Autorización para Publicar en un E-Repositorio de Acceso Abierto

Apellido y nombres: **SILVA, Ricardo I.**
Correo electrónico: **risilva@inidep.edu.ar**

AUTORIZO por la presente a la Biblioteca y Servicio de Documentación INIDEP a publicar en texto completo el trabajo final de **Tesis**/Monografía/Informe de mi autoría que se detalla, permitiendo la consulta de la misma por Internet, así como la entrega por Biblioteca de copias unitarios a los usuarios que lo soliciten con fines de investigación y estudio.

Título del trabajo: **"Dinámica del ultrafitoplancton en el Mar Argentino"**
Año: **2011**
Título y/o grado que opta: **Tesis (doctorado)**
Cátedra:
Facultad: **Universidad Nacional de Mar del Plata, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.**

Firma:

Fecha: 31/08/2012

ASFA AN: [redacted]
OceanDocs: **http://hdl.handle.net/1834/**

Dinámica del ultrafitoplancton en el Mar Argentino

Tesis para optar por el título de Doctor en Ciencias, Área Biología

Autor: **Ricardo Ismael Silva**

Directora: Vivian Alicia Lutz

UNIVERSIDAD NACIONAL DE MAR DEL PLATA
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA

TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN GENERAL……..……...……13

INTRODUCCIÓN GENERAL…….16
Tablas……..…22

CAPÍTULO I: **Dinámica de la comunidad del ultrafitoplancton en la estación costera EPEA durante los ciclos anuales 2000 y 2003**…..……25
Introducción…….…….26
Métodos……....28
Muestreo y determinación de variables ambientales…….28
Identificación y cuantificación de organismos del plancton…….29
Utilización del método de fluorescencia.…….29
Utilización del método de sedimentación …….29
Biomasa de los componentes del ultrafitoplancton……...30
Análisis estadísticos de los datos de 5 m de profundidad……..30
Resultados.…….....31
Condiciones Ambientales……..31
Distribución de temperatura……...31
Distribución de salinidad……....31
Variación anual de la profundidad de la capa de mezcla y la penetración luminosa en la columna de agua……...31
Distribución anual de la concentración de la clorofila *a* total y menor de 5 µm…….....32
Componentes del plancton…….……..32
Ultrafitoplancton……32
Fitoplancton mayor de 5 µm...……34
Heterótrofos…….……...34
Distribución anual de los principales componentes del ultraplancton en la columna de agua……34
Distribución anual de otros componentes del ultrafitoplancton a 5 m……...35
Contribución estacional de los distintos grupos a la biomasa total del ultrafitoplancton a 5 m de profundidad.....……36

Distribución anual de los componentes del nano y microfitoplancton a 5 m de profundidad…….....37
Distribución anual de los heterótrofos a 5 m de profundidad……....37
Análisis estadístico……....38
Análisis de los datos ambientales……...38
Análisis de la biomasa de los componentes del ultrafitoplancton…….39
Relaciones entre las variables ambientales y las biológicas……..39
Modelos GAM…….…….....40
Discusión…….....41
Características ambientales…….....41
Contribución del ultrafitoplancton a la biomasa total del fitoplancton…….41
Dinámica estacional de la comunidad del ultrafitoplancton…….42
Dinámica de los principales componentes del ultrafitoplancton (a través de los GAM)……..47
Consideraciones Finales……...48
Tablas…….....49
Figuras…….56

CAPÍTULO II: **Sucesión estival del Ultrafitoplancton en la Estación Costera EPEA**……..…….…….....87
Introducción……88
Métodos…….....90
Absorción del material particulado……..91
Identificación y cuantificación de los organismos del ultrafitoplancton…….91
Resultados……93
Condiciones ambientales físicas y químicas……93
Variaciones temporales en la biomasa del ultrafitoplancton……...93
Absorción de luz por el ultrafitoplancton……....94
Estructura de la comunidad del ultrafitoplancton……....95
Componentes heterotróficos……96
Sucesión del ultrafitoplancton en verano…….97
Análisis multivariado……...97
Discusión…….……...98

Contribución del ultrafitoplancton a la biomasa total del fitoplancton…..98
Sucesión del ultrafitoplancton: estrategias de vida en condiciones de verano……99
Conclusión……103
Tablas……....105
Figuras……...110

CAPÍTULO III: **Variaciones de la comunidad del ultrafitoplancton: modelado de las relaciones entre las variables bióticas y abióticas durante una serie de tiempo (2000-2009)en la EPEA**……...……117
Introducción…….118
Métodos……....120
Muestreo y variables analizadas……120
Índices climáticos……..120
Análisis estadísticos……..121
Resultados……....122
Variabilidad intra-anual e inter-anual de las variables físicas, químicas y biológicas (excluyendo al ultrafitoplancton)……122
Variabilidad intra-anual e interanual en la abundancia de los componentes del ultrafitoplancton…….124
Índices climáticos……125
Análisis estadístico……..125
Modelos……..126
Discusión……...127
Consideraciones finales……..……133
Tablas……135
Figuras…….....138

DISCUSIÓN GENERAL……...157

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS……...165

ANEXO A. **Figura A1**.Ejemplo de citograma de los componentes del ultrafitoplancton del capítulo II.....184

ANEXO B. **Tabla B1**: Abundancia celular (Células x ml^{-1}) de los componentes del ultrafitoplancton de la serie de datos (2000 – 2009) a la profundidad de 5 m en la EPEA.....185

Tabla B2: Estadística descriptiva de toda la serie de datos (2000 – 2009) de la abundancia (Células x ml^{-1}) de los distintos componentes del ultrafitoplancton a la profundidad de 5 m en la EPEA.....187

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.i: Clasificación taxonómica y filogenético de los organismos descriptos en este estudio (Woese *et al.*, 1990; Adl *et al.*, 2005; Scanlan *et al.*, 2009)…….....22

Tabla 2.i: Términos utilizados en la literatura para la clasificación del plancton por tamaños celulares. Remarcados en negrita el criterio adoptado en este trabajo referente al tamaño celular de las categorías utilizadas…….....23

Tabla 3.i: Cronología de los principales acontecimientos científicos que marcaron un avance en el conocimiento sobre los organismos más pequeños del plancton…….....24

Tabla 1.1: Fechas e identificación de las campañas realizadas en los ciclos anuales 2000 y 2003…….....…..…49

Tabla 2.1: Términos y características utilizadas en el presente trabajo para agrupar a distintos organismos del plancton…….....50

Tabla 2.1B: Abreviaturas utilizadas para las variables ambientales……...52

Tabla 3.1: Principales variables ambientales que definen los grupos de campañas del ciclo 2000…….53

Tabla 4.1: Principales variables ambientales que definen los grupos de campañas del ciclo 2003…….53

Tabla 5.1: Principales taxa del ultrafitoplancton que definen los grupos de campañas del ciclo 2000…….53

Tabla 6.1: Principales taxa del ultrafitoplancton que definen los grupos de campañas del ciclo 2003…….53

Tabla 7.1: Coeficientes de correlación de Spearman obtenidos utilizando el análisis BIOENV, combinando las variables ambientales y las biomasas de los componentes del ultrafitoplancton del ciclo 2000…….....54

Tabla 8.1: Coeficientes de correlación de Spearman obtenidos utilizando el análisis BIOENV, combinando las variables ambientales y las biomasas de los componentes del ultrafitoplancton del ciclo 2003.....54

