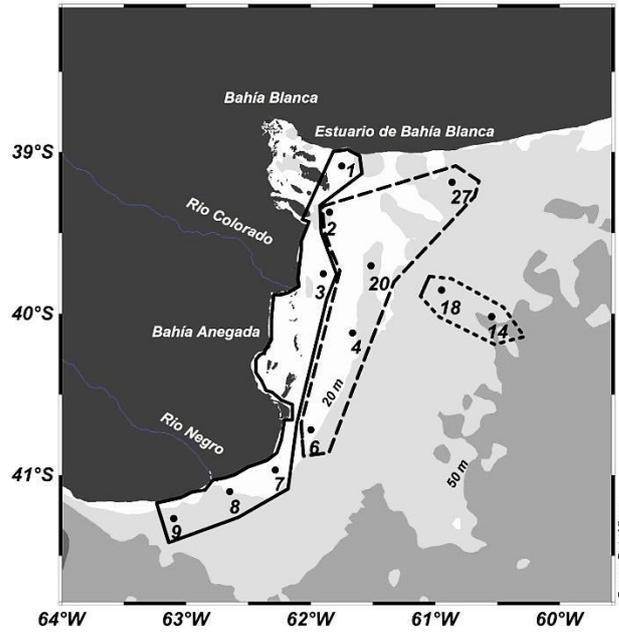


Fig. 10. Zonificación de El Rincón a partir de las asociaciones de estaciones obtenidas en el análisis de agrupamiento. Línea sólida: gC, línea interrumpida: gT, línea puntos: gPM.

Tabla II. Análisis del porcentaje de similitud (SIMPER) en El Rincón. Componentes de la FDOM, índices de fluorescencia y nutrientes que explican más del 90% de similitud en cada grupo formado a partir del análisis de agrupamientos.

Grupo de estaciones	Variables de similitud	Contribución %	Similitud acumulada %
gC	Pico T	20	20
	Pico A	17	38
	Pico B	16	54
	Pico M	15	70
	Silicato	13	82
	Pico C	9	92
gT	Silicato	21	21
	Pico A	19	40
	Pico B	17	56
	Pico M	12	69
	Pico T	10	79
	Pico C	9	88
	FIX	4	92
gPM	Pico A	23	23
	Pico B	20	43
	Pico M	12	55
	Silicato	10	65
	Pico C	9	75
	FIX	7	82
	Pico T	5	87
	BIX	5	91

4.4. Composición química de la DOM

Las ubicaciones espaciales de los componentes químicos de DOM en los gráficos serán realizadas según los grupos formados estadísticamente de acuerdo a las propiedades de FDOM y Nutrientes.

4.4.1. Composición y concentración de TDCHO

El rango de concentración de TDCHO varió desde un mínimo de 6,5 $\mu\text{M-C}$ en la est. 27 hasta 22,3 $\mu\text{M-C}$ en las ests. 3 y 4, ubicadas en la desembocadura del Río Colorado y zona de influencia de Bahía Anegada. La concentración de las fracciones monoméricas (DFCHO) y poliméricas (DCCHO) variaron de 2,7 $\mu\text{M-C}$ hasta 12,1 $\mu\text{M-C}$ y de 1,4 $\mu\text{M-C}$ hasta 14,4 $\mu\text{M-C}$, respectivamente (**Fig. 11**).

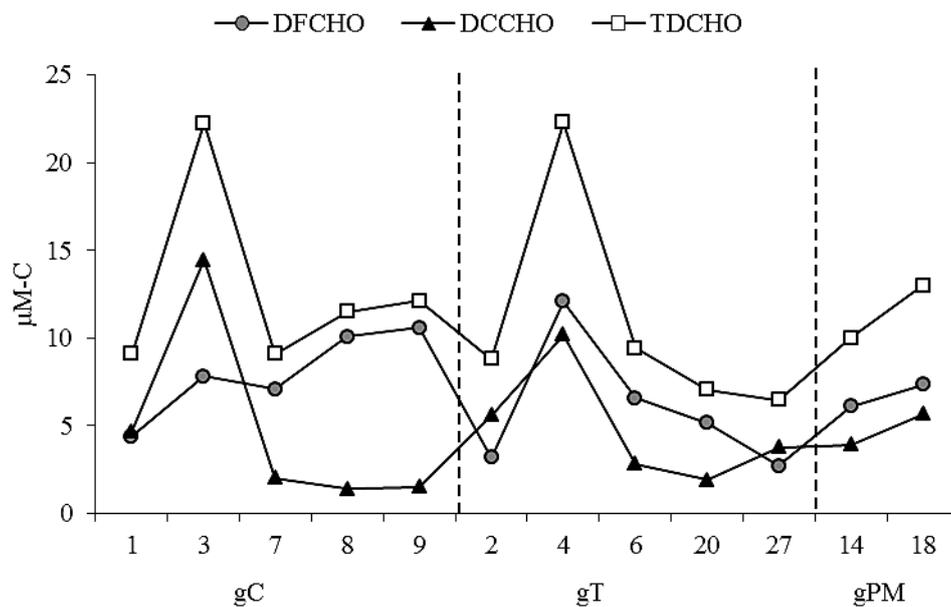


Fig. 11. Distribución espacial de la concentración de carbohidratos libres disueltos (DFCHO), combinados (DCCHO) y totales (TDCHO) en El Rincón.

La concentración mínima de DFCHO se presentó en la est. 27 y la máxima en la est. 4. La mínima concentración de DCCHO se observó en la est. 8 y la máxima en la est. 3. La contribución de DFCHO a TDCHO (%DFCHO) en la zona presentó un mínimos de 35% en la est. 3 y dos máximas de 88% en las est. 8 y 9. Por otro lado, el mínimo de %DCCHO (12%) al total de TDCHO se observó en las ests. 8, 9 y un máximo (65%) en la est. 3 (**Fig. 12**).

En el gC los %DFCHO y %DCCHO promedios fueron 67% y 33%, respectivamente. Para el gT, la contribución promedio fue de 55% de DFCHO y 45 % de DCCHO. En el gPM fue de 59% de DFCHO y 41% de DCCHO (**Anexo I**).

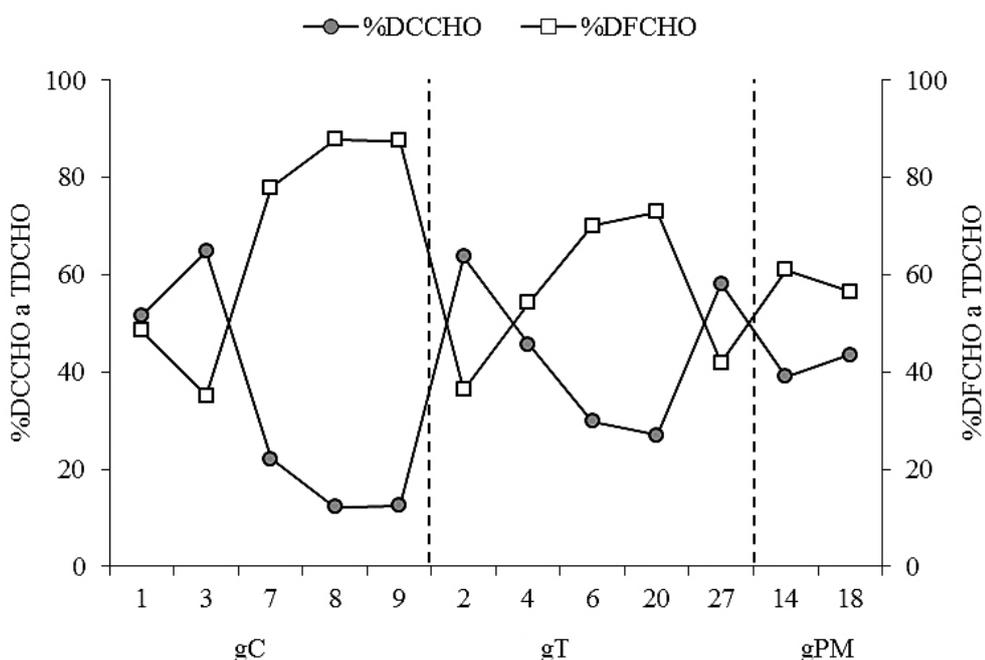


Fig. 12. Distribución espacial del % contribución de carbohidratos libres disueltos (%DFCHO) y combinados (%DCCHO) a los carbohidratos totales disueltos (TDCHO) en El Rincón.

En gC la concentración de TDCHO y fracción DCCHO presentaron una tendencia decreciente de norte a sur, contrario a la concentración de DFCHO con un mínimo 1.5 $\mu\text{M-C}$ en la est. 9 y un máximo de 4.7 $\mu\text{M-C}$ en la est. 1.

Como resultado de esta tendencia, el % DCCHO fue mayor en la zona norte. Uno de los factores que controla la distribución de DCCHO en zonas costeras es el aporte de los ríos, ya que por medio de estos se exportan polisacáridos que provienen generalmente de plantas vasculares (Hung et al., 2001; He et al., 2010; Zhang et al., 2013, He et al., 2015). En este caso, el %DCCHO presentó una correlación inversa con la salinidad ($r = -0,92$, $n = 5$, $P < 0,001$), lo que sugiere que %DCCHO aumento con el descenso de la salinidad en la zona costera. Estos resultados indicarían que la entrada del Río Colorado tiene una influencia significativa en la distribución de polisacáridos. Esto último es corroborado por la mayor concentración de DCCHO encontrada cerca de la desembocadura del Río Colorado (est. 3). Si bien se evidenció aporte de DCCHO por descarga fluvial en la zona costera, el %DCCHO (33%) fue menor al de %DFCHO (67%) en el gC.

En gT y gPM, el %DCCHO se asoció con la abundancia de microfitoplancton reportado por Ferronato et al. (2014) en muestras tomadas en la misma campaña oceanográfica. Esta asociación se sustenta con una correlación positiva entre abundancia del microfitoplancton y el %DCCHO ($r = 0,82$, $n = 7$, $p < 0,05$) sugiriendo que el microfitoplancton es uno de los principales factores que controlan la distribución espacial de carbohidratos poliméricos en la zona de transición y plataforma media. Sin embargo en ambas zonas los %DCCHO (gT 45% y gPM 41%, respectivamente) fueron más bajos que los %DFCHO (55% y 59%). En los tres grupos las mayores concentraciones de DFCHO fueron más altas que las de DCCHO, sugiriendo que los carbohidratos monoméricos fueron los más abundantes en la región. La hidrólisis de polisacáridos por radiación UV y procesos de descomposición por bacterias, pueden estar asociados con mayores porcentaje de DFCHO (Hung et al., 2001; Khodse et al., 2010).

A modo de síntesis, en gC la distribución espacial de los polisacáridos estuvo controlada por el Río Colorado, mientras que en gT y gPM parece estar modulada por el microfitoplancton. Sin embargo en todos los grupos predominó la fracción monomérica sobre la polimérica.

4.4.2. Composición y concentración de TDAA

El rango de concentración de TDAA varió desde un mínimo de 3,7 $\mu\text{M-C}$ en la est. 6 hasta un máximo de 18,2 $\mu\text{M-C}$ en las est. 27. La concentración de la fracción monomérica (DFAA) y polimérica (DCAA) variaron desde 0,2 $\mu\text{M-C}$ hasta 1,0 $\mu\text{M-C}$ y de 3,4 hasta 18,2 $\mu\text{M-C}$, respectivamente (**Fig. 13**). La concentración mínima de DFAA se presentó en la est. 18 y la máxima en la est. 9. La concentración mínima (3,4 $\mu\text{M-C}$) y máxima (17,9 $\mu\text{M-C}$) de DCAA se observó en las est. 6 y 27, respectivamente.

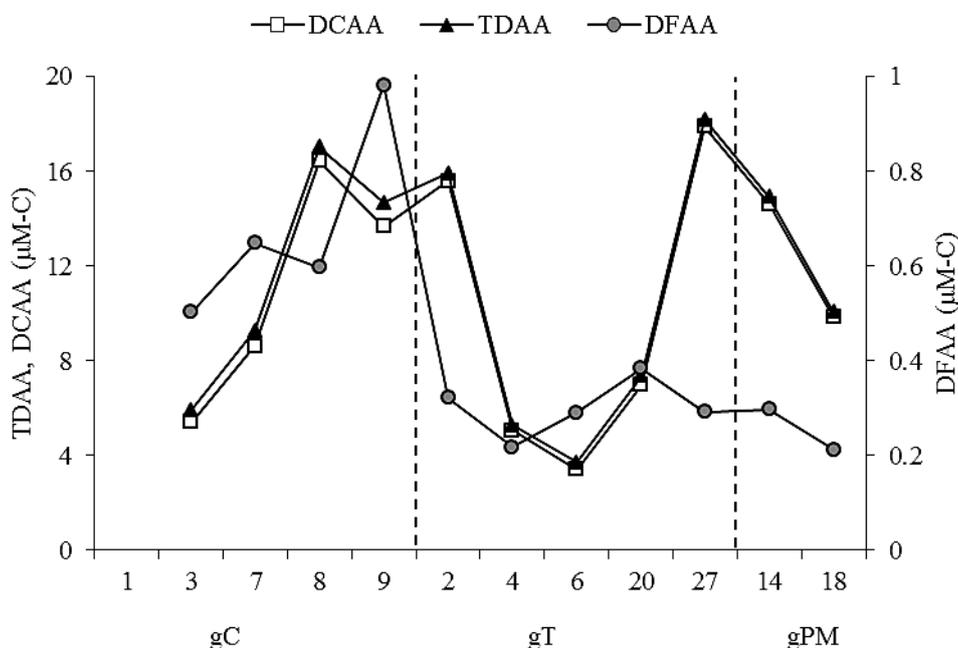


Fig. 13. Distribución espacial de la concentración de aminoácidos libres disueltos (DFAA), combinados (DCAA) y totales (TDAA) en El Rincón.

La contribución de DFAA a TDAA (%DFAA) presentó un mínimo de 2% en la est. 27 y un máximo de 9% en la est. 3. Por otro lado, la contribución de DCAA a TDAA (%DCAA) presentó un mínimo (91%) en la est. 3 y un máximo (98%) en la est. 27 (**Fig. 14**).

En el gC los %DFAA y %DCAA promedios fueron 6% y 94%, respectivamente. Para el gT, la contribución promedio fue de 4% de DFAA y 96% de DCAA. En el gPM fue de 2 % de DFAA y 98% de DCAA. El %DFAA

promedio presentó un patrón de distribución decreciente de costa a plataforma media y la distribución de %DCAA fue inversa, aumentando hacia estaciones externas (**Anexo I**).

En todas las estaciones, la concentración de DCAA fue más alta que la DFAA, con una contribución promedio del 95% a TDAA.

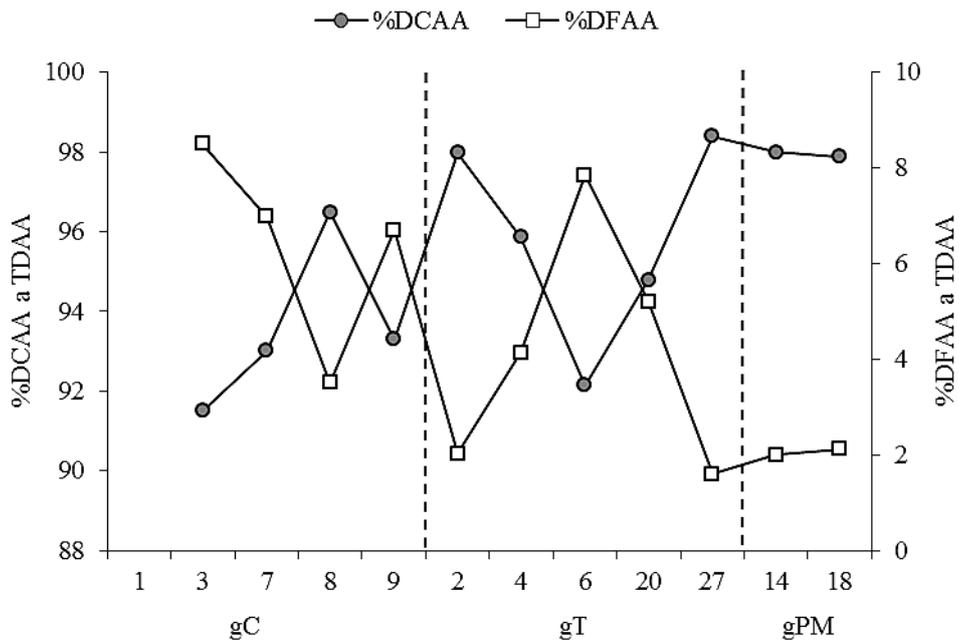


Fig. 14. Distribución espacial del % contribución de aminoácidos libres disueltos (%DFAA) y combinados (%DCAA) a los aminoácidos totales disueltos (TDAA) en El Rincón.

En la **Fig. 15** se presenta la composición de aminoácidos en las fracciones DFAA y TDAA. En la fracción libre se identificaron y cuantificaron 12 aminoácidos, no se detectó phe, mientras en la fracción total se identificaron y cuantificaron 13 aminoácidos incluyendo a la phe. Los principales aminoácidos en el área de estudio fueron la his, ala, asp, glu, thr con un aporte de 73% en DFAA y 66 % en TDAA.

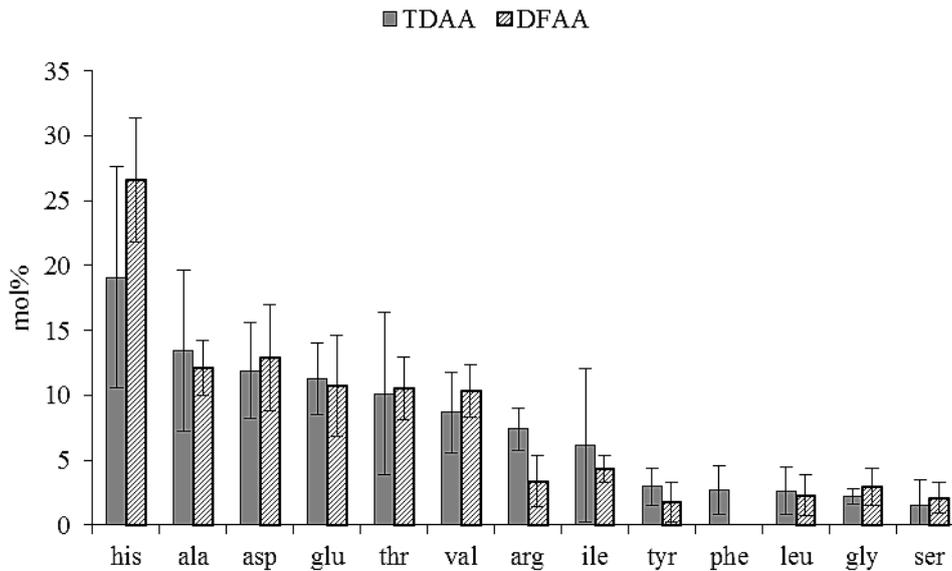


Fig. 15. Promedio del porcentaje molar de los aminoácidos cuantificados en TDAA y DFAA para todas las estaciones, barras (desvío estándar). his: histidina, ala: alanina, asp: ácido aspártico, glu: ácido glutámico, thr: treonina, val: valina, arg: arginina, ile: isoleucina, tyr: tirosina, phe: fenilalanina, leu: luecina, gly: glicina, ser: serina.

En los tres grupos de estaciones (gC, gT y gPM) los principales aminoácidos (his, ala, asp, glu, thr) contribuyeron > 70% en DFAA y > 60 % en TDAA. La composición de aminoácidos en términos de mol% en TDAA y DFAA en cada grupo no fueron significativamente diferenciados ($R_{\text{global}} = 0,146$, $p = 0,155$).

La concentración de TDAA en El Rincón fue espacialmente variable, particularmente la concentración de DFAA que decrece de costa a plataforma media. La concentración de DCAA no presentó un claro patrón de diferenciación, sin embargo su contribución (95%) a TDAA fue asociado con una baja degradación en el región.

La contribución de los aminoácidos combinados a los aminoácidos totales (%DCAA) fue más del 90% en todas las estaciones. Los resultados obtenidos en el presente estudio son consistentes con los hallados en investigaciones previas de la zona, en las que se reportan concentraciones de DCAA mucho más elevadas que las concentraciones de DFAA (Garzón-Cardona et al., 2013).

