



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR**  
**DEPARTAMENTO DE GEOGRAFÍA Y TURISMO**

**TESIS DE LICENCIATURA EN OCEANOGRAFÍA**  
**Condiciones ambientales en el estuario de Bahía Blanca:**  
**¿Factores forzantes del sistema planctónico?**

**Tesista: Ayelen Severo**

**Directora: Dra. Anabela Berasategui**

**Co-directora: Dra. Elisa R. Parodi**

**BAHÍA BLANCA, 2018**

## **AGRADECIMIENTOS**

Este trabajo fue realizado en el marco de los proyectos PUE 2016-IADO-CONICET (Responsable Científico: Dra. Parodi E.), PIP 0630-CONICET (Titular: Dra. Berasategui, A.A) y una Beca para Alumnos Avanzados (otorgada por la SGCyT de la UNS), los cuales facilitaron la realización de la presente tesis.

Agradecimientos al Instituto Argentino de Oceanografía (IADO-UNS-CONICET), por permitir el desarrollo de la presente tesis en sus instalaciones. Agradezco en particular a la Dra. Spetter por proporcionarme datos de nutrientes de las áreas estudiadas.

Agradezco muy especialmente a mi familia y amigos por estar conmigo y ser mi sostén durante toda mi etapa dentro de la universidad.

A mis directoras Anabela Berasategui y Elisa Parodi por el constante apoyo y acompañamiento durante estos meses, pero principalmente por la calidez humana.

Agradezco a los profesores de mi carrera por brindarme la formación académica necesaria para poder realizar este trabajo.

## INDICE

<b>1. Introducción .....</b>	<b>1</b>
<b>2. Metodología .....</b>	<b>7</b>
<b>2.1 Área de estudio.....</b>	<b>7</b>
<b>2.2 Materiales y métodos .....</b>	<b>13</b>
<b>2.3 Análisis estadístico.....</b>	<b>18</b>
<b>3. Resultados.....</b>	<b>20</b>
<b>3.1 Variables ambientales.....</b>	<b>20</b>
<b>3.2 Estructura, abundancia y diversidad del zooplancton entre sitios.....</b>	<b>22</b>
<b>3.3 Eficiencia de captura teniendo en cuenta redes de zooplancton con diferente tamaño de poro (200 µm y 60 µm) .....</b>	<b>34</b>
<b>3.4 Mortandad relativa del zooplancton entre sitios.....</b>	<b>35</b>
<b>3.5 Influencia de las variables ambientales sobre las variables biológicas.....</b>	<b>44</b>
<b>4. Discusión.....</b>	<b>46</b>
<b>4.1 Variables ambientales.....</b>	<b>46</b>
<b>4.2 Estructura, abundancia y composición del zooplancton entre sitios.....</b>	<b>47</b>
<b>4.3 Eficiencia de captura teniendo en cuenta redes de zooplancton con diferente tamaño de poro (200 µm y 60 µm).....</b>	<b>49</b>
<b>4.4 Mortandad relativa del zooplancton entre sitios.....</b>	<b>50</b>
<b>4.5 Influencia de las variables ambientales sobre las variables biológicas.....</b>	<b>51</b>
<b>5. Conclusiones.....</b>	<b>52</b>
<b>6. Referencias.....</b>	<b>53</b>

## ANEXO

## RESUMEN

El objetivo de la presente tesis fue evaluar el efecto de las variables ambientales sobre los pulsos de productividad (en términos de abundancia de organismos y concentración de Chl-a) y mortandad natural zooplanctónica, en diferentes sitios del EBB, teniendo en cuenta la dinámica de la marea (bajante) y vientos predominantes. Para esto, se realizaron campañas durante los meses de mayo y octubre del año 2018 en 3 áreas puntuales con diferente grado de alteración antrópica: Puerto Cuatros (PC), Ing. White (IW) y Puerto Rosales (PR). En cada sitio, se midieron las variables ambientales que incluyen temperatura, salinidad y pH, y se tomaron muestras de agua superficial para determinar la concentración de material particulado en suspensión (MPS), materia orgánica particulada (MOP), clorofila a (Chl-a) y feopigmentos. Además, se tomaron muestras de zooplancton mediante arrastres horizontales o verticales con redes de tamaño de poro de 200  $\mu\text{m}$  y 60  $\mu\text{m}$ , las cuales fueron sometidas al método colorimétrico de rojo neutro para evaluar la mortandad en términos de mortandad relativa del zooplancton ( $n^\circ$  ind. muertos /  $n^\circ$  ind. totales de la muestra – discriminando sexo y estadios). Los registros temperatura, salinidad y pH no mostraron diferencias importantes entre los sitios de estudio, aunque si se observaron valores más altos de Chl-a, MPS y MOP en IW. Las abundancias totales fueron mayores en PC en ambas redes, en relación a aquellas registradas en PR e IW, aunque estadísticamente no se observaron diferencias significativas entre los sitios. La composición en los tres sitios estuvo representada mayoritariamente por copépodos (*Acartia tonsa*, *Eurytemora americana*, *Euterpina acutifrons* y *Paracalanus parvus*). El porcentaje de adultos de las 4 especies se encontró dominado por las hembras en los tres sitios. Además, se observó que PR resultó más equitativo y diverso que los otros dos sitios. El método de rojo neutro solo resultó efectivo en las especies *Acartia tonsa* y *Eurytemora americana*, las cuales presentaron mayores mortandades en los estadios larvales (copepoditos y nauplii) en los tres sitios. El porcentaje de adultos en la red de 60  $\mu\text{m}$  fue bajo en comparación con los adultos capturados en la red de 200  $\mu\text{m}$ . Los resultados sugieren utilizar ambas redes para el estudio comunitario del zooplancton en estuarios de alta turbidez y de sedimentos finos. Como conclusión, los resultados de esta tesis mostraron que las áreas que poseen un mayor grado de perturbación antrópica y están sometidas a mayores cambios ambientales, presentaron mayores mortandades naturales de zooplancton y variaciones en la productividad y materia orgánica particulada.

**Palabras claves:** variables ambientales, estuario, mortandad natural del zooplancton, perturbación antrópica.

## ABSTRACT

The aim of this thesis was to evaluate the effect of environmental variables on the productivity pulses (in terms of abundance of zooplankton organisms and Chl-a concentration) and zooplankton natural mortality, in different EBB sites, taking into account the dynamics of the tide (ebb) and prevailing winds. With this purpose, 18 samplings were conducted during the months of May and October of 2018 in three specific areas with different degrees of anthropogenic alteration: Puerto Cuatrerros (PC), Ing. White (IW) and Puerto Rosales (PR). At each site, environmental variables including temperature, salinity and pH were measured, and surface water samples were taken to determine the concentration of particulate matter in suspension (SPM), particulate organic matter (POM), chlorophyll a (Chl-a) and phaeopigments. In addition, zooplankton samples were taken by horizontal or vertical hauls with pore size net of 200  $\mu\text{m}$  and 60  $\mu\text{m}$ , which were subjected to the colorimetric method of neutral red to evaluate the mortality in terms of relative mortality of zooplankton ( $n^\circ$  ind. deaths / total number of ind of the sample - discriminating sex and stages). The temperature, salinity and pH records showed no significant differences between study sites, although higher values of Chl-a, SPM and POM were observed in IW. The total abundances were greater in PC in both networks, in relation to those registered in PR and IW, although statistically no significant differences were observed between the sites. The composition in the three sites was represented mainly by copepods (*Acartia tonsa*, *Eurytemora americana*, *Euterpina acutifrons* and *Paracalanus parvus*). The percentage of adults of the four species was dominated by females in the three sites. In addition, it was observed that PR was more equitable and diverse than the other two sites. The neutral red method was effective only in the species *Acartia tonsa* and *Eurytemora americana*, which presented higher mortality in the larval stages (copepodits and nauplii) in the three sites. The percentage of adults in the 60  $\mu\text{m}$  network was low compared to the adults captured in the 200  $\mu\text{m}$  net. The results suggest using both net for the community study of zooplankton in estuaries with high turbidity and fine sediments. In conclusion, the results of this thesis showed that the higher natural mortality of zooplankton and the variations of productivity and particulate organic matter were found in areas with higher degree of anthropic disturbance, subjected to greater environmental changes.

**Keywords:** environmental variables, estuary, zooplankton natural mortality, anthropic disturbance.

## 1. Introducción

Los estuarios son ambientes costeros semicerrados en donde el agua de mar se diluye gradualmente con el agua dulce proveniente del drenaje terrestre, constituyendo una región de transición entre la estabilidad ambiental del sistema marino y la inestabilidad del ambiente límnic (McLusky y Elliott 2004). La marea, el drenaje continental y las fuerzas atmosféricas son factores que influyen fuertemente en la dinámica de los estuarios promoviendo una gran variabilidad espacio-temporal en la columna de agua en términos físicos y biogeoquímicos (Marques et al. 2006). Por su naturaleza turbulenta que promueve un rápido ciclado de los recursos, el alto contenido de nutrientes y la acción de distintos productores primarios (e.g. vegetación emergente, algas bentónicas y planctónicas, perifiton y vegetación sumergida), los estuarios constituyen uno de los ecosistemas naturales más productivos del planeta. Los estuarios se caracterizan además por presentar altas abundancias y biomasa planctónica y bentónica, que los convierte en excelentes ambientes de alimentación y cría para diversas especies de peces, muchas de ellas de importancia comercial (David et al. 2006). La composición de organismos que habitan los ambientes estuarinos dependerá de la compleja interacción entre ellos y entre los factores físico-químicos que caracterizan las condiciones en la columna de agua. Particularmente para el plancton, la temperatura y la salinidad son las variables físicas más trascendentes en la regulación de su distribución en los estuarios, debido a las significativas fluctuaciones espaciales y temporales a la que estos ambientes están generalmente sometidos (Cervetto et al. 1999).

Además de la complejidad y variabilidad ambiental intrínseca, los estuarios están generalmente expuestos a un fuerte impacto antrópico, lo que añade otro factor importante a la dinámica de estos sistemas. Una de las consecuencias del desarrollo humano más comúnmente registradas en los sistemas costeros es la adición de nutrientes y materia orgánica. La eutrofización es uno de los más importantes agentes de cambio en la estructura y el funcionamiento de las comunidades acuáticas costeras. Las condiciones hipóxicas, el aumento en la turbidez del agua y las modificaciones en la producción primaria son los principales cambios asociados a la eutrofización (Cloern 2001). Por lo tanto, la eutrofización de ambientes estuarinos se convierte en un tema clave en la dinámica de los ecosistemas porque a menudo conduce al deterioro del hábitat y tiene implicaciones en diferentes niveles de organización biológica, desde individuos hasta comunidades. Comprender cómo los

ecosistemas costeros responden a la perturbación antropogénica es fundamental para el manejo de los recursos.

Dentro de los ecosistemas costeros marinos y estuariales, el zooplancton es un grupo altamente diverso que cumple un rol importante en las redes tróficas marinas proporcionando la principal ruta de transferencia de materia orgánica y energía. Mediante la alimentación, el zooplancton incorpora parte del carbono secuestrado de la atmósfera por el fitoplancton y lo transporta hacia diferentes profundidades a través de complejas interacciones tróficas. Así, vincula los productores primarios y el bacterioplancton con los niveles tróficos superiores como bivalvos, peces, reptiles y mamíferos marinos (Lenz 2000). Además de sostener energéticamente a los mayores componentes del océano, el zooplancton también se relaciona estrechamente con la comunidad microbiana. Mediante la excreción y la deposición de carcasas, exuvias y pellets fecales, contribuye a la regeneración de nitrógeno y al flujo de carbono orgánico impulsando la producción bacteriana y fitoplanctónica, promoviendo así la actividad de diversos organismos detritívoros (Frangoulis et al. 2011). Por sus múltiples funciones ecológicas, el zooplancton marino y el fitoplancton, del cual gran parte se alimenta, promueven la producción de nueva biota en los sistemas marinos generando velozmente biomasa que sostiene las tramas tróficas (Boero 1994).

El zooplancton se puede clasificar de acuerdo con el tamaño en pico-, nano-, micro-, meso-, macrozooplancton (2 – 20 cm) y megazooplancton (20 – 200 cm), abarcando desde minúsculos organismos flagelados hasta gigantescas medusas (Sieburth et al. 1978). El picozooplancton (0,2 – 2  $\mu\text{m}$ ) comprende a microbios heterotróficos como ciertas cepas bacterianas. El nanozooplancton (2 – 20  $\mu\text{m}$ ) comprende a los nanoflagelados heterotróficos consumidores de bacterias. El resto de los protozoos, especialmente los ciliados como los tintínidos y los flagelados, conforman el siguiente grupo denominado microzooplancton (20 – 200  $\mu\text{m}$ ). Este grupo abarca además a los huevos y a los primeros estadios de desarrollo de los crustáceos planctónicos y a las primeras larvas del meroplancton o plancton temporario. El nano- y el microzooplancton constituyen las presas de los consumidores de niveles tróficos superiores. El siguiente grupo operativo, es el mesozooplancton (0,2 – 20 mm) que incluye hidromedusas de pequeño tamaño, ctenóforos, quetognatos, apendicularios, copépodos, huevos y larvas de peces y crustáceos. Dentro del mesozooplancton, los copépodos son considerados el grupo más numeroso y según algunos autores, conforma la mayor biomasa animal dentro de esta fracción (Schminke 2007). Debido a su dominancia dentro del plancton marino y a su función ecológica, los copépodos constituyen un eslabón

fundamental en la ecología trófica de los océanos siendo las principales presas de larvas, juveniles y adultos de predadores pelágicos (Mauchline 1998; Turner 2004). Los copépodos responden también rápidamente a los cambios en el medio ambiente y, por lo tanto, se consideran bioindicadores valiosos (Chang et al. 2009).

El crecimiento limitado de la comunidad zooplanctónica y los cambios en la estructura de la comunidad planctónica en respuesta a contaminantes y eutrofización han sido bien documentados en algunos sistemas estuarinos en el hemisferio norte (Park y Marshall 2000; Gordina et al. 2001; Uriarte y Villate 2004). En aguas más cálidas afectadas por desechos domésticos e industriales, se ha documentado una mayor abundancia de zooplancton y un cambio de una comunidad natural a una comunidad dominada por oportunistas (Siokou-Frangou y Papathanassiou 1991). De esta manera, los cambios en la base de la cadena alimentaria pueden modificar las interacciones tróficas y, por lo tanto, la transferencia de carbono hacia los niveles tróficos superiores (deYoung et al. 2008). Dado que los organismos zooplanctónicos tienen un papel central en las redes tróficas marinas relacionando la variabilidad ambiental con la ecológica, se los ha postulado como indicadores adecuados de los cambios en el estado de los ecosistemas oceánicos, incluyendo las modificaciones causadas por la eutrofización en los sistemas costeros (Chang et al. 2009; Biancalana et al. 2011; Dutto et al. 2012; Berasategui et al. 2017). Por lo tanto, el monitoreo de los ambientes costeros proporciona información valiosa para evaluar la vulnerabilidad del ecosistema a la pérdida del hábitat acuático como un efecto directo e indirecto de la actividad humana (Halpern et al. 2007).

El estuario de Bahía Blanca (EBB), es un sistema eutrófico en el Atlántico sudoccidental, cuya zona de drenaje está influenciada principalmente por el asentamiento urbano e industriales. La deposición de desechos derivados de actividades agrícolas e industriales en este sistema productivo ha aumentado en la última década (Marcovecchio et al. 2008). En particular, la considerable cantidad de nutrientes y materia orgánica de las aguas residuales urbanas es cada vez más preocupante. Algunos de los cambios ambientales y ecológicos documentados en el área afectada por la descarga fueron agotamiento de oxígeno (67.7%), concentración de materia orgánica elevada (3554  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ), y aumento de nutrientes como por ejemplo amonio (179.6  $\mu\text{M}$ ) (Barría de Cao et al. 2003a). La materia orgánica alóctona y el aporte de nutrientes alteran las condiciones bioquímicas naturales y los ensamblajes planctónicos. Estudios ecológicos que evalúan el impacto de las actividades antropogénicas en el funcionamiento de los ecosistemas en ambientes costeros han identificado el

zooplancton como un indicador útil para evaluar el estado ecológico de los mismos (Beaugrand 2005).

La comunidad zooplanctónica del estuario de Bahía Blanca ha sido estudiada desde fines de los años 70. Los antecedentes existentes sobre el zooplancton, el macrozooplancton y el mesozooplancton temporario del estuario han sido detallados por Hoffmeyer y Mianzan (2004), Hoffmeyer y Cervellini (2004) y Hoffmeyer (2007), Berasategui et al. (2018). Ciertas especies de crustáceos copépodos, larvas de cirripedios y zoeas de decápodos constituyen los principales componentes de la fracción mesozooplanctónica del estuario (Hoffmeyer 2007; Berasategui et al. 2018). Dentro de esta fracción, el copépodo calanoideo *Acartia tonsa* es la especie dominante a lo largo del estuario y durante la mayor parte del año (Hoffmeyer et al. 2009), registrándose densidades de hasta 37.700 ind. m<sup>-3</sup> en los meses de mayores temperaturas (Sabatini 1989; Berasategui et al. 2018). Debido a su alta frecuencia de ocurrencia e importancia numérica y a su rol como modulador de la dinámica poblacional fito- y microplanctónica, *Acartia tonsa* es considerada un componente clave en la trama trófica del estuario (Diodato y Hoffmeyer 2008). Constituye también uno de los ítems más abundantes en la dieta de peces de importancia ecológica como la saraquita (*Ramnogaster arcuata*), así como un ítem trófico relevante para juveniles de peces de importancia económica regional como la pescadilla (*Cynoscion guatucupa*) y la corvina rubia (*Micropogonias furnieri*), entre otros (López-Cazorla et al. 2011). Durante los meses fríos, cuando las condiciones ambientales son menos favorables para el desarrollo de *Acartia tonsa* (Hoffmeyer 2007), otras especies como el copépodo *Eurytemora americana* y las larvas *nauplii* y *cypris* del cirripedio *Balanus glandula* muestran abundancias importantes en el estuario (Hoffmeyer 2007, Hoffmeyer y Barría de Cao 2007; Berasategui et al. 2009).

Estudios previos realizados en la zona interna del EBB (Fernández-Severini et al. 2009; Biancalana et al. 2012; Dutto et al. 2012), informaron que se encuentran diferencias en la composición específica, la uniformidad y la riqueza a lo largo de todo el estuario, lo que tal vez sea indicativo del efecto modulador de la fuente de perturbación antrópica (cloacal, industrial, agrícola y portuaria) en la estructura de la comunidad del mesozooplancton (Dutto et al. 2012; Berasategui et al. 2018). Se ha realizado un único estudio sobre mortandad planctónica en el área de descarga de aguas de enfriamiento industrial (central termoeléctrica) en el EBB (Hoffmeyer et al. 2005) y se cuenta con fenología del plancton en la descarga cloacal de la ciudad de Bahía Blanca y la influencia de los puertos (Biancalana et al. 2012; Dutto et al. 2012; Guinder et al. 2010; Lopez-Abatte et al. 2015). Dichos estudios,

han permitido señalar variaciones en la composición específica, con dominancia de especies con mayor tolerancia a cambios de salinidad-temperatura, altas concentraciones de materia orgánica y nutrientes y cambios en la concentración de oxígeno. Sin embargo, como se mencionó anteriormente, la mayor parte de la variación ambiental en el área de estudio está impulsada por la estacionalidad pronunciada de la región, lo que significa que la variación climática a corto plazo también desempeña un papel relevante en la modulación de la dinámica del plancton dentro de este estuario (Hoffmeyer et al. 2009; Berasategui et al. 2009).

A partir de los antecedentes citados anteriormente el presente trabajo de tesis propone testear que:

*“Las áreas que poseen mayor grado de alteración antrópica y están sometidas a mayores cambios ambientales, presentan mayores mortandades naturales de zooplancton, variaciones en la productividad y en la concentración de materia orgánica particulada”*, como hipótesis principal de trabajo.

Aunque existen numerosos estudios en el EBB sobre presencia de contaminantes en los sistemas planctónicos, el efecto de los cambios ambientales y la calidad de agua sobre su supervivencia, distribución y productividad, son aspectos inquietantes y de reciente interés. En virtud de ello, el objetivo principal del presente trabajo de tesis es:

*“Evaluar el efecto de las variables ambientales y la calidad ambiental, sobre los pulsos de productividad (en términos de abundancia de organismos y concentración de Chl-a) y mortandad natural zooplanctónica, en diferentes sitios perturbados del EBB, teniendo en cuenta la dinámica de la marea (bajante) y vientos predominantes”*.

#### Objetivos específicos

- Registrar las variables físico-químicas ambientales (temperatura, salinidad y pH) en diferentes áreas del EBB.
- Determinar la concentración de clorofila a, MPS y MOP en diferentes áreas del EBB.
- Determinar estructura, abundancia y diversidad de la comunidad del zooplancton ( $\geq 60 \mu\text{m}$ ) en diferentes áreas del EBB.
- Determinar la eficiencia de captura teniendo en cuenta redes de zooplancton con diferente tamaño de poro ( $200 \mu\text{m}$  y  $60 \mu\text{m}$ ) en el EBB de alta turbidez y cargado de sedimento fino (limo y arcilla).

- Determinar la mortandad del zooplancton, haciendo un análisis más profundo en especies claves del EBB.
- Determinar la influencia de las variables ambientales y calidad de agua sobre las variables biológicas.

Los resultados que surjan de la presente tesis, sentarán precedente en el tema y se espera que sean útiles para tomar medidas preventivas y de manejo.

## 2. Metodología

### 2.1 Área de estudio

El EBB es una planicie costera mesomareal (Perillo et al. 2001) ubicado en una zona templada y semiárida en la costa atlántica sur ( $38^{\circ}45'-39^{\circ}40'$  S  $61^{\circ}45'-62^{\circ}30'$  W) de Argentina. Cubre  $2300 \text{ km}^2$  aproximadamente y está formado por una serie de canales en dirección NW-SE separados por canales de marea, islas, planicies de marea extensas y marismas bajas, de las cuales un 10 % se encuentran cubiertas por vegetación halófila dominada por las especies *Spartina alterniflora*, *Spartina densiflora* y *Sarcocornia perennis* (Negrín 2011).