Tabla 9.1: GAMs con cada una de las variables explicativas para *Synechococcus*, tipo *Chrysochromulina*, Criptofitas y Picofitoeucariotas. Para cada modelo se muestra el porcentaje de desvianza (Dev.), puntaje de la validación cruzada generalizada (GCV). Las funciones de suavizado (s) y las variables explicativas utilizadas en cada modelo entre paréntesis…….55

Tabla 1.2: Campañas realizadas en la estación EPEA durante el período de estudio. Variables medidas: Nitrato (1), Cl a (2), Cl a < 5µm (3), $a^*_{ph}(\lambda)$ (4), $a^*_{up}(\lambda)$ (5), microscopia de luz (6), microscopia de epifluorescencia (7), citometría de flujo (8)…….....105

Tabla 2.2: Métodos utilizados para la identificación de los diferentes taxa en este estudio. ML: microscopia de luz; ME: microscopia de epifluorescencia y; CF: citometría de flujo……106

Tabla 3.2: Comparación entre la mediana de los coeficientes de absorción de todo el fitoplancton y el ultrafitoplancton a diferentes profundidades, utilizando el test de Mann-Whitney Rank Sum. Diferencias estadísticamente significativas (* P < 0.05, ** P < 0.001)……107

Tabla 4.2: Valores discretos de los coeficientes específicos $a^*_{up}(440)$ a diferentes profundidades durante el estudio……108

Table 5.2: Análisis de correlación entre las variables seleccionadas. A- Correlación de Pearson. B- Correlación por rangos de Spearman. Coeficiente r, significancia estadística (* P < 0,05, ** P < 0,001). n = 12……...109

Tabla 1.3: Resultado del ajuste de distintas corridas de los modelos GAM para explicar la distribución de biomasas de: *Synechococcus*, tipo *Chrysochromulina*, criptofitas, picofitoeucariotas y ultrafitoplancton SP. Cada modelo esta dado por las funciones de suavizado (s) de las variables explicativas utilizadas (entre paréntesis).
En cada caso se muestra el porcentaje de desvianza (Dev%) y el puntaje de la validación cruzada generalizada (GCV).....135

Tabla 2.3: Selección de los modelos GAM que mejor explican las variaciones de las biomasas de: *Synechococcus*, tipo *Chrysochromulina* y criptofitas. Aquellas variables sin un efecto significativo fueron excluidas en cada paso entre dos modelos consecutivos (marcadas en negrita). El modelo seleccionado, incluyendo solo las variables que mostraron el mejor valor para GCV, aparece resaltado en gris.....136

Tabla 3.3: Estructura estadística de los modelos seleccionados para explicar la distribución de las biomasas de *Synechococcus,* tipo *Chrysochromulina* y criptofitas.

Significatividad: < 0,001 (***), < 0,01(**), < 0,05 (*), < 0,1 ($^{\#}$). Edf: grados de libertad estimados. Ref.df: Residuales de los grados de libertad estimados. Pr (>|t|): El valor de probabilidad.....137

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Localización de la Estación Permanente de Estudios Ambientales (EPEA)……56

Figura 2.1. Ciclo 2000. Distribución estacional de la temperatura ºC (A), salinidad (B), y densidad kg m^{-3} (C) en la EPEA. El diámetro de los círculos denota variaciones en el índice de estratificación en la columna de agua. En la parte superior, los números corresponden a la identificación de las campañas (Tabla 1.1)……...57

Figura 3.1. Ciclo 2003. Distribución estacional de la temperatura ºC (A), salinidad (B), y densidad kg m^{-3} (C) en la EPEA. El diámetro de los círculos denota variaciones en el índice de estratificación en la columna de agua. En la parte superior, los números corresponden a la identificación de las campañas (Tabla 1.1)……..58

Figura 4.1.A Ciclo 2000. Variación estacional en la EPEA de: los valores de PAR en superficie (µmol quanta m^{-2} s^{-1}); la profundidad de la capa de mezcla (m); la profundidad de la capa eufótica (m); la relación [Zeu/Zm]……59

Figura 4.1.B Ciclo 2003. Variación estacional en la EPEA de: los valores de PAR en superficie (µmol quanta m^{-2} s^{-1}); la profundidad de la capa de mezcla (m); la profundidad de la capa eufótica (m); la relación [Zeu/Zm]……60

Figura 5.1. Ciclo 2000. Distribución de la concentración de la clorofila *a* total (A), clorofila <5 µm (B) y la relación Cla<5/ClaT (C) en la columna de agua de la EPEA. En la parte superior, los números corresponden a la identificación de las campañas (Tabla 1.1)……...61

Figura 6.1. Ciclo 2003. Distribución de la concentración de la clorofila *a* total (A), clorofila <5 µm (B) y la relación Cla<5/ClaT (C) en la columna de agua de la EPEA. En la parte superior, los números corresponden a la identificación de las campañas (Tabla 1.1)……...62

Figura 7.1. Microfotografias de Cianobacterias solitarias (A) y agregadas (B) observadas en este estudio……63

Figura 8.1. Ejemplos de imágenes de los diferentes componentes del ultrafitoplancton eucariota obtenidas utilizando microscopia clásica y de fluorescencia. A) Algas picoeucariotas; B) tipo *Chrysochromulina*; C) Criptofitas; D) Ultrafitoplancton Sp; E) Cocolitofóridos; F) *Ollicola*; G) Ultra diatomeas (Udiat); H) *Pyramimonas* e I) otras prasinofitas. En A, B, C1 y D: el color rojo/naranja indica la presencia de Cl *a*; en C2: el color rojo indica la presencia de ficoeritrina. Ver abreviaturas en tabla 2.1……..……64

Figura 9.1. Ciclo 2000. Distribución de la biomasa (mg C m^{-3}) de *Synechococcus* (A), Picofitoeucariotas (B), tipo *Chrysochromulina* (C) en la columna de agua de la EPEA. En la parte superior, los números corresponden a la identificación de las campañas (Tabla 1.1)……65

Figura 10.1. Ciclo 2003. Distribución de la biomasa (mg C m^{-3}) de *Synechococcus* (A), Picofitoeucariotas (B), tipo *Chrysochromulina* (C) en la columna de agua de la EPEA. En la parte superior, los números corresponden a la identificación de las campañas (Tabla 1.1)……66

Figura 11.1. Ciclo 2000. Distribución de la biomasa (mg C m^{-3}) de ultrafitoplancton SP (A), Criptofitas (B) en la columna de agua de la EPEA. Abundancia del ultraprotozooplancton <5 µm [cél ml^{-1} x 10^3] (C). En la parte superior, los números corresponden a la identificación de las campañas (Tabla 1.1)……...67

Figura 12.1. Ciclo 2003. Distribución de la biomasa (mg C m^{-3}) de ultrafitoplancton SP (A), Criptofitas (B) en la columna de agua de la EPEA. Abundancia del ultraprotozooplancton <5 µm [cél ml^{-1} x 10^3] (C). En la parte superior, los números corresponden a la identificación de las campañas (Tabla 1.1)……...68

Figura 13.1. Ciclo 2000. Distribución anual de la biomasa (mg C m^{-3}) de las ultra diatomeas (A), de *Ollicola* (B), de *Pyramimonas* (C), de otras prasinofitas (D), de los cocolitofóridos (E) y otras ultra-algas (F) a 5 m de profundidad, en la EPEA……69

Figura 14.1. Ciclo 2003. Distribución anual de la biomasa (mg C m^{-3}) de las ultra diatomeas (A), de *Ollicola* (B), de *Pyramimonas* (C), de otras prasinofitas (D), de los cocolitofóridos (E) y otras ultra-algas (F) a 5 m de profundidad, en la EPEA……70