En términos generales el %DCAA promedio por grupos (gC, gT y gPM) se fue incrementando de costa a plataforma media y el %DFAA fue decreciendo, sugiriendo un posible consumo de DFAA por organismos heterótrofos, degradación por la acción de factores ambientales (radiación UV) y a su vez una posible descomposición lenta de DCAA. Según Gors et al. (2007) las bacterias osmotróficas toman exclusivamente los componentes monoméricos u oligoméricos de la DOM de menor tamaño ya que requieren menos energía y no demandan procesos de hidrólisis. La mayor disponibilidad de aminoácidos monoméricos (DFAA) en la zona costera favorecida por sus bajos tamaños moleculares apoyaría esta hipótesis.

La composición de DFAA y TDAA fueron principalmente aminoácidos alifáticos mono-(thr, ala), dicarboxilicos (asp y glu) y básicos como la his. Este último aminoácido en ambas fracciones fue el de mayor contribución. Las altas proporciones de his en DFAA se deben posiblemente a la baja capacidad de asimilación por las bacterias, ya que teóricamente es el sustrato de más fácil captación por las bacterias (Ietswaart et al., 1994).

En TDAA la thr, ser y gly son considerados aminoácidos que reflejan el estado diagenético de la materia orgánica en procesos de sedimentación según Dauwe y Middelburg, (1998) y Dauwe et al. (1999) ya que estos aminoácidos aumentaron su contribución porcentual molar a medida que descendían en la columna de agua, es decir son menos biodisponibles, mientras que las contribuciones molares porcentuales de los otro aminoácidos disminuían como producto de la actividad microbiana al tiempo que descendían en la columna de agua. Estos datos coinciden con los reportados por Gors et al. (2007) quien propuso un índice de degradación alternativo en la fracción disuelta donde sus mayores contribuyentes porcentuales molares fueron los asp, glu, ser, gly y ala. En consecuencia, en este estudio las altas proporciones especialmente de asp, glu, thr y particularmente en este sistema de his en TDAA sustentarían un alto grado de degradación de los aminoácidos totales en la DOM.

4.4.3. Índice de degradación

El índice de degradación se ha utilizado para cuantificar el grado en que un muestra ha sido degradada en relación con el plancton fresco (Ingalls et al., 2003; Pantoja y Lee., 2003). Esta estimación también ha sido aplicada para considerar la biodisponibilidad y el estado de degradación de los aminoácidos en la DOM (Amon et al., 2001; Yamashita y Tanoue, 2003).

En la zona de estudio, los valores del ID calculados, muestran un rango para la zona de -0,6 a 0,5. De los valores positivos, el mínimo (0,2) fue hallado en la est. 7, y el máximo de 0,5 en la est. 2. Los valores negativos de -0,6 en la est. 3 y el máximo de -0,1 en la est. 20 (**Fig. 16**). Su distribución generó una zonación, con valores negativos (aminoácidos degradados) en la desembocadura del Río Colorado y estaciones cercanas a la Bahía San Blas comprendiendo las estaciones 3, 2, 20, 4, 6 y valores positivos (aminoácidos frescos) en la zona sur-oeste y noroeste que comprenden, en el sur, las estaciones 7, 8 y 9 ubicadas en la zona en la influencia del Río Negro y en el norte, la estación 27 ubicada en la boca del estuario de Bahía Blanca junto con las estaciones 14 y 18, en aguas de plataforma media. En general la zona con valores negativos de ID coinciden con las concentraciones más bajas de aminoácidos y valores de los índices de humificación (HIX) relativamente altos, por otro lado valores positivos del ID coinciden con las concentraciones más altas de TDAA. Estas asociaciones sugieren mayor actividad bacteriana en la zona de la influencia del Río Colorado, mientras que la zona sur y norte se sugiere menor actividad por los organismos heterótrofos.

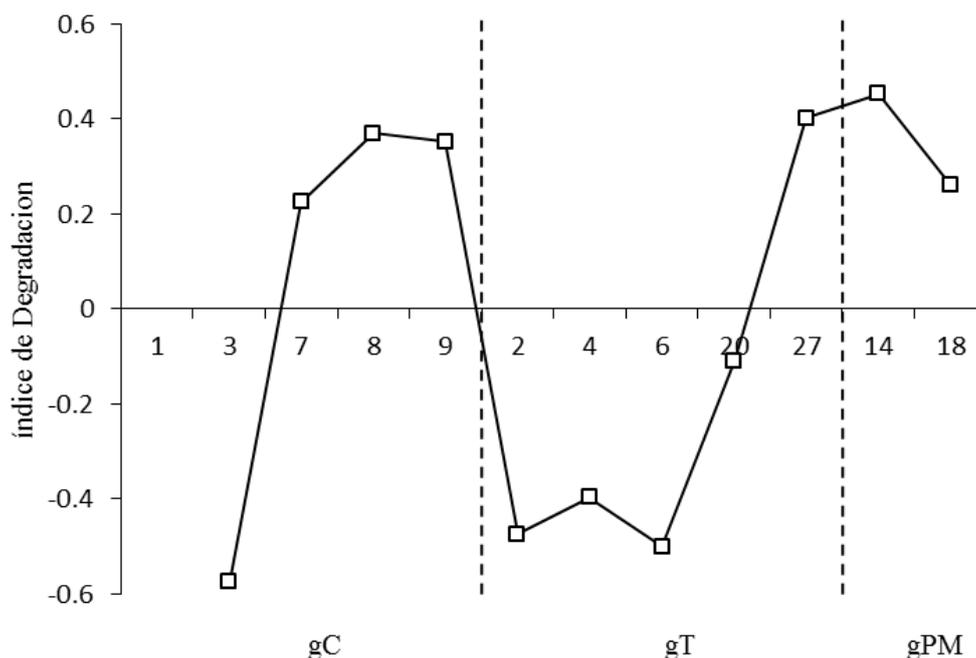


Fig. 16. Distribución espacial del índice de degradación a partir de los aminoácidos particulares de TDAAs en El Rincón.

4.4.4. Composición química de la DOM

La cuantificación y contribución de compuestos orgánicos al carbono orgánico en la fracción disuelta (DOC-Identificado) se detalla en la **Fig. 17a**.

La fracción químicamente identificada de la DOM es de \sim el 25% del total del DOC, valor similar a otras zonas estuarinas y oceánicas como los presentados por Chen et al. (2013) en el mar Boheia, China (18%) y Gors et al. (2007) en el sistema estuarino del mar Báltico (23%), sin embargo, podría ser una sobreestimación considerando que la región presenta tipologías de ambiente regenerativo con una alta proporción de compuestos orgánicos humificados, y que en algunos casos pueden estar unidos a los TDAAs y TDCHO, que son igualmente hidrolizados bajo las drásticas condiciones ácidas y de temperatura durante el procesamiento de las muestras (Hubberten et al., 1994, Senior y Chevolut, 1991).

En el gC la concentración promedio de DOC fue de $87,7 \pm 23,7 \mu\text{M-C}$. Para el gT, la concentración promedio fue $122,0 \pm 81,9 \mu\text{M-C}$ y en el gPM fue de $72,0 \mu\text{M-C}$ (valor est. 14) **(Anexo I)**.

En términos generales, en DOC-identificado, DCAA fueron el grupo dominante contribuyendo al DOC con un 12%, seguido los DCCHO con 8%. Los DFCHO y DFAA fueron los componentes que contribuyeron en menor medida al DOC, representando el 4% y 1%, respectivamente. Los componentes químicamente caracterizados representaron una cuarta parte de la DOM (25%) en El Rincón **(Fig. 17a)**.

La contribución de los componentes de bajo peso molecular (DFAA y DFCHO) fueron más altos en gC (12%) comparado con gT (9%) y gPM (10%). Por otra parte, la contribución de compuestos de alto peso molecular (DCAA + DCCHO) fueron más altos en gPM (25%) **(Fig. 17b, c, d)**.

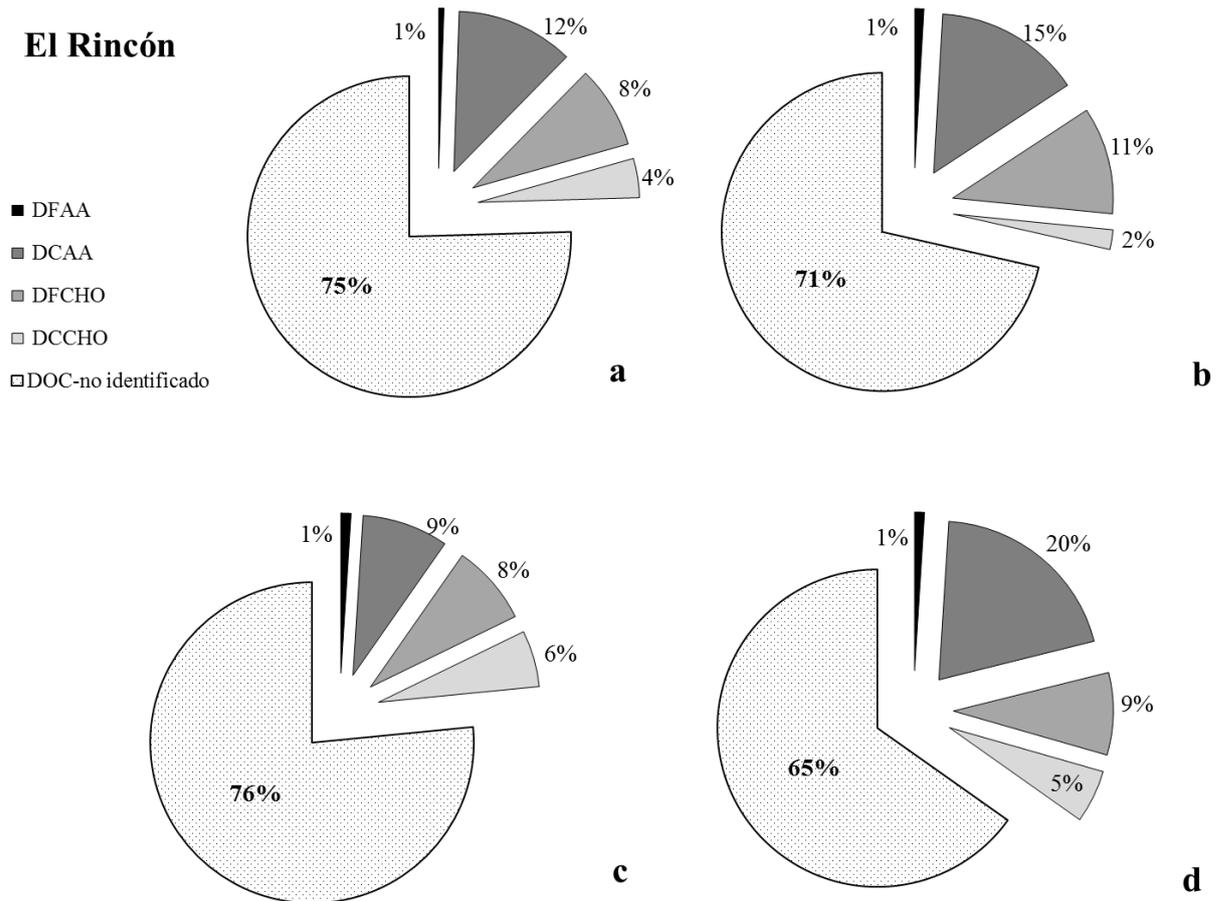


Fig. 17. Composición química de carbono orgánico disuelto (% carbohidratos, % aminoácidos en términos de carbono) en la zona de (a) El Rincón y los tres grupos que dividen la región; (b) grupo costa, (c) grupo transición y (d) grupo plataforma media.

Los porcentajes de los componentes monoméricos (DFAA + DFCHO) fueron mayores en gC, sugiriendo mayor contribución de compuestos orgánicos de bajo peso molecular y posible fácil degradación en la zona costera (Keil y Kirchman, 1993; Yamashita y Tanoue, 2003). Además, estos compuestos podrían ser tomados directamente por las bacterias ya que su asimilación no está limitada por los procesos de transporte o por la permeabilidad de las membranas celulares bacterianas (Tupas y Koike, 1990). Por otro lado la contribución de los componentes poliméricos (DCAA y DCCHO) a la DOM fue mayor en gPM, sugiriendo que DCCA y DCCHO fueron menos susceptibles a la degradación por parte de los organismos microbianos.

4.5. Variables biológicas

4.5.1. Clorofila-a y feopigmentos

La distribución de la concentración espacial de clo-a y feopigmentos fueron variables con una correlación altamente significativa entre ambas ($r = 0,99$, $n = 12$, $p < 0,001$). Las mínimas concentraciones de pigmentos (clo-a, $0,95 \mu\text{g L}^{-1}$; feopigmentos $0,69 \mu\text{g L}^{-1}$) se observaron en la est. 8, y las máximas (Clo-a, $11,4 \mu\text{g L}^{-1}$; feopigmentos $7,95 \mu\text{g L}^{-1}$) en la est. 2 (**Fig. 18**).

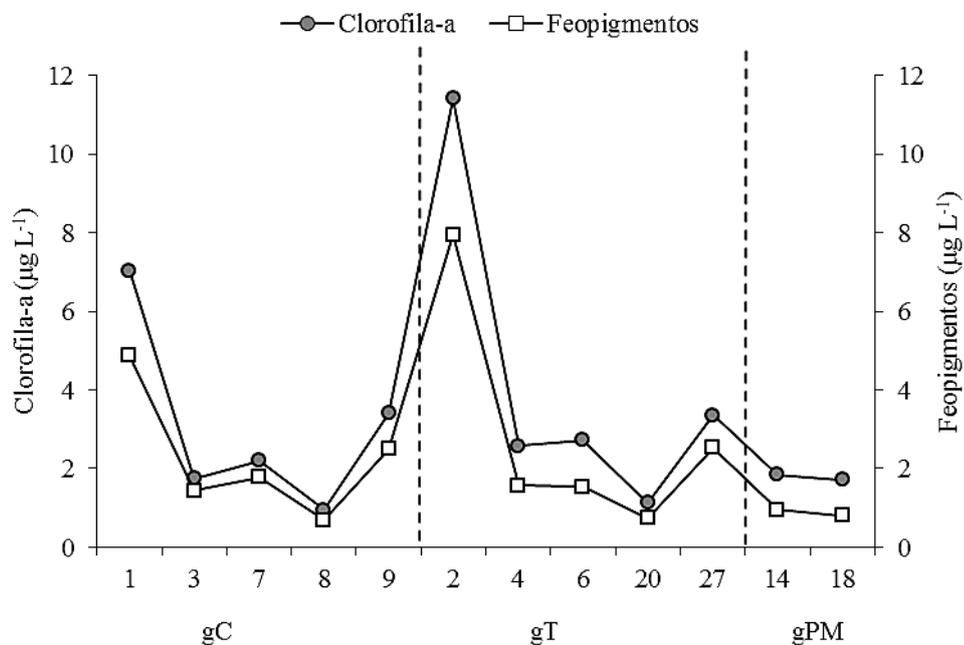


Fig. 18. Distribución espacial de clorofila-a y feopigmentos en El Rincón.

La concentración de clo-a se asoció directamente con las abundancias fitoplanctónicas reportadas por Ferronato et al. (2014) que determinaron que la composición específica tiene una distribución diferencial en un gradiente definido por la distancia a la costa, en el que los sectores costero e intermedio (en este caso gC), co-dominaron diatomeas y nanoflagelados y en la zona externa (en este caso gPM) presenta una marcada dominancia de dinoflagelados. Las abundancias fueron asociadas con el mayor desarrollo del fitoplancton y el dominio de diatomeas en el sector costero-estuarial debido a la alta disponibilidad de nutrientes (particularmente silicato),

turbidez y mezcla vertical en el hábitat pelágico, mientras que la marcada dominancia de dinoflagelados en la zona externa estaría asociada a un ambiente más oligotrófico. Estos datos coinciden con el agrupamiento realizado con el grupo de datos de FDOM y nutrientes.

4.5.2. Composición y abundancia de los principales grupos de bacterias

Se tomaron muestras en las estaciones que reciben directamente la influencia de los ríos con el objetivo de evaluar si se observan cambios en la estructura de la comunidad bacteriana. Es importante destacar que no se encuentran registros de la composición de la comunidad bacteriana, según nuestra revisión bibliográfica, para la zona en estudio.

La abundancia total y de los principales grupos de bacterias registrados durante esta campaña oceanográfica se detalla en la **Fig. 19a, b**.

En términos generales, el rango de abundancia relativa de bacterias detectadas mediante la sonda EUB referida al DAPI varió desde un mínimo 55% en la est. 9 a un máximo de 90% en la est. 8 (**Fig. 19a**).

El rango de la abundancia relativa de las *alfaproteobacterias* referida a la sonda EUB varió desde un mínimo de 20% en la est. 3, ubicada en la desembocadura del Río Colorado y un máximo de 66% en la est. 8, ubicada en la desembocadura del Río Negro. La mínima abundancia relativa referida a la sonda EUB de las *citófaga/flavobacterias* (6%) se observó en la est. 6 y la máxima abundancia relativa de este grupo fue en la est. 20. Las mínimas abundancias para los grupos *gammaproteobacterias* y *betaproteobacterias* fueron observadas en las ests. 3 y 6, respectivamente y los máximos fueron de 31% (*gammaproteobacterias*) en la est. 9 y 10% (*betaproteobacterias*) en la est. 7 (**Fig. 19b**).

Las *alfaproteobacterias* fue el grupo dominante abarcando el 43% promedio de la abundancia referida a la sonda EUB, seguida del grupo de

las *citofaga/ flavobacterias* con una contribución promedio del 15%. Las *beta-* y *gammaproteobacterias*, fueron los grupos menos abundantes, representaron el 7% y el 10%, respectivamente de la abundancia bacteriana total (**Anexo II**).

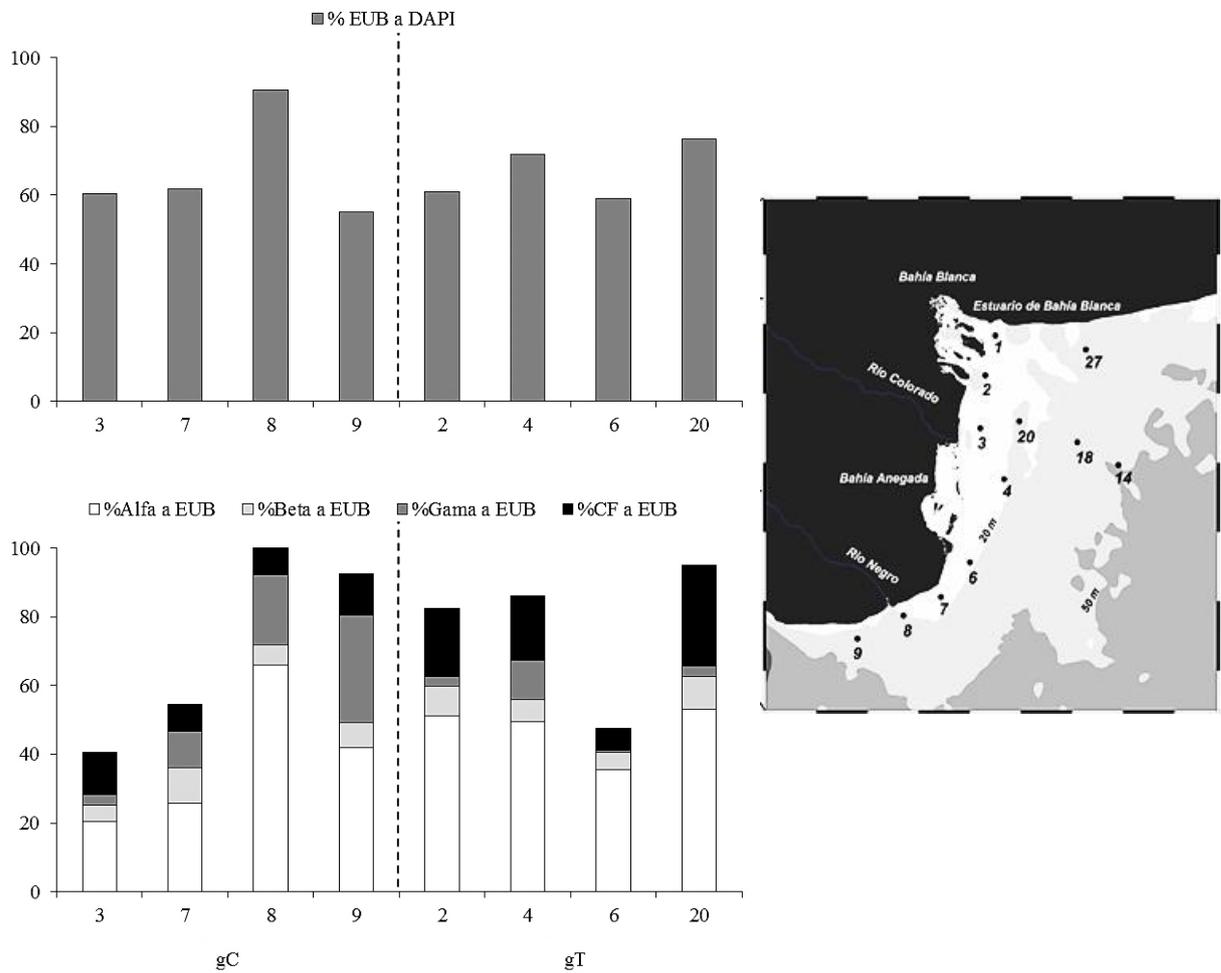


Fig. 18. Composición de la comunidad bacteriana en El Rincón, marzo de 2013. a) Abundancias relativas de bacterias detectadas con la sonda EUB338 referidas a DAPI, b) Abundancia relativa de alfa-, beta-, gammaproteobacterias y Citofaga/Flavobacterias detectadas por las sondas ALF968, BET42a, GAM424 y CF319a, respectivamente, referidas a la sonda EUB338.