El principal acceso al estuario lo conforma el Canal Principal, tiene forma de embudo cuya longitud es de 70 km y su ancho varía desde menos de 50 m en su cabecera a 10 km en su desembocadura (Melo et al. 2008). En base a las propiedades geofísicas, el Canal Principal puede dividirse en tres sectores: interno, medio y externo. La zona interna comprende desde el área de Villarino Viejo hasta Ingeniero White. El sector medio continúa hasta la altura de Puerto Belgrano y el sector externo se extiende desde Puerto Belgrano hasta la altura de Punta Tejada.

El estuario se caracteriza por ser turbio, con una profundidad media de 10 m y una columna de agua verticalmente homogénea en cuanto a los parámetros físico-químicos, mezclada por el efecto de las mareas y los vientos (Perillo et al. 2001). El flujo de agua dulce es bajo y es proporcionado principalmente por dos tributarios, el río Sauce Chico y el arroyo Napostá Grande, con una esorrentía media anual de  $1,5-1,9$  y  $0,5-0,9 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$ , respectivamente (Piccolo et al. 2008). El primero descarga sus aguas en la cabecera del estuario, mientras que la descarga del arroyo Napostá Grande se encuentra en la zona media. Otros afluentes de menor importancia son Canal Galván, Saladillo de García y Maldonado, cuyos volúmenes no llegan a alcanzar el aporte del arroyo Napostá (Perillo et al. 2007).

La circulación del agua es impulsada por una onda de marea semidiurna permanente, que constituye la entrada de energía principal en el sistema. La circulación se ve fuertemente afectada por los vientos dominantes que modifican la onda de marea y la geomorfología particular del estuario que muestra un patrón meandriforme progresivo (Perillo et al. 2001). La amplitud media de la marea varía entre 3,5 m en la cabecera y 2,2 m en la boca, y el rango de la marea y la amplitud de la corriente de marea aumentan hacia la cabeza (Perillo y Piccolo 1991). El patrón climático típico de la región se caracteriza por un amplio gradiente de

temperatura, fuertes vientos N-NW (velocidad media  $6,7 \text{ m s}^{-1}$  con eventos de  $>28 \text{ m s}^{-1}$ ) y poca precipitación ( $498 \text{ mm año}^{-1}$ ), influenciado por una marcada estacionalidad con la mayoría de las precipitaciones durante la primavera y el verano y menos durante el invierno (Piccolo, 2008).

La salinidad varía de 17,3 a 41,9, dependiendo de la lluvia estacional, los vientos y la temperatura (Freije et al. 2008), y aumenta exponencialmente en los primeros 6 km de la cabeza (Perillo et al. 2001). Las condiciones de hipersalinidad generalmente se registran durante los veranos calurosos y secos, cuando las tasas de evaporación elevadas producen altas concentraciones de sal en las marismas adyacentes (Freije et al. 2008). La concentración de oxígeno disuelto generalmente está cerca de las condiciones de saturación (Guinder et al. 2009). La temperatura media del agua superficial es de aproximadamente  $23^{\circ}\text{C}$  en verano y  $7,1^{\circ}\text{C}$  en invierno, y siempre es ligeramente más alta en la cabecera del estuario (Freije et al. 2008). El EBB está sujeto a su vez, a un deterioro progresivo debido al creciente desarrollo de las actividades urbanas, industriales y portuarias. A orillas del mismo se encuentran los núcleos urbanos de Bahía Blanca (cuya población es de 350.000 habitantes), Gral. Cerri, Ing. White, Puerto Belgrano y Punta Alta. Cuenta también con un gran polo industrial que se compone principalmente de refinerías e industrias petroquímicas que tiene sus vertientes sobre canales alternos, que desaguan a su vez en el canal principal (Marcovecchio et al. 2008; La Colla et al. 2015). Además, el estuario recibe aguas de escorrentía que contienen organoclorados provenientes de tierras cultivadas (aproximadamente  $4200 \text{ km}^2$ ) (Marcovecchio et al. 2008). Posee uno de los puertos más importante del sur Atlántico y el aumento del tráfico marítimo sumado al continuo dragado en los últimos años, ha propiciado también la introducción de especies invasoras, probablemente a través de los cascos y el agua de lastre de los buques (Fiori et al. 2016).

El presente estudio de tesis se ha enfocado en 3 áreas puntuales con diferente grado de alteración antrópica en el EBB: Puerto Cuatrerros (PC), Ing. White (IW) y Puerto Rosales (PR) (Fig. 1.1 y 1.2).

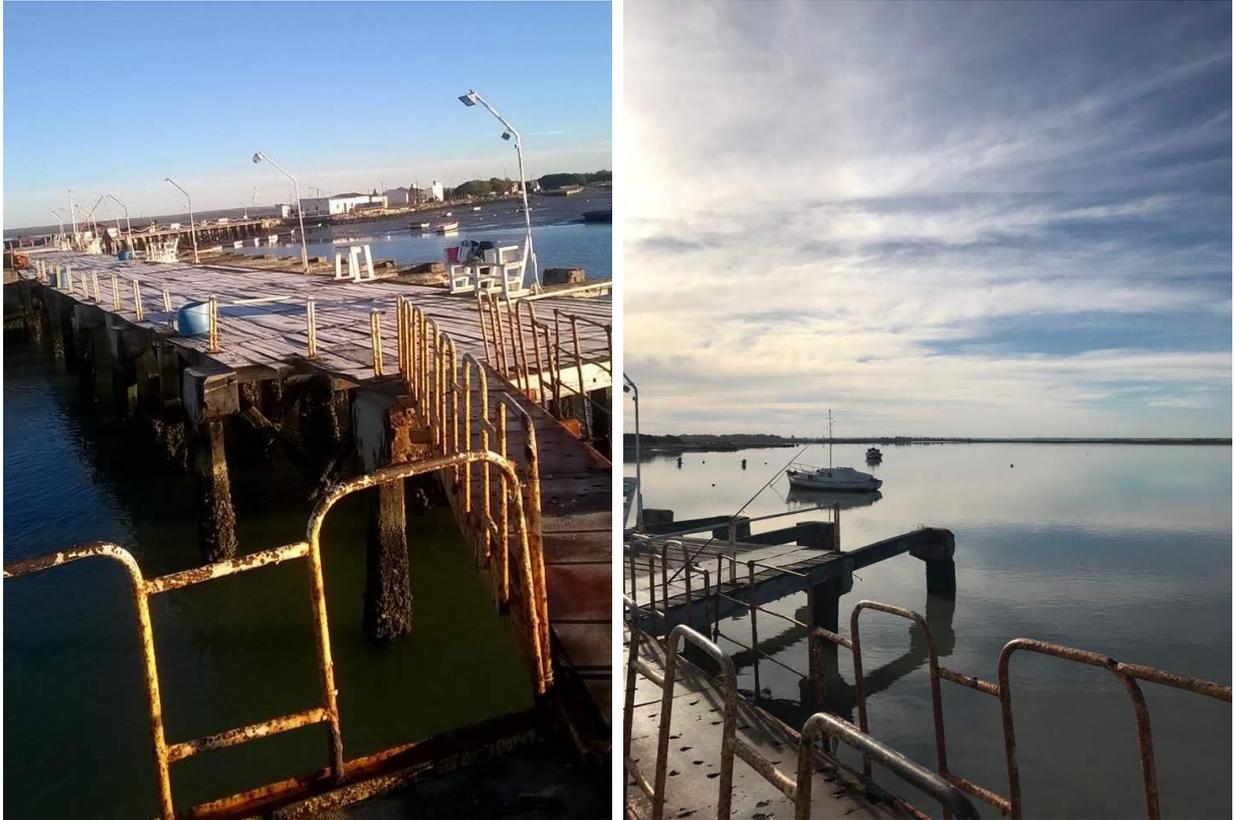


Figura 1.1: Mapa del área de estudio.



Figura 1.2: Imagen del área de estudio (Fuente: Google Earth).

Puerto Cuatrerros – PC ( $38^{\circ}44'50''$  S –  $62^{\circ}22'40''$  O): se encuentra ubicado en la zona interna del estuario próximo a la ciudad de General Daniel Cerri. Recibe descargas urbanas-cloacales de Gral Cerri y menores influencias de los aportes del Saladillo García y Sauce Chico (Limbozzi y Lietao 2008), debido a la distancia. El arroyo Saladillo de García recibe desde el septiembre del 2008, los resabios de la planta depuradora cloacal de la Tercera Cuenca de Bahía Blanca. (Fig. 1.3).



**Figura 1.3: Registro fotográfico del lugar de muestreo en Puerto Cuatrerros.**

Ing. White – IW ( $38^{\circ}47'44''$  S –  $62^{\circ}16'03''$  O): se ubica en la zona interna-media del EBB, con gran influencia portuaria e industrial (Puerto Piojo). Es un sitio que se encuentra en dragado constante. El lugar de muestreo es un muelle de hierro ubicado entre las plantas de Cargill y Terminal Bahía Blanca SA (Fig. 1.4). Particularmente en este lugar se encuentran dos desagües los cuales no se conoce su procedencia. Cabe señalar que el ambiente a la hora de la toma de muestras se caracterizó por presentar espuma en suspensión y otros materiales.



**Figura 1.4: Registro fotográfico del lugar de muestreo en Ing. White. En ambas fotos se observan desagües del área adyacente.**

Pto. Rosales – PR ( $38^{\circ}55'02''$  S –  $62^{\circ}04'08''$  O): es una zona con actividad portuaria ubicada en la parte externa del EBB. En este puerto los buques llegan para cargar productos de combustibles líquidos y gaseosos. Recibe también la descarga de aguas residuales de la ciudad de Punta Alta y actúa como astillero de embarcaciones de calado pequeño (Limbozzi y Lietao 2008; Marcovecchio et al. 2008) (Fig. 1.5).



**Figura 1.5: Registro fotográfico del área de muestreo en Puerto Rosales.**

Para brindar más información sobre los sitios de estudio, contamos con valores promedio en la concentración de nutrientes (silicatos disueltos, nitritos, nitratos y amonio), procedentes de datos inéditos del PICT 2012 de Spetter, durante los años 2014-2015. En general, PC se caracterizó por presentar mayores valores de concentración de nitritos (aprox.  $1,9 \mu\text{M}$ ) y silicatos disueltos (aprox.  $111\mu\text{M}$ ). IW, presentó valores más altos en la concentración de amonio (aprox.  $69 \mu\text{M}$ ) y en PR, se observaron valores más altos en la concentración de nitratos (aprox.  $39 \mu\text{M}$ ). Además, valores altos en la concentración de silicatos disueltos ( $68.57\text{--}72.67 \mu\text{M}$ ) en la zona más interna (PC e IW) también fueron encontrados en Carbone et al. (2016).

Además, estudios realizados demuestran que las estaciones intermedias y externas (IW y PR) presentan niveles más altos de contaminantes como Cadmio, Cromo y Niquel, en los sedimentos y en el material particulado en suspensión (MPS) (Carbone et al. 2016; Fernández-Severini et al. 2018). Por otra parte, el dragado de los canales de navegación

influye negativamente incrementando los niveles de metales particulados en la columna de agua ya que removiliza metales u otros contaminantes depositados en los sedimentos a través de su resuspensión en la columna de agua (Fernández-Severini et al. 2018). Por otro lado, los valores más altos de Pb en sedimento se registran en las estaciones PC y IW (Carbone et al. 2016). Estas estaciones, están ubicadas cerca de un antiguo relleno sanitario que fue un depósito de productos de desechos con alto contenido en Pb durante más de 30 años y se cerró en 1992. Sin embargo, todavía recibe vertederos clandestinos y su lixiviación es permanente favorecida por las constantes inundaciones (Fernández-Severini et al. 2018).

## **2.2 Materiales y métodos**

### **a) Muestreo a campo**

Para programar las campañas y dada la importancia de las mareas y los vientos en la dinámica y distribución del plancton (Menéndez et al. 2012), se tuvo en cuenta la información de la página web del Servicio de Hidrografía Naval ([http://www.hidro.gov.ar/oceanografia/Tmareas/Form\\_Tmareas.asp](http://www.hidro.gov.ar/oceanografia/Tmareas/Form_Tmareas.asp)).

Las campañas de muestreo se llevaron a cabo desde muelle durante los meses de mayo de 2018 a octubre 2018 en los tres sitios de estudio (Puerto Cuatros, Ing. White y Puerto Rosales). En cada sitio, se midieron parámetros en el agua que incluyen temperatura, salinidad y pH con un sensor multiparamétrico Hanna. Además, se tomaron muestras de agua superficial para determinar la concentración de material particulado en suspensión (MPS), materia orgánica particulada (MOP), clorofila a (Chl-a) y feopigmentos. Adicionalmente se tomaron muestras de zooplancton mediante arrastres horizontales a marea (durante 10 minutos en la capa superior 0-2 m) en PR y PC y 5 arrastres verticales en IW (profundidad máxima 1 m). Con el objeto de comparar la eficiencia de captura, las dos redes utilizadas fueron de similares características con un diámetro de boca de 30 cm y una longitud de 80 cm hasta el colector, pero con diferente poro de malla (200  $\mu\text{m}$  y 60  $\mu\text{m}$ ) (Fig. 2.1). En ambos tipos de arrastres se utilizó un flujómetro Hydro-Bios para estimar el volumen filtrado de agua por cada una de las redes usadas.

Las muestras fueron colocadas en frascos de 1L para proceder en forma inmediata a la incubación in vivo con rojo neutro durante 10-20', siguiendo la técnica sugerida por Hoffmeyer et al. (2005) y Martínez et al. (2013) (Fig. 2.2). Para ello se utilizó una solución madre de RN del 1:1000, llegando a una concentración final de 1:67000 en cada muestra de plancton. Luego fueron conservadas en solución de formaldehído-agua de mar tamponada al 4% hasta el análisis.



**Figura 2.1: Registro fotográfico de una captura de arrastre vertical con red de zooplancton.**



**Figura 2.2: Registro fotográfico de la incubación de una muestra con rojo neutro.**

## b) Procedimientos en laboratorio

### - Determinación de MPS y MOP

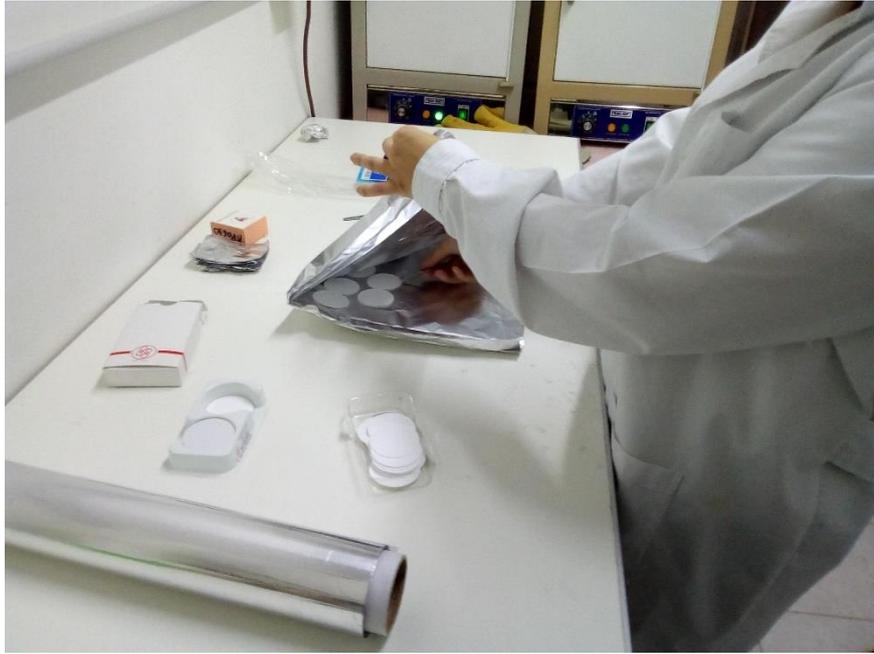
La concentración de materia orgánica particulada se determinó en mg/L, siguiendo el método gravimétrico propuesto por Calliari et al. (2005), que ya ha sido usado en Guinder (2011). Como primera medida los filtros GF/F de fibra de vidrio (diámetro de poro 0,45 µm), fueron lavados con agua destilada y luego incinerados 5 horas a 500 °C en una mufla con el fin de eliminar cualquier tipo de partícula orgánica (Fig. 3.1). Una vez incinerados fueron colocados en sobres de aluminio y se los dejó enfriar en un desecador con sílica gel como agente desecante. Posteriormente se procedió al pesado del filtro y el sobre de aluminio. Luego, se procedió al filtrado de las muestras (500 ml), utilizando para cada una un filtro combustionado y pesados. El filtrado se realizó a vacío suave (Fig. 3.2). Los filtros con el material se guardaron nuevamente en sobres de aluminio y fueron llevados a estufa a una temperatura de 60 °C durante 24 horas. Finalizado este tiempo se retiraron los filtros de la estufa y se los dejó enfriar nuevamente. Por último, se pesó los filtros y de esta manera se obtuvieron los valores de MPS:

$$\text{MPS-Peso seco (mg/L)} = \text{muestra seca en el filtro en el sobre de aluminio (mg)} - \text{filtro (mg)} - \text{sobre de aluminio (mg)} / \text{cantidad de agua filtrada (L)}$$

Luego, estos mismos filtros fueron llevados nuevamente a mufla durante aproximadamente 5 horas y a una temperatura de 500 °C. Se dejaron enfriar en las mismas condiciones anteriores y una vez fríos se pesaron, con el objetivo de obtener el peso libre de cenizas.

$$\text{Peso seco libre de cenizas (mg/L)} = \text{muestra seca en el filtro en el sobre de aluminio (mg)} - \text{cenizas en el sobre de aluminio (mg)} - \text{sobre de aluminio (mg)} / \text{cantidad de agua filtrada (L)}$$

Para la estimación de MOP se hizo la diferencia entre ambos pesos anteriormente mencionados, expresando el resultado en mg/L.



**Figura 3.1:** Registro fotográfico de la preparación de los filtros para la determinación de MPS y MOP.



**Figura 3.2:** Registro fotográfico de la filtración de las muestras de agua para la posterior obtención de MPS, MOP y pigmentos fotosintéticos.

#### - **Determinación de clorofila a y feopigmentos**

La producción primaria fue indirectamente inferida en términos de concentración de clorofila-a y feopigmentos. Dichas determinaciones se realizaron mediante las muestras botella, siguiendo la metodología usada históricamente en el estuario (Lorenzen y Jeffrey 1980; Guinder 2011), la cual consiste en la extracción de los pigmentos fotosintéticos con solvente orgánico y lectura por espectrofluorimetría.

Por cada determinación, se filtró 50 ml de agua de mar de cada sitio de muestreo usando filtros Whatman GF/C (filtros de celulosa y 0,7 micras de poro) y fueron inmediatamente almacenados a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Para hacer las mediciones, se colocaron los filtros en tubos de vidrio de 10 ml para la posterior extracción de pigmentos. Para dicho proceso los tubos fueron llenados con 5 ml de acetona al 90%, tratando de romper los filtros, y fueron incubados durante 24 hs a temperatura ambiente y en oscuridad. Transcurrido ese período, se procedió a filtrar mediante bomba de vacío e instrumental de filtrado, reteniendo el extracto en otro tubo y recolectándolo en otro vial de vidrio limpio y seco. Se procedió a la lectura en el espectrofluorómetro, colocando cada extracto en la cubeta del mismo. Para las lecturas de feopigmentos, se agregó 150 $\mu\text{L}$  de HCl 0,1N a cada extracto y luego se volvió a realizar la lectura de fluorescencia del extracto acidificado. Finalmente, se obtuvo la concentración de clorofila a y feopigmentos en  $\mu\text{g. L}^{-1}$ .

#### - **Análisis cuali-cuantitativo de las muestras de zooplancton-viabilidad**

Todas las muestras fueron observadas bajo microscopio estereoscópico Wild M5 para el análisis cuali-cuantitativo y de coloración, siguiendo la metodología propuesta por Frontier (1981); Boltovskoy (1999); Harris et al. (2000) y Martínez et al. (2013), expresando su abundancia como  $\text{ind.m}^{-3}$ .

En la presente tesis, se utilizó el método colorimétrico de rojo neutro para evaluar la mortandad en términos de mortandad relativa ( $n^{\circ}$  ind. muertos /  $n^{\circ}$  ind. totales de la muestra – discriminando sexo y estadios) del zooplancton en los sitios de muestro del EBB. El rojo neutro (clorhidrato de 3-amino-7-dimetilamino-2-metilfenazina) es un colorante débilmente catiónico soluble en agua que pasa a través de la membrana plasmática y se concentra solamente en los lisosomas de células viables. Los lisosomas, vesículas subcelulares que contienen macromoléculas que degradan las enzimas hidrolíticas, son responsables del reciclaje de desechos celulares (Brenner et al. 2014). Su estructura y estabilidad de la membrana se pueden usar para detectar el estrés celular en un organismo (Cheung et al. 1998). El estrés, el cual puede ser causado por la exposición a la contaminación ambiental, promueve el aumento en la producción de lisosomas para ayudar a combatir y proteger las células de la muerte celular. Cuando los lisosomas están sobrecargados, la membrana semipermeable que los rodea puede volverse inestable y filtrar las enzimas lisosomales y los contaminantes en el citoplasma (Kohler et al. 2002). El contaminante o el daño relacionado con el estrés que se manifiesta en los cambios observados en la permeabilidad de la

membrana han llevado a los lisosomas a ser utilizados como biomarcadores de la mala salud de las células y los organismos (Brenner et al. 2014).

Se ha informado que este ensayo es un indicador útil del estado de salud general del organismo ya que los animales expuestos a contaminantes a menudo tienen una estabilidad lisosomal comprometida (Moore et al. 2009). Los agentes que dañan la superficie celular y las membranas lisosómicas inhiben la incorporación del colorante rojo (Tang et al. 2006). Los individuos muertos, que aún no muestran signos visibles de desintegración o descomposición, no se colorearán.

La conservación de las muestras después de la tinción con rojo neutro es posible y es un compuesto barato, simple y no tóxico. La técnica de rojo neutro se ha aplicado con éxito a copépodos (Crippen y Perrier 1974) y recientemente se ha promovido su utilidad en muestras naturales de zooplancton (Elliott y Tang 2009).