Figura 15.1. Ciclo 2000. Distribución anual de la contribución (0 - 1) de *Synechococcus* (A), de las picofitoeucariotas (B), de las tipo *Chrysochromulina* (C), de las criptofitas (D), de otras ultra-algas (E) a la biomasa total del ultrafitoplancton a 5 m de profundidad, en la EPEA……71

Figura 15.1. Continuación. Ciclo 2000. Distribución anual de la contribución (0 - 1) de las ultra diatomeas (F), de *Ollicola* (G), de *Pyramimonas* (H), de otras prasinofitas (I), de los cocolitofóridos (J) a la biomasa total del ultrafitoplancton a 5 m de profundidad, en la EPEA……72

Figura 16.1. Ciclo 2003. Distribución anual de la contribución (0 - 1) de *Synechococcus* (A), de las picofitoeucariotas (B), de las tipo *Chrysochromulina* (C), de las criptofitas (D), de otras ultra-algas (E) a la biomasa total del ultrafitoplancton a 5 m de profundidad, en la EPEA……..73

Figura 16.1. Continuación. Ciclo 2003. Distribución anual de la contribución (0 - 1) de las ultra diatomeas (F), de *Ollicola* (G), de *Pyramimonas* (H), de otras prasinofitas (I),

de los cocolitofóridos (J) a la biomasa total del ultrafitoplancton a 5 m de profundidad, en la EPEA……..74

Figura 17.1. Ciclo 2000. Distribución anual de la abundancia (células x ml $^{-1}$) de las diatomeas (A) y dinoflagelados fotótrofos (B) del nanoplancton, y de las diatomeas (C) y dinoflagelados fotótrofos (D) del microplancton a 5 m de profundidad, en la EPEA…….…75

Figura 18.1. Ciclo 2003. Distribución anual de la abundancia (células x ml $^{-1}$) de las diatomeas (A) y dinoflagelados fotótrofos (B) del nanoplancton y de las diatomeas (C) y dinoflagelados fotótrofos (D) del microplancton a 5 m de profundidad, en la EPEA……..76

Figura 19.1. Ciclo 2000. Distribución de la abundancia (células x ml $^{-1}$) de los coanoflagelados (A), de los nanoflagelados heterótrofos (B), de los *Leucocryptos* (C), de ciliados < 20 μm (D) a 5 m de profundidad en la EPEA……..77

Figura 19.1. Continuación. Ciclo 2000. Distribución de la abundancia (células x ml $^{-1}$) de los dinoflagelados heterótrofos < 20 μm (E), de los dinoflagelados heterótrofos entre 20 – 200 μm (F) y los ciliados desnudos entre 20 – 200 μm (G) a 5 m de profundidad en la EPEA…….78

Figura 20.1. Ciclo 2003. Distribución de la abundancia (células x ml $^{-1}$) de los coanoflagelados (A), de los nanoflagelados heterótrofos (B), de los *Leucocryptos* (C), de ciliados < 20 μm (D) a 5 m de profundidad en la EPEA…….79

Figura 20.1. Continuación. Ciclo 2003. Distribución de la abundancia (células x ml $^{-1}$) de los dinoflagelados heterótrofos < 20 μm (E), de los dinoflagelados heterótrofos entre 20 – 200 μm (F) y los ciliados desnudos entre 20 – 200 μm (G) a 5 m de profundidad en la EPEA…….80

Figura 21.1. Ordenación de escalamiento multidimensional no métrico por fecha de las campañas a partir de las variables ambientales. Ciclo 2000 (i). Ciclo 2003 (ii)…….81

Figura 22.1. Ordenación de escalamiento multidimensional no métrico por fechas de las campañas a partir de las biomasas del ultrafitoplancton. Ciclo 2000 (i). Ciclo 2003 (ii)…….82

Figura 23.1. Ordenación de escalamiento multidimensional no métrico por fecha de las campañas a partir de las biomasas del ultrafitoplancton en ambos ciclos (las mismas de la Figura 22) donde se super-pusieron círculos que indican los valores de las principales variables que influencian cada ordenación (obtenidas del análisis BIO-ENV)…83

Figura 24.1. Modelos GAM basados en variables explicativas ambientales individuales para los índices de variación de las biomasas de *Synechococcus*, tipo *Chrysochromulina*, Criptofitas y Picofitoeucariotas. Las líneas punteadas corresponden al rango de confianza, por debajo y por arriba de las funciones estimadas por el suavizado……84

Figura 25.1A. Modelos GAM basados en variables explicativas biológicas individuales para los índices de variación de las biomasas de *Synechococcus*, tipo *Chrysochromulina*, Criptofitas y Picofitoeucariotas. Las líneas punteadas corresponden al rango de confianza, por debajo y por arriba de las funciones estimadas por el suavizado…….85

Figura 25.1B. Modelos GAM basados en variables explicatorias biológicas individuales para la biomasa de Synechococcus, tipo Chrysochromulina, Criptofitas y Picofitoeucariotas. Las líneas punteadas corresponden al rango de confianza, por debajo y por arriba de las funciones estimadas por el suavizado…….86

Figura 1.2. Mapa mostrando la ubicación de la estación EPEA……110

Figura 2.2. Perfiles estivales de: temperatura (ºC); salinidad; concentración de nitratos (μM); porcentaje de penetración de luz; densidad (Kg m^{-3}); concentración de clorofila a total (mg m^{-3}); concentración de Cla < 5 μm (mg m^{-3}); cociente de Cla < 5 μm/Cla total. Los puntos representan las profundidades de muestreo…….111

Figura 3.2. Coeficiente específico de absorción del fitoplancton (m^2 mg^{-1} Cla) para los 4 meses, a cada una de las tres profundidades muestreadas. Las líneas sólidas representan fitoplancton total, y las punteadas fitoplancton < 5μm…….112

Figura 4.2. Distribución vertical de la biomasa (μg C L^{-1}) de los diferentes grupos del ultrafitoplancton identificados en este estudio…….113

Figura 5.2. Abundancia (células x 10^4 L^{-1}) de flagelados heterotróficos y ciliados.....114

Figura 6.2. Contribución de los distintos taxones individuales a la biomasa total del ultrafitoplancton a diferentes profundidades durante el período de estudio……115

Figura 7.2. (**A**) Diagrama de cluster de la matriz de similitud Bray-Curtis (de acuerdo a la abundancia de las especies) entre las muestras. Una línea umbral al valor de similitud igual a 80 fue dibujada para separar los cuatro grupos. (**B**) Gráfico escalar multi-dimensional de dos dimensiones no-métrico (MDS) construido a partir de la matriz de similitud. Las elipses unen las muestras de cada grupo determinado por el análisis de cluster. Los círculos (de tamaño creciente) súper-impuestos representan los valores de los índices de estratificación para cada muestra (marzo: 0,06; diciembre: 0,09; febrero: 0,38; enero: 0,83)…….116

Figura 1.3. En el panel A, localización de la Estación Permanente de Estudios Ambientales (EPEA). En el panel B, meses muestreados en los diferentes años estudiados.....138

Figura 2.3. ***Paneles de la izquierda***, distribución de las principales variables ambientales: A) Temperatura (a 5 m), C) Salinidad (a 5 m), E) Índice de estratificación. Promedios mensuales para cada año (círculos vacíos) y la media mensual de todos los años (círculos grises). ***Paneles de la derecha***, distribución de las anomalías mensuales

(escala logarítmica) de las variables seleccionadas (correspondientes a los paneles de la izquierda) para la serie de tiempo 2000-2009.....139