Se observaron patrones relevantes para las abundancias de los diferentes grupos bacterianos y a su vez asociaciones con los componentes químicos de DOM. Según Alonso et al. (2010) las *alfaproteobacterias* y *citófaga/flavobacteria* son dos grupos dominantes en aguas oceánicas, mientras que las *betaproteobacterias* se caracterizan por presentar mayor abundancia en aguas fluviales (Methé et al., 1998; Bouvier y del Giorgio,

2002; Kirchman et al., 2005; Teira et al., 2009). De acuerdo al análisis cuantitativo de la estructura de la comunidad bacteriana por la técnica de CARD-FISH se presenta en todas las estaciones, mayor abundancia relativa del grupo alfa- y menor del grupo *betaproteobacterias* sugiriendo que los principales actores de los procesos de remineralización en la zona de El Rincón serían los organismos microbianos autóctonos por sobre los que provendrían de la contribución de los ríos.

En el gC, la abundancia de *gammaproteobacterias* aumentó con el aumento de DCAA y TDAA, coincidiendo con sus mínimos y máximos, con una patrón de distribución creciente de norte a sur. Alonso-Sáez y Gasol (2007) presentan la actividad de diferentes grupos filogenético bacterianos en la absorción de la glucosa y aminoácidos en el noroeste de las aguas costeras del mediterráneo y observaron que las *gammaproteobacterias* tenían una fuerte afinidad por la absorción de aminoácidos, coincidiendo con el mismo patrón reportado en este estudio.

En gT, los máximos y mínimos de las abundancias *alfaproteobacterias* coincidieron con los de las concentraciones de DFCHO y TDCHO. Elifantz et al. (2005) estudiaron la asimilación de glucosa y sustancias extracelulares poliméricas (EPS) por las *alfaproteobacterias* en el estuario de Delaware, encontrando que había una mayor asimilación de glucosa que de las EPS.

Por otro lado en esta misma zona (gT) la abundancia de las *betaproteobacterias* fue asociada con la concentración de DCAA y TDAA. En esta zona el índice de degradación de aminoácidos fue generalmente de valores negativos (-0,5 a -0,1) sugiriendo una prevalencia de materia orgánica degradada con relación al fitoplancton fresco. Covert y Moran (2001) determinaron la composición de las comunidades bacterianas que crecen en las fracciones de DOM de alto y bajo peso molecular y encontraron una preferencia de *beta-* y *gammaproteobacterias* de DOM de alto peso molecular. Para dar mayor apoyo a esta deducción según el estudio de Lara et al. (1993) una fracción importante de los aminoácidos se asocia al material húmico o fracción de alto peso molecular. Por lo tanto, nosotros especulamos que las *betaproteobacterias* que incrementaron con

la concentración de aminoácidos están asociadas a la DOM de alto peso molecular. En este estudio la DOM estuvo probablemente compuesta químicamente de sustancias húmicas, ya que los componentes no caracterizados químicamente representaron aproximadamente el 75% de DOC, que por lo general en los sistemas marinos son el 60% de la DOM (Liebezeit y Dawson, 1982). Siguiendo el mismo razonamiento para las *betaproteobacterias*, la abundancia de las *gammaproteobacterias* se asoció con la concentración de DCCHO. Un estudio realizado por Edwards et al. (2010) analizaron la comunidad microbiana en el Mar de Irlanda sobre un sustrato de polisacáridos insolubles, y encontraron que estaba dominado por los miembros de la *gammaproteobacterias* y *bacteroidetes*.

La abundancia relativa de las células teñidas con la sonda bacteriana (EUB338) y las sondas específicas de cada gran grupo de bacterias referidas al DAPI fueron bajas en algunas estaciones. La suma de los 4 grupos representó sólo el 24 a 97% del total detectado de bacterias. Una tasa de recuperación media similar (15 a 91%) fue también reportada por Alonso-Sáez et al. (2008) y Teira et al. (2009) en el Ártico utilizando CARD-FISH con el mismo conjunto de sondas que en este estudio utilizamos. La baja detección se puede atribuir tanto a una mala cobertura de las sondas de oligonucleótidos o a un bajo nivel de actividad bacteriana (Amann y Fuchs, 2008). Sin embargo las abundancias de los diferentes grupos referidas a la sonda EUB338 cubren la gran mayoría de la abundancia total de bacterias.

4.6. Dinámica biogeoquímica en la zona de El Rincón

Se realizó una matriz de correlación entre las variables estudiadas con el propósito de evaluar similitudes y diferencias cuantitativas en la dinámica de las propiedades químicas-ópticas de DOM y su relación con las variables biológicas. También se realizó otra matriz de correlación entre aminoácidos específico de TDAA y los diferentes grupos de bacterias sobre la base de datos estandarizados (contribución en porcentaje mol para los aminoácidos y contribución en porcentaje de abundancia para los grupos de bacterias) y clorofila-a.

4.6.1. Correlaciones entre las propiedades químicas-ópticas de la DOM y nutrientes inorgánicos

Las señales biogeoquímicas del conjunto de datos obtenidos se observa en la **tabla III**.

Tabla III. Coeficiente de correlación de Spearman entre composición química del DOC, propiedades fluorescentes de DOM y nutrientes inorgánicos en El Rincón.

	DFAA	DCAA	TDAA	DFCHO	DCCHO	TDCHO	DOC-id.	DOC
DIN	-	-	-	-0,69	-	-0,71	-0,76	-
NO ₃	-	-	-	-	-	-0,78	-0,69	-
Si	-	-	-	-0,59	-	-0,67	-	-
PO ₄	-	-	-	-	-	-0,68	-0,66	-
NH ₄	-	-	-	-0,67	-	-	-0,69	-
A	0,76	-	-	-	-	-	-	-
C	0,82	-	-	-	-	-	-	-
M	0,82	-	-	-	-	-	-	-
B	0,71	-	-	-	-	-	-	-
T	0,76	-	-	-	-	-	-	-
FIX	-	-	-	-	-	-	-	-
BIX	0,69	-	-	-	-0,60	-	-	-
HIX	-0,63	-	-	-0,70	-	-	-	-
ID	-	0,73	0,72	-	-	-	-	-

Los números representan correlaciones significativas ($p < 0,05$); (-) correlación no significativa; DFAA: aminoácidos libres disueltos; DCAA: aminoácidos combinados disueltos; TDAA: aminoácidos disueltos totales; DFCHO: carbohidratos libres disueltos; DCCHO: carbohidratos combinados disueltos; TDCHO: carbohidratos disueltos totales; DOC-Id: DOC identificado (%Carbohidratos, %Aminoácidos); DOC: carbono orgánico disuelto; DIN: nitrógeno inorgánico disuelto (Nitrato + Nitrito + Amonio); NO₃: nitrato; Si: Silicato; PO₄: fosfato; NH₄: amonio; FDOM (A, C, M, B, T); FIX: índice de fluorescencia; BIX: índice de actividad biológica; HIX: índice de humificación; ID: Índice de degradación.

El ID presenta una correlación directa con la concentración de TDAA, indicando que los aminoácidos contenidos en DOM presenta un proceso de alteración biogeoquímica o remineralización.

Por lo general los procesos de remineralización se dan por el consumo en primera medida de compuestos de bajo peso molecular debido a fácil captación, y su principal evidencia sería el agotamiento de compuestos orgánicos más lábiles y enriquecimiento de compuestos de alto peso molecular. La tendencia inversa entre DFAA y HIX, estaría apoyando lo antes mencionado, al aumentar el HIX las concentraciones de los

compuestos más susceptibles a degradación (DFAA) o consumo, disminuye. Esta tendencia va acoplada con el BIX (índice de actividad biológica), que estaría indicando una fuente biológica de DFAA.

Siguiendo la misma razón de los procesos de mineralización, dentro de los componentes de la FDOM, los picos B y T generalmente se asocian a productos de actividad biológica, que en este caso correlacionan con la concentración de DFAA, sugiriendo que tanto los picos B, T y DFAA provienen de la misma fuente biológica y a su vez con características biodisponibles a organismo heterótrofos. Aunque paradójicamente los picos A, C, M conocidos con propiedades húmicas correlacionan positivamente con DFAA. La razón de esta tendencia no está clara y merece una mayor investigación a futuro sin embargo, una de las posibles causas de esta tendencia se debe a que en algunos casos los DFAA pueden estar adsorbidos en las complejas macromoléculas húmicas de alto peso molecular.

En el caso de los carbohidratos disueltos, al aumentar la concentración de TDCHO, los nutrientes inorgánicos fueron bajos (DIN: (nitrato+nitrato+amonio), silicato y fosfato), lo que sugiere un posible acoplamiento con la absorción de nutrientes inorgánicos por parte del fitoplancton y al mismo tiempo exudado de TDCHO.

Sin embargo la concentración de la fracción combinada (DCCHO) presentó una tendencia inversa con la salinidad, sugiriendo un aporte de DCCHO por parte del continente, especialmente por la descarga del Rio Colorado. Esta presunción se ve apoyada por la correlación inversa entre DCCHO y BIX, sugiriendo una mayor participación o contribución alóctona sobre la autóctona en la concentración de DCCHO.

La concentración de la fracción libre (DFCHO) presentó la misma tendencia que la concentración de TDCHO, lo que se debe a que la concentración de DFCHO en la mayoría de las muestras representó más del 50% de TDCHO.

Siguiendo la misma interpretación de DFAA con HIX, la concentración de DFCHO presentó el mismo patrón. Los componentes monoméricos (DFAA y DFCHO) pueden ser derivado de fuentes autóctonas proporcionando moléculas con propiedades lábiles o más biodisponibles.

Por otro lado cuando el porcentaje de los componentes químicamente caracterizados fue alto las concentraciones de los nutrientes inorgánicos fueron bajos, sugiriendo un posible acoplamiento, igual que los TDCHO, con la absorción de nutrientes inorgánicos por parte del fitoplancton y al mismo tiempo la exudación de carbohidratos y aminoácidos disueltos.

4.6.2. Correlaciones entre Comunidad Bacteriana y propiedades químico-ópticas de DOM

Se ha estudiado la relación de los grupos bacterianos con las propiedades de la DOM, empleando la FDOM como trazador de posibles fuentes y la composición química de DOM como disponibilidad de sustrato para la comunidad bacteriana. Se observaron algunas correlaciones entre ellos que podrían contribuir a elucidar la dinámica biogeoquímica o acople entre DOM y bacterias (**Tabla IV**).

Tabla IV. Coeficiente de correlación de Spearman entre la abundancia relativa de grupos bacterianos y propiedades ópticas-químicas de DOM en El Rincón.

	CF	Alfa	Beta	Gama	EUB
DFAA	-	-	-	-	-
DCAA	-	-	-	-	-
TDAA	-	-	-	-	-
ID	-	-	-	0.89	-
DFCHO	-	-	-	-	-
DCCHO	-	-	-0.74	-	-
TDCHO	-	-	-	-	-
DOC-Iden	-	-	-	-	-
DOC	-	-	-	-	-
A	-	-	-	-	-
C	-	-	-	-	-
M	-	-	-	-	-
B	-0.73	-0.81	-	-	-0.77
T	-	-	-	-	-

Los números representan correlaciones significativas ($p < 0,05$), (-) correlación no significativa, CF: citofaga/ flavobacterias, Alfa-, Beta-, Gama-: proteobacterias, EUB: abundancia total de bacterias con sonda EUB388, Clo-a: clorofila-a, DFAA: aminoácidos libres disueltos, DCAA: aminoácidos combinados disueltos, TDAA: aminoácidos disueltos totales, ID: índice de degradación a partir de aminoácidos particulares, DFCHO: carbohidratos libres disueltos, DCCHO: carbohidratos combinados disueltos, TDCHO: carbohidratos disueltos totales, DOC-Iden: DOC identificado (%Carbohidratos, %Aminoácidos), DOC: carbono orgánico disuelto, DIN: nitrógeno inorgánico disuelto (Nitrato + Nitrito + Amonio), NO_3 : nitrato, Si: Silicato, PO_4 : fosfato, NH_4 : amonio, FDOM (picos A, C, M, B, T).

Dentro de la composición química de DOM, la concentración de DCCHO correlacionó inversamente con la abundancia relativa del grupo *betaproteobacterias*, sugiriendo que los carbohidratos poliméricos son un posible sustrato de las *betaproteobacterias*. Pernthaler et al. (1998), observaron que la abundancia de *betaproteobacterias* estaba vinculada a la entrada de agua dulce en lagos y estudios posteriores han sugerido que el bacterioplancton, especialmente grupos típicos de agua de ríos, podría ingresar al mar y desempeñar un importante rol en la descomposición del DOM alóctono (Langenheder et al., 2004; Kisand et al., 2005)

Si bien se había mencionado que la zona de El Rincón estaba dominada por *alfaproteobacterias*, típicas de aguas oceánicas, la poca contribución de la *betaproteobacterias* a la comunidad podría estar sostenida por el aporte de DCCHO, especialmente del río Colorado.

Por otro lado, se observó que la intensidad de fluorescencia del pico B, de origen proteínico y autóctono, correlacionó inversamente con la abundancia relativa de las bacterias teñidas con la sonda EUB y con los grupos *Alfaproteobacterias* y *bacteroidetes*, sugiriendo el consumo de la DOM.

Se ha demostrado que la intensidad de fluorescencia del pico B y T son producto de la exudación del fitoplancton, lisis celular y pastoreo del zooplancton (Yamashita y Tanoue, 2003; Nagata, 2000). Diferentes autores han acoplado estos productos o sustratos biológicos con el consumo de diferentes grupos bacterianos (Cottrell y Kirchman, 2000; Malmstrom et al., 2005, Alonso-Sáez y Gasol, 2007). Por ejemplo, Cottrell y Kirchman, (2000) por medio de la técnicas de microautoradiografía y FISH (Micro-Fisch) observaron que las *alfaproteobacterias* y *bacteroidetes* tenían una tendencia a dominar el consumo de DOM de bajo peso molecular, sin embargo otros estudios han demostrado que los *bacteroidetes* presenta una especial afinidad por el consumo de macromoléculas, como el realizado por Riemann et al., (2000). En ese trabajo a nivel de mesocosmo observaron que las *alfaproteobaterias* y *bacteroidetes* presentaron una rápida colonización en las partículas durante la floración de diatomeas. Según los datos reportados por Ferronato et al., (2014) que indica un predominio de diatomeas en el sector costero, esa abundancia de diatomeas estaría asociada a una posible secreción de compuestos con características proteínica autóctonos y posterior consumo principalmente por estos dos grupos de bacterias mencionadas.

La relación directa entre la abundancia del grupo *gammaproteobacterias* y el índice de degradación, (que estima el grado de alteración diagenético de los aminoácidos en la DOM) indica que este grupo de bacterias incrementa su abundancia cuando los aminoácidos de DOM son relativamente frescos (valores positivos de ID). Esta tendencia se puede ver claramente en la zona costera, donde se asocia un incremento directo entre la concentración de TDAA y la abundancia relativa de las *gammaproteobacterias*.

4.6.3. Correlación entre los aminoácidos constituyentes de TDAA, clorofila-a y comunidad bacteriana

En la **tabla V** se resumen las correlaciones de las variables biológicas con los aminoácidos particulares de TDAA.

Tabla V. Coeficiente de correlación de Pearson entre algunas variables biológicas y aminoácidos particulares de TDAA en El Rincón.

	CF	Alfa	Beta	Gama	EUB	Clo-a
Asp	-	-	-	-	-	-
Glu	-	-	-	-	-	-
Ser	-	-	-	-	-	0,81
His	-	-	-	-	-	-
Gly	-	-	-0,72	-	-	-
Thr	-	-	-	-	-	-
Arg	-	-	-	-	-	-
Ala	-	-	-	-	-	0,77
Tyr	-	-	-	-	-	-
Val	-	-	-	-	-	-
Phe	-	-	-	-	-	-
Ile	-	-	-	-	-	-
Leu	-	-	-	-	-	0,69

Los números representan correlaciones significativas ($p < 0,05$), (-) correlación no significativa, CF: citofaga/flavobacterias, Alfa-, Beta-, Gama-:proteobacterias, EUB: abundancia total de bacterias con sonda EUB388, Clo-a: clorofila-a, asp: ácido aspártico, glu: ácido glutámico, ser: serina, his: histidina, gly: glicina, thr: treonina, arg: arginina, ala: alanina, tyr: tirosina, val: valina, phe: fenilalanina, ile: isoleucina, leu: leucina.

Las *betaproteobacterias* tendrían una gran afinidad por los polisacáridos y en algunos casos también preferencia por compuestos de alto peso molecular (Covert y Moran, 2001). En nuestro conjunto de datos se ha evidenciado una correlación negativa entre la abundancia relativa de este grupo de bacterias con el %mol de glicina de TDAA, sugiriendo un posible consumo preferencial por este aminoácido. Se ha documentado que la glicina es liberada por las diatomeas a través de la fotorespiración durante su crecimiento celular (Ogren y Chollet, 1982). La concentración de glicina en la fracción disuelta puede ser asociada a la abundancia de diatomeas en el sector costero. Lo antes mencionado estaría indicando que las *betaproteobacterias* se asocian a compuestos orgánicos con propiedades relativamente refractarias.

La clo-a que anteriormente habíamos mencionado que era un buen indicador de biomasa fitoplanctónica, correlacionó directamente con el %mol de ala, leu y ser de TDAA. Estos aminoácidos representan el 18 %mol de TDAA, indicando que el fitoplancton tuvo una influencia significativa en la distribución de 18% mol de TDAA.

5. Conclusiones

En este capítulo se describen la variabilidad espacial de la FDOM y la concentración y composición de los carbohidratos y aminoácidos en la fracción disuelta con los cambios en la abundancia de los principales grupos de bacterias en la zona costera del atlántico sur, El Rincón.

Los resultados indican que las intensidades de fluorescencia de los diferentes componentes de DOM presentaron un patrón general de tendencia decreciente de costa a plataforma media. La FDOM se caracterizó principalmente por presentar una mezcla de compuestos húmicos medianamente insaturados y una importante fracción de compuestos proteínicos, con predominio de sustancias húmicas.

En la zona costera según la FDOM, predominaron los compuestos orgánicos con características proteínicas sobre compuestos húmicos, y lo contrario ocurrió en la zona de plataforma media donde dominaron los compuestos húmicos. Las fuentes de FDOM fueron de contribución autóctona, sin embargo en la zona costera parece haber aporte alóctono de origen continental.

Según la composición química de DOM, los carbohidratos combinados son aportados por los ríos principalmente en la zona costera y en las zonas de transición y plataforma media su concentración estaría modulada por el microfitoplancton.