### 2.3 Análisis estadístico

Con el objetivo de analizar diferencias de abundancia y mortandades de zooplancton entre sitios de muestreo se aplicó un test de ANOVA en el caso de que las variables sean paramétricas. Para esto, en primer lugar, se realizó un estudio de las variables para evaluar si cumplen los estándares paramétricos aplicando el test de Levene para corroborar los supuestos de homocedasticidad y normalidad. En el caso del primero se realizaron gráficos de dispersión de residuales vs. predichos para observar si las variables son homogéneas. Para comprobar la normalidad se aplicó el test de Shapiro-Wilks. Cuando los supuestos no fueron aceptados, se transformaron los datos aplicando  $\ln(x)$  o  $\ln(x+1)$ , a los valores de cada variable. En el caso de no poder aplicarse test paramétricos se recurrió a la prueba de Kruskal-Wallis. Este test es un método no paramétrico para probar si un grupo de datos proviene de la misma población. Intuitivamente, es idéntico al ANOVA con los datos reemplazados por categorías y es una extensión de la prueba de la U de Mann-Whitney para 3 o más grupos.

Por otra parte, para estimar la diversidad en los tres sitios se aplicaron diferentes índices: Shannon–Wiener ( $H'$ ), riqueza de Margalef ( $R$ ) y equitatividad de Pielou ( $J'$ ) teniendo en cuenta el número total de especies ( $S$ ). **El índice de Shannon-Wiener ( $H'$ )**, mide el contenido de información por individuo en muestras obtenidas al azar proveniente de una comunidad de la que se conoce el **número total de especies ( $S$ )**. También puede considerarse a la diversidad como una medida de la incertidumbre para predecir a qué

especie pertenecerá un individuo elegido al azar de una muestra de  $S$  especies y  $n$  (**número total de individuos**). Por lo tanto,  $H' = 0$  cuando la muestra contenga solo una especie, y  $H'$  será máxima cuando todas las especies  $S$  estén representadas por el mismo número de individuos.

$$\hat{H}' = - \sum_{i=1}^S \left[ \left( \frac{n_i}{n} \right) \times \log_2 \left( \frac{n_i}{n} \right) \right]$$

El **índice de Margalef** sobre riqueza de especies, se basan en la relación entre  $S$  y el ‘número total de individuos observados’ o ( $n$ ).

$$R_1 = \frac{S - 1}{\ln(n)}$$

El **índice de Pielou (1969),  $J'$** . Se calcula mediante el  $H' =$  índice de Shannon-Wiener y el  $\log_2 S =$  es la diversidad máxima ( $H' \text{ max}$ ).

$$J' = \frac{H'}{\log_2 S}$$

Por otra parte, para determinar la interrelación entre las variables ambientales (clorofila, MPS, MOP, temperatura, salinidad y pH), las abundancias específicas y mortandades relativas por estadios se aplicó un test de correlación de Pearson o de Spearman en el caso de no ser paramétrico.

Para estos análisis estadísticos se utilizaron los programas de INFOSTAT y PRIMER.

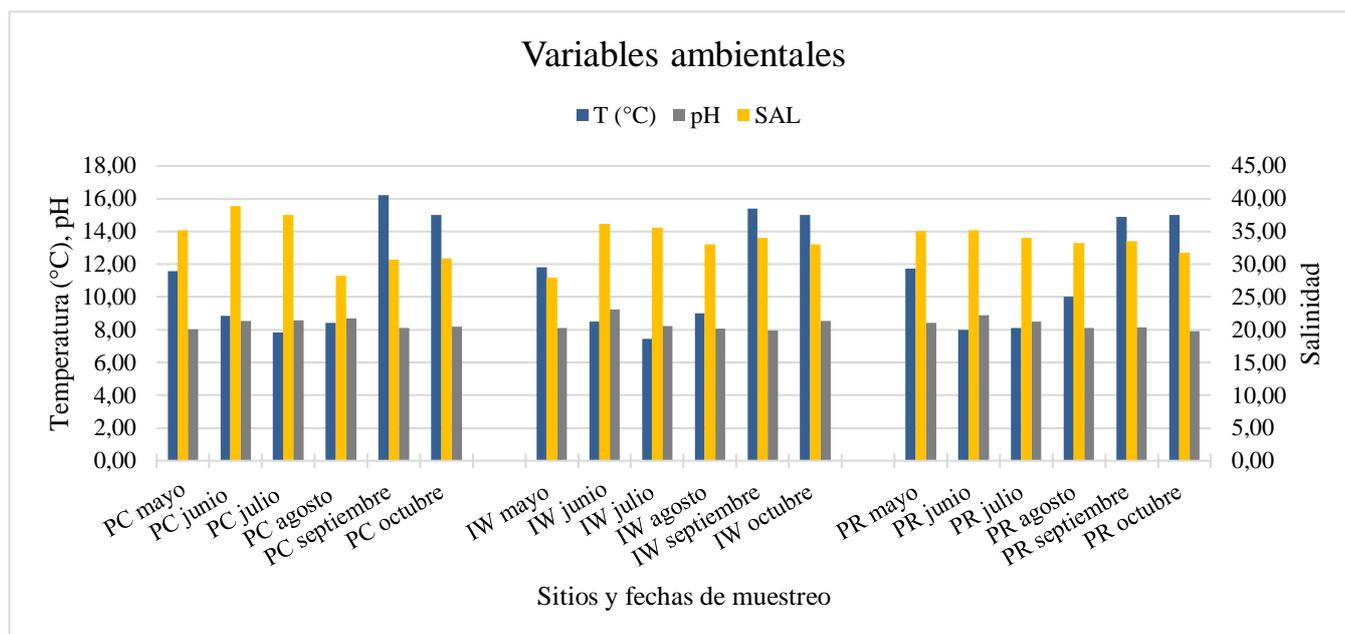
### 3. Resultados

#### 3.1 Variables ambientales

La variación de los parámetros medidos en cada sitio estudiado se muestra en la Fig. 4.1. En PC, se observa que la temperatura del agua siguió una dinámica estacional, alcanzando el máximo de 16,2°C en el mes de septiembre y el mínimo de 7,84 °C en julio. La salinidad varió entre 28,26 y 38,9. El pH se mostró homogéneo durante los meses de muestreo, con valores entre 8,04 y 8,68 en los meses de mayo y agosto respectivamente.

En IW, la temperatura mostró también una dinámica estacional, con un máximo de 15,38 °C en septiembre y un mínimo de 7,46 °C en julio. La salinidad varió entre valores de 28 en mayo y 36,19 en junio. El pH se midió entre valores de 7,96 en septiembre y 9,23 en junio.

En PR, la temperatura varió en un rango entre 8 °C en junio y 15 °C en octubre. La salinidad mostró valores que estuvieron entre 31,74 en octubre y 35,22 en junio. Durante los mismos meses el pH varió entre 7,91 y 8,88 respectivamente.



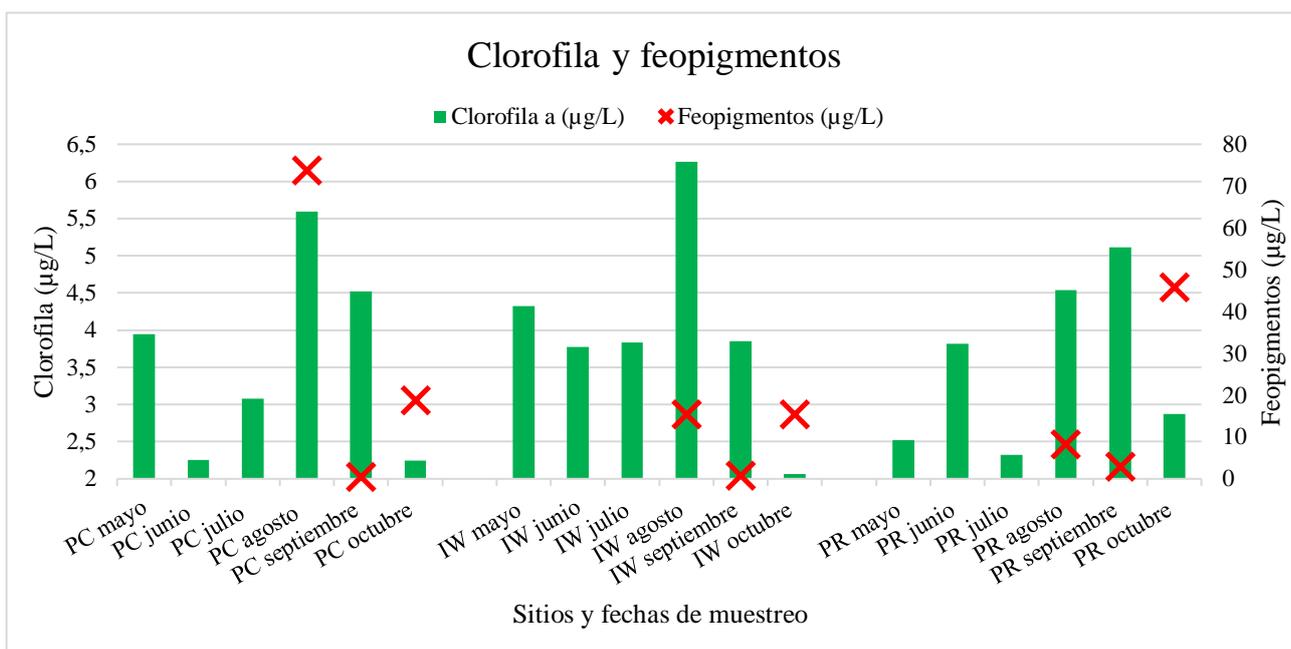
**Figura 4.1: Variables ambientales medidos en los sitios y fechas de muestreo. Temperatura, pH (eje vertical izquierdo) y salinidad (eje vertical derecho).**

Los resultados de clorofila a, feopigmentos, material particulado en suspensión (MPS) y MOP se muestran en las Fig 4.2 y 4.3. En PC se observó un máximo de clorofila a en el mes de agosto (5,6 µg/L) y un mínimo en el mes de octubre (2,24 µg/L). Los valores de feopigmentos fueron máximos en el mes de agosto con un valor de 73,72 µg/L y mínimo en septiembre con un valor de 0,37 µg/L. los valores de MPS fueron máximos en el mes de

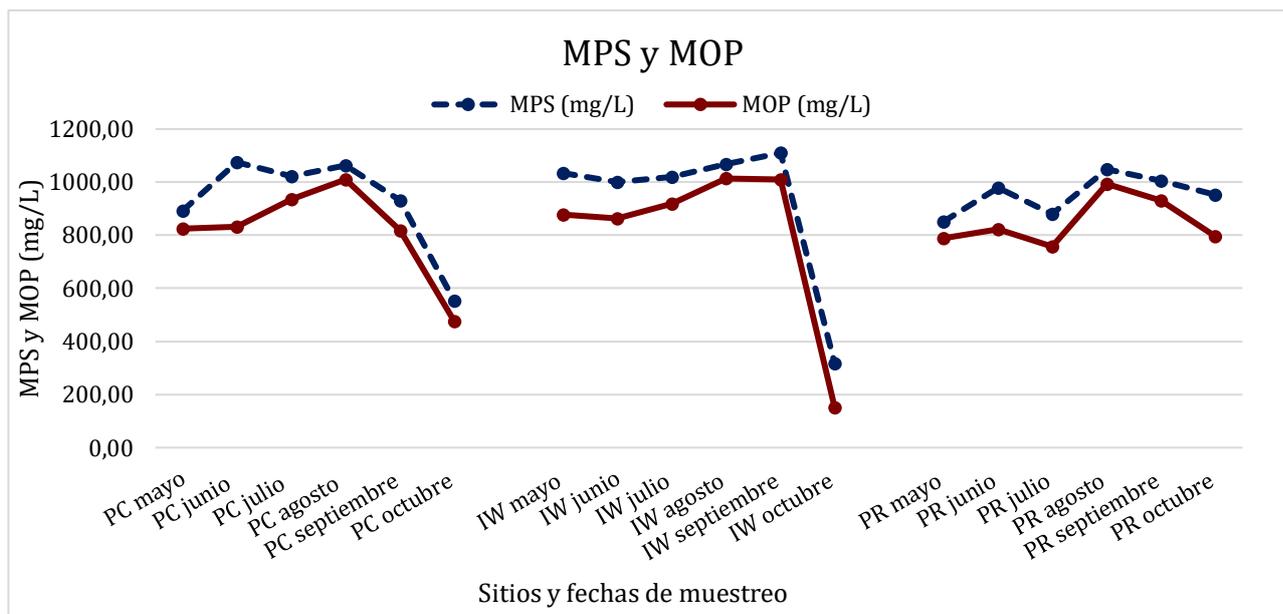
junio (1075,7 mg/L) y mínimos en el mes de octubre (552,40 mg/L). Los valores de MOP variaron entre 476,6 mg/L y 1010,20 mg/L en los meses de octubre y agosto respectivamente.

En IW, la clorofila mostro su valor máximo de 6,26  $\mu\text{g/L}$  en agosto al igual que en PC, y un valor mínimo de 2,06  $\mu\text{g/L}$  también en octubre. Los feopigmentos variaron entre 0,67  $\mu\text{g/L}$  y 15,37  $\mu\text{g/L}$  en los meses de septiembre y agosto respectivamente. Los valores de MPS alcanzaron un máximo de 1109,8 mg/L en septiembre y un mínimo de 317,2 mg/L en octubre. Los valores de MOP alcanzaron un máximo de 1013,6 mg/L en agosto y 151,8 mg/L en octubre.

En PR, los valores de clorofila se encontraron entre 2,32  $\mu\text{g/L}$  en julio y 5,11  $\mu\text{g/L}$  en septiembre. Los feopigmentos alcanzaron un máximo (45,7  $\mu\text{g/L}$ ) y mínimo (2,83  $\mu\text{g/L}$ ) en los meses de octubre y septiembre respectivamente. Los valores de MPS y MOP alcanzaron sus máximos en el mes de agosto (1047,8 mg/L y 993,6 mg/L) y sus valores mínimos en mayo en el caso de MPS (851,7 mg/L) y en julio en el caso de MOP (756,4 mg/L).



**Figura 4.2:** Clorofila a (eje vertical izquierdo) y feopigmentos (eje vertical derecho) en cada fecha y sitio de muestreo expresado en  $\mu\text{g/L}$ .



**Figura 4.3: Material particulado en suspensión y materia orgánica particulada en cada fecha y sitio de muestreo expresadas en mg/L.**

En cuanto a los vientos, se registraron valores promedios mensuales durante los meses de muestreo de: 9,6 km/h (mayo); 7,7 km/h (junio); 17,2 km/h (julio); 15,8 km/h (agosto); 14,3 km/h (septiembre); 19,8 km/h (octubre). Durante los meses de septiembre y octubre se registraron vientos fuertes predominantes del sector SO acompañado de un período lluvioso, generando mareas extraordinarias y planicies totalmente inundadas.

### 3.2 Análisis de la estructura, abundancia y diversidad del zooplancton entre sitios

#### a) Estructura y abundancia del zooplancton obtenido a partir de las capturas con la red de 200 $\mu\text{m}$

Las abundancias específicas estimadas en cada sitio de estudio (red de 200  $\mu\text{m}$ ), se muestran en las Fig. 5.1 y 5.2. Las mayores y menores abundancias se registraron durante los meses de octubre y junio en PC con un total de 4604,7 ind.  $\text{m}^{-3}$  y 7,45 ind.  $\text{m}^{-3}$  respectivamente. La comunidad zooplanctónica de PC se encontró dominada principalmente por *Acartia tonsa* durante los meses de mayo, junio, julio, septiembre y octubre, con un máximo de 3911 ind.  $\text{m}^{-3}$  durante el mes de octubre. Durante los meses de agosto y septiembre, el copépodo *Eurytemora americana* se encontró presente en la comunidad, alcanzando un máximo de 767,9 ind.  $\text{m}^{-3}$ . También se observaron, en menores proporciones,

las especies *Balanus glandula*, *Euterpina acutifrons*, *Paracalanus parvus*, *Spionidae*, *Halicyclops aff. Crassicornis*, *Tisbe sp.*, *Monstrillia sp.*, *Calanoide carinatus*, *Delavalia aff. palustris*, *Microarthridion aff. littorale*.

La comunidad de IW se encontró dominada también por *Acartia tonsa* durante los meses de mayo, julio y octubre, alcanzando un máximo de 2638,6 ind. m<sup>-3</sup> en el mes de mayo. Por otro lado, *Eurytemora americana* dominó durante el mes de agosto con un total de 460,9 ind. m<sup>-3</sup>. También se pudo observar la presencia de *Euterpina acutifrons*, *Paracalanus parvus*, *Neohelice granulata*, *Balanus glandula*, *Spionidae*, *Halicyclops aff. crassicornis*, *Tisbe sp.* y *Monstrillia sp.*

En el caso de PR, *Eurytemora americana* dominó la comunidad durante los meses de junio, julio, agosto y septiembre, con un máximo de 419,7 ind. m<sup>-3</sup> durante el mes de octubre. *Euterpina acutifrons* y *Paracalanus parvus* también se observaron en gran proporción, con un máximo durante el mes de octubre de 1938,6 ind. m<sup>-3</sup> y 628,7 ind. m<sup>-3</sup> respectivamente. Además, se encontraron presentes en la comunidad las especies *Acartia tonsa*, *Neohelice granulata*, *Balanus glandula*, *Spionidae*, *Halicyclops aff. crassicornis*, *Tisbe sp.*, *Monstrillia sp.*, *Calanoide carinatus*, *Microarthridion aff. littorale*, *Oikopleura sp.*, *Arthromysis magellanica*.

Como puede observarse en la Fig 5.2 y en la Tabla 2a, los copépodos dominaron la comunidad del zooplancton de los tres sitios con un porcentaje mayor al 80%. Para poder hacer un estudio más completo, se analizó la estructura poblacional de las 4 especies de copépodos claves del EBB: *Acartia tonsa*, *Eurytemora americana*, *Paracalanus parvus* y *Euterpina acutifrons* (Fig. 5.3). Además, en la Tabla 3a se encuentran los promedios de cada estadio en los tres sitios de estudio.

**Tabla 2a: Promedio de porcentajes que ocupan los copépodos en el total de abundancias obtenidas con la red de 200 µm en cada sitio de muestreo.**

	% de copépodos
<b>PC</b>	91,30
<b>IW</b>	81,64
<b>PR</b>	96,00

En los tres sitios de estudio la población tanto de *Acartia tonsa* como de *Eurytemora americana* se observó conformada por machos, hembras y copepoditos, mientras que *Euterpina acutifrons* y *Paracalanus parvus* solo se observaron machos y hembras. No se observaron estadios naupliares de ninguna especie.

En PC las mayores abundancias de *Acartia tonsa* correspondieron a hembras, con un máximo de 1608,8 ind. m<sup>-3</sup> en el mes de octubre. *Eurytemora americana* se compuso principalmente por copepoditos con un número máximo de 408,6 ind. m<sup>-3</sup> en el mes de agosto. La población de *Euterpina acutifrons* se observó compuesta en su mayoría por hembras, con un máximo de 188,6 ind. m<sup>-3</sup> durante el mes de agosto. En el caso de *Paracalanus parvus*, los machos dominaron la población con un máximo de 83,2 ind. m<sup>-3</sup> en agosto.

La estructura de las poblaciones de estos copépodos tuvo un comportamiento similar en IW. *Acartia tonsa* se encontró dominada por las hembras, con un máximo de 1319,3 ind. m<sup>-3</sup> en el mes de mayo. En *Eurytemora americana* los copepoditos fueron los más abundantes alcanzando su máximo de 317,9 ind. m<sup>-3</sup> durante el mes de agosto. *Euterpina acutifrons* fue dominada por las hembras, con un máximo de 174,85 ind. m<sup>-3</sup> durante mayo. La especie *Paracalanus parvus* fue también dominada por los machos al igual que PC con un máximo de 63,5 ind. m<sup>-3</sup> en julio y septiembre.

En el caso de PR, la población de *Acartia tonsa*, *Eurytemora americana* y *Euterpina acutifrons* se encontró dominada por los mismos individuos que PC e IW. *Acartia tonsa* alcanzó sus mayores abundancias de hembras con un máximo de 52,3 ind. m<sup>-3</sup> en el mes de octubre. *Eurytemora americana* fue dominada por copepoditos con un máximo de 317,3 ind. m<sup>-3</sup> en junio. En *Euterpina acutifrons* la mayoría fueron hembras alcanzando su máximo en octubre con 1938,6 ind. m<sup>-3</sup>. *Paracalanus parvus*, en cambio, se comportó como una población dominada por hembras con un máximo de 628,7 ind. m<sup>-3</sup> en octubre.

Los resultados estadísticos demostraron que en las capturas obtenidas con la red de 200 µm no existieron diferencias significativas en la abundancia total de individuos entre los tres sitios (ANOVA,  $p = 0,59$ ,  $\alpha = 0,05$ ).

#### **b) Estructura y abundancia del zooplancton obtenido a partir de las capturas con la red de 60 µm**

Las abundancias específicas estimadas en cada sitio de estudio (red de 60 µm), se muestran en la Fig. 6.1 y 6.2. En las capturas obtenidas con esta red se observaron las mayores abundancias en el mes de octubre en PC (36893,3 ind. m<sup>-3</sup>). Las menores abundancias de ejemplares se observaron en PR durante el mes de mayo con un total de 26,7 ind. m<sup>-3</sup>.

En PC *Acartia tonsa* estuvo presente durante todos los meses de muestro, con un máximo de 36893,3 ind. m<sup>-3</sup> en octubre, el cual coincide con el máximo de todas las capturas. Por otro lado, *Eurytemora americana* se observó con un máximo de 673,6 ind. m<sup>-3</sup> en el mes de septiembre. En este sitio de estudio también se hallaron *Euterpina acutifrons*, *Delavalia palustris* y *Balanus glandula*.

En el caso de IW, *Acartia tonsa* también se observó durante todos los meses de muestreo, con un máximo de 619,9 ind. m<sup>-3</sup> en el mes de mayo. En segundo lugar, se encontró a la especie *Euterpina acutifrons* alcanzando un máximo de 302 ind. m<sup>-3</sup> en el mes de septiembre. Además, se hallaron ejemplares de las especies *Eurytemora americana*, *Paracalanus parvus*, *Balanus glandula*, *Harpacticoideo nn* y *Neohelice granulata*.