Figura 3.3. Distribución de la: irradiancia en superficie (A); profundidad de la capa de mezcla (B); profundidad de la capa eufótica (C); y relación entre la profundidad de la capa eufótica y la de mezcla (D). Valores mensuales (círculos vacíos) y media mensual de la serie de tiempo 2000-2009 (círculos grises).....140

Figura 4.3. Distribución del logaritmo de las concentraciones de Cla (a 5 m) total (A) y Cla < 5 μm (C). Distribución de las anomalías mensuales (escala logarítmica) de estas concentraciones total (B) y < 5 μm (E). Valores mensuales (círculos vacíos), media mensual de la serie de tiempo 2000-2009 (círculos grises).....141

Figura 5.3. Distribución del logaritmo de la abundancia del nano y microfitoplancton (a 5 m); diatomeas (A) y dinoflagelados fotosintéticos (B) en la serie de tiempo 2000-2009. Valores mensuales (círculos vacíos) y media mensual de todos los años (círculos grises).....142

Figura 6.3. Distribución (a 5 m) del logaritmo de la abundancia de ultraprotozooplancton (A), flagelados heterotróficos (B), ciliados desnudos (C) y dinoflagelados heterotróficos (D) en la serie de tiempo 2000-2009. Valores mensuales (círculos vacíos) y media mensual de todos los años (círculos grises).....143

Figura 7.3. (A). Distribución (a 5 m) del logaritmo de la abundancia de *Synechococcus* a lo largo de la serie de tiempo 2000-2009. (B). Distribución de las abundancias mensuales (círculos vacíos) y la media mensual de todos los años (círculos grises). (C). Distribución de las anomalías mensuales (escala logarítmica) de la abundancia de *Synechococcus*.....144

Figura 8.3. (A). Distribución (a 5 m) del logaritmo de la la abundancia de picofitoeucariotas a lo largo de la serie de tiempo 2000-2009. (B). Distribución de las abundancias mensuales (círculos vacíos) y la media mensual de todos los años (círculos grises). (C). Distribución de las anomalías mensuales (escala logarítmica) de la abundancia de Picofitoeucariotas.....145

Figura 9.3. (A). Distribución (a 5 m) del logaritmo de la abundancia de las tipo *Chrysochromulina* a lo largo de la serie de tiempo 2000-2009. (B). Distribución de las abundancias mensuales (círculos vacíos) y la media mensual de todos los años (círculos grises). (C). Distribución de las anomalías mensuales (escala logarítmica) de la abundancia de las tipo *Chrysochromulina*.....146

Figura 10.3. (A). Distribución (a 5 m) del logaritmo de la abundancia de criptofitas a lo largo de la serie de tiempo 2000-2009. (B). Distribución de las abundancias mensuales (círculos vacíos) y la media mensual de todos los años (círculos grises). (C). Distribución de las anomalías mensuales (escala logarítmica) de la abundancia de criptofitas.....147

Figura 11.3. (A). Distribución (a 5 m) del logaritmo de la abundancia de los Ultrafitoplancton SP a lo largo de la serie de tiempo 2000-2009. (B). Distribución de las abundancias mensuales (círculos vacíos) y la media mensual de todos los años (círculos

grises). (C). Distribución de las anomalías mensuales (escala logarítmica) de la abundancia de los Ultrafitoplancton SP.....148

Figura 12.3. Distribución de las anomalías mensuales de los índices climáticos [Índice de Oscilación Antártica e Índice de Oscilación Sur] y sus anomalías anuales (círculos negros).....149

Figura 13.3. Modelo GAM basado en variables explicativas individuales para las variaciones de la biomasa de *Synechococcus*. Las líneas punteadas corresponden al rango de confianza (95%), por debajo y por arriba de las funciones estimadas por el suavizado.....150

Figura 14.3. Modelo GAM basado en variables explicativas individuales para variaciones en la biomasa de tipo *Chrysochromulina*. Las líneas punteadas corresponden al rango de confianza (95%), por debajo y por arriba de las funciones estimadas por el suavizado.....151

Figura 15.3. Modelo GAM basado en variables explicativas individuales para variaciones en la biomasa de criptofitas. Las líneas punteadas corresponden al rango de confianza (95%), por debajo y por arriba de las funciones estimadas por el suavizado.....152

Figura 16.3. Modelo GAM basado en variables explicativas individuales para variaciones en la biomasa de picofitoeucariotas. Las líneas punteadas corresponden al rango de confianza (95%), por debajo y por arriba de las funciones estimadas por el suavizado.....153

Figura 17.3. Modelo GAM basado en variables explicativas individuales para variaciones en la biomasa de los ultraeucariotas de un plástido. Las líneas punteadas corresponden al rango de confianza (95%), por debajo y por arriba de las funciones estimadas por el suavizado.....154

Figura 18.3. Modelos finales GAM que mejor explicaron la distribución temporal de los principales grupos taxonómicos del ultrafitoplancton [*Synechococcus*, tipo *Chrysochromulina* y criptofitas] a lo largo de la serie de tiempo. Los paneles representan cada una de las componentes del modelo total; el eje *y* indica el efecto que tiene cada una de las variables explicativas del eje *x* sobre la variable respuesta (los grupos taxonómicos). Las líneas punteadas son los intervalos de confianza del 95% de las curvas predichas.....155

Figura 19.3. Diagnóstico del modelo para *Synechococcus*, tipo *Chrysochromulina* y criptofitas. Los paneles de la izquierda muestran una medida de la homogeneidad entre los valores residuales y los valores estimados; los paneles de la derecha son gráficos de cuantiles del tipo gráfico-QQ para evaluar la normalidad de la distribución de los datos.....156

RESUMEN GENERAL

El ultrafitoplancton (células < 5 μm) está compuesto por un grupo de organismos filogenéticamente diversos, que contribuyen significativamente a la biomasa y a la producción primaria total en diferentes sistemas oceánicos y costeros pelágicos. El éxito del ultrafitoplancton es atribuido a su elevada eficiencia en la captación de luz e incorporación de nutrientes, debido a su pequeño tamaño celular y a su baja tasa de hundimiento. La interrelación de factores bióticos y abióticos, tales como temperatura, nutrientes, luz y predadores, determinan la estructura de esta comunidad

El objetivo de este estudio fue evaluar la importancia ecológica de los organismos del ultrafitoplancton en la estación EPEA, situada en el sistema pelágico costero bonaerense, durante el período 2000-2009. En particular, se analizó la dinámica anual e interanual del ultrafitoplancton y sus estrategias frente al ambiente, así como sus posibles relaciones con otros componentes de la trama trófica microbiana.

La identificación taxonómica de los organismos del ultrafitoplancton es usualmente difícil debido a su pequeño tamaño. En este trabajo se enfatizó la caracterización, por primera vez para esta región, de los grupos principales: *Synechococcus*, picofitoeucariotas, tipo *Chrysochromulina* y criptofitas. La sucesión de estos grupos se relacionó con el ciclo estacional de mezcla-estratificación de la columna de agua. Las criptofitas se desarrollaron exitosamente durante el invierno y fueron progresivamente reemplazadas por las tipo *Chrysochromulina* a medida que avanzaba la estabilización. Finalmente, *Synechococcus* dominó esta comunidad durante el período de máxima estabilización en el verano. En el período de otoño, cuando comenzó la mezcla vertical, la comunidad estuvo representada por una mezcla de organismos pertenecientes a los picofitoeucariotas, pequeñas diatomeas y la crisofita *Ollicola*. Esta comunidad contribuyó entre un 50 y 90%, a la biomasa fototrófica total durante el período cálido.