En todas las estaciones, la concentración de aminoácidos combinados fue mucho más alta que la concentración de los aminoácidos libres con una contribución del 95% al total.

Los principales aminoácidos en el área de estudio en TDAA fueron la his, ala, asp, glu, thr representado 66% mol del total. Sin embargo solo los aminoácidos ala, leu y ser parecen estar controlados por el fitoplancton, representado el 18%mol a TDAA.

Los componentes químicamente caracterizados de la DOM representaron una cuarta parte de DOM (25%) en El Rincón y los DCAA fue la fracción principal en la mayoría de las muestras.

Las *alfaproteobacterias* y *citófaga/flavobacterias* fueron los dos grupos más abundantes de la comunidad bacteriana, indicando posiblemente la mayor participación en la descomposición de DOM y los actores de los procesos

regenerativos en la zona costera de El Rincón, sin embargo, las *betaproteobacterias* a pesar de que fue el grupo menos abundante, parece cumplir una importante función en la descomposición de compuestos de alto peso molecular ya que presentó una importante afinidad por los carbohidratos combinados aportados por los ríos y la glicina que tiene propiedades refractarias.

La correlación negativa entre la intensidad de fluorescencia del pico B y la abundancia total relativa de bacterias (sonda EUB), específicamente con los grupos *alfaproteobacterias* y *citófaga/flavobacterias* podrían indicar el consumo de compuestos proteínicos y eventualmente esta tendencia sería consistente con un proceso de remineralización en la zona costera y de transición.

Por otro lado, el grupo *gammaproteobacterias* no presentó ninguna correlación estadísticamente significativa con la FDOM ni con la composición química, sin embargo se evidenció una correlación positiva con el índice de degradación, indicando una posible afinidad de este grupo por los aminoácidos con bajo grado de alteración biogeoquímica (aminoácidos frescos).

La relación entre la composición química y fluorescente de DOM, con la comunidad planctónica y aportes alóctonos, permite establecer: 1. Afinidad de las *betaproteobacterias* por la DOM alóctona con características refractarias, 2. aporte de DOM al sistema por parte del fitoplancton y posterior consumo de DOM con propiedades proteínicas autoctonas por parte de las *alproteobacterias* y *citofagas/flavocaterias*. Conforme a lo expresado anteriormente se construye un primer camino de origen, transformación y remineralización de la materia orgánica disuelta en el área de El Rincón.

Capítulo 5

Conexión Pacífico-Atlántico: señales biogeoquímicas en el extremo sur de la Plataforma Argentina

1. Resumen

La corriente del Cabo de Hornos transporta aguas de baja salinidad del SE del Océano Pacífico al Atlántico, que son conducidas hacia el norte por la corriente de Malvinas. Las señales biogeoquímicas de esta conexión estuarina fría se estudiaron mediante la determinación del carbono orgánico disuelto (DOC), materia orgánica disuelta fluorescente (FDOM), índice de humificación (HIX), nutrientes inorgánicos, salinidad, temperatura, composición isotópica estable de nitrógeno orgánico particulado ($\delta^{15}\text{N}$) y clorofila-a (Clo-a) en el extremo sur de la plataforma argentina en marzo de 2012.

Se caracterizaron tres zonas: aguas del Canal de Beagle (BCW), aguas costeras (CW) y aguas oceánicas (OW). Los valores más altos de amonio, DOC, FDOM y HIX se encontraron en BCW, el más bajo en OW, lo que sugiere que la entrada terrestre es la fuente principal de amonio y de carbono refractario, que es sustentada por la correlación inversa altamente significativa de estos parámetros con la salinidad. A su vez, las concentraciones más bajas de nitrato, silicato y fosfato se encontraron en BCW y CW, y mayor en OW, con correlaciones altamente significativas de estos nutrientes con la salinidad, lo que indica la contribución de la Corriente Circumpolar Antártica, más salina y rica en nutrientes al sistema de conexión Pacífico-Atlántico.

Se encontró un patrón de distribución inverso de estos nutrientes y Clo-a, que mostró valores más altos en la parte interna de BCW. Esto sugiere un rol para el amonio y ligandos orgánicos relacionado con la disponibilidad de hierro en estas aguas, en contraste con la baja concentración de silicato, alto contenido de nutrientes, baja concentración la clorofila de OW y aguas Subantárticas al norte del Frente Polar.

Los valores de $\delta^{15}\text{N}$ fueron positivos en la región de estudio, y el amonio alcanzó un máximo en la parte interior de la BCW, declinando hacia OW. Esto no es compatible con una hipótesis previa que postulaba que las precipitaciones en el SE del Pacífico podrían ser la fuente de amonio y, por tanto, explicar los valores de $\delta^{15}\text{N}$ negativos encontrados previamente en el norte del Pasaje de Drake.

Las correlaciones inversas altamente significativas de amonio, FDOM, HIX, y DOC con la salinidad sugieren que la escorrentía continental, en lugar de la deposición húmeda, es una importante fuente de amonio y DOM en la conexión del Pacífico-Atlántico.

2. Hipótesis y objetivos

En el presente capítulo se propone analizar la distribución superficial de la FDOM, nutrientes inorgánicos disueltos y $\delta^{15}\text{N}$ en un sistema donde se conectan diversas corrientes, como la de Cabo de Hornos y Circumpolar Antártica. En función de los conocimientos previos y de los antecedentes disponibles en este tema, se propuso testear las siguientes hipótesis de trabajo:

De acuerdo a las características de la zona, se espera que la región sur-patagónica tenga tipologías especiales y particulares con respecto a las propiedades y fuentes de la FDOM, nutrientes inorgánicos y $\delta^{15}\text{N}$.

Por lo tanto se espera que una fracción significativa de la FDOM y nutrientes posiblemente proceda del Pacífico, sin embargo también se podrían esperar aportes a través de la Corriente Circumpolar Antártica, del continente y de los organismos propios del sistema estuarino. Esas diversas fuentes se deberían ver reflejadas en la composición de la materia orgánica disuelta y en la señal isotópica de nitrógeno en la fracción particulada.

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

- (i)** Examinar el efecto de la conexión pacífico-atlántica sobre la dinámica biogeoquímica de la región estuarina fría de la Patagonia.
- (ii)** Describir la distribución espacial y posibles fuentes de FDOM y nutrientes inorgánicos.
- (iii)** Estimar la fuente de nitrógeno en la conexión a través del isotopo de nitrógeno en la fracción particulada.

3. Área de estudio y sitio de muestreo

El muestreo se llevó a cabo durante el verano austral, en marzo de 2012, en 16 estaciones distribuidas en tres sectores entre 64°-68° W y 54.75°- 55.75°S (**Fig. 1**).

El canal Beagle conecta el Pacífico y el Atlántico en dirección oeste-este e incluyó cuatro estaciones (Sta. 10CB, 11CB, 18CB, 21CB). En la zona costera y la plataforma sur de Tierra del Fuego se ubicaron siete estaciones (Sta. 1, 2, 3, 9, 13, 14, 15) entre el sector externo del Canal Beagle y el Estrecho de Le Maire. La tercer área está ubicada al norte del Frente Subantártico, en un sector que abarca cinco estaciones (Sta. 4, 5, 10, 11, 12). La campaña se realizó a bordo del buque oceanográfico A.R.A-CONICET "Puerto Deseado" y en la lancha "Don Pedro".

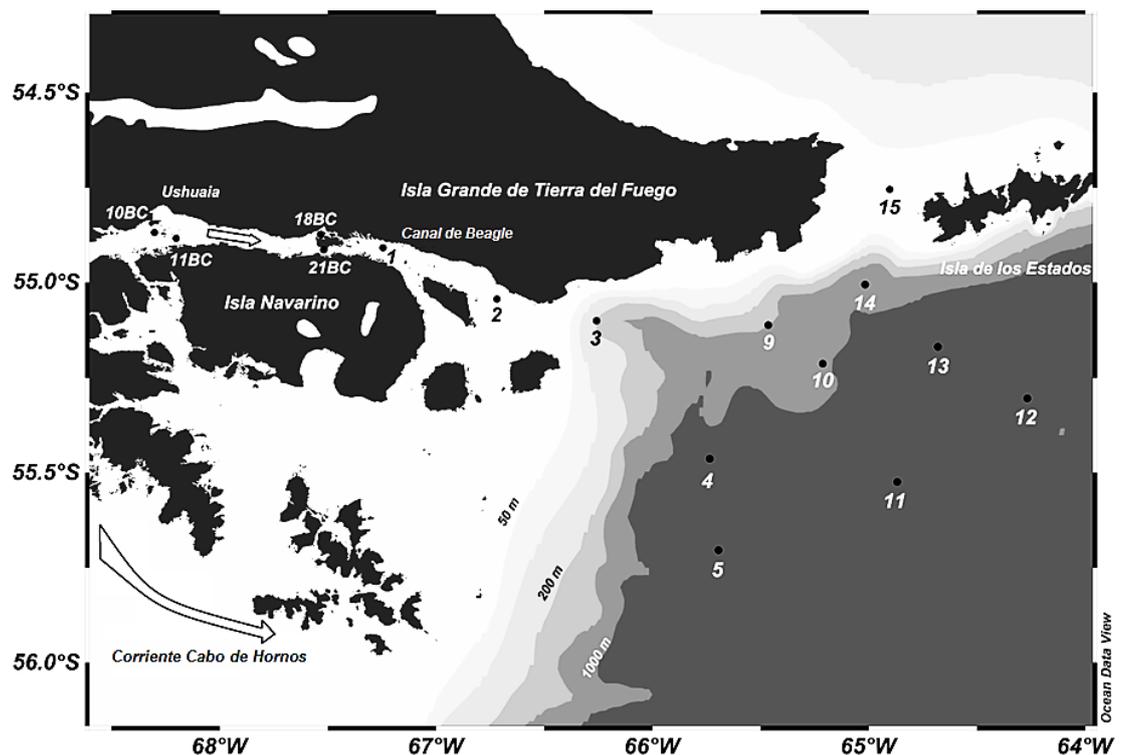


Fig. 1. Zona de estudio (Conexión Pacífico-Atlántica) y estaciones de muestreo.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los datos obtenidos en las diferentes zonas de la conexión Pacífico-Atlántico se presentan resumidos en la **Tabla I**, incluyendo los valores promedio y desvío estándar.

Tabla I: Nutrientes inorgánicos (expresados en μM); NO_3^- (Nitrato), SiO_4^{-2} (Silicato), PO_4^{-3} (Fosfato); DOC (Carbono Orgánico disuelto) (expresado en $\mu\text{M-C}$), FDOM (Materia orgánica fluorescente) (expresada USQ), Índice de humificación (HIX), Clo-a, (clorofila-a) (expresada en $\mu\text{g L}^{-1}$), $\delta^{15}\text{N}$ (composición isotópica de nitrógeno estable) (expresado en ‰) en las tres zonas geográficas de la conexión Pacífico-Atlántico. BCW (Beagle Channel Waters) = Aguas del canal Beagle, CW (Coastal Waters) = Aguas Costeras, OW (Oceanic Waters)= Aguas Oceánicas. n = número de muestras. Número entre paréntesis = desviación estándar

Zona	n	Fracción Disuelta						Fracción Particulada		
		NO_3^-	SiO_4^{-2}	PO_4^{-3}	NH_4^+	DOC	FDOM _c	HIX	Clo-a	$\delta^{15}\text{N}$
BCW	4	7,9	2,1	0,8	2,9	68,9	1,1	1,8	1,5	7,2
		(0,3)	(0,7)	(0,1)	(0,7)	(6,0)	(0,2)	(0,2)	(1,2)	(0,8)
CW	6-7	12,0	2,1	1,0	1,2	57,5	0,6	1,0	0,4	5,2
		(3,1)	(0,2)	(0,1)	(0,6)	(7,0)	(0,3)	(0,4)	(0,1)	(2,2)
OW	5	19,8	3,2	1,3	0,5	54,1	0,3	0,7	0,2	2,8
		(0,6)	(0,2)	(0,1)	(0,1)	(5,3)	(0,1)	(0,4)	(0,1)	(0,8)

4.1. Características hidrográficas

Los datos obtenidos y sus tendencias son consistentes con la información previa disponible de los sectores internos y externos del Canal Beagle que se citan debajo, básicamente asociados a la transición entre el Cabo de Hornos y la Corriente Circumpolar Antártica.

En general, la temperatura del agua se reduce desde el Canal de Beagle hacia el Frente Subantártico. La salinidad fue menor en el Canal Beagle y la zona costera de Tierra del Fuego en comparación con el sector norte del Frente Subantártico.

Sobre la base de datos batimétricos, de temperatura y salinidad, el área de estudio se puede dividir en tres zonas (**Fig. 2**).

(1) Aguas del Canal de Beagle (BCW), con temperaturas entre 8 - 9 °C, salinidades bajas (<30) y profundidades <50 m. Estas características se asociaron con las de la corriente del Cabo de Hornos, con temperaturas > 7 °C y salinidades <34 debido a un régimen de altas precipitaciones en la zona de los fiordos chilenos y el derretimiento del hielo en el sur de la Patagonia (Acha et al., 2004; Antezana, 1999; Lara et al., 2010; Almandoz et al., 2011; Candel et al., 2013; Biancalana et al., 2014).

(2) Aguas Costeras (CW), desde la zona externa del BCW al estrecho de Le Maire, con un rango de temperaturas de entre 7 y 8 ° C, salinidades entre 31,1 y 33,8, y profundidades desde 32 hasta 1700 m. Los amplios rangos de salinidad, temperatura y profundidades en esta zona, marcan la conexión y transición entre las masas de agua de la corriente de Cabo de Hornos y la Corriente Circumpolar Antártica (Acha et al., 2004; Krock et al., 2015).

(3) Aguas Oceánicas (OW), con altas salinidades (> 34) y profundidades (1093 a 2285 m) y bajas temperaturas (<7 ° C) (**Fig. 2**), derivados del Pasaje de Drake Norte (Bianchi et al., 1982; Guerrero y Piola, 1997; Piola et al., 2010; Krock et al., 2015).

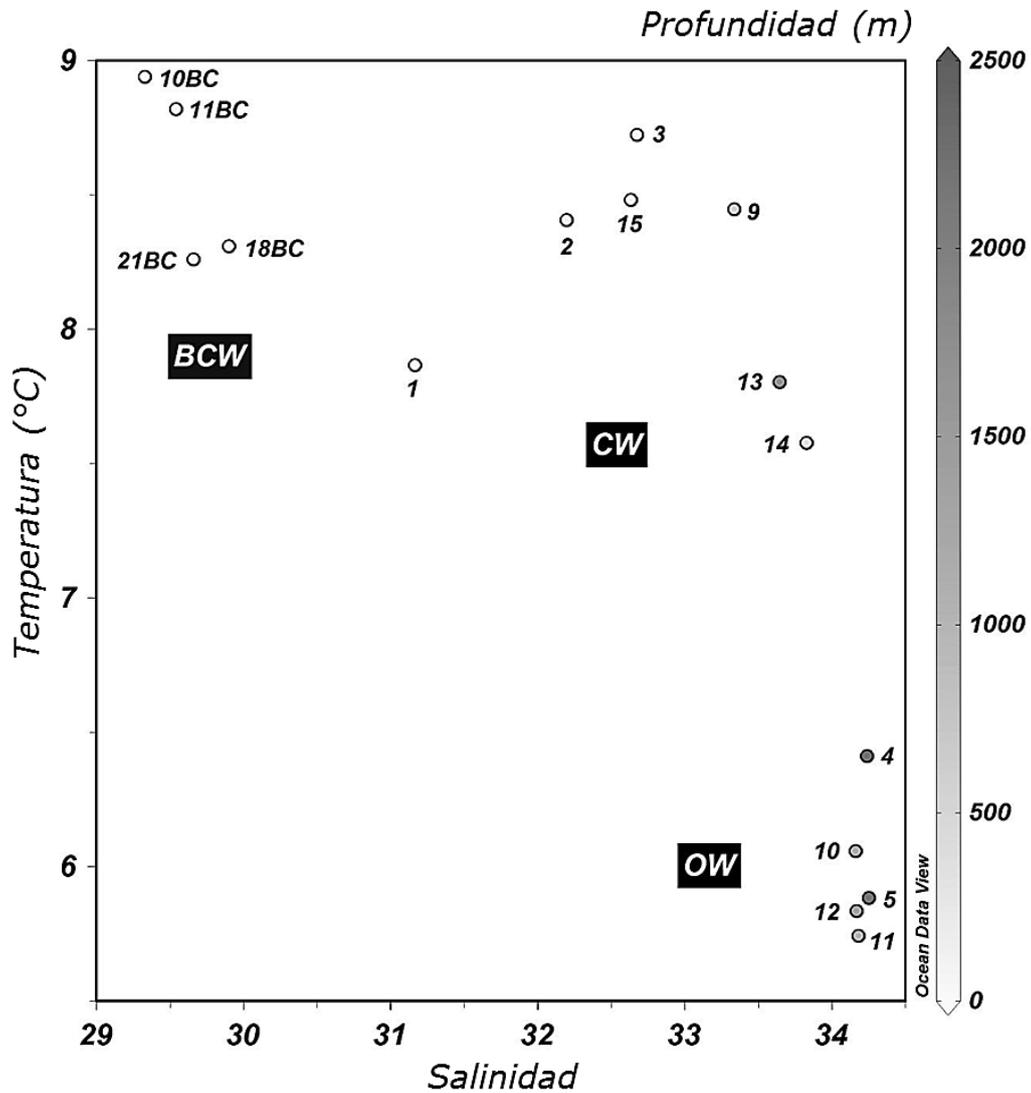
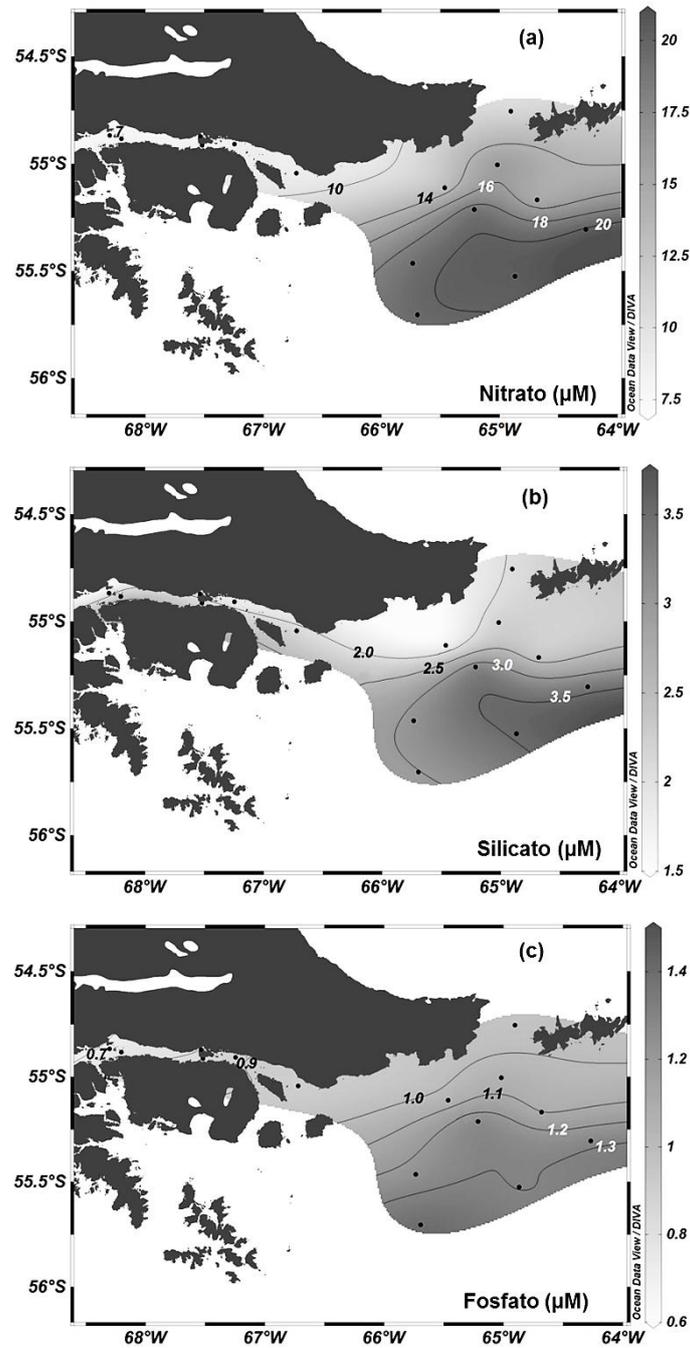


Fig. 2: Diagrama de salinidad, temperatura y profundidad para las estaciones estudiadas. BCW: Aguas del Canal de Beagle; CW: Aguas Costeras; OW: Aguas Oceánicas.