Por último, PR se observó un máximo 3086,6 ind. m<sup>-3</sup> de la especie *Acartia tonsa* en el mes de septiembre. En el mismo mes, el copépodo *Euterpina acutifrons* alcanzó un máximo de 1671,9 ind. m<sup>-3</sup>. Ambas especies se encontraron presentes en los seis meses de muestreo. También en gran abundancia se encontraron individuos de *Eurytemora americana*, *Paracalanus parvus*, *Harpacticoideo nn*, *Calanoides carinatus*, *Tisbe sp.*, *Neohelice granulata*, *Oikopleura sp.* y *Balanus glandula*.

En la Fig. 6.2 y en la Tabla 2b puede observarse que los copépodos conforman más del 90% de las abundancias totales. Por este motivo, al igual que con la red de 200 µm, se analizó la población de las especies *Acartia tonsa*, *Eurytemora americana*, *Euterpina acutifrons* y *Paracalanus parvus* capturadas con la red de 60 µm (Fig. 6.3). Además, en la Tabla 3b se muestran los promedios de cada estadio en los sitios estudiados.

**Tabla 2b: Promedio de porcentajes que ocupan los copépodos en el total de abundancias obtenidas con la red de 60 µm en cada sitio de muestreo.**

	% de copépodos
<b>PC</b>	97,06
<b>IW</b>	90,72
<b>PR</b>	97,44

Las especies *Acartia tonsa* y *Euterpina acutifrons* se hallaron presentes en todos los estadios (adultos, copepoditos y nauplii), en cambio de la población de *Paracalanus parvus* solo se observaron machos y hembras. En el caso de *Eurytemora americana* se observaron machos, hembras y copepoditos. Un análisis detallado en cada sitio por separado mostró las siguientes diferencias.

En PC, la población de copépodos se encontró dominada por nauplii de *Acartia tonsa* con un máximo en el mes de octubre de 34008,4 ind. m<sup>-3</sup>. *Eurytemora americana* fue dominada por copepoditos alcanzando un máximo de 336,8 ind. m<sup>-3</sup> en el mes de septiembre. *Euterpina acutifrons* fue observada en este sitio durante el mes de junio solo en estadios de copepoditos, siendo el máximo de 15,6 ind. m<sup>-3</sup>. *Paracalanus parvus* no se encontró presente en el sitio de estudio.

En IW *Acartia tonsa* también se encuentra conformada en su mayoría por nauplii y alcanzó el máximo de 1112,6 ind. m<sup>-3</sup> en octubre. Al igual que en PC, *Eurytemora americana* y *Euterpina acutifrons* fueron dominadas por copepoditos. *Eurytemora americana* alcanzó un máximo de 31,8 ind. m<sup>-3</sup> durante los meses de agosto y septiembre y *Euterpina acutifrons* un máximo de 238,4 ind. m<sup>-3</sup> en septiembre. *Paracalanus parvus* solo se halló presente en el mes de octubre con un máximo de 333,8 ind. m<sup>-3</sup> de adultos machos.

En PR, tanto *Acartia tonsa* como *Euterpina acutifrons* se encontraron presentes mayoritariamente en estadio de nauplii. *Acartia tonsa* alcanzó su máximo de 2657,9 ind. m<sup>-3</sup> en septiembre y *Euterpina acutifrons* llegó a 1500 ind. m<sup>-3</sup> en el mismo mes. *Eurytemora americana*, al igual que en los otros dos sitios, fue dominada por copepoditos y alcanzó un máximo de 514,4 ind. m<sup>-3</sup> en el mes de septiembre. *Paracalanus parvus* solo se observó en el mes de septiembre con 85,7 ind. m<sup>-3</sup> con predominio de machos.

Los resultados estadísticos demostraron que en las capturas obtenidas con la red de 60 µm no existieron diferencias significativas en la abundancia total de individuos entre los tres sitios (ANOVA,  $p = 0,61$ ,  $\alpha = 0,05$ ).

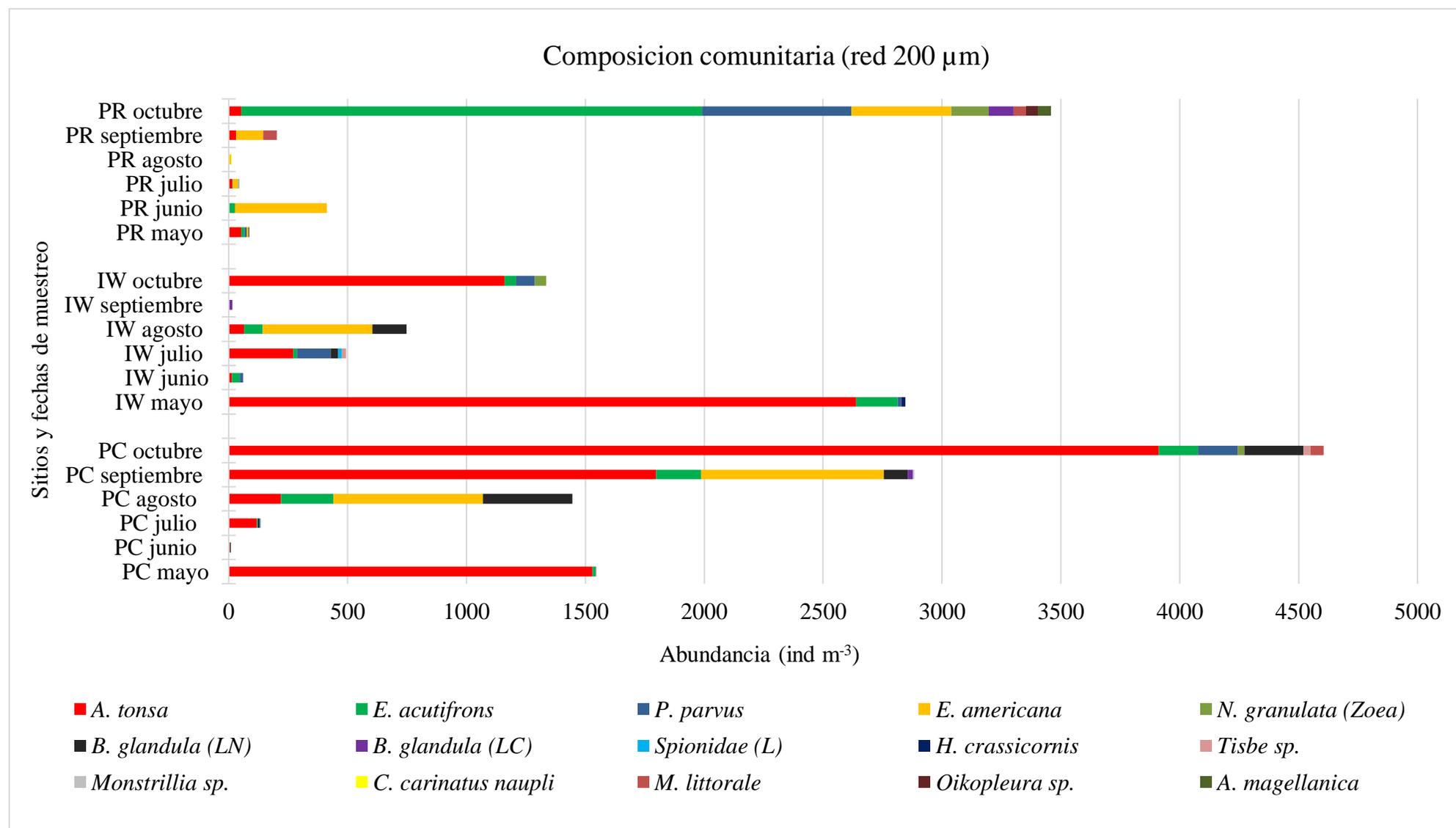


Figura 5.1: Composición comunitaria (red 200  $\mu$ m). Las abundancias del zooplankton se expresan en ind. m<sup>-3</sup> (LN = larva nauplii, LC = larva cypris, L = larva).

## Composicion comunitaria (red 200 µm)

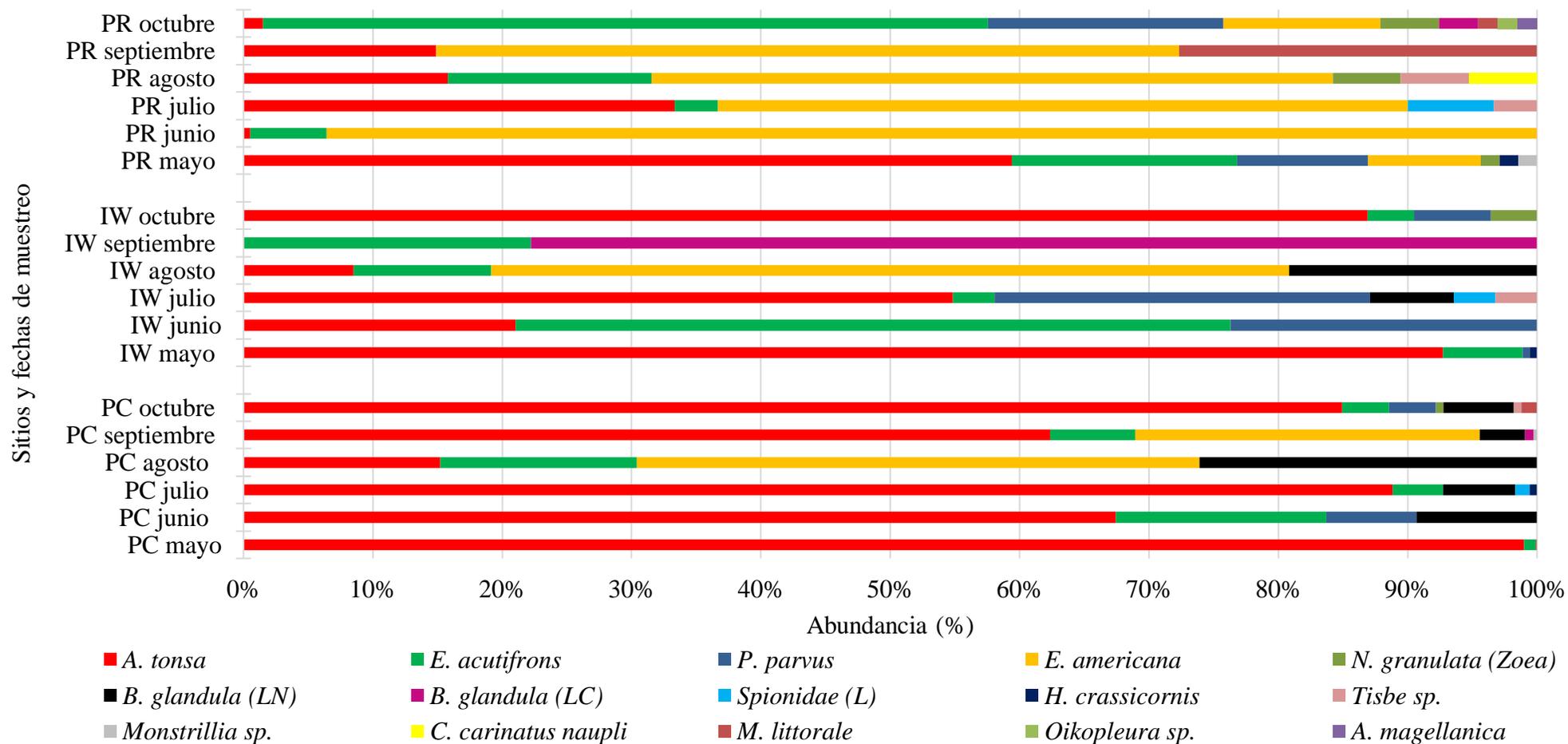
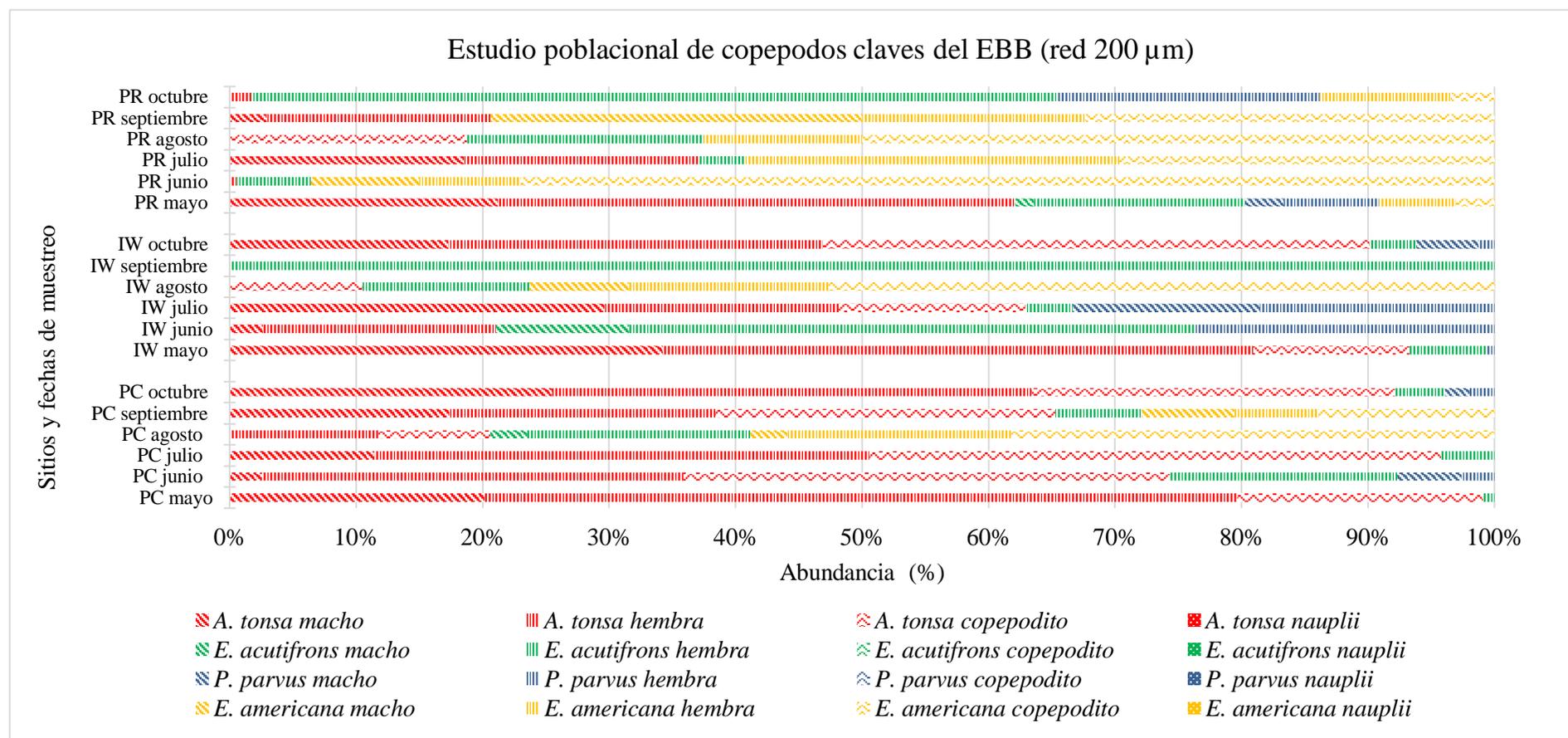


Figura 5.2: Composición comunitaria (red 200 µm). Las abundancias del zooplancton se expresan en porcentaje (%) (LN = larva nauplii, LC = larva cypris, L = larva).

**Tabla 3a: Promedio de abundancias (ind. m<sup>-3</sup>) de las especies *Acartia tonsa*, *Euterpina acutifrons*, *Paracalanus parvus* y *Eurytemora americana* en los tres sitios de muestreo obtenidas con la red de 200  $\mu$ m. M = macho; H = hembra; C = copepodito; N = nauplii.**

	A. <i>tonsa</i> (M)	A. <i>tonsa</i> (H)	A. <i>tonsa</i> (C)	A. <i>tonsa</i> (N)	E. <i>acutifrons</i> (M)	E. <i>acutifrons</i> (H)	E. <i>acutifrons</i> (C)	E. <i>acutifrons</i> (N)	P. <i>parvus</i> (M)	P. <i>parvus</i> (H)	P. <i>parvus</i> (C)	P. <i>parvus</i> (N)	E. <i>americana</i> (M)	E. <i>americana</i> (H)	E. <i>americana</i> (C)	E. <i>americana</i> (N)
PC	314,17	547,31	402,24	0,00	5,24	93,99	0,00	0,00	13,93	13,90	0,00	0,00	38,92	61,75	132,11	0,00
IW	220,15	298,57	172,20	0,00	1,06	58,02	0,00	0,00	21,19	20,93	0,00	0,00	7,95	15,90	52,99	0,00
PR	4,91	20,32	0,28	0,00	0,21	330,00	0,00	0,00	0,42	105,85	0,00	0,00	13,02	65,21	81,37	0,00



**Figura 5.3: Estudio poblacional de copéodos claves del EBB (red 200  $\mu$ m). Las abundancias de sexo y estadios (macho, hembras, copepoditos y nauplii) de las especies *Acartia tonsa*, *Euterpina acutifrons*, *Paracalanus parvus* y *Eurytemora americana* se expresan en porcentaje (%).**

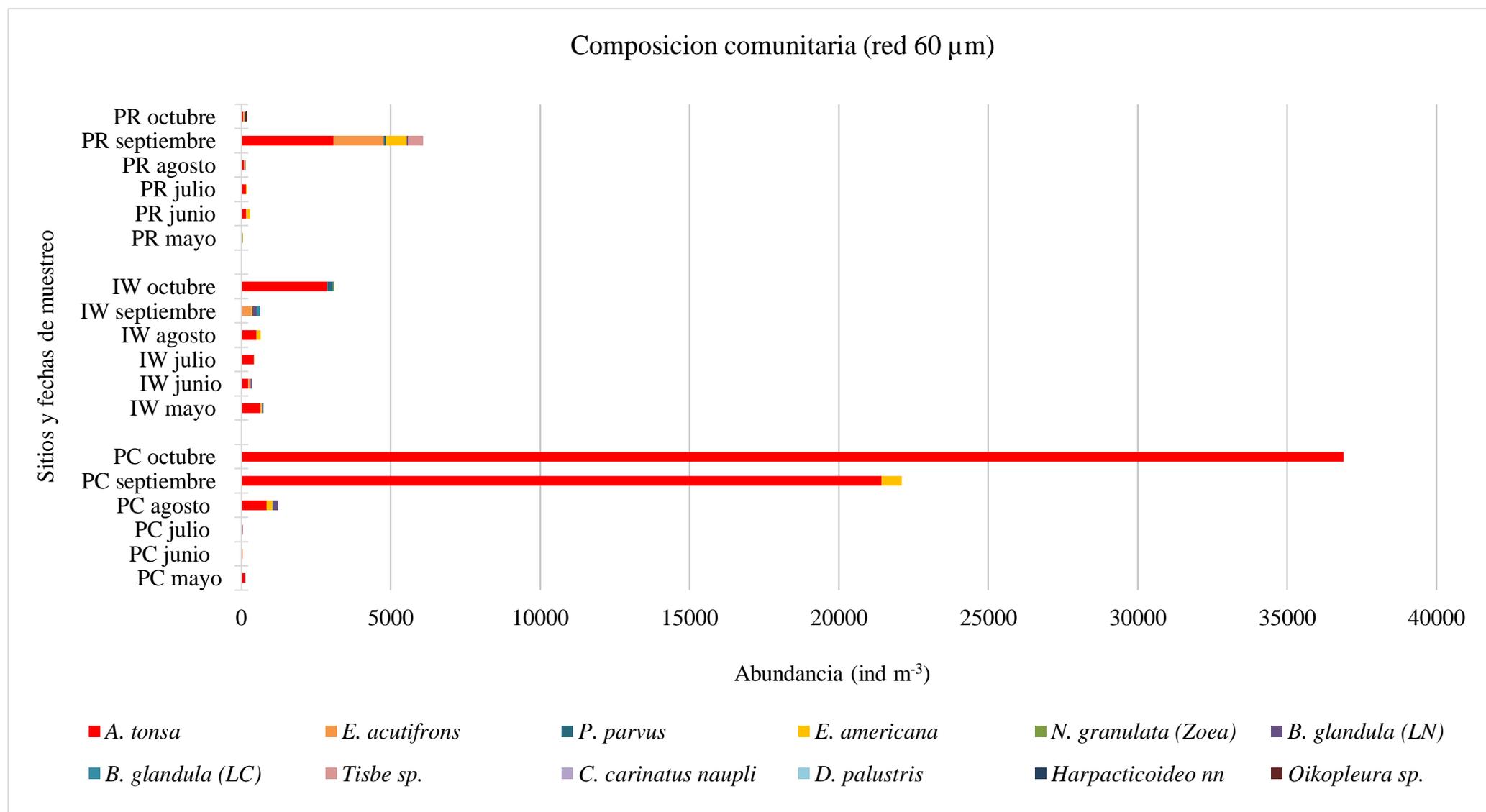


Figura 6.1: Composición comunitaria (red 60  $\mu\text{m}$ ). Las abundancias del zooplancton se expresan en ind.  $\text{m}^{-3}$  (LN = larva nauplii, LC = larva cypris).