Para entender en forma más objetiva las relaciones de las principales poblaciones del ultrafitoplancton y el ambiente, se utilizaron aquí, como una primera aproximación, los modelos aditivos generalizados (conocidos como GAM por sus siglas en inglés). A partir de la primera etapa de estudio descriptivo de esta comunidad y del análisis menos detallado pero metódico del GAM, se pudieron establecer las siguientes conclusiones: *Synechococcus* dominó la biomasa del ultrafitoplancton y se relacionó

con un hábitat de baja concentración de nitratos, alta estabilidad e irradiancia en la columna de agua; el nexo trófico potencial de *Synechococcus* estaría vinculado con los flagelados heterótrofos; el hábitat de las tipo *Chrysochromulina* fue óptimo durante el inicio del verano, cuando la columna de agua comenzaba a estabilizarse; los nutrientes y la luz no fueron limitantes para su desarrollo. Estos últimos organismos poseen diferentes estrategias como movilidad, mixotrofía y producción de sustancias alelopáticas, que pueden favorecer su desarrollo. Las criptofitas mostraron preferencia por un hábitat de aguas frías y condiciones de baja intensidad de luz. Los picofitoeucariotas son un grupo diverso taxonómicamente, y aquí estuvieron compuestos principalmente por prasinofitas. Se relacionaron con condiciones de transición entre los estados estratificados y mezclados de la columna de agua; esta estrategia estaría vinculada a la alta competitividad de estos organismos por la disponibilidad de nutrientes y su adaptación a los cambios fluctuantes de la irradiancia.

Desde el punto de vista macroecológico, se observó que el patrón anual de cada uno de los principales componentes del ultrafitoplancton fue consistente, y se detectaron pocos eventos particulares durante estos primeros 10 años de estudio. Entre estos se destacaron algunas floraciones algales y un crecimiento inusualmente alto de toda la comunidad del fitoplancton. Una consideración importante para destacar es el incremento en la biomasa del fitoplancton en los últimos años, vinculándose principalmente al aumento de los picofitoeucariotas.

El conocimiento obtenido a través de este detallado estudio sobre el ultrafitoplancton en la primera década de la serie de tiempo EPEA contribuye sustancialmente a la caracterización del plancton en el sistema costero bonaerense. Estos estudios sobre la dinámica de esta comunidad son un aporte para una futura predicción acerca del modo en que los componentes del ultrafitoplancton pueden responder a las perturbaciones naturales, antropogénicas y climáticas.

AGRADECIMIENTOS

A Rubén Negri, que supo enseñarme y guiarme todos estos años en el conocimiento de la ecología del fitoplancton.

A Vivian Lutz, directora de mi tesis, quien con su constancia y paciencia fue imprescindible para desarrollar este trabajo.

A Marina Sabatini, por su persistente apoyo en mi formación profesional.

A mis compañeros de laboratorio, con quien compartimos día a día nuestro trabajo en el Instituto de Investigación y Desarrollo Pesquero.

A mis amigos, por el sostén en el transcurso de este trabajo.

A mi familia y en especial a mi mujer, por brindarme su constante apoyo en el transcurso de este trabajo.

INTRODUCCIÓN GENERAL

El fitoplancton está formado por células que derivan (flotan) en aguas superficiales iluminadas, donde llevan a cabo la fotosíntesis oxigénica, produciendo materia orgánica que forma parte basal de las cadenas alimentarias de los ecosistemas acuáticos. Estimaciones globales indican que el fitoplancton es responsable de casi la mitad de la producción primaria global (Field *et al.*, 1998) y posee un rol fundamental en los ciclos biogeoquímicos sobre la tierra (Falkowski *et al.*, 1998).

El fitoplancton es un grupo filogenéticamente muy diverso (Tabla 1.i) y las especies que lo componen pertenecen a los dominios Bacteria y Eucariota (Woese *et al.*, 1990). Una de las formas más abundantes y conspicuas en todos los mares del presente y del pasado son las cianobacterias (Cyanobacteria). Este grupo apareció hace aproximadamente 3500 millones de años e influyó desde sus orígenes en la biogeoquímica de la tierra (Knoll *et al.*, 2007), fundamentalmente iniciando la incorporación de oxígeno a la atmósfera. Las algas eucariotas del fitoplancton evolucionaron (hace ~ 1000 millones de años) a partir del proceso de endosimbiosis, a lo largo de la historia del tejido vivo del planeta (Margulis, 1981; Hackett *et al.*, 2007). Así, la diversidad de plástidos que forman parte de las distintas células del fitoplancton fue adquirida por endosimbiosis en sucesivas etapas a lo largo de la evolución. A partir de la simbiosis primaria entre una cianobacteria y un protista heterótrofo flagelado, se originaron los plástidos de las glaucófitas, las algas verdes y las rojas. Otro tipo de plástido se originó a partir de la endosimbiosis secundaria entre algas eucariotas unicelulares y un eucariota heterótrofo, que formaron diversos grupos dentro de los Cromoalveolados. Existen evidencias de endosimbiosis terciaria y aun más complejas, en las que un alga con plástido secundario ha sido asimilada por otro protista, como se observa en los dinoflagelados (Keeling, 2010). Por lo tanto, el fitoplancton es un grupo filogenéticamente diverso y las especies que lo componen pertenecen principalmente a cianobacteria y diversos grupos de eucariotas comprendidos en los supergrupos Archaeplastida y Cromoalveolados (Adl *et al.*, 2005).

Por otra parte, la comunidad del plancton está compuesta por grupos de organismos que pueden clasificarse de acuerdo a sus tamaños (Sieburth *et al.*, 1978). La terminología usada para describir cada grupo varía según diferentes autores. Esto se debe principalmente a la utilización de diferentes tamaños de filtros para la separación de los componentes del plancton, así como a la naturaleza subjetiva de la elección de los

rangos de tamaño (Tabla 2.i). En este sentido, aún no hay acuerdo respecto de la exacta definición de los rangos de tamaño (Sicko-Goad & Stoermer, 1984). En este trabajo se utilizó el término ultrafitoplancton (es decir ultraplancton autotrófico) para agrupar a todos los organismos < 5 μm de tamaño, en el cual está incluido el picoplancton.

Los organismos del ultrafitoplancton han sido considerados importantes fuentes de alimentación para otros componentes del plancton desde hace varias decadas. Las primeras descripciones de algunas especies en los sistemas pelágicos datan de la década de 1950 (Cole & Knight Jones, 1949; Butcher, 1952). Sin embargo, no fue hasta la década de 1980 que se determinó su importancia en la biomasa y producción primaria en el ambiente marino (Throndsen, 1978; Fogg, 1986; Platt & Li, 1986). Durante esta misma década, surgió también el concepto de "bucle microbiano", y con él nuevas ideas sobre el flujo de materia y energía en las cadenas alimentarias marinas (Pomeroy, 1974; Azam *et al.*, 1983). Este marco teórico propone la existencia de redes tróficas microbianas, en las cuales el bacterioplancton, el ultrafitoplancton y los protistas heterótrofos interaccionan de forma compleja (Fenchel, 1988; Sherr & Sherr, 1988).