4.2. Distribución y relación entre los nutrientes inorgánicos y salinidad

La distribución superficial de nitrato, silicato y fosfato (**Fig. 3: a, b y c**) mostró un claro gradiente con concentraciones más altas en OW ($19,8 \pm 0,6 \mu\text{M}$ de nitrato, $3,2 \pm 0,2 \mu\text{M}$ de silicato, $1,3 \pm 0,1 \mu\text{M}$ de fosfato) y valores más bajos en BCW (nitrato: $7,9 \pm 0,3 \mu\text{M}$, silicato: $2,1 \pm 0,7 \mu\text{M}$, fosfato: $0,8 \pm 0,1 \mu\text{M}$). En CW y OW, estos nutrientes presentan una tendencia decreciente de SE a NO, siendo consistente con los resultados reportados por Silva, (2008) a partir de un crucero desde Bahía Desolada

(SE Pacífico) hasta el Cabo de Hornos. En BCW, las concentraciones de nutrientes fueron en general, más bajas, en comparación con los reportados para el verano y el otoño en el sector oeste del Canal de Beagle (Amin et al., 2011; Duarte et al., 2011). En su sector oriental, las concentraciones fueron similares a los publicados por Silva, (2008), Almandoz et al. (2011), y Gil et al. (2011).



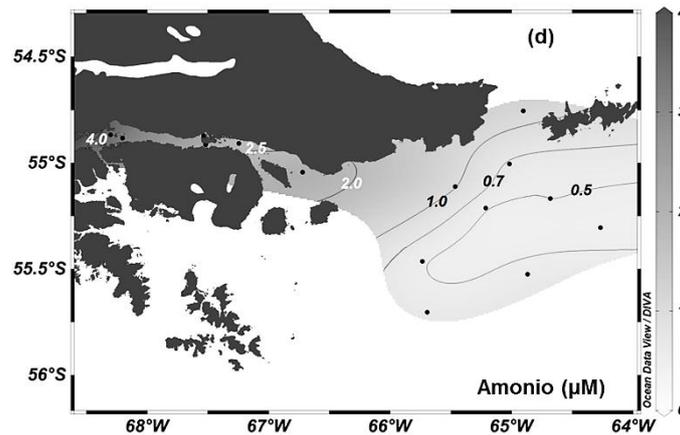


Fig. 3. Distribución superficial de nutrientes en la conexión Pacífico-Atlántica: a) Nitrato; b) Silicato; c) Fosfato y d) Amonio.

En contraposición, la concentración de amonio se distribuyó de forma inversa respecto de los otros nutrientes, aumentando sus concentraciones de OW ($0,5 \pm 0,1 \mu\text{M}$) a BCW ($2,9 \pm 0,7 \mu\text{M}$) (**Fig. 3d**). Los valores fueron similares a los reportados por Gil et al. (2011) y Lara et al. (2010) y mayores a los informados en Biancalana et al. (2014).

Se encontró una correlación positiva altamente significativa entre la salinidad y las concentraciones de nitrato, silicato y fosfato ($r = 0,90$, $r = 0,65$ y $r = 0,91$, $n = 15$, $p < 0,01$, respectivamente) que indica a la Corriente Circumpolar Antártica como principal fuente de estos nutrientes. Por otro lado, la correlación inversa altamente significativa entre el amonio y la salinidad ($r = -0,94$, $n = 15$, $p < 0,0001$) (**Fig. 4**), sugiere un aporte de este nutriente por parte de la entrada de agua dulce del SE del Pacífico a través de la corriente del Cabo de Hornos y sistema de fiordos.

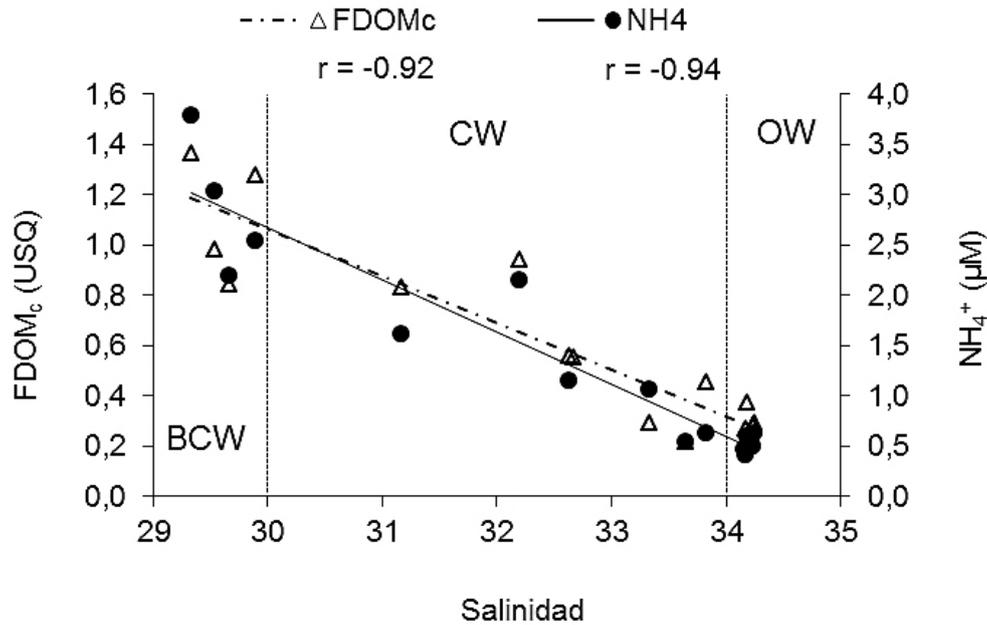


Fig. 4. Correlación entre intensidad de fluorescencia de la FDOM_c y la concentración de amonio con la salinidad.

4.3. Distribución y relación entre FDOM_c, HIX, DOC y la salinidad

La señal correspondiente al "pico C" de la FDOM_c fue identificado en todas las muestras. Esta señal se asocia con el material húmico terrestre altamente degradado, y su intensidad mostró una tendencia decreciente desde BCW (0,8-1,4 USQ) hasta 0,2-0,4 USQ en OW (**Fig. 4**). Las intensidades de fluorescencia de FDOM_c y los valores del índice HIX (0,3 - 2,0) fueron similares a los reportados por Para et al., (2010) para las aguas superficiales costeras del noroeste del Mar Mediterráneo e inferiores a los obtenidos en el estuario de Girona por Huguet et al. (2009).

FDOM_c siguió el mismo patrón de distribución que el amonio. Estos parámetros presentan una correlación altamente significativa ($r = 0,95$, $n = 15$, $p < 0,0001$), lo que sugiere que ambos tienen un origen común. Además, el hecho de que FDOM_c y amonio presentaran una correlación inversa y altamente significativa con la salinidad ($r = -0,92$, $n = 15$, $p < 0,0001$), indica que la principal fuente de estos parámetros es el aporte de agua dulce en el extremo sur de la Patagonia Pacífico-Atlántica.

La concentración de DOC varió entre 46,0 y 77,0 μM de C. Los valores más altos se obtuvieron en BCW con una tendencia decreciente hacia OW (**Fig. 5**).

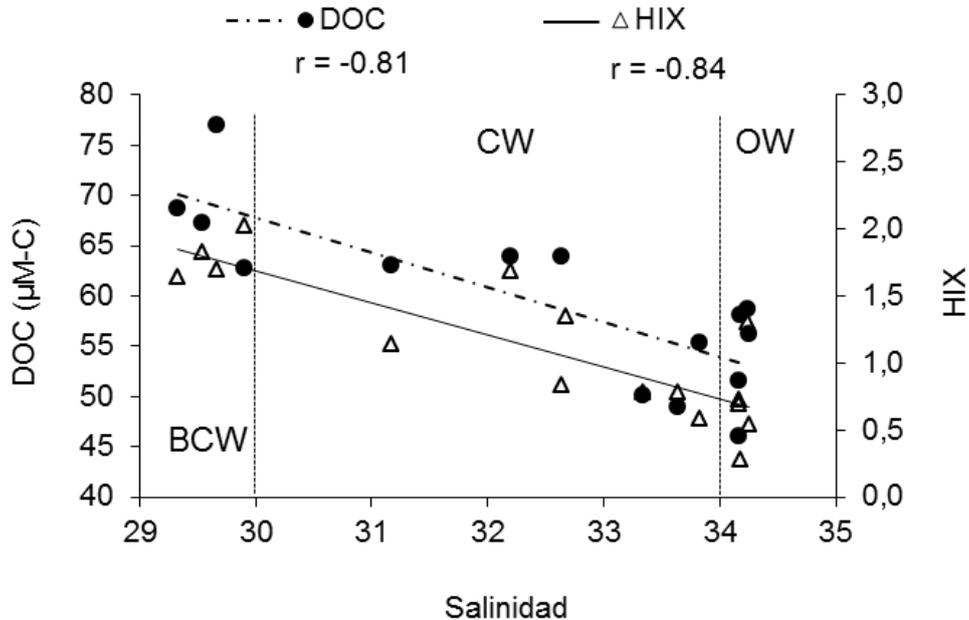


Fig. 5. Correlación entre DOC y HIX con la salinidad.

El índice HIX presentó una tendencia similar, con una disminución desde los valores más altos en BCW (2,0) a un mínimo en OW (0,3).

Esta distribución análoga se reflejó en una correlación altamente significativa entre DOC y HIX ($r = 0,70$, $n = 15$, $p < 0,01$). Esto implica una contribución significativa de carbono orgánico de origen terrestre con características refractarias al *pool* de DOC en la conexión del Pacífico-Atlántico, donde la disminución de estos parámetros con el aumento de la salinidad refleja la dilución de la entrada continental con aguas oceánicas.

Además del efecto de dilución con masas de agua de bajo contenido de DOM, los valores observados y los gradientes de distribución de FDOMc y HIX podrían ser en parte, el resultado de la descomposición fotoquímica de la DOM (Vähätalo y Wetzel, 2004). Por lo tanto, una fracción de la FDOMc terrestre podría ser eliminada por *photobleaching* desde BCW a OW. No obstante, (i) el marcado gradiente de SO-SE, (ii) el hecho que en BCW los

mayores FDOMc, HIX y DOC se producen a valores de salinidad más bajos y (iii) la correlación inversa altamente significativa con la salinidad, conducen a reforzar el postulado de la entrada de carbono refractario a la zona de la conexión del Pacífico-Atlántico por la escorrentía de los fiordos del sur de Chile, la principal fuente de agua dulce de la corriente del Cabo de Hornos, y probablemente también de escorrentías de Tierra del Fuego.

4.4. Distribución de Clo-a y $\delta^{15}\text{N}$ y las relaciones con los nutrientes

La concentración de Clo-a, con valores entre $0,3 \mu\text{g L}^{-1}$ y $2,9 \mu\text{g L}^{-1}$, y las tendencias en su distribución fueron similares a los informados previamente por Biancalana et al. 2014 para la misma zona y estación del año, con una tendencia decreciente al este del Canal de Beagle. Se encontraron concentraciones mayores de Clo-a en BCW ($2,9 \mu\text{g L}^{-1}$) y CW ($0,5 \mu\text{g L}^{-1}$), disminuyendo gradualmente a un rango de entre $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ - $0,3 \mu\text{g L}^{-1}$ en OW, (**Fig. 6**) con un patrón similar al informado por Lara et al., (2010) en este sector a finales del verano.

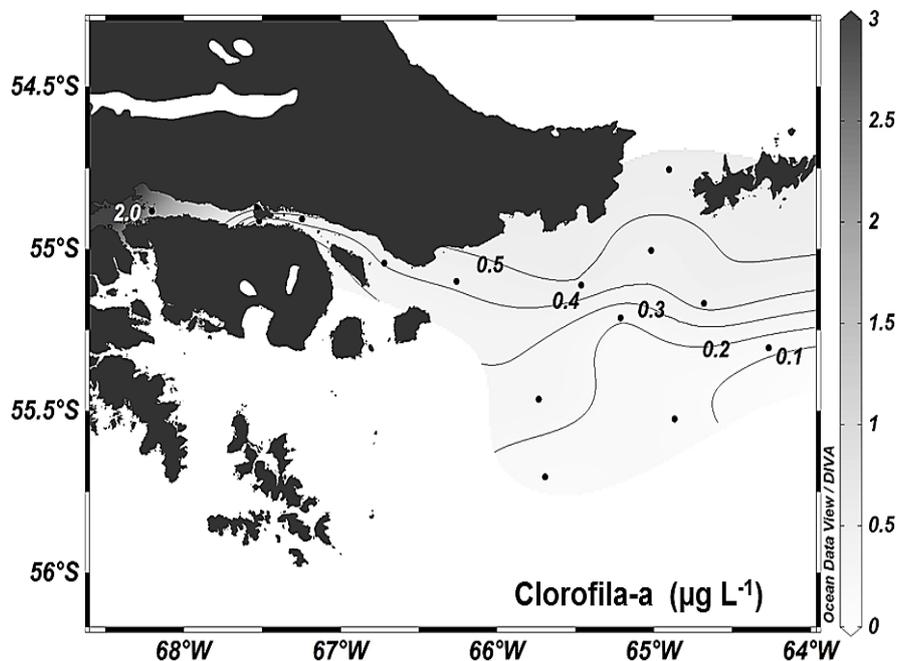


Fig.6. Distribución superficial de Clorofila-a.

El patrón de distribución de Clo-a y los nutrientes aportados por la Corriente Circumpolar Antártica (**nitrato, silicato y fosfato, Fig. 3a, b, c**) es inverso, indicando el consumo de estos nutrientes por el fitoplancton o limitación de oligoelementos como el hierro. En contraposición, los altos valores en la parte interna de BCW sugieren el rol del amonio y/o ligandos orgánicos y la disponibilidad de hierro relacionado en estas aguas, en contraste con la situación "bajo silicato-alto nitrato-baja clorofila" de aguas Subantárticas, al norte del Frente Polar (LSiHNLC; Dugdale et al., 1995).

Los valores de $\delta^{15}\text{N}$ en el material particulado en suspensión variaron entre 8,0 ‰ y 1,9 ‰, con un gradiente decreciente en dirección aproximadamente SE desde valores más altos en BCW y CW hacia OW (**Fig. 7**). Esta tendencia podría ser parte de un patrón de mayor escala alcanzando valores $\delta^{15}\text{N}$ consistentemente negativos en el norte del Pasaje de Drake entre 56° y 58° S según lo informado por Lara et al. (2010) (**Fig. 7, sector SE**).

Se obtuvo una correlación inversa altamente significativa entre $\delta^{15}\text{N}$ y la concentración de nitrato ($r = -0,90$, $n = 15$, $p < 0,0001$) en la región de estudio. Esto refleja la activa captación de nitrato por el fitoplancton y por lo tanto un aumento de la incorporación de la fracción isotópicamente más pesada de este nutriente, así como su disminución hacia mayores concentraciones de Clo-a en un sector de BCW, resultando en un POM enriquecido en ^{15}N .

Sin embargo, no se sabe hasta qué punto las altas concentraciones de amonio en BCW podrían haber contribuido con su propia firma isotópica a los valores globales $\delta^{15}\text{N}$ en POM.

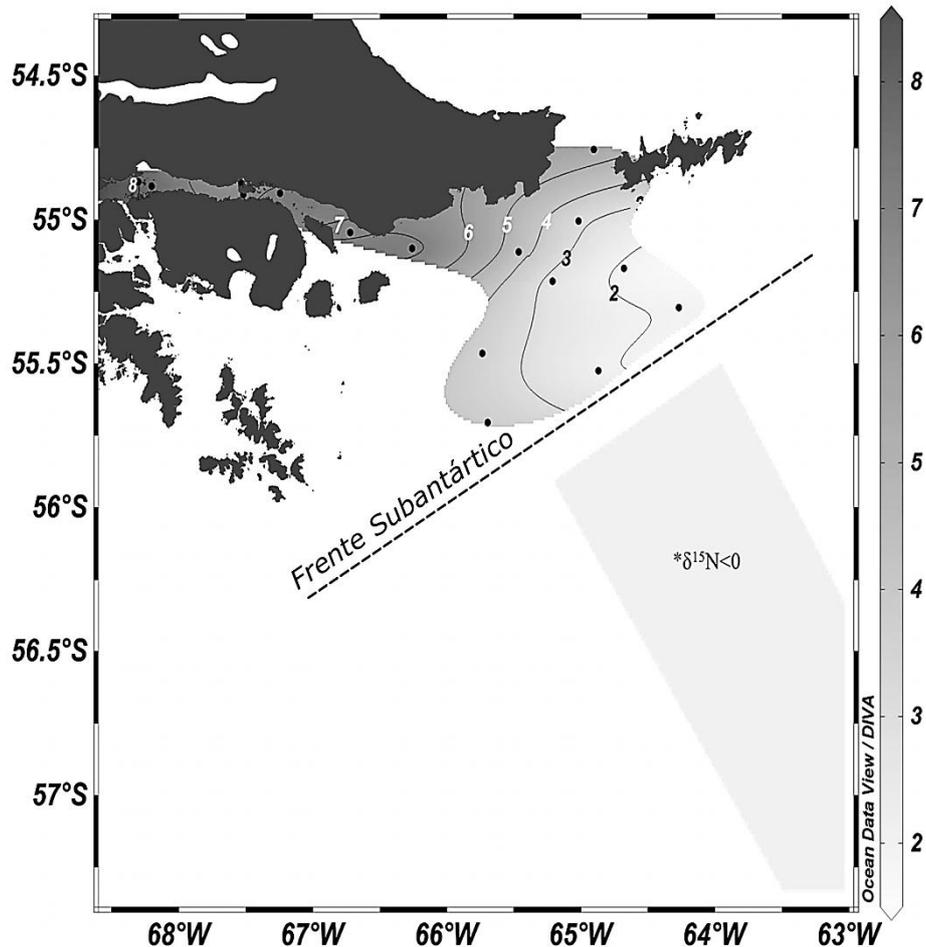


Fig. 7. Distribución superficial de $\delta^{15}\text{N}$. *Valores de $\delta^{15}\text{N}$, Lara et al., 2010.

Aunque $\delta^{15}\text{N}$ generalmente disminuye con el aumento de la concentración de nitrato, la preferencia del fitoplancton por el amonio puede influir en gran medida en la firma isotópica, incluso a tenores elevados de nitrato. Por ejemplo, Lourey et al. (2004) reportaron valores de $\delta^{15}\text{N}$ de alrededor de 0 a -4 ‰ cerca del Frente Polar en verano, en relación con la producción de POM de bajo ^{15}N por la absorción de amonio en verano.

Así, puede haber un sistema de transición de disminución de los valores positivos de $\delta^{15}\text{N}$ de BCW a OW, a valores negativos en aguas subantárticas y del Frente Polar.

Esto podría ser asociado, en parte, a diferentes fuentes de amonio, desde alóctono, escorrentía continental en el SE del Pacífico, y, finalmente, Tierra del Fuego, a la regeneración autóctona de nitrógeno en el Pasaje de

Drake, incluso en un entorno de altas concentraciones de nitratos (Lara et al., 2010).

Aunque los bajos valores de $\delta^{15}\text{N}$ podrían estar también asociados a la fijación biológica del N_2 atmosférico, esto es poco probable ya que la densidad de las cianobacterias es generalmente baja en todo el Pasaje de Drake y en el Océano Austral (Alder y Franzosi, 2004; 2005).