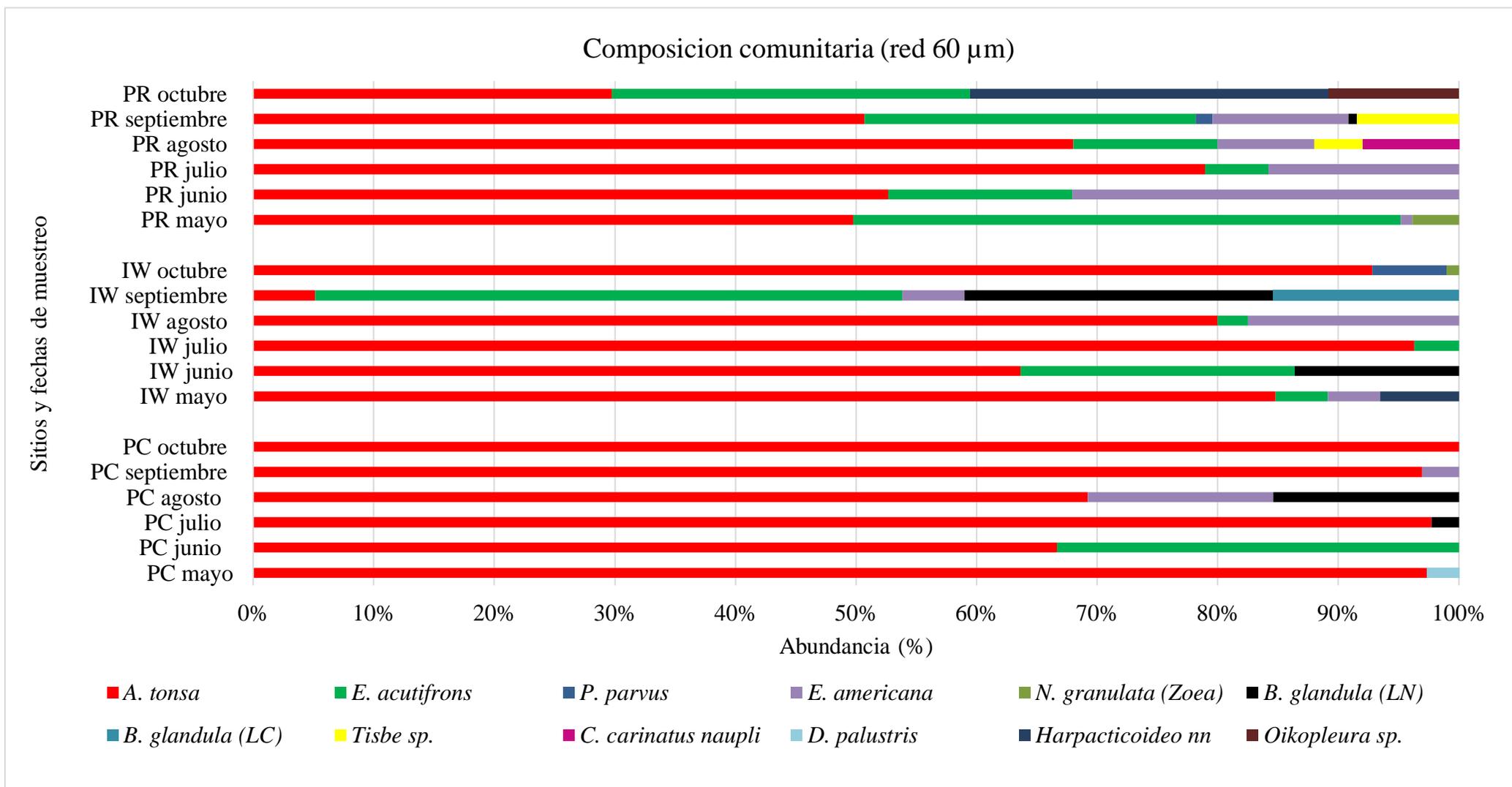
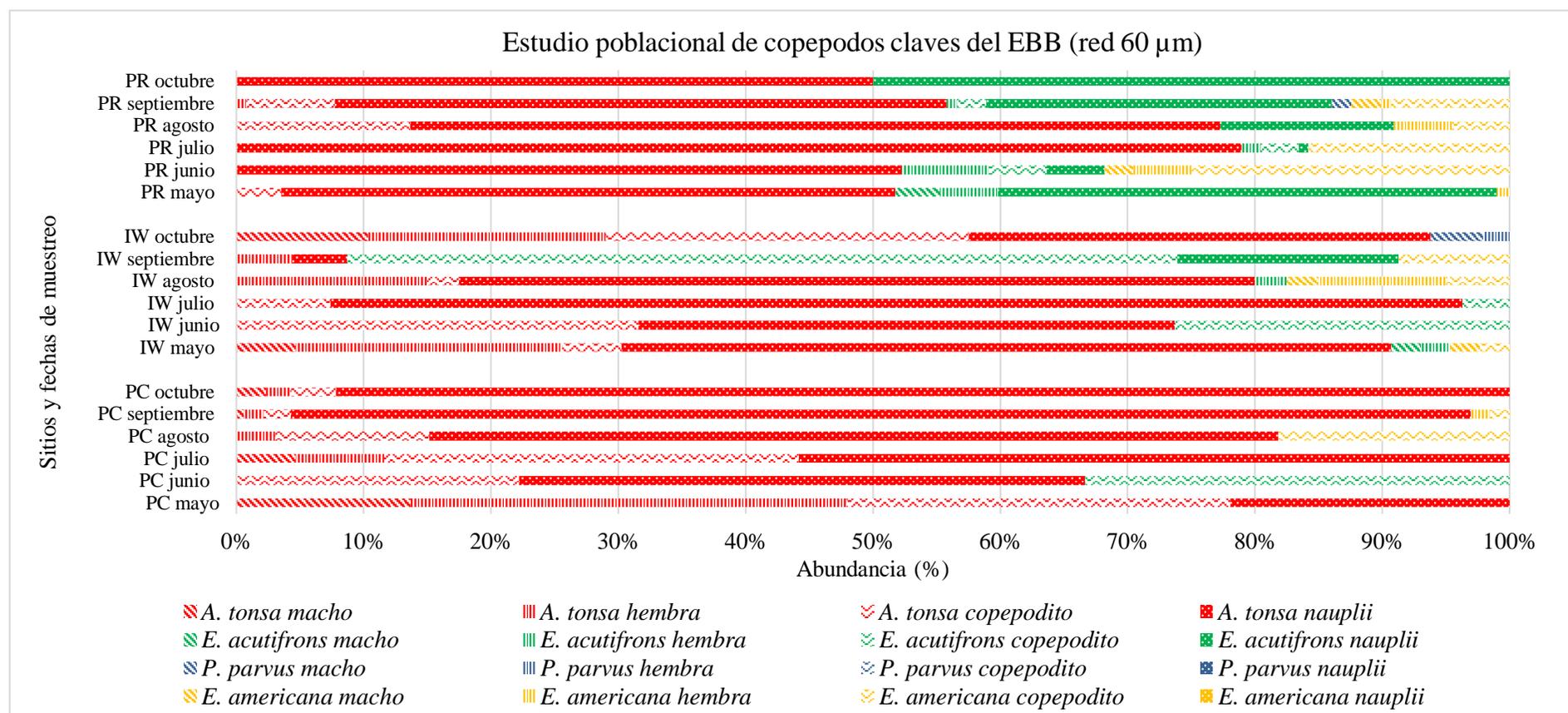


Figura 6.2: composición comunitaria (red 60 µm). Las abundancias del zooplancton se expresan en porcentaje (%) (LN = larva nauplii, LC = larva cypris).

**Tabla 3b: Promedio de abundancias (ind. m<sup>-3</sup>) de las especies *Acartia tonsa*, *Euterpina acutifrons*, *Paracalanus parvus* y *Eurytemora americana* en los tres sitios de muestreo obtenidas con la red de 60  $\mu$ m. M = macho; H = hembra; C = copepodito; N = nauplii.**

	A. <i>tonsa</i> (M)	A. <i>tonsa</i> (H)	A. <i>tonsa</i> (C)	A. <i>tonsa</i> (N)	E. <i>acutifrons</i> (M)	E. <i>acutifrons</i> (H)	E. <i>acutifrons</i> (C)	E. <i>acutifrons</i> (N)	P. <i>parvus</i> (M)	P. <i>parvus</i> (H)	P. <i>parvus</i> (C)	P. <i>parvus</i> (N)	E. <i>americana</i> (M)	E. <i>americana</i> (H)	E. <i>americana</i> (C)	E. <i>americana</i> (N)
PC	168,60	183,77	330,58	9207,13	0,00	0,00	2,60	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	56,14	87,58	0,00
IW	58,28	137,76	174,85	407,99	2,65	5,30	55,63	10,60	21,19	10,60	0,00	0,00	5,30	10,60	13,25	0,00
PR	0,00	7,14	67,26	519,17	0,15	11,14	24,63	266,58	14,29	0,00	0,00	0,00	22,54	10,33	104,02	0,00



**Figura 6.3: Estudio poblacional de copépodos claves del EBB (red 60  $\mu$ m). Las abundancias de sexo y estadios (macho, hembras, copepoditos y nauplii) de las especies *Acartia tonsa*, *Euterpina acutifrons*, *Paracalanus parvus* y *Eurytemora americana* se expresan en porcentaje (%).**

### c) Diversidad del mesozooplancton

En la Tabla 4 se muestran los índices utilizados para estimar la diversidad, equitatividad y riqueza de especies de la comunidad del mesozooplancton en cada sitio de muestreo.

**Tabla 4: Índices de diversidad en los sitios y meses de muestreo, donde: S = número de especies; n = total de individuos; d = índice de riqueza de Margalef; J = índice de equitatividad de Pielou; H = índice de diversidad específica de Shannon-Wiener.**

	<b>S</b>	<b>n</b>	<b>d</b>	<b>J</b>	<b>H</b>
<b>PC mayo</b>	3	1546,13	0,27	0,05	0,08
<b>PC junio</b>	4	7,45	1,49	0,70	1,40
<b>PC julio</b>	5	131,28	0,82	0,29	0,68
<b>PC agosto</b>	4	1446,14	0,41	0,93	1,85
<b>PC septiembre</b>	6	2883,31	0,63	0,55	1,43
<b>PC octubre</b>	7	4604,73	0,70	0,33	0,94
<b>IW mayo</b>	4	2845,31	0,38	0,22	0,43
<b>IW junio</b>	3	60,40	0,49	0,91	1,44
<b>IW julio</b>	6	492,76	0,81	0,67	1,73
<b>IW agosto</b>	4	747,09	0,45	0,77	1,53
<b>IW septiembre</b>	2	14,30	0,37	0,76	0,76
<b>IW octubre</b>	4	1335,23	0,42	0,38	0,76
<b>PR mayo</b>	7	87,23	1,34	0,64	1,80
<b>PR junio</b>	3	412,07	0,33	0,23	0,37
<b>PR julio</b>	5	46,26	1,04	0,73	1,69
<b>PR agosto</b>	6	10,67	2,11	0,77	1,99
<b>PR septiembre</b>	3	201,49	0,38	0,87	1,38
<b>PR octubre</b>	9	3458,17	0,98	0,63	2,01

En PC se observó un total individuos en un amplio rango desde 7,45 ind. m<sup>-3</sup> en junio a 4604,73 ind. m<sup>-3</sup> en el mes de octubre. El número de especies se encontró entre 3 y 7. El índice de diversidad varió entre 0,08 en el mes de mayo y 1,85 en agosto. En los mismos meses, el índice de equitatividad mostró valores entre 0,05 y 0,93, respectivamente. La riqueza en este sitio mostró valores entre 0,27 y 1,49 durante los meses de mayo y junio respectivamente.

En IW, el número de individuos varió entre 14,30 ind. m<sup>-3</sup> en el mes de septiembre y 2845,31 ind. m<sup>-3</sup> en el mes de mayo. El número de especies se encontró entre 2 y 6. La diversidad específica se encontró entre 0,43 en mayo y 1,73 en julio. La equitatividad mostró valores entre 0,22 en mayo y 0,91 en junio. El índice de riqueza mostró valores que estuvieron entre 0,37 en septiembre y 0,81 en julio.

En PR se encontraron un total de individuos entre 10,67 ind. m<sup>-3</sup> en el mes de agosto y 3458,17 ind. m<sup>-3</sup> durante el mes de octubre. El número de especies varió entre 3 y 9. El índice de diversidad específica mostró valores entre 0,37 en junio y 2,01 en octubre. La equitatividad se encontró en un rango de 0,23 en junio y 0,87 en septiembre. Por último, la riqueza se encontró en un rango desde 0,33 en junio a 2,11 en agosto.

### 3.3 Eficiencia de captura teniendo en cuenta redes de zooplancton con diferente tamaño de poro (200 µm y 60 µm)

En primer lugar, se expresó en porcentaje el promedio de ejemplares adultos (machos y hembras) y estadios larvales (copepoditos y nauplii) de cada especie capturados con cada red (Tabla 5a y b). Como puede observarse en los resultados, en la red de 200 µm se encontraron mayores porcentajes de adultos en los tres sitios de muestreo, mientras que en la red de 60 µm la mayoría de los ejemplares fueron estadios larvales.

**Tabla 5a: porcentajes de ejemplares adultos y larvales obtenidos con la captura de la red de 200 µm.**

	porcentaje adultos (%)	porcentaje larvas (%)
<b>PC</b>	58,53	41,40
<b>IW</b>	61,98	38,02
<b>PR</b>	63,56	36,44

**Tabla 5b: porcentajes de ejemplares adultos y larvales obtenidos con la captura de la red de 60 µm.**

	porcentaje adultos (%)	porcentaje larvas (%)
<b>PC</b>	11,85	88,15
<b>IW</b>	17,40	82,60
<b>PR</b>	14,41	85,59

Si bien no se encontraron diferencias significativas en las abundancias totales entre los sitios de estudio, se realizó un análisis estadístico para evaluar si hubo diferencias significativas en las abundancias de los estadios de cada especie entre las redes.

Los resultados de ANOVA mostraron que en los tres sitios de estudio hay diferencias significativas entre las redes en las nauplii de *Acartia tonsa* (PC:  $p = 0,0017$ ; IW:  $p < 0,0001$ ; PR:  $p < 0,0001$ ;  $\alpha = 0,05$ ). Además, en PR se encontraron diferencias significativas en las nauplii de *Euterpina acutifrons* ( $p = 0,0036$ ,  $\alpha = 0,05$ ). El resto de las especies no mostraron diferencias significativas entre las redes.

### 3.4 Mortandad relativa del zooplancton entre sitios de muestreo

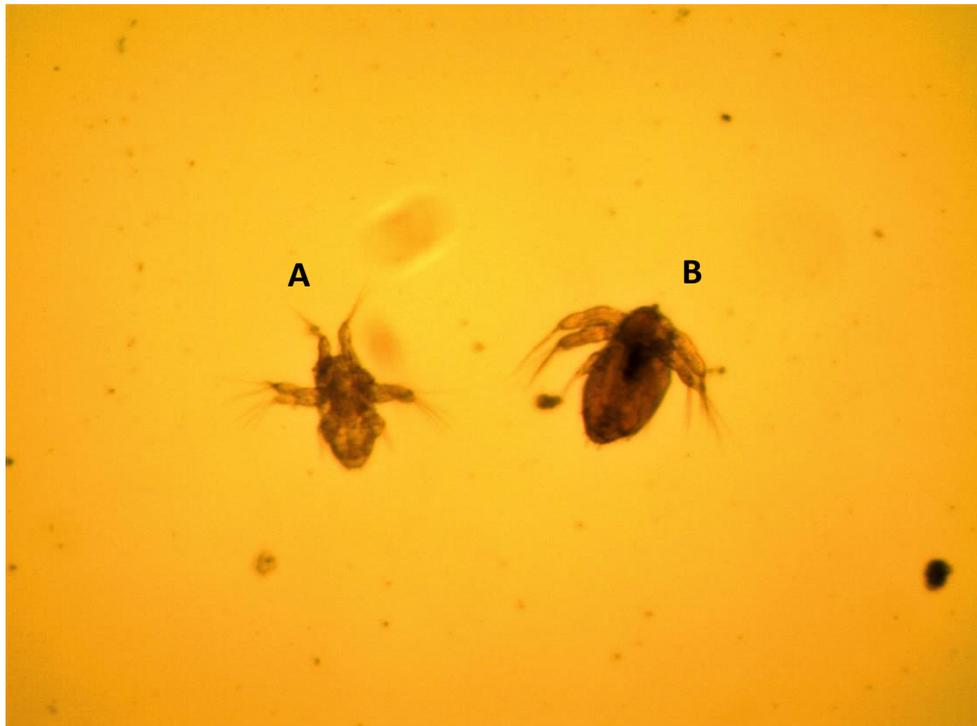
Luego de la observación de las muestras, se pudo ver que las diferentes especies de zooplancton presentes en las capturas no respondieron de la misma manera a la técnica de tinción del rojo neutro. Se observó tinción solo en las especies *Acartia tonsa* y *Eurytemora americana*, tanto en machos, hembras, copepoditos y nauplii (ver Fig. 7.1, 7.2, 7.3 y 7.4). Además, se observaron ejemplares aplastados, los cuales no fueron teñidos (Fig. 7.5 y Fig 7.6). El resto de las especies de zooplancton, si bien se observaban en buenas condiciones morfológicas, no presentaron coloración (ver Fig. 7.7)



**Figura 7.1:** Registro fotográfico de ejemplares en octubre del 2018 en IW (red 60  $\mu\text{m}$ ). A: hembra de *Acartia tonsa* teñida. B: macho de *Acartia tonsa* no teñido.



**Figura 7.2:** Registro fotográfico de ejemplares observados en mayo de 2018 en PR (red 200  $\mu\text{m}$ ).  
A: *Acartia tonsa* hembra teñida. B: *Acartia tonsa* hembra no teñida.



**Figura 7.3:** Registro fotográfico de ejemplares observados en octubre 2018 en PC (red 60  $\mu\text{m}$ ). A:  
nauplius de *Acartia tonsa* no teñida. B: nauplius de *Acartia tonsa* teñida.



**Figura 7.4:** Registro fotográfico de un ejemplar hembra de *E. americana* teñida. La muestra corresponde a mayo del 2018 en PR (red 60  $\mu\text{m}$ ).



**Figura 7.5:** Registro fotográfico de ejemplares aplastados de *Acartia tonsa*. La muestra corresponde a mayo en IW (red 200  $\mu\text{m}$ ).

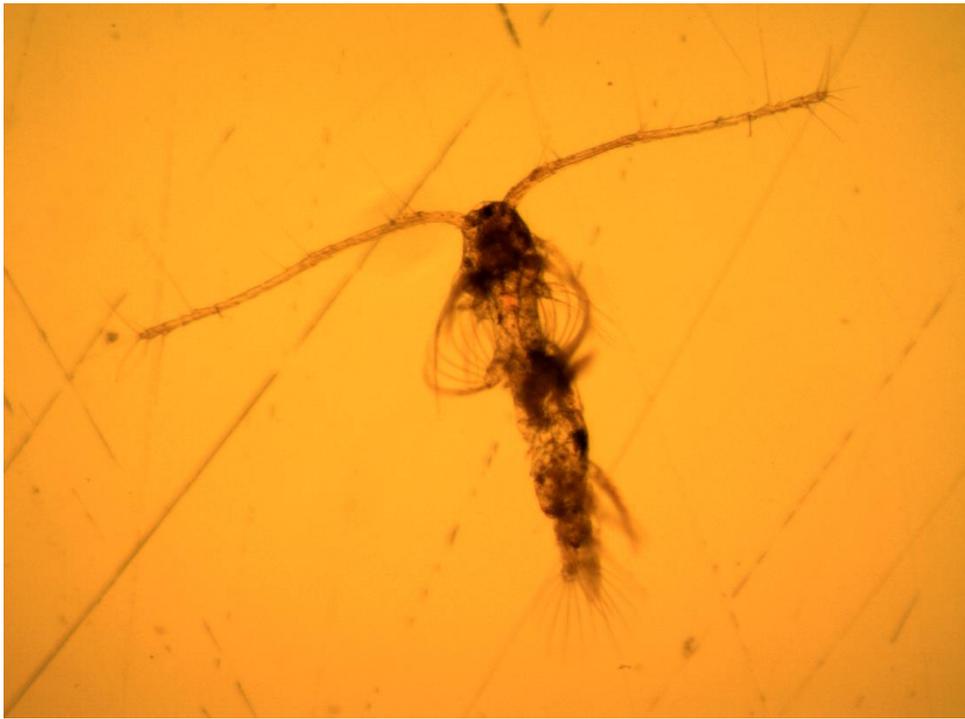


Figura 7.6: Registro fotográfico de un ejemplar de *Acartia tonsa*. La muestra corresponde a mayo del 2018 en IW (red 200  $\mu\text{m}$ ).

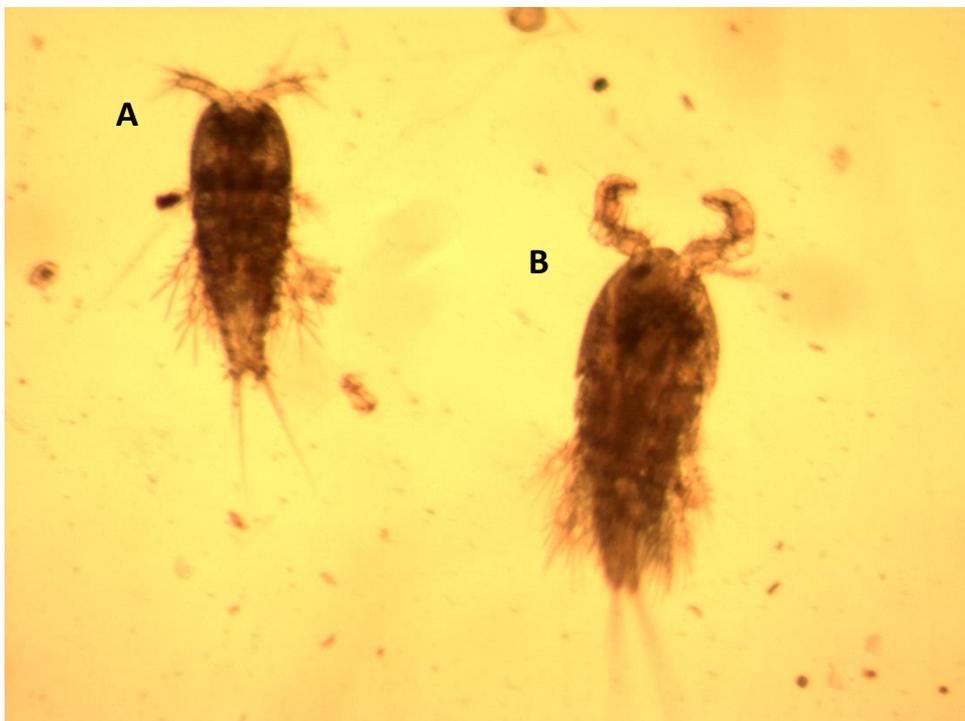


Figura 7.7: Registro fotográfico de ejemplares observados en mayo del 2018 en PR (red 60  $\mu\text{m}$ ).  
A: *Microarthridion aff. littorale* no teñido. B: *Halicyclops aff. crassicornis* no teñido.