Así, el ultrafitoplancton forma parte de la comunidad microbiana y su ecología no puede comprenderse sin tener en cuenta sus relaciones con otros organismos y con el ambiente. Los estudios ecológicos realizados sobre esta fracción del plancton se vieron favorecidos por los distintos avances tecnológicos desarrollados en estos últimos años (Tabla 3.i). Las técnicas que permitieron incrementar el conocimiento sobre esta temática son la microscopía electrónica y de fluorescencia, la citometría de flujo y varias otras moleculares. La información disponible hasta el momento sobre los componentes del ultraplancton (bacterias, algas y protistas heterótrofos) sugiere que los grupos descriptos son similares en los diferentes sistemas pelágicos del océano mundial y sus abundancias oscilan en el mismo orden de magnitud ($<10^2$ a $>10^6$ cel.ml^{-1}). Por otro lado, persiste aún un gran desconocimiento sobre la diversidad específica de los componentes del ultraplancton fotótrofo y heterótrofo (Massana *et al.*, 2002; Romari & Vaulot, 2004; Medlin *et al.*, 2006). Recientes estudios han permitido la descripción de nuevos grupos en el picoplancton fotótrofo, como las clases Pelagophyceae (Andersen *et al.*, 1993), Bolidophyceae (Guillou *et al.*, 1999) y Pinguiophyceae (Kawachi *et al.*, 2002), y el phylum Picobiliphyta (Not *et al.*, 2007a). Estos avances en la comprensión de la diversidad del picoplancton se han logrado, en gran medida, por la utilización de técnicas moleculares. Sin embargo, el aislamiento y el cultivo de estos organismos son

fundamentales para un mayor conocimiento de la taxonomía, la filogenia y la fisiología del ultrafitoplancton.

Estudios fisiológicos han demostrado que el pequeño tamaño de estas algas les proporciona ventajas para crecer en ambientes con bajas concentraciones de nutrientes, luminosidad extrema (muy escasa o muy alta) y elevada estabilidad de la columna de agua (Raven, 1998). Estas estrategias explican la dominancia del ultrafitoplancton en ambientes oligotróficos y en áreas templadas durante el período cálido (Fogg, 1986; Stockner, 1988). Sin embargo, son aún escasos los estudios sobre las interacciones con los organismos heterótrofos. La poca información existente ha revelado que los componentes de esta trama microbiana interactúan de diferentes modos, que incluyen la simbiosis, la mixotrofía, y la predación. Los protistas pueden presentar un amplio espectro de estrategias nutricionales, por ejemplo, la mixotrofía. Los grupos mixótrofos poseen una ventaja competitiva con respecto a otros organismos que son exclusivamente fotótrofos o fagótrofos (Jones, 1994). Los protistas heterótrofos, principalmente dinoflagelados, ciliados, y otros flagelados del nanoplancton, se alimentan por fagotrofía de los organismos del ultrafitoplancton. Estas complejas relaciones son difíciles de evaluar en la naturaleza, pero se han estudiado en el laboratorio, observándose una respuesta rápida y selectiva a la presencia de presas (Fenchel, 1982; Simek *et al.*, 1995; Caron *et al.*, 2004). En general, las cianobacterias y bacterias heterótrofas del plancton son consumidas por flagelados y ciliados menores de 5 µm, mientras que los organismos heterótrofos de mayor tamaño prefieren las células eucariotas del nano y microplancton. La identificación taxonómica apropiada de los organismos del ultraplancton y el conocimiento de los nexos tróficos específicos y sus estrategias nutricionales son esenciales para comprender el flujo de carbono en el ecosistema marino.

La sucesión ecológica del conjunto de especies que componen el fitoplancton provee el marco teórico necesario para entender cómo se estructura la comunidad del fitoplancton en los sistemas pelágicos (Margalef, 1958; Smayda, 1980). El estudio de la asociación de especies con las condiciones ambientales en las cuales se desarrollan se basó en los conocimientos sobre la estrategia reproductiva de las especies y la evolución de la estrategia de vida de las plantas terrestres (Grime, 1974). La consecuencia más directa de la utilización de estos conceptos fue el desarrollo de la “Mandala del fitoplancton”; este modelo conceptual asocia las formas de vida del fitoplancton como

una adaptación de las especies con un espacio formado por los gradientes de la concentración de nutrientes y de la turbulencia de la columna de agua (Margalef, 1978).

Más allá del entendimiento de los cambios estacionales explicados por la sucesión del fitoplancton, son necesarias otras escalas temporales para comprender la variabilidad del fitoplancton. Por ejemplo, para entender los procesos que determinan los patrones de la abundancia y diversidad de los organismos, deben aplicarse escalas espaciales y temporales de mayores dimensiones (Brown, 1995; Witman & Roy, 2009). El estudio de estos complejos procesos requiere un enfoque multidiciplinario que incluya las propiedades físicas, químicas y biológicas en una serie larga de tiempo (McGowan, 1990; Smetacek & Cloern, 2008). Estas series de tiempo permiten, además, detectar los posibles cambios producidos por perturbaciones naturales (hidrográficas y climáticas) y antropogénicas (Li & Harrison, 2008). Sin embargo, hay pocos estudios de series temporales de larga duración que incluyan un análisis de los organismos del plancton y especialmente de las comunidades del fitoplancton (Guinder *et al.*, 2010; Widdicombe *et al.*, 2010; Zingone *et al.*, 2010). Esto se debe, entre otras causas, a la dificultad para identificar y cuantificar las especies de esta comunidad a lo largo del tiempo.

El trabajo desarrollado en esta tesis forma parte de un estudio más amplio sobre la variabilidad ambiental y del plancton a largo plazo en una estación fija (38º 28' S – 57º 41' O): 'Estación Permanente de Estudios Ambientales (EPEA)', que se desarrolla en el marco del proyecto 'Dinámica del Plancton Marino y Cambio Climático' (Programa 'Ambiente Marino' del Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero, Mar del Plata). Asimismo, la estación EPEA forma parte de la red Antares (www.antares.ws). Esta red es una iniciativa que procura nuclear series temporales de estudios oceanográficos, con especial énfasis en bio-óptica y fitoplancton, que se realizan en distintos países de Latinoamérica. Actualmente, Antares constituye la rama latinoamericana de la red global 'Chlorophyll Globally Integrated Network - ChloroGIN' (www.chlorogin.org).

En los últimos años se han observado cambios en los organismos del plancton que se han atribuido a cambios climáticos a nivel global (Hays *et al.*, 2005). Estimaciones globales sobre la producción primaria, evaluada a través de sensoramiento remoto, predicen una disminución de la misma en relación con el calentamiento global (Behrenfeld *et al.*, 2006). Los efectos del cambio climático producirían sobre la comunidad del fitoplancton alteraciones en la fenología de las floraciones, en la

composición de especies y en las condiciones fisiológicas de las mismas (Sommer & Lengfellner, 2008; Sommer & Lewandowska, 2010). Estudios desarrollados en el Hemisferio Norte han mostrado la influencia de los cambios de temperatura y salinidad sobre la estructura de las comunidades del fitoplancton (Richardson & Schoeman, 2004; Li *et al.*, 2009). Estos resultados sugieren que en un hipotético escenario de calentamiento global aumentaría la importancia relativa del ultrafitoplancton y en consecuencia se produciría un cambio en el flujo de carbono en las cadenas alimentarias marinas (Moran *et al.*, 2010).

En esta tesis se presentan los primeros resultados de la ecología del ultrafitoplancton en aguas costeras bonaerenses. En el ***primer capítulo***, se evaluó la contribución del ultrafitoplancton a la biomasa total del fitoplancton a lo largo de un ciclo anual. Además, se determinó la variabilidad temporal de la composición de la comunidad, a la mayor resolución taxonómica posible, utilizando una combinación de técnicas microscópicas. También se describe la sucesión de los componentes del ultrafitoplancton y los posibles factores bióticos y abióticos que la determinan. Para comprender la influencia de las variables ambientales y biologicas sobre el patrón anual de la comunidad del ultrafitoplancton, se aplicaron dos métodos estadísticos; en primer lugar, un análisis multivariado para la visualización y exploración de los datos a fin de relacionar las variables ambientales con el patrón anual de esta comunidad; en segundo lugar, un análisis más detallado para conocer las causas de la variabilidad de los grupos más importantes de esta comunidad, utilizando los modelos aditivos generalizados (GAM, según las siglas en inglés).