4.5. Distribución y de relación entre los nutrientes inorgánicos, DOM, Clo-a y $\delta^{15}\text{N}$

Se visualizaron dos patrones de distribución de los parámetros biogeoquímicos, consistentes con la entrada de nitrato, silicato y fosfato de la Corriente Circumpolar Antártica, y con la influencia de la escorrentía continental/ precipitaciones a través del Cabo de Hornos sobre la distribución de amonio y DOM respectivamente. Adicionalmente, Lara et al. (2010) plantearon la hipótesis de que el aumento de los valores de amonio en la zona estuarina fría del sur de la plataforma argentina, junto con la disminución de los valores de $\delta^{15}\text{N}$ de POM alcanzando valores consistentemente negativos en el norte del Pasaje de Drake se podría producir, al menos en parte por la entrada de isótopos livianos de amonio a la plataforma argentina por deposición húmeda en el SE del Pacífico. Según Paerl y Fogel, (1994), $\delta^{15}\text{N}$ de amonio en las precipitaciones puede cubrir una amplia gama de valores negativos. Sin embargo, en este trabajo todos los valores de $\delta^{15}\text{N}$ de POM fueron positivos y $> 1\text{‰}$, alcanzando máximos en el sector con los valores más altos de amonio. Esto, y la correlación altamente significativa entre el amonio y FDOMc y el índice HIX ($r > 0,8$, $n = 15$, $p < 0,001$), indican firmemente que la fuente de amonio no es la deposición húmeda sino la escorrentía continental.

5. Conclusiones

En el extremo sur de la plataforma argentina, las señales biogeoquímicas investigadas en la conexión del Pacífico-Atlántico presentan las siguientes tendencias. Entre los componentes disueltos, el carbono orgánico con características terrestres y la concentración de amonio mostraron una distribución espacial muy influenciada por la entrada de agua dulce del SE del Pacífico a través de la conexión con el Atlántico a través de la corriente del Cabo de Hornos y probablemente también de fuentes continentales de Tierra del Fuego. A su vez, la distribución de nitrato, fosfato y silicato en la región mostró una fuerte influencia de la contribución de las aguas ricas en nutrientes de la Corriente Circumpolar Antártica.

La distribución de la clorofila-*a* y de los isótopos estables de nitrógeno presentaron dos patrones asociados a una mezcla de dos masas de agua por un lado, las aguas del Canal de Beagle (BCW) ricas en amonio y materia orgánica disuelta probablemente proporcionan ligandos que podrían hacer que los micronutrientes tales como el hierro, estén disponibles para los productores primarios.

Por otro lado, las aguas ricas en nutrientes, con concentraciones bajas de clorofila del Océano Austral produjeron la dilución de esas señales, y en consecuencia, un gradiente decreciente hacia el SE.

Los valores positivos de $\delta^{15}\text{N}$ en el sector estudiado parecen excluir la entrada significativa de amonio al Atlántico por medio de la deposición húmeda en el SE del Pacífico, favoreciendo más bien la contribución por escorrentía continental.

Probablemente la determinación de $\delta^{15}\text{N}$ en las diferentes especies de nitrógeno disuelto, además de $\delta^{15}\text{N}$ en POM, puede ayudar a clarificar aún más la dinámica de nutrientes inorgánicos y orgánicos en esta compleja región, siguiendo el ingreso de amonio de aguas chilenas a través de la corriente del Cabo de Hornos en el suroeste Atlántico.

Los patrones resultantes de este estudio acentúan la alta significación biogeoquímica y ecológica del Canal de Beagle y su zona externa, en su posición intermedia entre los océanos Pacífico y Atlántico y su proximidad con el Frente Subantártico y la Corriente Circumpolar Antártida (Knox, 1994; Brandt et al., 1997; Gambi y Mariani., 1999; Ríos et al., 2003).

CONCLUSIONES GENERALES

Se destacan a continuación las principales conclusiones que se derivan de esta tesis, diferenciándolas según las zonas de estudio:

Zonas El Rincón y transición

- i)** Los resultados de este estudio evidenciaron en un principio el aporte local, -específicamente en la costa- de los diferentes componentes químicos de la DOM (carbohidratos y aminoácidos) por parte de los ríos adyacentes con una gradiente decreciente hacia la plataforma media, posiblemente modulado por las propiedades físicas de la zona.
- ii)** La fracción química caracterizada durante las diferentes campañas oceanográficas representaron porcentajes de carbono muy similares, sin embargo dentro de su fracción se evidencio una diferenciación que podría estar modulada estacionalmente (primavera y otoño) posiblemente por la dinámica fitoplanctónica. La fracción no caracterizada representó un gran porcentaje del carbono orgánico disuelto, que parece estar representado por sustancias húmicas, dando un indicio de acumulación de carbono orgánico con propiedades refractarias, lo que se ve apoyado por los diferentes índices que indican una zona con DOM de características predominantemente húmicas.
- iii)** La relación de la estructura de la comunidad bacteriana, específicamente el grupo de bacterias que dominan en aguas oceánicas (alfaproteobacterias y citófagas/flavobaterias), con las características químicas y fluorescentes de la DOM en la zona de El Rincón, estarían indicando un acople entre estos dos grupos de bacterias con la DOM y destacando que los principales actores de los procesos de remineralización en esta zona serían los autóctonos por sobre los que proceden de la contribución de los ríos. Estas conclusiones estarían indicando a modo general un predominio de

alta actividad biológica posiblemente producto de la dinámica microbiana característica de un área regenerativa.

Zona sur de la Patagonia Austral

- i) Las señales biogeoquímicas de este estudio elucidaron un patrón a nivel regional de gran relevancia, ya que se observó que el carbono orgánico con características terrestres y la concentración de amonio mostraron una distribución espacial muy influenciada por la entrada de agua dulce del SE del Pacífico a través de la conexión con el Atlántico a través de la corriente del Cabo de Hornos, Canal de Beagle y probablemente también de fuentes continentales de Tierra del Fuego. A su vez, la distribución de nitrato, fosfato y silicato en la región mostró una fuerte influencia de la contribución de las aguas ricas en nutrientes de la Corriente Circumpolar Antártica. Los patrones resultantes de este estudio acentúan la alta significación biogeoquímica y ecológica del Canal de Beagle y su zona externa, en su posición intermedia entre los océanos Pacífico y Atlántico y su proximidad con el Frente Subantártico y la Corriente Circumpolar Antártida.

BIBLIOGRAFÍA

Acha E.M., Mianzan H.W., Guerrero R.A., Favero M., Bava J. 2004. Marine fronts at the continental shelves of austral South America: physical and ecological processes. *J. Mar. Syst.* **44**, 83–105.

Acha E.M., Piola A., Iribarne O.I., Mianzan H. 2015. Ecological Processes at Marine Fronts, Oases in the Ocean. *Springer Briefs in Env. Sci.* 68p.

Alder V.A., Franzosi C.A. 2004. Abundancia del picoplancton en el Mar Argentino y el Océano Antártico durante el verano austral". V Simposio. Antártico y I Latinoamericano sobre investigaciones antárticas. <http://www.dna.gov.ar/CIENCIA/SANTAR04/CD/PDF/204BZ.PDF>.

Alder V.A., Franzosi C.A. 2005. Bacterioplankton abundance in relation to environmental factors in the Argentine Sea, Drake Passage and Antarctic Waters during April 2002. *Ber. Polarforsch./Rep. Polar Res.* **507**, 108–109.

Almandoz G.O., Hernanado M.P., Ferreyra G.A., Schloss I.R., Ferrario M.E. 2011. Seasonal phytoplankton dynamics in extreme southern South America (Beagle Channel, Argentina). *J. Sea. Res.* **66**, 47-57.

Alonso C., Gomez-Pereira P., Ramette A., Ortega L., Fuchs B.M., Amann R. 2010. Multilevel analysis of the bacterial diversity along the environmental gradient Río de la Plata–South Atlantic Ocean. *Aq. Micr. Ecol.* **61**, 57-72.

Alonso-Sáez L., Gasol J.M. 2007. Seasonal variation in the contribution of different bacterial groups to the uptake of LMW-DOM compounds in NW Mediterranean coastal waters. *Appl. Env. Microbiol.* **73**, 3528-35.

Alonso-Sáez L., Sánchez O., Gasol J.M., Balagué V., Pedrós-Alio C. 2008. Winter-to-summer changes in the composition and single-cell activity of near-surface Arctic prokaryotes. *Env. Microbiol.* **10**, 2444-54.

Amann R., Fuchs B.M., 2008. Single-cell identification in microbial communities by improved fluorescence in situ hybridization techniques. *Nature Microbiol.* **6**, 339-348.

Amann, R. I., Ludwig, W, Schleifer K.-H. 1995. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microb. Rev.* **59**, 143–169.

Amin O., Comoglio L., Spetter C., Duarte C., Asteasuain R., Freije R.H., Marcovecchio. 2011. Assessment of land influence on a high-latitude marine coastal system: Tierra del Fuego, southernmost Argentina. *Env. Monit. Assess.* **175**, 63-73.

Amon R.M.W., Finznar W.H.P., Benner R. 2001. Linkages among the bioreactivity, chemical composition, and diagenetic state of marine dissolved organic matter. *Limnol. Oceanogr.* **46**, 287-297.

Antezana T., 1999. Hydrographic features of Magellan and Fuegian inland passages and adjacent Subantarctic water. *Sci. Mar.* **63**, 23-34.

Auad G., Martos P. 2012. Climate variability of the northern Argentinean shelf circulation: impact on *Engraulis anchoita*. *Int. J. Ocea. Clim Syst.* **3**, 17-43.

Azam F, Fenchel T, Field J.G., Gray J.S., Meyer-Reil L.A., Thingstad F. 1983. The ecological role of water-column microbes in the sea. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* **10**, 257-263.

Barrera F.M. 2015. Biogeoquímica de la materia orgánica en zonas productivas del atlántico sudoccidental. *Tesis doctoral, Dep. de Biol., Bioq. y Farm., Universidad Nacional del Sur.* Bahía Blanca, Argentina. 187pp.

Belkin I.M., Cornillon P.C., Sherman K. 2009. Fronts in large marine ecosystems. *Progr. Oceanogr.* **81**, 223-236.

Bendschneider K., Robinson R.J. 1952. A new spectrophometric determination of nitrite in sea water. *J. Mar. Res.* **11**, 87-96.

Benner R. 2003. Molecular Indicators of the Bioavailability of Dissolved Organic Matter. *En: Aquatic Ecosystems Interactivity of Dissolved Organic Matter.* Findlay S.E.G., Sinsabaugh R.L.(Eds). Elsevier Science. 533pp.

Bhosle N.B., Bhaskar P.V., Ramachandran S., 1998. Abundance of dissolved polysaccharides in the oxygen minimum layer of Northern Indian Ocean. *Mar. Chem.* **63**, 171-182.

Biancalana F., Dutto M.S., Berasategui A.A., Kopprio G., Hoffmeyer M.S. 2014. Mesozooplankton assemblages and their relationship with environmental variables: a study case in a disturbed bay (Beagle Channel, Argentina). *Env. Monit. Assess.* **186**, 8629-47.

Bianchi A., Bianucci L., Piola A., Ruiz Pino D., Schloss I., Poisson A., Balestrini C. 2005. Vertical stratification and sea-air CO₂ fluxes in the Patagonian shelf. *J. Geophys. Res.* **110**, 1-10.

Bianchi A., Masonneau M., Oliviera O. 1982. Análisis estadístico de las características T-S del sector austral de la plataforma continental argentina. *Acta Oceanogr. Argent.* **3**, 93-118.

Bouvier T.C., del Giorgio P.A. 2002. Compositional changes in free-living bacterial communities along a salinity gradient in two temperate estuaries. *Limnol. Oceanogr.* **47**, 453-470.

Brandt A., Linse K., Weber U. 1997. Abundance and diversity of peracarid taxa (Crustacea: Malacostraca) along a transect through the Beagle Channel. *Polar Biol.* **18**, 83-90.

Burney C. M., Davis P. G., Johnson K. M., Sieburth J.McN. 1982. Diel relationships between microbialc tropics groups and in-situ dissolved carbohydrate dynamics in the Carribean Sea. *Mar. Biol.* **67**, 311-22.

Candel M.S., Borrromei A.M., Martinez M.A., Bujalesky B. 2013. Palynofacies analysis of surface sediments from the Beagle Channel and its application as modern analogues for Holocene records of Tierra del Fuego, Argentina. *Palynology* **37**, 62-76.

Carreto J.I. 2001. Los ecosistemas del Mar Argentino. *En: Ecosistemas del Mar Argentino, sectores y conjuntos pesqueros.* Boschi E., Carreto J., Ramírez F., Sorrarain D., Sánchez F. (Eds.) Inf. Tec. Inst. Nac. Invest. Des. Pesq. Argentina **6**, 2-8.

Carreto J.I., Lutz V.A., Carignan M.O., CucchiColleoni A.D., De Marco S.G. 1995. Hydrography and chlorophyll a in a transect from the coast to the shelf break in the Argentinean Sea. *Cont. Shelf Res.* **15**, 315-336.

Carreto J.I., Negri R., Benavides H. 1981. Fitoplancton, pigmentos y nutrientes. Resultados de las campañas III y VI del B/I "Shinkai Maru", 1978. *Contrib. Inst. Nac. Inv. Des. Pesq.* **383**, 181-201.

Chen Y., Yang G-P., Wu G-W., Gao X-C, Xi Q-Y. 2013. Concentration and characterization of dissolved organic matter in the surface microlayer and subsurface water of the Bohai Sea. *China Cont. Shelf Res.* **52**, 97-107.

Coble P. G. 1996. Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation emission matrix spectroscopy. *Mar. Chem.* **51**, 325 - 346.

Coble P.G., Del Castillo C.E., Avril B. 1998. Distribution and optical properties of CDOM in the Arabian Sea during the 1995 southwest monsoon. *Deep-Sea Res.* **45**, 2195 – 223.

Coble P.G., Green S.A., Blough N.V., Gagosian R.B. 1990. Characterization of dissolved organic matter in the Black Sea by fluorescence spectroscopy. *Nature* **348**, 432-35.

Cottrell M. T., Kirchman S. L. 2000. Natural assemblages of marine Proteobacteria and members of the Cytophaga-Flavobacter cluster consuming low- and high-molecular-weight dissolved organic matter. *Appl. and Env. Microbiol.* **66**, 1692–97.

Cottrell M.T., Kirchman D.L. 2003. Contribution of major bacterial groups to bacterial biomass production (thymidine and leucine incorporation) in the Delaware estuary. *Limnol. Oceanogr.* **48**, 168-178.

Covert J.S., Moran M.A. 2001. Molecular characterization of estuarine bacterial communities that use high- and low molecular weight fractions of dissolved organic carbon. *Aquat. Microb. Ecol.* **25**, 127-139.

Daims H., Bruhl A., Amann R., Schleifer KH., Wagner M. 1999. The domain-specific probe EUB338 is insufficient for the detection of all Bacteria: development and evaluation of a more comprehensive probe set. *Appl. Env. Microbiol.* **22**, 434–444.

Dauwe B., Middelburg J.J. 1998. Amino acids and hexosamines as indicators of organic matter degradation state in North Sea sediments. *Limnol. Oceanogr.* **43**, 782-798.

Dauwe B., Middelburg J.J., Herman P.M.J., Heip C.H.R. 1999. Linking diagenetic alteration of amino acids and bulk organic matter reactivity. *Limnol. Oceanogr.* **44**, 1809-14.

Del Castillo C. E., Coble P. G., Müller-Karger F. E. 2000. On the dispersal of riverine colored dissolved organic matter over the West Florida Shelf. *Limnol. Oceanogr.* **45**, 1432 – 52.

Duarte C.A., Giarratano E., Amin O.A., Comoglio L.I. 2011. Heavy metal concentrations and biomarkers of oxidative stress in native mussels (*Mytilus edulis chilensis*) from Beagle Channel coast (Tierra del Fuego, Argentina). *Mar. Pollut. Bull.* **62**, 1895–904.

Dugdale R.C., Wilkerson F.P., Minas H.J. 1995. The role of a silicate pump in driving new production. *Deep Sea Res. Part I* **42**, 697 – 719.

Eberlein K., Kattner G. 1987. Automatic method for the determination of orthophosphate and total dissolved phosphorus in the marine environment. *Fresenius J. Anal. Chem.* **326**, 354-357.

Edwards J.L., Smith D.L., Connolly J., McDonald J.E., Cox M.J., Joint I., Edwards C., McCarthy A.J. 2010. Identification of carbohydrate metabolism genes in the metagenome of a marine biofilm community shown to be dominated by gammaproteobacteria, Bacteroidetes. *Genes.* **1**, 371-384.

Elifantz H., Malmstrom R.R., Cottrell M.T., Kirchman D.L. 2005. Assimilation of polysaccharides and glucose by major bacterial groups in the Delaware Estuary. *Appl. Env. Microbiol.* **71**, 7799-7805.

Ferronato C., Guinder V., Martínez A., Garzón Cardona J.E., Dutto S., Berasategui A., López A.C., Pratolongo P., Hoffmeyer M. 2014. Distribución espacial del fitoplancton en relación con las propiedades físico-químicas en el área estuarial de El Rincón (Atlántico SO, Argentina). *III Reunión Argentina de Geoquímica de la Superficie. RAGSU.* 2 al 5 de Diciembre de 2014. Mar del Plata.

Foreman C.M. 1999. Dissolved organic carbon: Importance as a regulator of microbial communities. *Tesis Doctoral, Univ. de Toledo, Dep. de Biología,* Toledo, España. 292 pp.

Gambi M.C., Mariani S. 1999. Polychaetes of the soft bottoms of the Straits of Magellan collected during the Italian oceanographic cruise in February-March 1991. *Sci. Mar.* **63**, 233-242.

Garzón-Cardona J.E., Martínez A.M., Freije R.H., Pantoja S., Lara R. 2013. Distribución de aminoácidos libres disueltos en la zona costera bonaerense-norpatagónica Argentina. *XV Congreso Latinoamericano de Ciencias del Mar COLACMAR-*. 27- 31 de Octubre 2013. Punta del Este. Uruguay.

Ghervase L., Carstea E.M., Pavelescu G., Borisiva E., Daskalov A. 2010. Fluorescence evaluation of anthropogenic influence of river crossing Sofia. *Rom. Rep, in Phys.* **621**, 193- 201.

Gil M.N., Torres A.I., Amin O., Esteves J.L. 2011. Assessment of recent sediment influence in an urban polluted subantarctic coastal ecosystem. Beagle Channel (Southern Argentina). *Mar. Pollut. Bull.* **62**, 201-207.

Giovanonni S.J., Rappé M. 2000. Evolution, diversity and molecular ecology of marine prokaryotes. *En: Microbial Ecology of the Oceans.* Kirchman D.L (ed). Wiley-Liss, New York.

González J.M., Hodson R. E., Moran M. A. 1999. Bacterial populations in replicate marine enrichment cultures: Assessing variability in abundance using 16S rRNA-based probes. *Hydrobiologia* **401**, 69–75.

González J.M., Whitman W.B., Hodson R.E., Moran M.A. 1996. Identifying numerically abundant culturable bacteria from complex communities: An example from a lignin enrichment culture. *Appl. Env. Micr.* **62**, 4433–40.

Gors S, Rentsch D, Schiewer U, Karsten U, Schumann R. 2007. Dissolved organic matter along the eutrophication gradient of the Darß–Zingst Bodden Chain, Southern Baltic Sea: I. Chemical characterisation and composition. *Mar. Chem.* **104**, 125-142.

Guerrero R., Piola A.R. 1997. Masas de agua en la Plataforma Continental. *En: El mar argentino y sus recursos pesqueros. Antecedentes históricos de las exploraciones en el mar y las características ambientales.* Boschi, E. (Ed.) vol. 1. Publ. Esp. INIDEP, Mar del Plata, Argentina, pp. 107–118.

Guerrero R.A. 1998. Oceanografía física del estuario del Río de la Plata y el sistema costero de El Rincón, Noviembre, 1994. *INIDEP Inf. Téc.* **21**, 29–54.

Gui-Peng Y., Yan-Ping Z., Xiao-Lan L., Hai-Bing D. 2010. Distribution and seasonal variations of dissolved carbohydrates in the Jiaozhou Bay, China. *Est. Cost. Shel. Sci.* **88**, 12-20.

He B., Dai M., Zhai W., Wang L., Wang K., Chen J., Lin J., Han A., Xu Y. 2010. Distribution, degradation and dynamics of dissolved organic carbon and its major compound classes in the Pearl River estuary, China. *Mar. Chem.* **119**, 52-64.

He Z., Wang Q., Gao, X-C., Wu G-W. 2015. Spatiotemporal variation characteristics and related affecting factors of dissolved carbohydrates in the East China Sea. *Cont Shelf Res.* **108**, 12-24.