Además, para poder evaluar la efectividad en la técnica utilizada, se procedió a colocar rojo neutro a una muestra ya fijada con formalina al 4%. En la Fig. 7.8 se observa la muestra formolizada antes de la coloración. En las Fig 7.9 y Fig. 7.10 se observa la muestra luego de la coloración. Si bien el agua de la muestra fue coloreada, los ejemplares no presentaron tinción.



**Figura 7.8: Registro fotográfico de muestra formolizada sin rojo neutro.**



**Figura 7.9: Registro fotográfico de muestra formolizada con posterior coloración de rojo neutro.**



**Figura 7.10: Registro fotográfico de un ejemplar fijado con formalina 4% y posterior coloración con rojo neutro.**

Dado que los copépodos constituyeron más del 80% de las muestras observadas en todos los sitios y que mayoritariamente las especies presentes y teñidas fueron *Acartia tonsa* y *Eurytemora americana*, se hizo un análisis más profundo en estos organismos. Por otra parte, a partir de los resultados anteriores, se observa una importante evasión de adultos en las redes de 60  $\mu\text{m}$ , por lo tanto, para este análisis se tuvo en cuenta las abundancias de adultos (machos y hembras) obtenidos mediante la captura de redes de 200 $\mu\text{m}$  y las abundancias de los estadios larvales (copepoditos y nauplii) de las capturas de las redes de 60 $\mu\text{m}$  para las dos especies. Los resultados obtenidos se muestran en la Fig. 8.1 y 8.2 para *Acartia tonsa* y en la Fig. 9.1 y 9.2 para *Eurytemora americana*.

En PC, se observó que la mortandad de *Eurytemora americana* se dio en los meses de agosto y septiembre con un porcentaje del 15% en cada mes. Estos ejemplares fueron copepoditos con una mortandad relativa de 0,33 y hembras con una mortandad relativa de 0,15. En el caso de *Acartia tonsa*, las mayores mortandades ocurrieron en los meses de junio y octubre, con porcentajes de 97% y 75% respectivamente. Los estadios que más se observaron muertos de esta especie fueron los copepoditos, nauplii y machos. En los meses de mayo y junio se encontraron mortandades relativas iguales a 1 para estos estadios.

En IW, se observaron mortandades de *Eurytemora americana* del 100% durante los meses de mayo y septiembre, las cuales correspondieron en su totalidad a copepoditos. En el caso de *Acartia tonsa*, se observaron mortandades mayores al 60% en los meses de junio y julio. Durante estos dos meses, se encontraron mortandades relativas iguales a 1 de los cuatro estadios. Además, se observaron mortandades relativas altas e iguales a 1 durante los meses de septiembre y octubre.

En PR, se encontró en *Eurytemora americana* mortandades del 100% en mayo y del 35% y 25% en los meses de junio, julio y octubre. Las mismas se correspondieron a hembras y copepoditos. En cuanto *Acartia tonsa*, se observaron mortandades del 50% y 70% durante mayo y octubre. Los cuatro estadios se vieron perjudicados con mortandades, pero las nauplii fueron las que mayores mortandades relativas mostraron. En menores valores, también los machos y las hembras se observaron muertos en este sitio.

El análisis estadístico mostró que en el caso de *Eurytemora americana* no hay diferencias significativas en la mortandad de ningún estadio entre los sitios de estudio (Kruskall Wallis,  $p > 0,05$ ,  $\alpha = 0,05$ ). En cambio, en *Acartia tonsa* se encontraron diferencias significativas entre los sitios en los copepoditos:

Variable	Sitio	H	p
% MORTANDAD COPEPODITOS	IW	6,47	0,0311
% MORTANDAD COPEPODITOS	PC		
% MORTANDAD COPEPODITOS	PR		

PR	A	
IW	A	B
PC		B

Estos resultados mostraron que PC se diferencia de PR, en cambio IW sería un caso intermedio entre ambos sitios. En el resto de los estadios de esta especie no se encontraron diferencias significativas (Kruskall Wallis,  $p > 0,05$ ,  $\alpha = 0,05$ ).

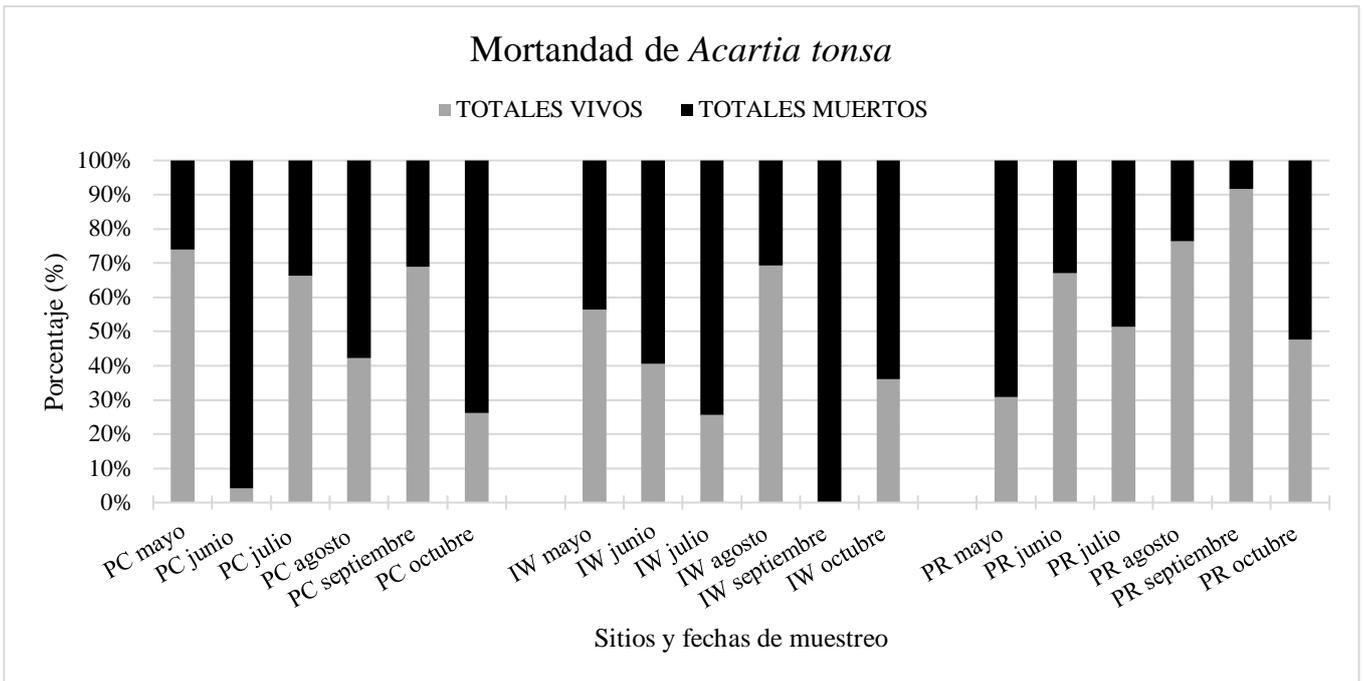


Figura 8.1: Mortandad de *Acartia tonsa* en los sitios y fechas de muestreo.

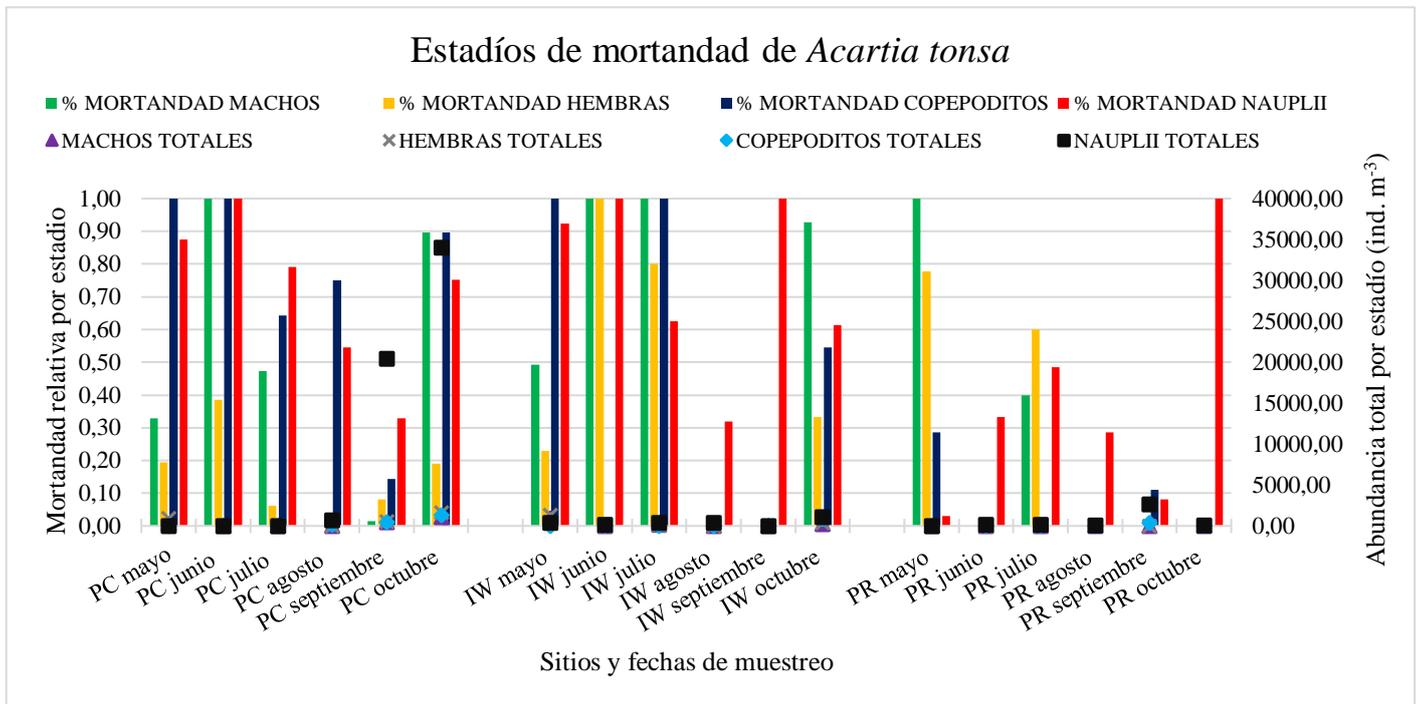


Figura 8.2: Mortandad en los estadios de *Acartia tonsa* en los sitios y fechas de muestreo. Además, en el eje vertical derecho se muestran las abundancias totales de cada estadio (ind. m<sup>-3</sup>).

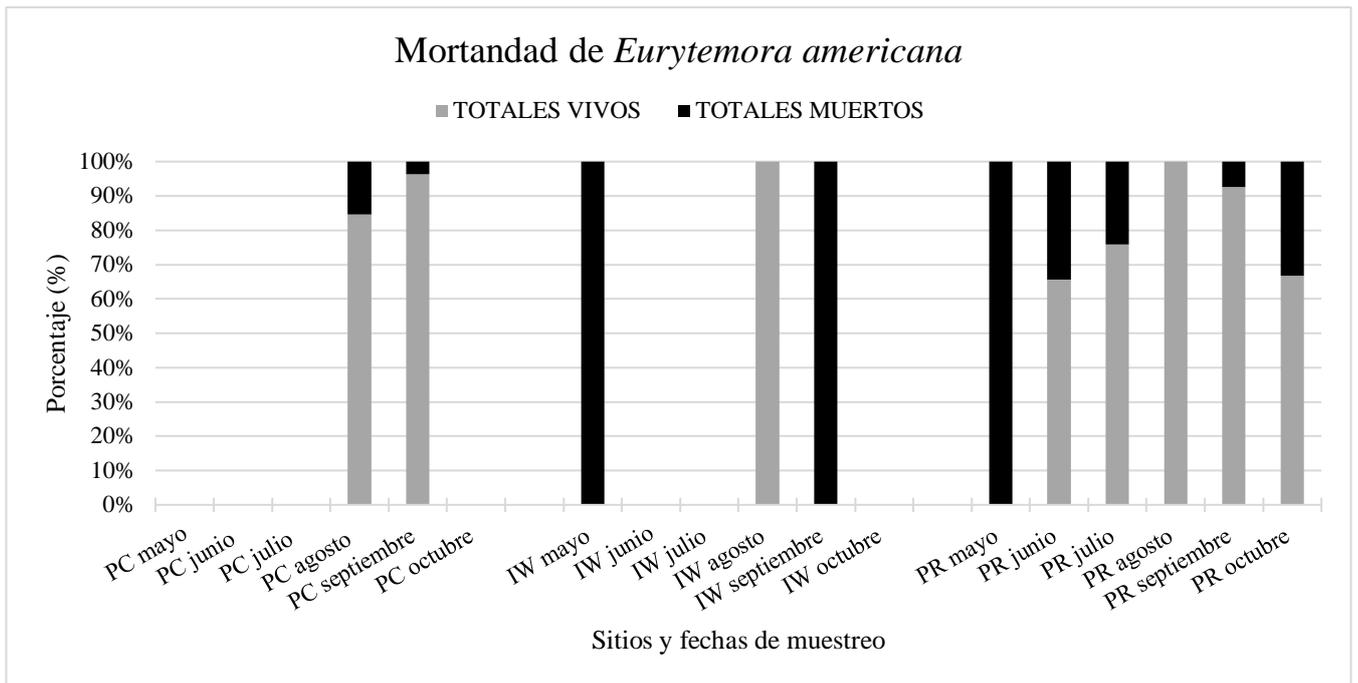


Figura 9.1: Mortandad de *Eurytemora americana* en los sitios y fechas de muestreo.

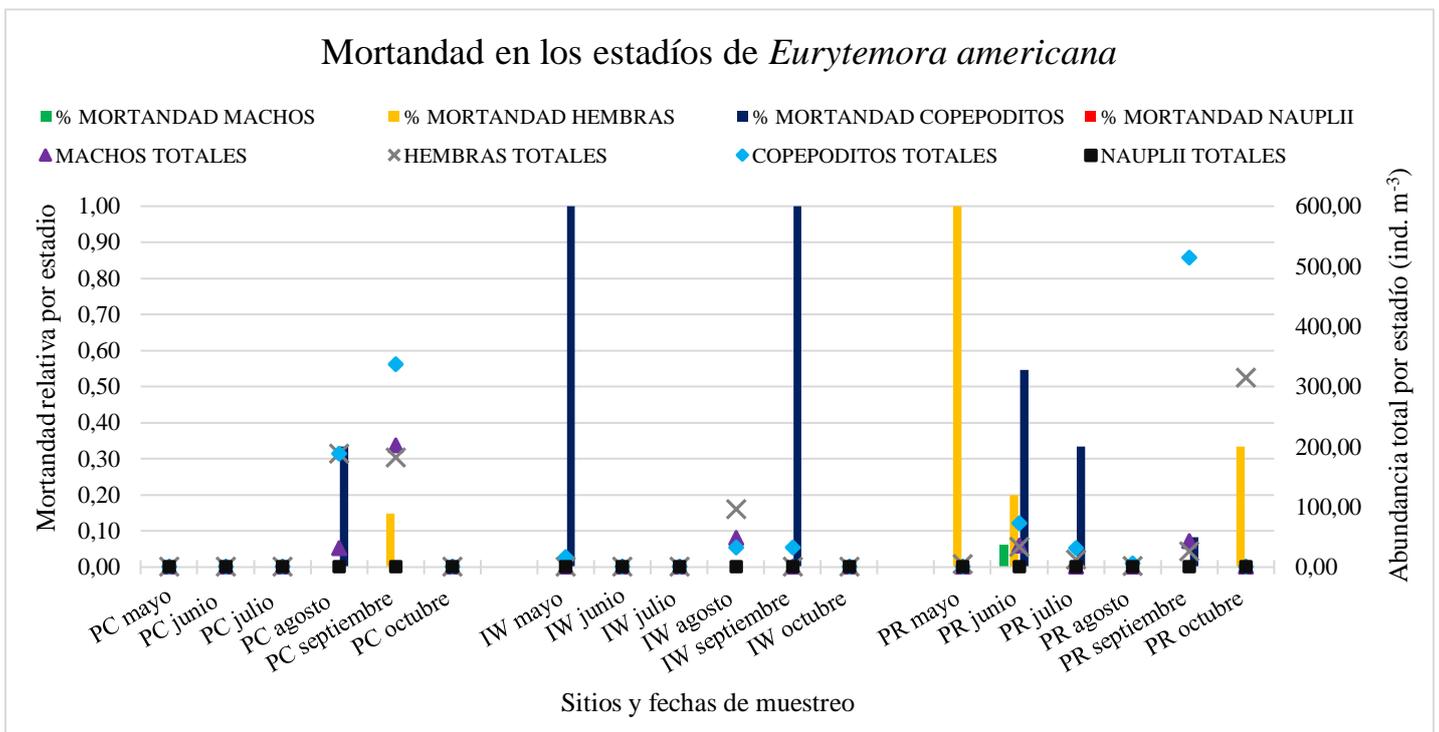


Figura 9.2: Mortandad en los estadios de *Eurytemora americana* en los sitios y fechas de muestreo. Además, en el eje vertical derecho se muestran las abundancias totales de cada estadio (ind. m<sup>-3</sup>).

### **3.5 Influencia de las variables ambientales y calidad de agua sobre las variables biológicas**

A partir de la correlación de Spearman realizada para la interrelación de las variables ambientales con las variables biológicas se obtuvieron los siguientes resultados (Tabla 6). No se encontraron correlaciones significativas entre la salinidad, pH y variables biológicas. La temperatura se correlacionó significativamente en forma positiva con la abundancia específica de *Balanus glandula* (LC). Además, la Chl-a se correlacionó positivamente con la abundancia específica de *Eurytemora americana*, y de manera negativa con las mortandades de *Acartia tonsa* en hembras y machos.

**Tabla 6: Coeficientes de correlación de Spearman entre las abundancias específicas de cada especie, las mortandades por estadios y las variables ambientales medidas (nivel de significación  $p < 0,05$ ).**

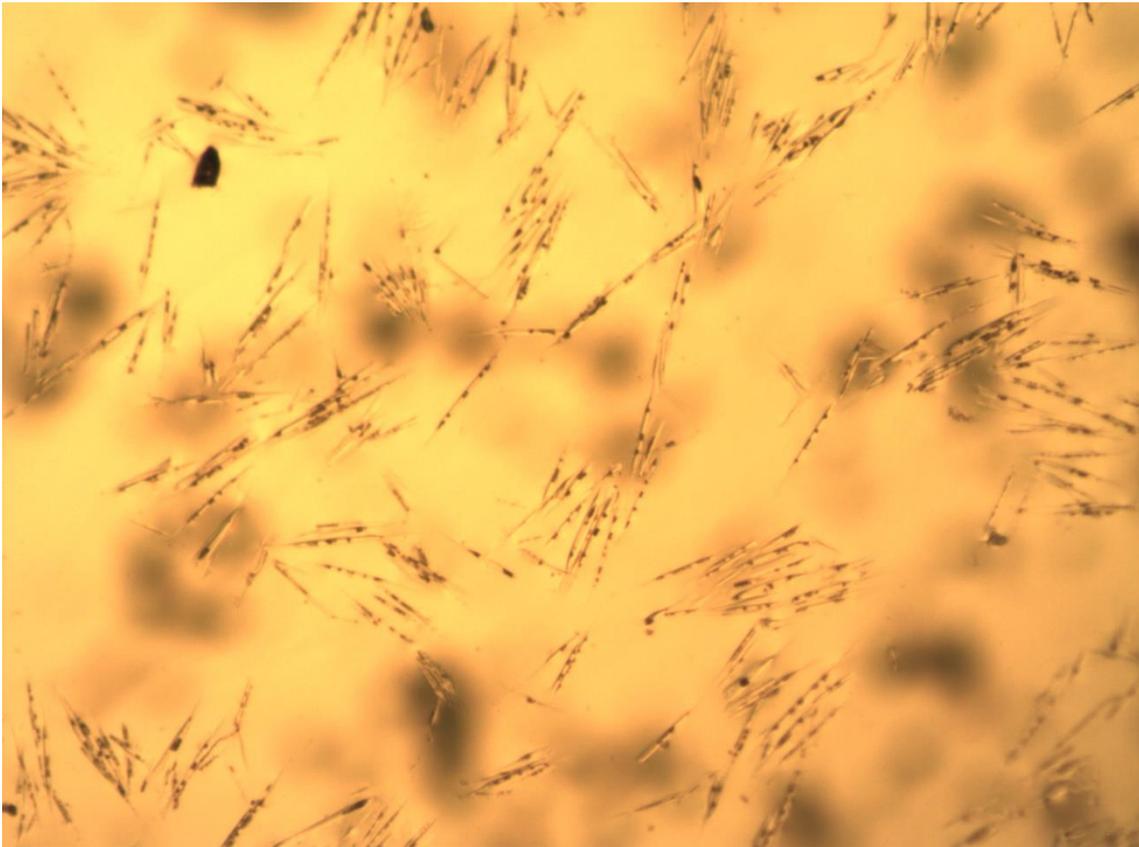
	T (°C)	SAL	pH	Chl-a (µg/L)	MPS (mg/L)	MOP (mg/L)
<b>T (°C)</b>	1					
<b>SAL</b>	-0,58	1				
<b>pH</b>	-0,62	0,44	1			
<b>Clorofila a (µg/L)</b>	-0,02	-0,35	-0,33	1		
<b>MPS (mg/L)</b>	-0,24	0,08	-0,1	0,55	1	
<b>MOP (mg/L)</b>	-0,26	0,03	-0,14	0,76	0,89	1
<b>Acartia tonsa</b>	0,27	-0,54	-0,03	0,14	-0,45	-0,28
<b>Euterpina acutifrons</b>	0,57	-0,63	-0,35	0,35	0,16	0,16
<b>Paracalanus parvus</b>	0,3	-0,14	-0,04	-0,46	-0,38	-0,46
<b>Eurytemora americana</b>	0,2	-0,58	-0,24	0,63	0,19	0,24
<b>Neohelice granulata (Zoea)</b>	0,45	-0,3	-0,17	-0,49	-0,52	-0,54
<b>Balanus glandula (LN)</b>	0,1	-0,21	0,03	0,33	0,37	0,44
<b>Balanus glandula (LC)</b>	0,61	-0,28	-0,58	0,06	0,11	0,02
<b>Spionidae (L)</b>	-0,62	0,41	0,23	-0,2	-0,05	0,01
<b>Halicyclops aff. crassicornis</b>	-0,07	-0,01	0,06	-0,08	-0,01	4,80E-03
<b>Tisbe sp.</b>	-0,07	-0,03	-0,05	0,02	-0,15	-0,04
<b>Monstrillia sp.</b>	0,35	-0,15	-0,1	0,02	-0,33	-0,3
<b>Calanoide carinatus nauplii</b>	-0,02	-0,07	-0,12	0,26	0,21	0,26
<b>Delavalia aff. palustris</b>	0,02	0,16	-0,3	0,12	-0,21	-0,07
<b>Microarthridion aff. littorale</b>	0,4	-0,2	-0,4	-0,04	-0,34	-0,24
<b>Harpacticoideo nn</b>	0,28	-0,43	-0,43	-0,01	0,02	-0,11
<b>Oikopleura sp.</b>	0,26	-0,21	-0,4	-0,16	-0,12	-0,21
<b>Arthromysis magellanica</b>	0,26	-0,21	-0,4	-0,16	-0,12	-0,21
<b>Abundancia total</b>	0,56	-0,7	-0,34	0,17	-0,36	-0,24
<b>% MORT TOTAL A. TONSA</b>	-0,25	0,18	0,49	-0,66	-0,29	-0,49
<b>% MORT MACHOS A. TONSA</b>	-0,19	0,42	0,41	-0,63	-0,32	-0,44
<b>% MORT HEMBRAS A. TONSA</b>	-0,23	0,41	0,36	-0,55	-0,39	-0,47
<b>% MORT COPEPODITOS A. TONSA</b>	-0,09	0,03	0,07	-0,14	-0,04	-0,11
<b>% MORT NAUPLII A. TONSA</b>	0,05	0,2	-0,07	-0,35	0,22	-0,01
<b>% MORT TOTAL E. AMERICANA</b>	0,24	-0,3	-0,19	0,09	0,02	-0,06
<b>% MORT MACHOS E. AMERICANA</b>	-0,3	0,21	0,35	-0,02	-0,07	-0,12
<b>% MORT HEMBRAS E. AMERICANA</b>	0,22	-0,08	-0,09	-0,14	-0,37	-0,42
<b>% MORT COPEPODITOS E. AMERICANA</b>	-0,02	-0,24	0,02	0,27	0,3	0,24