A partir de los resultados anteriores, el estudio se focalizó en una ventana temporal más corta, el verano, a fin de examinar la contribución del ultrafitoplancton al espectro de absorción total del fioplancton (***segundo capítulo)***. Se estudiaron, además, las variaciones de sus componentes en relación con el ambiente. En este caso se utilizó la citometría de flujo para caracterizar los organismos de esta fracción.

En el ***tercer capítulo*** se presenta el estudio de los patrones inter-anuales de los principales grupos del ultrafitoplancton y de los mecanismos que influyen en los cambios observados en el largo plazo. En todos los casos, el énfasis se puso en los grupos taxonómicos que contribuyeron significativamente a la biomasa del ultrafitoplancton en la estación EPEA. Para definir en función de qué conjunto de variables ambientales y biológicas se puede explicar la variabilidad de estos organismos, se utilizó el modelo estadístico GAM.

La tesis fue estructurada con tres capítulos centrales independientes de modo tal que cada uno constituye o constituirá una publicación científica individual. Por esta razon existe cierta repetición en algúnas figuras y métodos.

De acuerdo al plan inicialmente presentado, los objetivos de esta tesis fueron:

Objetivo Principal

Estudiar la dinámica de la comunidad del ultrafitoplancton en una estación costera (EPEA) del Mar Argentino, analizando los principales factores abióticos y bióticos que regulan su distribución temporal.

Objetivos específicos

a. Identificar las especies taxonómicas o grupos funcionales más importantes del ultrafitoplancton (Capítulos I y II).

b. Estudiar las variaciones de la abundancia y biomasa de los componentes del ultrafitoplancton durante un ciclo anual (Capítulo I).

c. Conocer los patrones temporales de los componentes del ultrafitoplancton a lo largo de la serie de tiempo 2000-2009 con una frecuencia aproximadamente mensual (Capítulo III).

d. Conocer la dinámica estacional de los distintos grupos del ultrafitoplancton en relación con las variables ambientales (Capítulos I y II).

e. Caracterizar las propiedades ópticas del ultrafitoplancton y conocer su contribución a la absorción total del fitoplancton (radiación fotosintéticamente activa) (Capítulo II).

Tabla 1.i: Clasificación taxonómica y filogenético de los organismos descriptos en este estudio (Woese *et al.*, 1990; Adl *et al.*, 2005; Scanlan *et al.*, 2009)

Clasificación 'nueva'	**Clasificación'clásica'**		**Clasificación 'nueva'**			
Dominios	**Super-dominios (Imperios)**	**Reinos**	**Super-grupos**	**Primer Rango**	**Segundo Rango**	**Ejemplos**
Bacteria	Procariota	Eubacteria	Phylum: Cyanobacteria	Sub-cluster marino 5.1	*Synechococcus* del clado IV	*Synechococcus*
Eukarya	Eucariota	Protista	Opisthokonta	Choanomonada	Coanoflagelados	Coanoflagelados
			Chromalveolata	Cryptophyta	Cryptophyceae	*Hemiselmis, Plagioselmis*
				Haptophyta	Prymnesiophyceae	*Imantonia*, *Chrysochromulina*, *Emiliania*, *Gephyrocapsa, Prymnesium* Syracosphaeraceae
				Estramenópilos	Bacillariophyceae	Diatomeas céntricas y pennadas, *Chaetoceros*, P*haeodactylum*
					Chrysophyceae	*Ollicola*, otras ultra-algas Nanoflagelados heterótrofos
					Pelagophyceae	*Aureococcus*
					Bicosoecida	nanoflagelados heterótrofos, ultraprotozooplancton
				Alveolados	Ciliophora	Ciliados desnudos, Tintinidos,
					Dinozoa	Dinoflagelados del microfitoplancton, Dinoflagelados heterotrófos
		Plantae	Archaeplastida	Chloroplastida (Algas verdes)	Chlorophyta	Clorofita cocal
					Prasinophyceae	Prasinofitas cocales del Clado VII, *Pyramimonas*, otras prasinofitas
				Glaucophyta		
				Rhodophyta (Algas rojas)	Rhodophyceae	
Archaea	No se consideraron en este estudio					

Tabla 2.i: Términos utilizados en la literatura para la clasificación del plancton por tamaños celulares. Remarcados en negrita el criterio adoptado en este trabajo referente al tamaño celular de las categorías utilizadas.

Términos	**Tamaño**	**Referencias**
Macroplancton	2 – 20 cm	Sieburth *et al.*,1978
Mesoplancton	0,2 – 20 mm	Sieburth *et al.*, 1978
Plancton de red	>45 µm >64 µm	Throndsen, 1978 Vollenweider *et al.*, 1974; Ross & Duthie, 1981
Microplancton	**20 - 200 µm** 50 – 500 µm 60 - 500 µm	Dussart, 1965; Sieburth *et al.*, 1978 Margalef, 1955 Hutchinson, 1967
Nanoplancton	2 - 20 µm **5 - 20 µm** 5 – 50 µm 5 - 60 µm <45 µm <100 µm <64 µm 15 - 64 µm	Dussart, 1965; Sieburth *et al.*, 1978 Este trabajo Margalef, 1955 Hutchinson, 1967 Throndsen, 1978 Rodhe, 1958 Vollenweider *et al*., 1974 Ross & Duthie, 1981
Ultrananoplancton	<2 µm	Dussart, 1966
Ultraplancton	**<5 µm** 0,5 – 5 µm 1 - 10 µm 1 – 15 µm <15 µm	Margalef, 1955 Hutchinson, 1967 Throndsen, 1978 Reynolds, 1973 Ross & Duthie, 1981
Picoplancton	**0,2 – 2 µm**	Sieburth *et al.*, 1978
Femtoplancton	0,02 – 0,2 µm	Sieburth *et al.*, 1978

Tabla 3.i: Cronología de los principales acontecimientos científicos que marcaron un avance en el conocimiento sobre los organismos más pequeños del plancton.

Año	Acontecimiento científico
1979	Descubrimiento de cianobacterias cocoides que contienen ficoeritrina (*Synechococcus*) utilizando microscopía de fluorescencia (Johnson & Sieburth, 1979; Waterbury *et al.*, 1979).
1982	Identificación de pequeños eucariotas, tales como clorofitas, prasinofitas, y eustigmatofitas, utilizando diversas técnicas microscópicas. Aún así, no se logró una identificación específica más detallada debido a la dificultad de su aislamiento en cultivos (Johnson & Sieburth, 1982; Stockner & Antia, 1986).
1988	Descubrimiento de células de *Prochlorococcus* a través del uso de citometría de flujo. Este método permitió colectar una enorme cantidad de datos para determinar la abundancia y la fluorescencia de las poblaciones del picofitoplancton (Chisholm *et al.*, 1988; Olson *et al.*, 1993).
1998	Estudios filogenéticos revelaron los principales clados de las cianobacterias (Urbach *et al.*, 1998).
2001	La gran diversidad de picoeucariotas, tanto fotosintéticos como heterótrofos, fue revelada a través de técnicas moleculares (Moon-van der Staay *et al.*, 2001; Moreira & López-García, 2002).
2003	Determinación y análisis de los genomas de las cianobacterias (Palenik *et al.*, 2003; Palenik *et al.*, 2006).
2004	Determinación y análisis de los genomas de pequeños eucariotas. (Armbrust *et al.*, 2004; Derelle *et al.*, 2006; Palenik *et al.*, 2007; Worden *et al.*, 2009).