Hoffmeyer M.S., Menéndez M.C., Biancalana F., Nizovoy A.M., Torres E.R., 2009. Ichthyoplankton spatial pattern in the inner shelf off Bahía Blanca Estuary, SW Atlantic Ocean. *Estuar. Coast Shelf Sci.* **84**, 383-392.

Holm-Hansen O., Lorenzen C.J., Holmes R.W., Strickland J.D.H. 1965. Fluorometric determination of chlorophyll. *Couns.int.Explor.Mer* **30**, 3-15.

Hopkinson C.S., Sherr B., Wiebe W. J. 1989. Size fractionated metabolism of coastal microbial plankton. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* **51**, 155–166.

Hubberten U., Lara R.J, Kattner G. 1994. Amino acid composition of seawater and dissolved humic substances in the Greenland Sea. *Mar. Chem* **45**, 121-128.

Hudson N., Baker A., Reynolds D. 2007. Fluorescence analysis of dissolved organic matter in natural, waste and polluted waters. A review. *River Res. Applic.* **23**: 631–649.

Huguet A., Vacher L., Relexans S., Saubusse S., Froidefond J.M., Parlanti E. 2009. Properties of fluorescent dissolved organic matter in the Gironde Estuary. *Org. Geochem* **40**, 706-719.

Hung C.-C., Tang D.G., Warnken K.W., Santschi P.H. 2001. Distributions of carbohydrates, including uronic acids, in estuarine waters of Galveston Bay. *Mar Chem.* **73**, 305-318.

Ietswaart T., Schneider P.J., Prins R.A. 1994. Utilization of organic nitrogen sources by two phytoplankton species and a bacterial isolate in a pure and a mixed culture. *J. Appl. Environ. Microbiol.* **60**, 1554-60.

Ingalls A.E., Lee C., Wakeham S.G., Hedges J.I. 2003. The role of biominerals in the sinking flux and preservation of amino acids in the Southern Ocean along 170°W. *Deep Sea Res. Part II Top. Stud. Oceanogr* **50**, 713-738.

Iturriaga R.H., Freije R.H., Massol R.H. 1974. Algunas fluctuaciones de la población bacteriana al sudeste de Bahía Blanca - Argentina. *Contr. Cient. IADO* **11a**. ISSN: 0325-6367.

Jiao N., Herndl G.J., Hansell D.A., Benner R., Kattner G., Wilhelm S.W. Kirchman D.L.; Weinbauer M.G., Luo T., Chen F., Azam F. 2010. Microbial production of recalcitrant dissolved organic matter: long-term carbon storage in the global ocean. *Nature Rev. Micr.* **8**, 593-599.

Jones B.N., Paabo S., Stein S. 1981. Amino acid analysis and enzymatic sequence determination by an improved ophthalaldehyde precolumn labeling procedure. *J. Liq. Chrom.* **4**, 565–586.

Kalle K. 1966. The problem of gelbstoff in the sea. *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.* **4**, 91 –104.

Karner M.B., DeLong E., Karl D.M. 2001. Archaeal dominance in the mesopelagic zone of the Pacific Ocean. *Nature* **409**, 507-509.

Kattner G., Becker H. 1991. Nutrients and organic nitrogenous compounds in the marginal ice zone of the Fram Strait. *J. Mar. Syst.* **2**, 385-94.

Kawasaki N., Komatsu K., Kohzu A., Tomioka N., Shinohara R., Satou T., Watanabe F.N., Tada Y., Hamasaki K., Kushairi M.R.M., Imai A. 2013. Bacterial Contribution to Dissolved Organic Matter in Eutrophic Lake Kasumigaura, Japan. *Appl. Env. Micr.* **79**, 7160-68.

Keil R., Kirchman D.L. 1993. Dissolved combined amino acids: Chemical form and utilization by marine bacteria. *Limnol. Oceanogr.* **38**, 1256-70.

Kérouel R., Aminot A. 1997. Fluorimetric determination of ammonia in sea and estuarine waters by direct segmented flow analysis. *Mar. Chem.* **57**, 265-75.

Khodse V.B., Bhosle N.B., Matondkar S. G. P. 2010. Distribution of dissolved carbohydrates and uronic acids in a tropical estuary, India. *J. Earth Syst. Sci* **4**, 519-530.

Kirchman D.L. 2008. *Microbial Ecology of the Oceans*. Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell, 620 p.

Kirchman D.L., Dittel A.I., Malmstrom R.R., Cottrell M.T. 2005. Biogeography of major bacterial groups in the Delaware Estuary. *Limnol. Oceanogr.* **50**, 1697-706.

Kisand, V., Andersson, N., Wikner, J., 2005. Bacterial freshwater species successfully immigrate to the brackish water environment in the northern Baltic. *Limnol. Oceanogr.* **50**, 945-956.

Knox G.A. 1994. *The Biology of the Southern Ocean (Studies in Polar Research)*. Cambridge University. Cambridge, England. 444 pp.

Krock B., Borel C.M., Barrera F., Tillmann U., Fabro E., Gaston O., Almandoz M.F., Garzón Cardona J.E., Koch B.P., Alonso C., Lara R. 2015. Analysis of the hydrographic conditions and cyst beds in the San Jorge Gulf, Argentina, that favor dinoflagellate population development including toxigenic species and their toxins. *J. Mar. Syst* **148**, 86-100.

Langenheder S., Kisand V., Lindström E., Wikner J., Tranvik L. 2004. Growth dynamics within bacterial communities in riverine and estuarine batch cultures. *Aquat. Microb. Ecol.* **37**, 137-148.

Lara R.J., Hubberten U., Kattner, G. 1993. Contribution of humic substances to the dissolved nitrogen pool in the Greenland Sea. *Mar. Chem.* **41**, 327-336.

Lara R.J., Thomas D.R. 1995. Formation of recalcitrant organic matter: humification dynamics of algal derived dissolved organic carbon and hydrophobic fractions. *Mar. Chem* **51**, 193-199.

Lara R.J., Alder V., Franzosi C.A., Kattner G. 2010. Characteristics of suspended particulate organic matter in the southwestern Atlantic: Influence of temperature, nutrient and phytoplankton features on the stable isotope signature. *J. Mar. Syst.* **79**, 199-209.

Liebezeit G., Dawson R. 1982. The analysis of natural organic compounds in seawater. *Kontakte (Merck)* **2**, 19-28.

Lindroth P., Mopper K. 1979. High performance liquid chromatographic determination of subpicomole amounts of amino acids by precolumn fluorescence derivatization with o-phthaldialdehyde. *Anal. Chem.* **51**, 1667-74.

Longhurst A. 1998. *Ecological Geography of the Sea*. Academic Press, San Diego, CA, USA. 398 pp.

Lourey M.J., Trull T.W., Tilbrook B. 2004. Sensitivity of delta 13C of Southern Ocean suspended and sinking organic matter to temperature, nutrient utilization and atmospheric CO₂. *Deep-Sea Res. I* **51**, 282-305.

Lucas A.J., Guerrero R.A., Mianzán H.W., Acha E.M., Lasta C.A., 2005. Coastal oceanographic regimes of the Northern Argentine Continental Shelf (34-43°S). *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **65**, 405-420.

Malmstrom R.R., Cottrell M.T., Elifantz H., Kirchman D.L. 2005. Biomass production and assimilation of dissolved organic matter by SAR11 bacteria in the Northwest Atlantic Ocean. *Appl. Environ. Microbiol.* **71**, 2979-86.

Manz W., Amann R., Ludwig W., Wagner M., Schleifer K.H. 1992. Phylogenetic oligodeoxynucleotide probes for the major subclasses of Proteobacteria: problems and solutions. *Syst. Appl. Microbiol.* **15**, 593-600.

Manz W., Amann R., Ludwig W., Vancanneyt M., Schleifer K.H. 1996. Application of a suite of 16S rRNA-specific oligonucleotide probes designed to investigate bacteria of the phylum Cytophaga-Flavobacter-Bacteroides in the natural environment. *Microbiol.* **142**, 1097-1106.

Martos P., Hansen J.E., Negri R.M., Madirolas A. 2005. Factores Oceanográficos relacionados con la abundancia relativa de anchoíta sobre la plataforma bonaerense (34°–41°S) durante la primavera. *Rev. Inv. y Des. Pesq.* **17**, 5-33.

McKnight D.M., Boyer E.W., Westerhoff P.K., Doran P.T., Kulbe T. Andersen D.T. 2001. Spectrofluorometric characterization of dissolved organic matter for indication of precursor organic material and aromaticity. *Limnol. Oceanogr.* **46**, 38-48.

Methé B.A., Hiorns W.D., Zehr J.P. 1998. Contrasts between marine and freshwater bacterial community composition: analyses of communities in Lake George and six other Adirondack lakes. *Limnol. Oceanogr.* **43**, 368-374.

Methe B.A., Zehr J.P. 1999. Diversity of bacterial communities in Adirondack lakes: Do species assemblages reflect lake water chemistry? *Hydrobiologia* **401**, 77–96.

Mopper K., Schultz C.A. 1993. Fluorescence as a possible tool for studying the nature and water column distribution of DOC components. *Mar. Chem.* **41**, 229–238.

Muller C.L., Baker A., Hutchinson R., Fairchil I.J., Kidd C. 2008. Analysis of rainwater dissolved organic carbon compounds using fluorescence spectrophotometry. *Atmosf. Environm.* **42**, 8036–45.

Münster U. 1993. Concentrations and fluxes of organic carbon substrates in the aquatic environment. *Antonie van Leeuwenhoek Int. J. Gen. Molec. Microbiol.* **63**, 243–274.

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

Myklestad S.M., Anøy Sk^o E., Hestmann S. 1997. A sensitive and rapid method for analysis of dissolved mono- and polysaccharides in seawater. *Mar. Chem.* **56**, 279–286.

Myklestad S M, Børsheim K.Y. 2007. Dynamics of carbohydrates in the Norwegian Sea inferred from monthly profiles collected during 3 years at 66°N, 2°E. *Mar. Chem.* **107**, 475-485.

- Nagata T. 2000. Production mechanisms of dissolved organic matter. *En: Microbial ecology of the oceans*. Kirchman DL (ed). Wiley-Liss, New York, p 121-152.
- Neef A. 1997. Anwendung der in situ-Einzelzell Identifizierung von Bakterien zur Populations analyse in komplexen mikrobiellen Biozönosen. *PhD thesis, TechnicalUniversity Munich*. Munich, Alemania.
- Nieto-Cid M, Alvarez-Salgado X.A., Gago J., Perez F.F. 2005. DOM fluorescence, a tracer for biogeochemical processes in a coastal upwelling system (NW Iberian Peninsula). *Mar. Ecol. Progr. Ser.* **297**, 33 – 50.
- Ogawa H., Amagai Y., Koike I., Kaiser K., Benner R., 2001. Production of Refractory Dissolved Organic Matter by Bacteria. *Science*. **8**, 593.
- Ogren W.L., Chollet R. 1982. Photorespiration. *En: Photosynthesis: Development, CarbonMetabolism, and Plant Productivity*. Govindjee, A. (Ed.), Academic, New York, 192-230.
- Ouverney C.C., Fuhrman J. A. 1999. Combined microautoradiography–16S rRNA probe technique for determination of radioisotope uptake by specific microbial cell types in situ. *Appl. Env. Microbiol.* **65**, 1746–52.
- Ouverney C. C., Fuhrman J.A. 2000. Marine planktonic Archaea take up amino acids. *Appl. Env. Microbiol.* **66**, 4829–33.
- Pace N.R., Stahl D.A., Lane D.J., Olsen G.J. 1986. The analysis of natural microbial populations by ribosomal RNA sequences. *Adv Microb Ecol* **9**, 1-55.
- Paerl H.W., Fogel M.L. 1994. Isotopic characterization of atmospheric nitrogen inputs as sources of enhanced primary production in coastal Atlantic Ocean waters. *Mar. Biol.* **119**, 635–45.
- Pakulski J., Benner R. 1992. An improved method for the hydrolysis and MBTH analysis of dissolved and particulate carbohydrates in seawater. *Mar. Chem.* **40**, 143–60.
- Pakulski J.D, Benner R. 1994. Abundance and distribution of carbohydrates in the ocean. *Limnol. Oceanogr.* **39**, 930-940.
- Panagiotopoulos C., Sempéré R. 2005. Analytical methods for the determination of sugars in marine samples: A historical perspective and future directions. *Limnol. Oceanogr. Meth.* **3**, 419–54.

Pantoja S., Lee C., Marecek J.F., 1997. Hydrolysis of peptides in seawater and sediments. *Mar. Chem.* **57**, 25–40.

Pantoja S., Lee C. 2003. Amino acid remineralization and organic matter lability in Chilean coastal sediments. *Org. Geochem.* **34**, 1047-56.

Para J., Coble P.G., Charriere B., Tedetti M., Fontana C., Sempere R. 2010. Fluorescence and absorption properties of chromophoric dissolved organic matter (CDOM) in coastal surface waters of the Northwestern Mediterranean Sea (Bay of Marseille, France). *Biogeosci. Discuss.* **7**, 5675–18.

Pernthaler J., Glöckner F.O., Unterholzner S., Alfreider A., Psenner R., Amann R. 1998. Seasonal community and population dynamics of pelagic Bacteria and Archaea in a high mountain lake. *Appl. Environ. Microbiol.* **64**, 4299-306.

Pernthaler A., Pernthaler J., Amann R. 2002. Fluorescence *in situ* hybridization and catalyzed reporter deposition for the identification of marine bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* **68**, 3094–101.

Pettine M., Capri S., Manganelli M., Patrolecco L., Puddu A., Zoppini A. 2001. The dynamics of DOM in the Northern Adriatic Sea. *Est. Coastal Shelf Sci.* **52**, 471-89.

Pinhassi J., Azam F., Hemphälä J., Long R.A., Martinez J., Zweifel U.L., Hagström Å. 1999. Coupling between bacterioplankton species composition, population dynamics, and organic matter degradation. *Aq. Micr. Ecol.* **17**, 13–26.

Piola A.R., Martínez M. Avellaneda N., Guerrero R.A., Jardón F.P., Palma E.D., Romero S.I. 2010. Malvinas-slope water intrusions on the northern Patagonia continental shelf. *Ocean Sci.* **6**, 345–59.

Pomeroy L.R. 1974. The oceans' food web, a changing paradigm. *BioScience* **24**, 499-504.

Riemann L., Steward G.F., Azam F. 2000. Dynamics of bacterial community composition and activity during a mesocosm diatom bloom. *Appl. Environ. Microbiol.* **66**, 578-587.

Ríos C., Mutschke E., Morrison E. 2003. Biodiversidad bentónica sublitoral en el estrecho de Magallanes, Chile. *Rev. Biol. Mar. Oceanogr.* **38**, 1-12.

Romankevich E.A. 1984. *Geochemistry of organic matter in the ocean*. Springer-Verlag, Berlin. 486pp.

- Romero S.I., Piola A.R., Charo M., Eiras Garcia C.A. 2006. Chlorophyll-a variability off Patagonia based on SeaWiFS data. *J. Geophys. Res.* **111**, 5-21.
- Salcher M.M., Pernthaler J., Zeder M., Psenner R., Posch T. 2008. Spatio-temporal niche separation of planktonic Betaproteobacteria in an oligo-mesotrophic lake. *Environ. Microbiol.* **10**, 2074-86.
- Senior W., Chevolut L. 1991. Studies of dissolved carbohydrates (or carbohydrate-like substances) in an estuarine environment. *Mar. Chem.* **32**, 19-35.
- Silva N. 2008. Dissolved oxygen, pH, and nutrients in the austral Chilean channels and fjords. *En: Progress in the oceanographic knowledge of Chilean interior waters, from Puerto Montt to Cape Horn*. N. Silva, Palma (ed.) Com.Oceanogr. Nac.-Pont.Univ.Católica Valparaíso, Valparaíso. 37-43.
- Silva N., Neshiba S. 1979. Masas de agua y circulación geostrófica frente a la costa de Chile Austral. *Ser. Cient. Inst. Antárt. Chileno* **25**, 5-32.
- Silva N., Neshyba S. 1979a. On the southernmost extension of the Peru-Chile Undercurrent. *Deep Sea Res.*, **26**, 1387-93.
- Simon M., Bunte C., Schulz M., Weiss M., Wunsch C. 1998. Bacterioplankton dynamics in Lake Constance (Bodensee): substrateutilization, growth control, and long-term trends. *Archiv für Hydrobiol. Sp. Iss. Adv. Limnol.* **53**, 195-221.
- Skoog A., Thomas D., Lara R.J., Richter K.W. 1997. Methodological investigations on DOC determinations by the HTCO method. *Mar. Chem.* **56**, 39-44.
- Smith S.V., Hollibaugh J.T. 1993. Coastal metabolism and the oceanic organic carbon balance. *Reviews of Geophysics* **31**, 75-89.
- Stedmon C.A., Markager S. 2005. Tracing the production and degradation of autochthonous fractions of dissolved organic matter by fluorescence analysis. *Limnol. Oceanogr.* **50**, 1415 -26.
- Teira A., Nieto-Cid M., Alvarez-Salgado X.A. 2009. Bacterial community composition and colored dissolved organic matter in a coastal upwelling ecosystem. *Aquat. Microb. Ecol.* **55**, 131-142.
- Tupas L., Koike I. 1990. Amino acids and ammonium utilization by heterotrophic marine bacteria grown in enriched seawater. *Limnol. Oceanogr.* **35**, 1145-55.

Vahatalo A.V., Wetzel R.G. 2004. Photochemical and microbial decomposition of chromophoric dissolved organic matter during long (months-years) exposures. *Mar. Chem.* **89**, 313–326.

Vallino J., Hopkinson C.S., Hobbie J. E. 1996. Modeling bacterial utilization of dissolved organic matter: optimization replaces Monod growth kinetics. *Limnol. Oceanogr.* **41**, 1591-609.

Verado D.J., Froelich P.N., McIntyre A. 1990. Determination of organic carbon and nitrogen in marine sediments using the Carlo Erba NA-1500 Analyzer. *Deep-Sea Res.* **37**, 157-165.

Weinbauer M.G., Höfle M.G.. 1998. Distribution and life strategies of two bacterial populations in a eutrophic lake. *Appl. Env. Micr.* **64**, 3776–83.

Woese C.R. 1987. Bacterial evolution. *Microbiol. Rev.* **51**, 221–271.

Woese C.R., Fox G.E. 1977. Phylogenetic structure of prokaryotic domain-primary kingdoms. *PNAS* **74**, 5088-90.

Yamashita Y., Tanoue E. 2003. Chemical characterization of protein – like fluorophores in DOM in relation to aromatic amino acids. *Mar. Chem.* **82**, 255 – 271.

Yamashita Y., Tanoue E. 2003a. Distribution and alteration of amino acids in bulk DOM along a transect from bay to oceanic waters. *Mar. Chem.* **82**, 145-160.

Zhang Y., Yang G., Chen Y. 2009. Chemical characterization and composition of dissolved organic matter in Jiaozhou Bay. *Chin. J. Oceanol. Limnol.* **27**, 851-858.

Zhang Y., Yang G., Lu X., Ding H., Zhang H. 2013. Distributions of dissolved monosaccharides and polysaccharides in the surface microlayer and surface water of the Jiaozhou Bay and its adjacent area. *China Cont. Shelf Res.* **63**, 85-93.

Ziegler S.E., Fogel M.L. 2003. Seasonal and diel relationships between the isotopic compositions of dissolved and particulate organic matter in freshwater ecosystems. *Biogeochem.* **64**, 25-52.

Zsolnay A., Baigar E., Jimenez M., Steinweg B., Saccomandi F. 1999. Differentiating with fluorescence spectroscopy the sources of dissolved organic matter in soils subjected to drying. *Chemosphere* **38**, 45-50.

ANEXO I – CAPÍTULO 3

Datos de propiedades físicas en El Rincón y El Rincón-Golfo San Jorge.