## 4. Discusión

### 4.1 Variables ambientales

Observando la Fig. 4.2 se puede ver que los mayores valores de Chl-a fueron encontrados en los meses de agosto y septiembre para los tres sitios. Esto concuerda con la dinámica de floración estacional reportada para el EBB según Popovich (2004) y Guinder et al. (2010). Sin embargo, los valores registrados en el presente trabajo fueron bajos en relación a lo reportado hasta ahora para el EBB (Guinder et al. 2010). Incluso se han encontrado blooms de especies que comúnmente se encuentran en bajas abundancias planctónicas, como el caso de la diatomea *Rhizolenia spp.* (Fig. 10). Estos cambios podrían atribuirse a un periodo de invierno-primavera atípico con temperaturas por encima de 8 °C y abundantes lluvias (Guinder comunic. personal). Realizando una comparación de las concentraciones de Chl-a entre los sitios estudiados se observó que los mayores valores se registraron en IW. Esto podría atribuirse a las altas concentraciones de nutrientes de los efluentes provenientes del desagüe desconocido del sitio de muestreo. Por otra parte, los valores de feopigmentos fueron mayores en PC superando incluso los valores de Chl-a (ver Fig. 4.2). Esto podría deberse a un corrimiento temprano de la influencia de predadores del micro-zooplancton típico de fines de invierno (Lopez-Abbate et al. 2016).

Por otro lado, a pesar de haberse registrado abundantes lluvias durante el periodo septiembre-octubre, no se encontraron variaciones importantes en los valores de salinidad, aunque si se observaron mayores valores en el MPS y MOP (ver Fig. 4.3). Esto podría explicarse por varias razones: por un lado, durante estos meses se registraron sudestadas que generan un transporte de material orgánico-particulado desde las planicies de marea hacia la columna de agua (Dutto et al., 2014); por otra parte, podría deberse a un aumento en las abundancias de mesozooplancton que coincide con lo registrado por Hoffmeyer (2007). Haciendo una comparación entre sitios, se observaron mayores valores de MPS en IW, lo cual podría deberse principalmente al constante dragado en la zona.



**Figura 10:** Registro fotográfico de la diatomea *Rhizolenia spp* encontrada en muestras de septiembre en IW.

#### **4.2 Estructura, abundancia y diversidad del zooplancton entre sitios**

Aunque las diferencias de las abundancias totales del zooplancton halladas entre sitios no fueron estadísticamente significativas, las abundancias halladas en PC en ambas redes, fueron mayores en relación aquellas registradas en PR e IW, sobre todo observando los meses más cálidos. Así mismo, PR e IW mostraron una abundancia total de zooplancton similar entre ambas estaciones (ver Fig. 5.1 y 6.1). El patrón observado respondería a lo que comúnmente sucede en la zona interna del EBB. Estudios realizados por Menéndez et al. (2009) y Chazarreta (2015) reportan que en general, se observa que los organismos tienden a acumularse en la zona más interna del estuario (aún más interna que Puerto Cuatrerros) durante el flujo. Los estudios de Menéndez et. al (2009) indican que la dinámica espacial de la abundancia total de zooplancton resulto mayormente influida por la dinámica de la marea y los vientos SO en dirección al canal principal. Por otra parte, los mismos autores han sugerido también un mecanismo de retención por parte del zooplancton hacia los veriles durante las máximas velocidades de reflujos en el canal

principal de la zona interna del EBB (Menéndez et al. 2012). Por otro lado, Cuadrado et al. (2005) señalaron que las corrientes de marea son reversibles con velocidades superficiales máximas de aproximadamente  $1,3 \text{ m s}^{-1}$  y valores promedios verticales máximos de  $1,2 \text{ m s}^{-1}$  para reflujo y  $1,05 \text{ m s}^{-1}$  para flujo. Piccolo y Perillo (1991) señalan velocidades superficiales máximas de las corrientes de marea para la zona interna de  $80 \text{ cm s}^{-1}$  durante el flujo y  $140 \text{ cm s}^{-1}$  durante el reflujo. Por lo tanto, dado que este estudio fue realizado al inicio de la marea bajante es probable que se registraron los organismos que se acumularon en la cabecera del estuario (PC) durante el flujo. Cabe mencionar también, que muchas de las fechas muestreadas coincidieron con vientos SE que retrasaban la marea bajante (Perillo et al. 2007). Por otra parte, también se observó que las mayores abundancias y las mayores diferencias cuantitativas y cualitativas en los tres sitios estudiados se dieron en los meses más cálidos, septiembre y octubre. Esto coincide con lo observado por Hoffmeyer (2004), donde se realizó un estudio comparativo entre los periodos 1979-1980 y 1990-1991. Estos resultados mostraron que las principales diferencias en la estructura del zooplancton durante los dos ciclos anuales, se observaron con mayor intensidad en el período invierno-primavera que en el período verano-otoño.

En cuanto a la composición, se observó que en los tres sitios la composición de ambas redes estuvo representada mayoritariamente por copépodos. Sabiendo por estudios experimentales o a campo realizados en otros estuarios que los copépodos son utilizados como indicadores de calidad ambiental (Bianchi et al. 2003; Silva et al. 2004; Uriarte y Villate 2004; Chang et al. 2009), en este estudio se realizó un análisis exhaustivo de las abundancias por estadios de las especies de copépodos claves del EBB (Hoffmeyer et al. 2009; López-Cazorla et al. 2011; Berasategui et al. 2018). Los resultados del presente estudio demuestran que las abundancias totales de las especies *Acartia tonsa*, *Eurytemora americana*, *Euterpna acutifrons* y *Paracalanus parvus* se encuentran claramente diferenciadas por estadios (ver ANEXO 1). El porcentaje de adultos de las 4 especies se encontró dominado por las hembras en los tres sitios. Esto podría deberse a que es sabido que los machos y los estadios larvales son más sensibles a los cambios ambientales, como variaciones de temperatura y salinidad, y cambios en la calidad y disponibilidad de alimentos (Avery et al. 2008; Rodríguez-Graña et al. 2010). En un estudio realizado experimentalmente por Rodríguez-Graña et al. (2010), se ha demostrado que los machos de *Acartia tonsa* acumulan más daño oxidativo que las hembras ante cambios del medio. Estos autores sostienen también que el recambio de biomasa que incluye la transferencia

de proteínas oxidadas a estructuras reproductivas es, por lo tanto, un mecanismo que puede limitar la acumulación de productos oxidados en las hembras, pero no en los machos. Esto podría ser una explicación alternativa para una vida útil más larga en las hembras que en los machos. Realizando un análisis particular de la especie dominante *Acartia tonsa* en el EBB (Berasategui et al. 2017), en el presente estudio de tesis se observó que en PC y PR el porcentaje de estadios larvales encontrado fue muy alto en relación a los adultos. En cambio, en IW los porcentajes de estadios larvales no fueron altos en relación a la cantidad de adultos hallados. Esto podría indicar que las condiciones de IW son menos favorables para el reclutamiento de esta especie (Berasategui et al. 2016). No obstante, la diferencia de abundancia de los estadios larvales entre sitios puede deberse también a otros factores como predación o a los patrones de circulación y retención en la zona media del estuario (Chazarreta et al. 2015).

Los resultados de la presente tesis mostraron también que hubo diferencias en la estructura y diversidad entre los sitios de muestreo, lo que tal vez sea una respuesta a la influencia de la actividad antrópica en la estructura de la comunidad del zooplancton (Fernández-Severini et al. 2009; Biancalana et al. 2011). Por ejemplo, varios autores han abordado el efecto del efluente de aguas residuales en la estructura de la comunidad planctónica (Barría de Cao et al. 2003b; Biancalana et al. 2012; Dutto et al. 2012). Todos estos estudios coincidieron con el registro de menor abundancia, diversidad y diferencias en la composición de las especies planctónicas en sitios impactados de manera diferente. En cuanto a la diversidad, se observó que PR resultó más equitativo y diverso que los otros dos sitios, probablemente esto se deba a un menor impacto industrial (Marcovecchio et al. 2008) y al patrón de circulación y/o patrón de transporte y deposición de sedimentos-coloides-contaminantes hacia la zona media-interna del EBB (Cuadrado et al. 2007).

#### **4.3 Eficiencia de captura teniendo en cuenta redes de zooplancton con diferente tamaño de poro (200 $\mu\text{m}$ y 60 $\mu\text{m}$ )**

Haciendo un análisis de los resultados obtenidos, se pudo ver que el porcentaje de adultos en la red de 60  $\mu\text{m}$  es baja en comparación con los adultos capturados en la red de 200  $\mu\text{m}$ . De la misma manera, en la red de 200  $\mu\text{m}$  el porcentaje de larvas es menor que en la red de 60  $\mu\text{m}$ . Estos resultados concuerdan con lo obtenido estadísticamente ya que las diferencias encontradas entre las redes se dieron en las nauplii de *Euterpina acutifrons* y *Acartia tonsa*. En un estudio realizado en la plataforma continental austral, Antacli (2011) considera conveniente utilizar solo las estimaciones de las abundancias

calculadas a partir de la red de 66  $\mu\text{m}$  para todos los grupos/taxones mesozooplanktonicos identificados, ya que en esta red encontró ejemplares de la mayoría de los estadios. Hopcroft et al. (1998) exploraron los sesgos en la abundancia y las estimaciones de biomasa de la comunidad de copépodos en aguas tropicales de Jamaica determinados por dos redes de plancton (64 y 220  $\mu\text{m}$ ) y encontraron que la red de 220  $\mu\text{m}$  capturó solo el 7,5% del total de copépodos, tanto de larvas como de adultos. También Di mauro et al. (2009) en un estudio realizado en la plataforma continental frente a la provincia de Buenos Aires mostraron las ventajas de incorporar una red con un tamaño de malla de poro pequeño para el muestreo regular de mesozooplankton con el fin de obtener una estimación precisa de la abundancia de la fracción más pequeña, lo que a su vez llevaría a una mejor comprensión del papel de esta importante fracción en la transferencia de energía a niveles tróficos superiores. Cabe señalar que la naturaleza turbia del EBB genera colmatación en las redes de zooplankton de menor tamaño de poro ( $\leq 60 \mu\text{m}$ ), permitiendo por reflujo una posible vía de escape de los individuos adultos. En condiciones de alta turbidez, los copépodos adultos tienen una mayor capacidad de natación que los copepoditos y nauplii (Kiorboe et al. 1999; Titelman 2001), por lo que, bajo estas condiciones, podrían evadir las capturas. Es por eso que analizando los resultados actuales se recomienda para estuarios someros y de alta turbidez el muestreo de zooplankton con redes de tamaño de poro de 200  $\mu\text{m}$  y 60  $\mu\text{m}$  para un análisis poblacional completo.

#### **4.4 Mortandad relativa del zooplankton entre sitios de muestreo**

A partir de los resultados obtenidos, se puede observar que las especies de zooplankton respondieron de manera diferente a la técnica de tinción del rojo neutro. Como se explicó anteriormente, este método para la evaluación de la mortandad se basa en la absorción del colorante en los lisosomas de las células viables (Tang et al. 2006; Moore et al. 2009; Brenner et al. 2014). La coloración diferencial hallada en los diferentes taxa sugiere que podría haber a una respuesta lisosomática distinta ante la exposición al rojo neutro, lo cual hace que la técnica no sea muy efectiva en todos los grupos observados. Solamente en el grupo de los copépodos pudo destacarse una tinción clara asociada a un estado vital en el momento de captura (Martínez et al. 2017).

Es importante destacar que, en los tres sitios de estudio, se pudo observar que las mortandades de las dos especies de copépodos claves del EBB fueron mayores en los estadios larvales (copepoditos y nauplii). Esto puede deberse a lo discutido anteriormente, donde los estadios larvales resultarían más sensibles y vulnerables a los cambios

ambientales (Rodríguez-Graña et al. 2010). Los resultados encontrados en el presente estudio de tesis difieren de lo reportado por Hoffmeyer et al. (2005) donde no se encontraron diferencias de mortandad entre adultos y estadios larvales. Por otra parte, en *Acartia tonsa* se encontraron diferencias significativas entre los sitios en la mortandad de los copepoditos. Los resultados mostraron que PC se diferencia de PR, en cambio IW sería un caso intermedio entre ambos sitios. Esto podría deberse a los niveles altos de nutrientes y amonio encontrados en años recientes (PICT 2012 de Spetter, 2015-2016) y metales pesados hallados en MPS (Cd, Cr, Ni) presentes en la zona interna del estuario (IW y PC) (Fernández-Severini et al. 2018). Así mismo, los valores altos de MPS y MOP medidos (ver Fig. 4.3), podría influir en parte en la supervivencia de estadios larvales más sensibles. Resultados de Gasparini et al. (1999) en estuarios de Europa (Gironde, Westerschelde y Elbe) informaron que la concentración de partículas en suspensión (MPS) podría influir en la tasa de producción de huevos de *Eurytemora affinis* a través de la limitación de la captación de presas. Sumado a eso, se ha informado que los efectos subletales en la reproducción de copépodos resultan de la incorporación trófica de contaminantes orgánicos y metales pesados asociados al MPS en el ambiente natural (Chang y Reinfelder 2002; Cailleauda et al. 2007). De hecho, estudios recientes en el EBB sugirieron que, en general, el MPS (seston > 0,45 mm) tenía concentraciones más altas de metales que el microplancton (20 y 200 mm) (Fernández Severini et al. 2017).

#### **4.5 Influencia de las variables ambientales y calidad de agua sobre las variables biológicas**

En relación a los valores hallados en el test de correlación sobre la interrelación de la Chl-a y la abundancia de *Eurytemora americana* y mortandades de *Acartia tonsa* en hembras y machos, se puede decir que ambas especies responden a las conductas tróficas, según lo reportado por Hoffmeyer y Prado-Figueroa (1997).

En el caso de la salinidad y pH es de esperarse que no se encuentren correlaciones con las variables biológicas debido a la poca variación de las mismas en el periodo estudiado.

## 5. Conclusiones

A partir de la hipótesis planteada para el presente estudio, se puede concluir que:

- La tendencia general indica que las mayores abundancias del zooplancton se encuentran hacia la zona más interna del EBB. Sin embargo, dichas diferencias observadas no resultaron ser significativamente diferente entre los sitios estudiados.
- Los índices de diversidad y equitatividad fueron mayores en la zona externa (PR), la cual presenta una menor influencia de la actividad industrial y portuaria en relación a PC e IW.
- Las mortandades de las especies claves del EBB no mostraron diferencias significativas entre los sitios. Sin embargo, se pudo observar que las estaciones PC e IW presentaron porcentajes de mortandad entre el 30% y 100%, en cambio PR presentó menores mortandades entre el 10% y el 70%.
- Realizando un análisis más profundo y discriminando las mortandades en estadios larvales y adultos, se encontraron diferencias significativas en las mortandades larvales entre sitios, siendo PC el más afectado y PR el menos afectado.
- En cuanto a la eficiencia de captura de las distintas redes utilizadas en este estudio, los resultados sugieren utilizar ambas redes para el estudio comunitario del zooplancton en estuarios de alta turbidez y de sedimentos finos.

## 6. Referencias

- Antacli, J. C., 2011. Estrategias de vida de los copépodos *Drepanopus forcipatus* y *Calanus australis* en relación con los recursos tróficos en la plataforma patagónica austral (Argentina, 47-55 S) (Doctoral dissertation, Tesis doctoral, Univ. Nac. Mar del Plata).
- Avery, D.E., Atland, K.K., Dam, H.G., 2008. Sex-related differential mortality of a marine copepod exposed to a toxic dinoflagellate. *Limnol Oceanogr* 53:2627–2635.
- Barría de Cao, M. S., Pettigrosso, R. E., Parodi, E., and Freije, R. H., 2003a. Abundance and species composition of planktonic Ciliophora from the wastewater discharge zone in the Bahía Blanca Estuary, Argentina. *Iheringia, Serie Zoologia, Porto Alegre*, 93, 229–236.
- Barría de Cao, M. S., Pettigrosso, R., Parodi, E., Freije, R. 2003b. Abundance and species composition of planktonic Ciliophora from the wastewater discharge zone in the Bahía Blanca Estuary, Argentina. *Iheringia. Série Zoologia*, 93(3), 229-236.
- Beaugrand, G., 2005. Monitoring pelagic ecosystems using plankton indicators. *ICES J Mar Sci* 62, 333–338.
- Berasategui, A. A., Hoffmeyer, M. S., Biancalana, F., Severini, M. F., Menendez, M. C., 2009. Temporal variation in abundance and fecundity of the invading copepod *Eurytemora americana* in Bahía Blanca Estuary during an unusual year. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 85(1), 82-88.
- Berasategui, A. A., Fernandez-Severini, M. D., Menendez, M. C., Biancalana, F., Dutto, M. S., Guinder, V., Lopez-Abbate M. C., Chazarreta J., Hoffmeyer, M. S., 2016. Reproductive trade-off of the copepod *Acartia tonsa* in a hypersaline estuary of the Southwestern Atlantic. Temporal variations in the morphology of eggs. *Marine Biology Research*, 12(8), 817-829.
- Berasategui, A. A., Biancalana, F., Fricke, A., Fernandez–Severini, M. D., Uibrig, R., Dutto, M. S., Hoffmeyer, M. S., 2017. The impact of sewage effluents on the fecundity and survival of *Eurytemora americana* in a eutrophic estuary of Argentina. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*.
- Berasategui, A. A., Abbate, M. C. L., D’Agostino, V. C., Presta, M. L., Uibrig, R., García, T. M., Capitanio, F., 2018. Mesozooplankton Structure and Seasonal Dynamics in Three Coastal Systems of Argentina: Bahía Blanca Estuary, Pirámide Bay, and Ushuaia Bay. In *Plankton Ecology of the Southwestern Atlantic* (pp. 327-347). Springer, Cham.

- Biancalana, F., Menéndez, M.C., Berasategui, A.A., 2012. Sewage pollution effects on mesozooplankton structure in a shallow temperate estuary. *Environ Monit Assess* 184, 3901–3913.
- Biancalana, F., Diodato, S.L., Hoffmeyer, M.S., 2012a. Seasonal and spatial variation of mesozooplankton biomass in Ushuaia and Golondrina bays (Beagle Channel, Argentina). *Braz J Oceanogr* 60, 99–106.
- Bianchi, F., Acri, F., Bernardi Aubry, F., Berton, A., Boldrin, A., Camatti, E., et al., 2003. Can plankton communities be considered as bio-indicators of water quality in the Lagoon of Venice? *Marine Pollution Bulletin*. doi:10.1016/S0025-326X(03)00111-5.
- Boero, F., 1994. Fluctuations and variations in coastal marine environments. *Mar Ecol* 15, 3–25.
- Boltovskoy, D., 1999. South Atlantic Zooplankton. Leiden, BlackhuysPubls. V.1 y V.2.
- Brenner, M., Broeg, K., Frickenhaus, S., Buck, B.H., Koehler, A., 2014. Multi-biomarker approach using the blue mussel (*Mytilus edulis* L.) to assess the quality of marine environments: season and habitat-related impacts. *Mar. Environ. Res.* 95, 13–27.
- Cabezali, C. B., Burgos, M. A., 1988. Distribución espacial y temporal de bacterias aerobias en el estuario de Bahía Blanca, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*, 20, 77–86.
- Cailleauda, K., Forget-Lerayc, J., Souissib, S., Hildeb, D., LeMenacha, K., Budzinskia, H., 2007. Seasonal variations of hydrophobic organic contaminant concentrations in the water-column of the Seine Estuary and their transfer to a planktonic species *Eurytemora affinis* (Calanoïda, copepoda). Part 1: PCBs and PAHs. *Chemosphere* 70 (2), 270e280.
- Calliari, D., Tiselius, P., 2005. Feeding and reproduction in a small calanoid copepod: *Acartia clausi* can compensate quality with quantity. *Marine Ecology Progress Series*, 298, 241-250.
- Carbone, M.E., Spetter, C.V., Marcovecchio, J.E., 2016. Seasonal and spatial variability of macronutrients and Chlorophyll a based on GIS in the South American estuary (Bahía Blanca, Argentina). *Environ Earth Sci* 75:735–748
- Cervetto, G., Gaudy, R., Pagano, M., 1999. Influence of salinity on the distribution of *Acartia tonsa* (Copepoda, Calanoïda). *J Exp Mar Biol Ecol* 239, 33–45.