El Rincón, 2010							
Est.	Lat.	Long.	Prof. (m)	Dist. a la costa (km)	T (°C)	Salinidad	Sigma t
9	-40,1	-59,6	71,0	148,2	10,8	33,6	25,8
10	-39,8	-59,8	58,0	104,5	11,1	33,8	25,8
11	-39,5	-60,0	49,0	70,6	10,9	33,7	25,8
12	-39,2	-60,1	33,0	39,2	11,1	34,1	26,1
14	-39,0	-61,1	10,0	4,7	13,1	33,8	25,5
15	-39,3	-60,9	26,0	39,2	11,7	34,1	26,0
16	-39,6	-60,7	38,0	71,4	11,3	34,0	26,0
17	-39,9	-60,5	48,0	113,0	11,0	34,0	26,0
18	-40,2	-60,3	57,0	152,1	10,9	33,8	25,8
19	-40,5	-60,1	67,0	186,7	10,4	33,6	25,8
20	-40,7	-60,6	58,0	215,3	10,9	33,9	25,9
21	-40,4	-60,8	45,0	174,8	11,0	34,0	26,0
22	-40,0	-61,1	37,0	131,4	11,0	33,8	25,8
23	-39,7	-61,3	24,0	89,9	11,6	33,7	25,7
24	-39,3	-61,5	16,0	45,6	12,5	33,2	25,1
25	-39,6	-62,0	12,0	12,2	12,5	32,2	24,3
28	-40,2	-61,4	20,0	40,1	10,7	33,5	25,2
29	-40,5	-61,1	29,0	102,5	10,7	34,0	25,6
30	-40,9	-60,8	45,0	185,9	10,9	33,6	26,0
32	-40,7	-61,5	55,0	59,2	10,6	33,7	25,7
34	-40,6	-62,0	38,0	7,5	11,5	32,9	25,8
35	-41,0	-62,0	15,0	31,4	10,8	34,0	25,1
36	-41,2	-61,5	56,0	81,3	10,9	34,2	26,0
39	-41,8	-61,9	36,0	105,4	10,8	34,1	26,0
41	-41,4	-62,3	56,0	50,4	11,1	34,1	26,1
43	-41,1	-62,6	43,0	10,7	11,8	32,2	26,1
El Rincón-Golfo San Jorge, 2012							
44	-46,2	-66,5	99,0	-	13,5	33,4	28,8
43	-45,9	-65,3	74,0	-	12,9	33,3	25,0
45	-44,9	-65,3	82,0	-	13,8	33,7	24,8
46	-44,0	-63,7	75,0	-	15,8	33,8	24,4
47	-43,1	-63,1	74,0	-	15,5	33,9	24,4
48	-42,0	-62,9	56,0	-	15,9	33,8	24,4
49	-41,1	-61,8	39,0	-	17,3	33,9	24,0
50	-40,0	-60,9	36,0	-	17,8	33,9	23,9
51	-39,2	-59,5	41,0	-	18,6	34,2	24,5
52	-38,0	-57,3	19,0	-	18,8	34,1	24,5

ANEXO II – CAPÍTULO 3

Datos de componentes químicos orgánicos en El Rincón y El Rincón-Golfo San Jorge.

El Rincón, 2010													
Est	Clo-a µg L ⁻¹	Feo µg L ⁻¹	DFAA µM-C	DCAA µM-C	TDAA µM-C	DFAA a TDAA%	DCAA a TDAA%	DFCHO µM-C	DCCHO µM-C	TDCHO µM-C	%DFCHO a THCHO	%DCCHO a THCHO	DOC µM-C
9	0,5	0,8	0,6	11,5	12,1	5,0	95,0	1,3	1,2	2,5	50,3	49,7	74,5
10	0,4	0,4	0,1	21,4	21,5	0,6	99,4	1,5	0,0	1,5	97,7	2,3	93,7
11	3,0	1,5	0,2	19,5	19,7	1,2	98,8	1,8	0,1	2,0	94,4	5,6	82,3
12	0,8	0,5	0,1	8,1	8,2	1,5	98,5	2,1	0,7	2,8	74,9	25,1	88,9
14	1,4	1,2	0,7	26,6	27,2	2,5	97,5	6,3	1,5	7,8	80,6	19,4	130,0
15	0,3	0,4	0,2	12,7	12,9	1,3	98,7	1,9	4,4	6,3	30,4	69,6	105,0
16	0,3	0,4	0,1	15,4	15,5	0,4	99,6	1,9	0,9	2,8	67,4	32,6	-
17	0,3	0,3	0,3	10,6	10,9	2,5	97,5	2,0	1,3	3,3	60,5	39,5	89,9
18	0,7	0,8	0,2	7,3	7,4	2,2	97,8	1,8	1,0	2,8	64,2	35,8	-
19	3,0	1,7	0,2	12,6	12,8	1,9	98,1	2,0	0,6	2,6	77,2	22,8	69,4
20	0,9	0,7	0,4	11,9	12,3	3,4	96,6	2,0	0,9	2,8	70,0	30,0	79,4
21	0,5	0,4	0,2	17,1	17,3	1,1	98,9	1,3	1,3	2,6	51,4	48,6	80,0
22	0,2	0,3	0,2	41,0	41,2	0,5	99,5	1,9	1,0	2,9	65,3	34,7	81,8
23	0,3	0,2	2,8	33,3	36,1	7,9	92,1	4,5	0,7	5,2	87,3	12,7	87,8
24	0,8	0,8	0,1	13,8	13,9	0,8	99,2	2,7	7,3	10,0	26,9	73,1	94,1
25	1,2	1,2	0,3	44,6	44,9	0,7	99,3	2,7	6,4	9,1	29,5	70,5	-
28	0,4	0,4	0,6	13,1	13,7	4,6	95,4	1,8	1,6	3,5	53,1	46,9	77,8
29	0,4	0,5	0,2	7,5	7,7	2,0	98,0	4,7	5,0	9,6	48,4	51,6	-
30	1,4	0,6	0,2	10,7	10,9	2,2	97,8	8,7	6,2	14,9	58,3	41,7	79,7
32	1,3	0,3	0,9	12,2	13,1	6,6	93,4	8,3	14,6	22,9	36,4	63,6	80,1
34	1,4	1,2	0,5	31,1	31,6	1,4	98,6	4,8	4,3	9,1	53,1	46,9	86,7
35	1,0	0,7	0,6	36,4	37,0	1,6	98,4	7,3	14,0	21,3	34,4	65,6	79,1
36	0,4	1,0	0,7	33,9	34,6	2,0	98,0	6,0	9,3	15,3	39,3	60,7	-
39	0,3	0,4	0,9	49,1	50,0	1,8	98,2	7,3	6,1	13,5	54,5	45,5	67,8
41	1,3	0,8	0,4	34,8	35,2	1,1	98,9	5,1	5,2	10,4	49,6	50,4	-
43	1,1	0,9	0,3	22,1	22,4	1,3	98,7	0,9	16,1	17,1	5,5	94,5	82,5
El Rincón-El Rincón-Golfo San Jorge, 2012													
44	1,2	0,9	0,2	1,7	1,9	12,0	88,0	13,7	32,0	45,6	30,0	70,0	63,1
43	4,1	0,8	0,3	3,4	3,6	7,0	93,0	3,4	17,9	21,4	16,1	83,9	75,2
45	1,4	0,7	0,2	3,3	3,5	4,9	95,1	0,3	4,7	5,0	5,4	94,6	69,8
46	1,6	0,9	0,2	3,4	3,6	5,2	94,8	16,6	8,9	25,5	65,2	34,8	82,2
47	2,8	1,2	0,3	14,7	15,0	1,8	98,2	0,5	1,0	1,5	34,3	65,7	84,0
48	1,2	1,1	0,4	2,8	3,2	11,4	88,6	5,4	3,7	9,1	59,3	40,7	-
49	2,6	1,7	0,2	4,3	4,5	4,9	95,1	17,6	17,5	35,1	50,1	49,9	74,3
50	1,2	1,3	0,3	3,7	4,0	8,2	91,8	2,7	10,5	13,2	20,5	79,5	69,6
51	1,3	1,1	0,1	3,7	3,8	3,5	96,5	30,3	2,2	32,5	93,2	6,8	82,8
52	1,62	1,69	0,21	2,91	3,12	6,83	93,17	4,32	2,43	6,76	63,97	36,03	-

ANEXO I – CAPÍTULO 4

Datos de componentes químicos orgánicos en la zona de El Rincón.

Zona	Estación	DFCHO μM-C	DCCHO μM-C	TDCHO μM-C	%DFCHO a TDCHO	%DCCHO a TDCHO	DFAA μM-C	DCAA μM-C	TDAa μM-C	%DFAA a TDAa	%DCAA a TDAa	DOC μM-C
gC	1	4,4	4,7	9,1	48,5	51,5	-	-	-	-	-	-
	3	7,8	14,4	22,3	35,2	64,8	0,5	5,4	5,9	8,5	91,5	-
	7	7,1	2,0	9,1	77,9	22,1	0,6	8,6	9,3	7,0	93,0	73,0
	8	10,1	1,4	11,5	87,7	12,3	0,6	16,4	17,0	3,5	96,5	115,0
	9	10,6	1,5	12,1	87,5	12,5	1,0	13,7	14,7	6,7	93,3	75,0
	Media	8,0	4,8	12,8	67,4	32,6	0,7	11,0	11,7	6,4	93,6	87,7
	DE	2,5	5,5	5,5	24,1	24,1	0,2	5,0	5,1	2,1	2,1	23,7
gT	2	3,2	5,6	8,8	36,3	63,7	0,3	15,6	15,9	2,0	98,0	108,0
	4	12,1	10,2	22,3	54,3	45,7	0,2	5,1	5,3	4,1	95,9	92,0
	6	6,6	2,8	9,4	70,1	29,9	0,3	3,4	3,7	7,9	92,1	74,0
	20	5,1	1,9	7,1	73,0	27,0	0,4	7,0	7,4	5,2	94,8	70,0
	27	2,7	3,8	6,5	41,9	58,1	0,3	17,9	18,2	1,6	98,4	266,0
	Media	5,9	4,9	10,8	55,1	44,9	0,3	9,8	10,1	4,2	95,8	122,0
	DE	3,8	3,3	6,5	16,4	16,4	0,1	6,5	6,5	2,5	2,5	81,9
gPM	14	6,1	3,9	10,0	60,9	39,1	0,3	14,6	14,9	2,0	98,0	72
	18	7,4	5,7	13,0	56,5	43,5	0,2	9,8	10,1	2,1	97,9	-
	Media	6,7	4,8	11,5	58,7	41,3	0,3	12,2	12,5	2,1	97,9	72
	DE	0,9	1,2	2,1	3,1	3,1	0,1	3,4	3,4	0,1	0,1	-

ANEXO II – CAPÍTULO 4

Datos de abundancia de los principales grupos de bacterias en la zona de El Rincón.

Zona	Estación	CF (cel mL ⁻¹)	Alfa (cel mL ⁻¹)	Beta (cel mL ⁻¹)	Gama (Cel mL ⁻¹)	EUB (cel mL ⁻¹)
gC	3	5,5E+04	7,6E+04	4,1E+04	2,7E+04	9,1E+05
	7	3,9E+04	1,0E+05	6,5E+04	7,6E+04	7,6E+05
	8	1,2E+05	5,3E+05	6,4E+04	2,4E+05	1,1E+06
	9	3,7E+04	1,3E+05	2,9E+04	2,0E+05	5,9E+05
gT	2	1,5E+05	2,0E+05	7,2E+04	3,9E+04	1,5E+06
	4	1,7E+05	3,6E+05	5,1E+04	1,1E+05	1,3E+06
	6	5,5E+04	2,4E+05	4,7E+04	6,8E+03	1,6E+06
	20	2,1E+05	2,0E+05	5,0E+04	2,0E+04	5,1E+05
	Media	1,1E+05	2,3E+05	5,3E+04	9,1E+04	1,0E+06
	DE	6,8E+04	1,5E+05	1,4E+04	8,8E+04	4,1E+05

Estación	DAPI					EUB					
	%CF	%Alfa	%Beta	%Gama	%Total	%EUB	%CF	%Alfa	%Beta	%Gama	%Total
3	7,4	12,3	3,0	1,7	24,4	60,3	12,40	20,4	4,9	2,9	40,6
7	4,9	16,4	6,6	6,3	34,2	61,9	7,82	25,6	10,4	10,7	54,6
8	12,4	59,9	5,6	19,5	97,3	90,5	13,25	66,0	5,8	20,3	105,4
9	6,6	24,3	4,0	18,9	53,8	55,2	11,86	41,9	7,2	31,4	92,4
2	11,3	31,7	5,7	1,7	50,4	61,0	19,79	51,3	8,7	2,7	82,5
4	12,0	34,4	4,5	7,8	58,8	71,8	18,70	49,4	6,5	11,4	86,0
6	3,6	22,0	3,1	0,4	29,1	58,9	6,39	35,6	5,0	0,6	47,6
20	21,4	40,0	7,3	2,4	71,0	76,3	29,17	53,1	9,5	3,1	94,9
Media	9,9	30,1	5,0	7,3	52,4	67,0	14,9	42,9	7,2	10,4	75,5
DE	5,7	15,2	1,6	7,7	24,1	11,8	7,4	15,2	2,1	10,7	24,3

ANEXO III – CAPÍTULO 4

Coeficiente de correlación de Spearman entre composición química de DOC, propiedades fluorescentes de DOM y nutrientes inorgánicos en El Rincón.

Variable	Variable	n	Spearman	p-valor	Variable	Variable	n	Spearman	p-valor
Clo-a	Temperatura	12	0,71	0,010	BIX	DFAA	11	0,69	0,018
Feo	Temperatura	12	0,71	0,010	BIX	DCCHO	12	-0,6	0,039
Feo	Clo-a	12	0,94	0,000	BIX	C	12	0,62	0,032
Gama	ID	8	0,89	0,003	BIX	M	12	0,79	0,002
Alfa	CF	8	0,79	0,020	BIX	T	12	0,8	0,008
EUB	CF	8	0,77	0,027	HIX	Temperatura	12	0,61	0,036
DCAA	ID	11	0,73	0,021	HIX	DFAA	11	-0,63	0,038
TDAA	ID	11	0,72	0,013	HIX	DFCHO	12	-0,7	0,012
TDAA	DCAA	11	1	0,000	DOC	Temperatura	9	0,73	0,027
DCCHO	Salinidad	12	-0,63	0,028	DOC	DCAA	9	0,7	0,037
DCCHO	DFAA	11	-0,62	0,043	DOC	TDAA	9	0,7	0,036
THCHO	Beta	8	-0,74	0,035	DIN	DFCHO	12	-0,69	0,013
THCHO	DFCHO	12	0,86	0,000	DIN	THCHO	12	-0,71	0,009
A	DFAA	11	0,76	0,007	DIN	DOC-iden	12	-0,76	0,004
DOC-iden	DFCHO	12	0,61	0,036	NO ₃	THCHO	12	-0,78	0,003
DOC-inde	THCHO	12	0,59	0,043	NO ₃	DOC-iden	12	-0,69	0,013
C	DFAA	11	0,82	0,002	NO ₃	M	12	0,62	0,032
C	A	12	0,99	0,000	NO ₃	DIN	12	0,78	0,003
M	DFAA	11	0,82	0,002	Si	Temperatura	12	0,63	0,028
M	A	12	0,91	0,000	Si	DFCHO	12	-0,59	0,045
M	C	12	0,95	0,000	Si	THCHO	12	-0,67	0,017
B	CF	8	-0,73	0,041	Si	A	12	0,64	0,025
B	Alfa	8	-0,81	0,015	Si	C	12	0,64	0,024
B	EUB	8	-0,77	0,025	Si	M	12	0,62	0,031
B	DFAA	11	0,71	0,014	Si	NO ₃	12	0,77	0,003
B	A	12	0,76	0,004	PO ₄	THCHO	12	-0,68	0,015
B	C	12	0,75	0,005	PO ₄	DOC-iden	12	-0,66	0,019
B	M	12	0,64	0,025	PO ₄	DIN	12	0,75	0,005
T	DFAA	11	0,76	0,006	PO ₄	NO ₃	12	0,86	0,000
T	A	12	0,85	0,000	PO ₄	Si	12	0,82	0,001
T	C	12	0,89	0,000	NH ₄	DFCHO	12	-0,67	0,018
T	M	12	0,95	0,000	NH ₄	DOC-iden	12	-0,69	0,014
T	B	12	0,69	0,013	NH ₄	DIN	12	0,77	0,003

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Rubén J. Lara "El profe" por enseñarme a ir de frente y sin miedo con los compromisos. Gracias por mostrarme el camino metódico y de dedicación al trabajo. Gracias por sus correcciones en la tesis, que desde mi punto de vista, éstas fueron enfocadas en fortalecer mi pensamiento crítico. Gracias por la confianza depositada en mí durante este periodo de la tesis y sobre todo por su buen trato cálido y respetuoso.

Al Dr. Hugo Freije "Don Profe" por mostrarme esa sabiduría que lo caracteriza, por enseñarme a ser prudente y tener buena cintura para pilotear momentos difíciles. Gracias por recibirme en Bahía y por ser mi "padre argentino".

A la Dra. Ana M. Martínez, por apoyarme ciegamente en TODO, siempre con buena disposición y compromiso. Enormemente agradecido "por embarcarse conmigo en este proyecto" sin tener de antemano ninguna obligación formal o legal. Mil gracias por ser mi otra directora en la tesis pero sobre todo gracias por su amistad y por ser mi "madre Argentina".

Al Dr. Marcelo Pistonesi por permitirme seguir en química ambiental y por aceptar ser mi codirector de beca. Gracias por brindarme ayuda y estar siempre predispuesto a colaborar.

A la Universidad Nacional del Sur y en particular al Departamento de Química por aceptarme como estudiante de posgrado.

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

A la Asociación de Universidades Grupo Montevideo por la beca otorgada para la estadía en Uruguay.

Al Laboratorio de Ecología Molecular del Centro Universitario de la Región Este (CURE) por prestarme sus instalaciones y gracias especialmente al grupo Uruguayo Dra. Cecilia Alonso, Flor, Valentina y Mariano por sus enseñanzas y apoyo en el procesamiento de las muestras.

Al staff del Centro de Investigación de Oceanografía en el Pacífico Sur - oriental (COPAS), especialmente al Dr. Silvio Pantoja y a la Qca. Liliana Núñez por la ayuda en el procesamiento y análisis de las muestras.

A Prefectura por la colaboración en las actividades durante las campañas oceanográficas.

Al Instituto Argentino de Oceanografía (IADO) y al Instituto de Química de Sur (INQUISUR) por facilitarme sus instalaciones y equipamientos.

A Nelly por estar pendiente de mí, por tratarme como otro más de la familia.

A IACA por darme la oportunidad de conocer Argentina y Bahía Blanca y sobre todo por abrirme el camino para conocer la calidad de personas con las que he tratado, especialmente a Don Julio.

A todo el plantel de Química Ambiental, especialmente a Vero y Jess por su colaboración en el procesamiento de muestras.

A los colegas de química, especialmente a Carla, Norma y Sonia.

A los compañeros del IADO por tratarme cálidamente, fundamentalmente a Santi, Germancho, Flor, Julieta, Elle y Facu.

A toda la plaga de hermanos colombianos que viven en Bahía, especialmente a Guapacha, Gio y Pili por brindarme una bonita amistad.

A los muchachos de Fútbol, que sin imaginarlo me han manifestado un fuerte apoyo durante mi estadía en Argentina, especialmente a Toño, Mati, Rafinha, Diego Tibu y Juli.

Al plantel de amistades de PLAPIQUI que me ofrecieron un agradable compañerismo, especialmente a Chipi, Maira, Paz, Mariana y Pipi.

A mis amigos de infancia, Cexar, Pichu, Tavorracho, Gordie, Santica, Koke, Michelsito que desde la distancia siempre estuvieron pendientes de mis actividades y confiaron ciegamente en mí (eso creo).

A Luisa Fernanda por estar siempre e incondicionalmente pendiente de mis dificultades y alegrías. Le agradezco especialmente el regalarme su buena energía y cariño desde la distancia.

A mis hermanas por enviar palabras de apoyo y confianza. Gracias por sus buenos, importantes e indispensables consejos.

A mi padre por transmitir sus vivencias y consejos a modo de ejemplo.

A mi madre porque siempre se sacrificó por mi futuro sin importar consecuencias, por mantenerme en sus oraciones todas las noches y sobre todo por darme ese inmenso y constante apoyo de mamá.

A todas aquellas que personas que seguramente olvidé mencionar que fueron colegas o que colaboraron en este trabajo y en mi desarrollo personal.