- Chang, S.I., Reinfelder, J.R., 2002. Relative importance of dissolved versus trophic bioaccumulation of copper in marine copepods. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 231, 179e186.
- Chang, K.H., Doi, H., Nishibe, Y., 2009. Spatial and temporal distribution of zooplankton communities of coastal marine waters receiving different human activities (fish and pearl oyster farmings). *The Open Mar Biol J.*
- Chazarreta, C. J., 2015. Dinámica del transporte de zooplancton en el estuario de Bahía Blanca. Tesis doctoral. Universidad Nacional del Sur, Argentina.
- Chazarreta, J., Hoffmeyer, M. S., Cuadrado, D. G., Berasategui, A. A., 2015. Tidal effects on short-term mesozooplankton distribution in small channels of a temperate-turbid estuary, Southwestern Atlantic. *Brazilian Journal of Oceanography*, 63(2), 83-92.
- Cheung, V.V., Wedderburn, R.J., Depledge, M.H., 1998. Molluscan lysosomal responses as a diagnostic tool for the detection of a pollution gradient in Tolo Harbour, Hong Kong. *Mar. Environ. Res.* 46, 237–241.
- Cloern, J.E., 2001. Our evolving conceptual model of the coastal eutrophication problem. *Mar Ecol Prog Ser* 210, 223–253.
- Cuadrado, D. G.; Gómez, E. A.; Ginsberg, S. S., 2005. Tidal and longshore sediment transport associated to a coastal structure. *Estuar. coast. Shelf Sci.*, v. 62, p. 291-300.
- Cuadrado, G., Ginsberg, S.S., Gómez, E.A., 2007. Geomorfología. In: Hoffmeyer MS, Piccolo MC, editors. *Ecosistema del Estuario de Bahía Blanca*. Bahía Blanca: EDIUNS, p 29-37.
- David, V., Sautour, B., Galois, R., Chardy, P., 2006. The paradox high zooplankton biomass–low vegetal particulate organic matter in high turbidity zones: What way for energy transfer? *J Exp Mar Biol Ecol* 333, 202–218.
- deYoung, B., Barange, M., Beaugrand, G., Harris, R., Perry, R.I., Scheffer, M., Werner, F., 2008. Regime shifts in marine ecosystems: detection, prediction and management. *Trends Ecol Evol* 23, 402–409.
- Di Mauro, R., Capitano, F., Viñas, M. D., 2009. Capture efficiency for small dominant mesozooplankters (Copepoda, Appendicularia) off Buenos Aires Province (34°S-41°S), Argentine Sea, using two plankton mesh sizes. *Brazilian Journal of Oceanography*, 57(3), 205-214.

- Diodato, S. L., Hoffmeyer, M. S., 2008. Contribution of planktonic and detritic fractions to the natural diet of mesozooplankton in Bahía Blanca Estuary. *Hydrobiologia*, 614(1), 83-90.
- Dutto, M., López Abbate, M.C., Biancalana, F., Berasategui, A. A., Hoffmeyer, M. S., 2012. The impact of sewage on environmental quality and the mesozooplankton community in a highly eutrophic estuary in Argentina. *ICES J Mar Sci* 69(3), doi:10.1093/icesjms/fsr204.
- Dutto, M.S., Kopprio, G.A., Hoffmeyer, M.S., Alonso, T.S., Graeve, M., Kattner, G., 2014. Planktonic trophic interactions in a human impacted estuary of Argentina: a fatty acid marker approach. *J Plankton Res.* <https://doi.org/10.1093/plankt/fbu012>.
- Elliott, D. T., Tang, K. W., 2009. Simple staining method for differentiating live and dead marine zooplankton in field samples. *Limnology and Oceanography: Methods*, 7(8), 585-594.
- Fernández-Severini, M. D., Hoffmeyer, M. S., 2005. Mesozooplankton assemblages in two bays in the Beagle Channel (Argentina) during January, 2001. *Scientia Marina*, 69(S2), 27-37.
- Fernández-Severini, M. D., Botté, S.E., Hoffmeyer, M.S., Marcovecchio, J.E., 2009. Spatial and temporal distribution of cadmium and copper in water and zooplankton in the Bahía Blanca estuary, Argentina. *Estuar Coast Shelf Sci* 85, 57–66.
- Fernandez Severini, M. D., Villagran, D. M., Biancalana, F., Berasategui, A. A., Spetter, C. V., Tartara, M. N., Marcovecchio, J. E., 2017. Heavy metal concentrations found in seston and microplankton from an impacted temperate shallow estuary along the Southwestern Atlantic Ocean. *Journal of Coastal Research*, 33(5), 1196-1209.
- Fernandez-Severini, M. D., Carbone, M. E., Villagran, D. M., Marcovecchio, J. E., 2018. Toxic metals in a highly urbanized industry-impacted estuary (Bahía Blanca Estuary, Argentina): spatio-temporal analysis based on GIS. *Environmental Earth Sciences*, 77(10), 393.
- Fiori, S. M., Pratolongo, P. D., Zalba, S. M., Carbone, M. E., Bravo, M. E., 2016. Spatially explicit risk assessment for coastal invaders under different management scenarios. *Marine biology*, 163(12), 245.

- Frangoulis, C., Skliris, N., Lepoint, G., Elkalay, K., Goffart, A., Pinnegar, J.K., Hecq, J.H., 2011. Importance of copepod carcasses versus faecal pellets in the upper water column of an oligotrophic area. *Estuar Coast Shelf Sci* 92, 456-463.
- Freije, R. H., Spetter, C. V., Marcovecchio, J. E., Popovich, C. A., Botté, S. E., Negrín, V., Arias, A., 2008. Water chemistry and nutrients in the Bahía Blanca Estuary. In *Perspectives on Integrated Coastal Zone Management in South America*. pp. 243–256. Ed. by R. Neves, J. Baretta, and M. Mateus. IST Press, Lisbon. 604 pp.
- Frontier, S., 1981. Diseño de muestreos. Tratamiento de los datos. Pags. 103-107 y 169-187. En: Boltovskoy D (Ed.) *Atlas del zooplancton del Atlántico Sudoccidental*.
- Gasparini, S., Castel, J., Irigoyen, X., 1999. Impact of suspended particulate matter on egg production of the estuarine copepod, *Eurytemora affinis*. *J. Mar. Syst.* 22, 195e205.
- Gismervik, I., Olsen, Y., Vadstein, O., 2002. Micro- and mesozooplankton response to enhanced nutrient input—a mesocosm study. *Hydrobiologia*, 484, 75–87.
- Gordina, A. D., Pavlova, E. V., Ovsyany, E. I., Wilson, J. G., Kemp, R. B., Romanov, A. S., 2001. Long-term changes in Sevastopol Bay (the Black Sea) with particular reference to the ichthyoplankton and zooplankton. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 52(1), 1-13.
- Guinder, V. A., Popovich, C. A., Perillo, G. M., 2009. Particulate suspended matter concentrations in the Bahía Blanca Estuary, Argentina: implication for the development of phytoplankton blooms. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 85(1), 157-165.
- Guinder, V. A., Popovich, C. A., Molinero, J. C., Perillo, G. M. E., 2010. Long-term changes in phytoplankton phenology and community structure in the Bahía Blanca Estuary, Argentina. *Marine Biology*, 157, 2703–2716.
- Guinder, V.A., 2011. Dinámica del fitoplancton en el Estuario de Bahía Blanca en relación con las variables ambientales en el marco del cambio climático global. Tesis Doctoral. Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina. pp.155.
- Halpern, B., Selkoe, K., Micheli, F., Kappel, C.V., 2007. Evaluating and ranking the vulnerability of global marine ecosystems to anthropogenic threats. *Conserv Biol* 21, 1301–1315.
- Harris, R.P., Wiebe, P.H., Lenz, J., Skjoldal, H.R., Huntley, M., 2000. *Zooplankton Methodology Manual*. Vol 1 y 2.

- Hoffmeyer, M.S., 1994. Seasonal succession of copepoda in the Bahía Blanca Estuary. *Hydrobiol* 292/293, 303-308.
- Hoffmeyer, M. S., Figueroa, M. P., 1997. Integumental structures in the oral field of *Eurytemora affinis* and *Acartia tonsa* (Copepoda, Calanoida) in relation to their trophic habits. *Crustaceana*, 70(3), 257-271.
- Hoffmeyer, M.S., 2004. Decadal change in zooplankton seasonal succession in the Bahía Blanca estuary, Argentina, following introduction of two zooplankton species. *J Plankton Res* 26(2), 181-189.
- Hoffmeyer, M. S., Mianzan, H., 2004. Macro-zooplankton del estuario y aguas costeras adyacentes. *Ecosistema del estuario de Bahía Blanca*, 143-151.
- Hoffmeyer, M. S., Cervellini, P. M., 2004. Zooplankton Temporario. *El Ecosistema del Estuario de Bahía Blanca*. Bahía Blanca: Editorial de la Universidad Nacional del Sur, 153-161.
- Hoffmeyer, M. S., Biancalana, F. Berasategui, A.A., 2005. Impact of a power plant cooling system on copepod and meroplankton survival (Bahía Blanca, Argentina). *Iheringia Série Zoologia*, 95(3), 311-318.
- Hoffmeyer, M. S., 2007. Mesozooplankton. En: Piccolo MC y Hoffmeyer MS (eds) *Ecosistema del estuario de Bahía Blanca*. Instituto Argentino de Oceanografía, Bahía Blanca, Argentina. p 133-141.
- Hoffmeyer, M. S., Barría de Cao, M. S., 2007. Zooplankton assemblages from a tidal channel in the Bahía Blanca Estuary, Argentina. *Brazilian Journal of Oceanography*, 55(2), 97-107.
- Hoffmeyer, M. S., Fernandez-Severini, M.D., Menendez, M.C., Berasategui, A. A., Biancalana, F., 2008. Composition and dynamics of mesozooplankton assemblages in the Bahía Blanca estuary. In: Neves R, Baretta J, Mateus M (eds) *Perspectives on integrated coastal zone Management in South America*. IST Press, Lisboa, pp 271–276
- Hoffmeyer, M. S., Berasategui, A.A., Beigt, D., Piccolo, M.C., 2009. Environmental regulation of the estuarine copepods *Acartia tonsa* and *Eurytemora americana* during coexistence period. *J Mar Biol Assoc UK* 89, 355–361.
- Kjørboe, T., Saiz, E., Visser, A., 1999. Hydrodynamic signal perception in the copepod *Acartia tonsa*. *Marine Ecology Progress Series*, 179, 97-111.

- Kohler, A., Wahl, E., Soffker, K., 2002. Functional and morphological changes of lysosomes as prognostic biomarkers of toxic liver injury in a marine flatfish (*Platichthys flesus* (L.)). *Environ. Toxicol. Chem.* 21, 2434–2444.
- La Colla, N. S., Negrin, V. L., Marcovecchio, J. E., Botté, S. E., 2015. Dissolved and particulate metals dynamics in a human impacted estuary from the SW Atlantic. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 166, 45-55.
- Lara, R. J., Gómez, E. A., Pucci, A. E., 1985. Organic matter, sediment particle size and nutrient distributions in a sewage affected shallow channel. *Marine Pollution Bulletin*, 16, 360–364.
- Lenz, J., 2000. Chapter 1: Introduction. En: Harris RP, Wiebe PH, Lenz J, Skjoldal HR, Huntley M (eds) ICES, Zooplankton methodology manual. Academic Press, London, UK. p 1-32.
- Limbozzi, F., Leitao, T. E., 2008. Characterization of Bahía Blanca main existing pressures and their effects on the state indicators for surface and groundwater quality. Perspectives on integrated coastal zone management in South America. IST Press, Lisbon, 315-331.
- Lopez-Abbate, M.C., Molinero, J.C., Guinder, V.A., Dutto, M.C., Barría de Cao, M.S., Ruiz Etcheverry, L.A., Pettigrosso, R.E., Carcedo, M.C., Hoffmeyer, M.S., 2015. Microplankton dynamics under heavy anthropogenic pressure. The case of the Bahía Blanca Estuary, southwestern Atlantic Ocean. *Mar. Pollut. Bull.* 9 (1), 305-314.
- Lopez-Abbate, M. C. L., de Cao, M. S. B., Pettigrosso, R. E., Guinder, V. A., Dutto, M. S., Berasategui, A. A., y Hoffmeyer, M. S., 2016. Seasonal changes in microzooplankton feeding behavior under varying eutrophication level in the Bahía Blanca estuary (SW Atlantic Ocean). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 481, 25-33.
- Lopez-Cazorla, A.C., Pettigrosso, R.E., Tejera, L., 2011. Diet and food selection by *Ramnogaster arcuata* (Osteichthyes, Clupeidae). *J Fish Biol* 78(7), 2052–2066.
- Lorenzen, C. J., Jeffrey, S. W., 1980. Determination of chlorophyll in seawater. *Unesco tech. pap. mar. sci.* 35(1), 1-20.
- Marcovecchio, J.E., Botté, S.E., Delucchi, F., Arias, A., Fernández-Severini, M.D., De Marco, S., Tombesi, N., Andrade, S., Ferrer, L., Freije, R.H., 2008. Pollution processes in Bahía Blanca estuarine environment. En: Neves R, Baretta J, Mateus M (eds)

- Perspectives on integrated coastal zone management in South America. IST Press. Scientific Publishers, Lisboa, Portugal. p 301-314.
- Marques, S.C., Azeiteiro, U.M., Marques, J.C., Neto, J.M., Pardal, M.A., 2006. Zooplankton and ichthyoplankton communities in a temperate estuary: spatial and temporal patterns. *J Plankton Res* 28, 297–312.
- Martínez, M., Espinosa, N., Calliari, D., 2013. Incidence of dead copepods and factors associated with non-predatory mortality in the Río de la Plata estuary. *Journal of plankton research*, 36(1), 265-270.
- Martínez, M., Rodríguez-Graña, L., Santos, L., Denicola, A., Calliari, D., 2017. Oxidative damage and vital rates in the copepod *Acartia tonsa* in subtropical estuaries with contrasting anthropogenic impact. *Journal of experimental marine biology and ecology*, 487, 79-85.
- Mauchline, J., 1998. Introduction. In: Blaxter J, Southward A (eds) *The biology of calanoid copepods*. *Adv Mar Biol* 33:1–13.
- McLusky, D.S., Elliott, M., 2004. *The estuarine ecosystem*. Oxford University Press, Oxford, UK.
- Melo, W.D., Piccolo, M.C., Perillo, M.E., 2008. La cartografía de Bahía Blanca en los paradigmas históricos. *GeoActa* 33, 57-69.
- Menéndez, M.C., Hoffmeyer, M.S., Piccolo, M.C., Biancalana, M.F., 2009. Variabilidad en la distribución vertical del mesozooplankton durante un ciclo de marea en la zona interna del estuario de Bahía Blanca. *Ambientes y Recursos Naturales del Sudoeste Bonaerense: Producción, Contaminación y Conservación*, 409-419.
- Menéndez, M. C., Dutto, M. S., Piccolo, M. C., Hoffmeyer, M.S., 2012. The role of the seasonal and semi-diurnal tidal cycle on mesozooplankton variability in a shallow mixed estuary Bahía Blanca, Argentina. *ICES Journal of Marine Science*, 69(3), 389–398.
- Menéndez, M. C., Biancalana, F., Berasategui, A. A., Severini, M. D. F., Hoffmeyer, M. S., Esteves, J. L., 2016. Mesozooplankton composition and spatial distribution, Nuevo Gulf, Patagonia, Argentina. *Check List*, 7(2), 101-107.
- Moore, M.N., Readman, J.A.J., Readman, J.W., Lowe, D.M., Frickers, P.E., Beesley, A., 2009. Lysosomal cytotoxicity of carbon nanoparticles in cells of the molluscan immune system: an in vitro study. *Nanotoxicology* 3, 40–45.

- Negrin, V.L., 2011. El rol de las marismas del estuario de Bahía Blanca en el ciclo biogeoquímico de nutrientes inorgánicos y de materia orgánica. Tesis doctoral. Universidad Nacional del Sur, Argentina.
- Negrin, V. L., Spetter, C. V., Asteasuain, R. O., Perillo, G. M., Marcovecchio, J. E., 2011. Influence of flooding and vegetation on carbon, nitrogen, and phosphorus dynamics in the pore water of a *Spartina alterniflora* salt marsh. *Journal of Environmental Sciences*, 23(2), 212-221.
- Park, G. S., Marshall, H. G., 2000. Estuarine relationships between zooplankton community structure and trophic gradients. *Journal of Plankton Research*, 22(1), 121-136.
- Perillo, G. M. E., Piccolo, M. C. 1991. Tidal response in the Bahía Blanca Estuary, Argentina. *Journal of Coastal Research*, 7, 437–449.
- Perillo, G. M. E., Piccolo, M. C., Parodi, E. R., Freije, R. H., 2001. The Bahía Blanca Estuary ecosystem: a review. In *Coastal Marine Ecosystems of Latin America*. pp. 205–217. Ed. by U. Seelinger, L. Lacerda, and B. Kjerfve. Springer, Heidelberg. 396 pp.
- Perillo, G. M. E., Piccolo, M. C., Palma, E., Pérez, D., Pierini, J., 2007. Oceanografía Física. In M. C. Piccolo y M. S. Hoffmeyer (Eds.), *Ecosistema del estuario de Bahía Blanca* (pp. 61–67). Bahía Blanca, Argentina: Instituto Argentino de Oceanografía (IADO-CONICET).
- Piccolo M C, 2008. Climatological features of the Bahia Blanca Estuary. In: *Perspectives on Integrated Coastal Zone Management in South America, Part C: From Shallow Water to the Deep Fjord: The Study Sites* (Neves R, Baretta J, Mateus M, eds.). IST Press, Lisbon, Portugal. 231–239.
- Piccolo, M. C., Perillo, G. M. E., Melo, W.D., 2008. The Bahía Blanca Estuary: an integrated overview of its geomorphology and dynamics. In: *Perspectives on Integrated Coastal Zone Management in South America* (Neves R, Baretta J, Mateus M, eds.). IST Press, Lisbon, Portugal. 219–229.
- Popovich, C. A., 2004. Fitoplancton. El ecosistema del estuario de Bahía Blanca. Instituto Argentino de Oceanografía, Bahía Blanca, Argentina, 91-100.
- Rodriguez-Graña, L., Calliari, D., Tiselius, P., Hansen, B.W., Skold, H.N., 2010. Genderspecific ageing and non-Mendelian inheritance of oxidative damage in marine copepods. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 401, 1–13.

- Sabatini, M.E., 1989. Ciclo anual del copépodo *Acartia tonsa* (Dana 1849) en la zona interna de la Bahía Blanca (Provincia de Buenos Aires, Argentina). *Sci Mar* 53, 847–856.
- Saiz, E., Alcaraz, M., Paffenhöfer, G. A., 1992. Effects of small-scale turbulence on feeding rate and gross-growth efficiency of three *Acartia* species (Copepoda: Calanoida). *Journal of Plankton Research*, 14(8), 1085-1097.
- Schminke, H.K., 2007. Entomology for the copepodologist. *J Plankton Res* 29(SupplII), 149-162.
- Sieburth, J. M., Smetacek, V., Lenz, J., 1978. Pelagic ecosystem structure: Heterotrophic compartments of the plankton and their relationship to plankton size fractions. *Limnology and Oceanography*, 23: 1256-1263.
- Silva, A.P., Neumann-Leitão, S., Schwamborn, R., 2004. Mesozooplankton of an impacted bay in North Eastern Brazil. *Braz Arch Biol Technol* 47(3):485–493
- Siokou-Frangou, I., Papathanassiou, E., 1991. Differentiation of zooplankton populations in a polluted area. *Marine ecology progress series*. Oldendorf, 76(1), 41-51.
- Spetter, C. V., 2006. Ciclo biogeoquímico de nutrientes inorgánicos de nitrógeno en los humedales del estuario de Bahía Blanca. Bahía Blanca, Argentina: Universidad Nacional del Sur, Ph. D dissertation.
- Tang, K. W., Freund, C. S., Schweitzer, C. L., 2006. Occurrence of copepod carcasses in the lower Chesapeake Bay and their decomposition by ambient microbes. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 68(3-4), 499-508.
- Titelman, J., 2001. Swimming and escape behavior of copepod nauplii: implications for predator-prey interactions among copepods. *Marine Ecology Progress Series*, 213, 203-213.
- Turner, J.T., 2004. The importance of small planktonic copepods and their roles in pelagic marine food webs. *Zool Stud* 43, 255–266.
- Uriarte, I., Villate, F., 2004. Effects of pollution on zooplankton abundance and distribution in two estuaries of the Basque coast (Bay of Biscay). *Marine Pollution Bulletin*, 49(3), 220-228.

**ANEXO 1: Porcentaje de estadios y sexos de las abundancias totales de las especies claves del EBB en cada sitio de muestreo.**

	<b>A.</b> <b>tonsa</b> <b>macho</b>	<b>A.</b> <b>tonsa</b> <b>hembra</b>	<b>A.</b> <b>tonsa</b> <b>larvas</b>	<b>E.</b> <b>acutifrons</b> <b>macho</b>	<b>E.</b> <b>acutifrons</b> <b>hembra</b>	<b>E.</b> <b>acutifrons</b> <b>larvas</b>	<b>P.</b> <b>parvus</b> <b>macho</b>	<b>P.</b> <b>parvus</b> <b>hembra</b>	<b>P.</b> <b>parvus</b> <b>larvas</b>	<b>E.</b> <b>americana</b> <b>macho</b>	<b>E.</b> <b>americana</b> <b>hembra</b>	<b>E.</b> <b>americana</b> <b>larvas</b>
<b>PC</b>	4	7	89	5	92	3	50	50	0	10	31	58
<b>IW</b>	19	30	51	3	48	50	43	57	0	13	25	62
<b>PR</b>	1	4	95	0	54	46	12	88	0	12	25	63