CAPÍTULO I

Dinámica de la comunidad del ultrafitoplancton en la estación costera EPEA durante los ciclos anuales 2000 y 2003

Introducción

Los organismos autotróficos <5 µm, comúnmente denominados ultrafitoplancton, fueron descriptos desde hace tiempo (Butcher, 1952; Throndsen, 1978). Sin embargo, el estudio de su rol en ambientes marinos cobró relevancia en la decada de 1980 (Fogg, 1986; Platt & Li, 1986). A partir de entonces se demostró que el ultrafitoplancton, el bacterioplancton y los protistas heterótrofos son componentes esenciales en las cadenas tróficas microbianas (Fenchel, 1988; Sherr & Sherr, 1988) y cumplen un rol significativo en el flujo de materia y energía en los ecosistemas marinos (Pomeroy, 1974; Azam *et al.*, 1983; Sherr & Sherr, 1988).

El ultrafitoplancton contribuye significativamente a la biomasa y producción total del fitoplancton en los sistemas marinos pelágicos; está constituido por procariotas del phylum Cianobacteria de los géneros *Synechococcus* y *Prochlorococcus*, y por un grupo diverso de eucariotas (Platt & Li, 1986). Usualmente, el fitoplancton pequeño domina en ambientes oligotróficos o durante el período estratificado en áreas templadas (Stockner & Antia, 1986; Weisse, 1993; Fogg, 1995). El pequeño tamaño celular le confiere al ultrafitoplancton una serie de ventajas adaptativas para: a) utilizar bajas concentraciones de nutrientes, debido a una mayor relación superficie/volumen; b) crecer a altas intensidades de luz, de acuerdo a su arreglo pigmentario; y c) evitar el hundimiento, dado su bajo peso (Chisholm, 1992; Fogg, 1995).

Distintos autores han propuesto el concepto de que la comunidad del fitoplancton estaría compuesta, en términos de tamaño, por un sistema uniforme de pequeñas células en áreas oligotróficas, sobre el que se superponen grandes células en áreas eutróficas (Yentsch & Spinrad, 1987; Chisholm, 1992). Estudios recientes de macroecología del fitoplancton (Li, 2002) mostraron, que mientras las abundancias del picoplancton (< 2 µm) y del nanoplancton (10-20 µm, de acuerdo al autor citado) estan sujetas a variaciones, la fracción de tamaño intermedio (2-10 µm) se mantiene relativamente uniforme.

El estudio de la composición de la comunidad del fitoplancton para reconocer las diferentes etapas de la sucesión ecológica y los posibles nexos tróficos con el zooplancton es fundamental para entender el funcionamiento de los sistemas pelágicos. La sucesión ecológica es un proceso de auto-organización, que está basado en las interacciones entre las especies, y entre éstas y el ambiente (Margalef, 1958). En el marco de los conceptos ecológicos de la sucesión de especies, los factores más importantes que afectan a cada componente del fitoplancton son los procesos físico-químicos asociados a la turbulencia, como los cambios en el régimen de luz y en la concentración de nutrientes (Riley, 1946; Margalef, 1958; Margalef, 1978), y las interacciones

biológicas como la competencia y la predación (Harvey *et al.*, 1935; Ryther, 1969; Calbet & Landry, 2004). Estos conceptos son aún fuertemente utilizados en modelos de distribución y producción del fitoplancton, que vinculan la turbulencia y la luz con la relación entre profundidad de la capa de mezcla y profundidad de la capa eufótica (Sverdrup, 1953; Zhai *et al.*, 2010). Un factor biológico importante en la estructuración de la comunidad del ultrafitoplancton es la predación por parte de los protistas heterótrofos (Sherr & Sherr, 1994), que responden rápida y selectivamente a la presencia de potenciales presas.

La creciente preocupación por el calentamiento global y por otros efectos antropogénicos sobre los ecosistemas costeros han puesto de relevancia la necesidad de estudiar series de tiempo en el medio marino (Ducklow *et al.*, 2009). En este sentido, el presente trabajo forma parte de un proyecto del INIDEP que estudia todos los componentes del plancton, desde el bacterioplancton hasta el ictioplancton, en una Estación Permanente de Estudios Ambientales (EPEA). Resultados previos en la EPEA mostraron la significativa contribución del ultrafitoplancton a la biomasa total del fitoplancton durante el verano, y el efecto importante de la estabilidad de la columna de agua sobre la estructuración de esta comunidad en el sistema costero bonaerense (Lutz *et al.*, 2006; Silva *et al.*, 2009). A fin de comprender la función de los organismos en el ecosistema pelágico, es necesario tener una descripción inicial de base lo más detallada posible de todas las propiedades físicas, químicas y biológicas de este sistema (Smetacek & Cloern, 2008), y así contar con las herramientas necesarias para desarrollar un modelo predictivo de su dinámica.

En este estudio se comenzó a abordar la construcción de un modelo sencillo que representará la sucesión del ultrafitoplancton en función de los principales forzantes. Un problema común en los ecosistemas marinos y terrestres es la dificultad de modelar las relaciones complejas no lineales que existen entre los procesos físicos y biológicos. El modelo aditivo generalizado (conocido por su sigla en inglés, GAM) constituye un método muy flexible para modelar el cambio de una variable con los diferentes factores explicativos (Hastie & Tibshirani, 1990; Wood, 2006). Los GAMs permiten incorporar funciones no paramétricas que se adaptan a las estructuras no lineales de los datos. Este tipo de técnicas de modelado se utiliza en estudios de ecología, evolución, biogeografía, conservación y cambio climático (Guisan *et al.*, 2002; Guisan & Thuiller, 2005). Sin embargo, la potencialidad de los GAMs para describir la variabilidad de la biomasa en los organismos del plancton ha sido poco estudiada (Zarauz *et al.*, 2008; Boyce *et al.*, 2010). Aquí se exploró la utilización de modelos aditivos generalizados para esclarecer las relaciones no lineales y comprender los mecanismos que definen la distribución temporal de los principales organismos del ultrafitoplancton en la estación EPEA.

Los objetivos de este trabajo fueron a) determinar cuáles son los principales componentes del ultrafitoplancton y sus etapas sucesionales en la EPEA de dos ciclos anuales; b) determinar los principales forzantes bióticos y abióticos que afectan la estructura temporal de esta comunidad; y c) poner a punto la implementación de un modelo de tipo GAM capaz de describir la distribución estacional de los principales componentes del ultrafitoplancton a partir de los factores ambientales y biológicos seleccionados.

Métodos

Muestreo y determinación de variables ambientales

Las muestras fueron colectadas en la estación EPEA (38º 28' S – 57º 41' O) durante dos ciclos anuales: uno entre febrero de 2000 y abril de 2001 (ciclo 2000), y el otro entre septiembre de 2003 y septiembre de 2004 (ciclo 2003), con un total de 35 campañas (Figura 1.1 y Tabla 1.1). Se seleccionaron para este análisis estacional estos dos ciclos anuales por ser los que tenían una mayor resolución en la frecuencia de muestreo. Las estaciones fueron consideradas por año calendario: verano comprende los meses de diciembre, enero y febrero; otoño comprende marzo, abril y mayo; invierno comprende junio, julio y agosto; primavera comprende septiembre, octubre y noviembre.

El perfil de la radiación fotosintéticamente activa (PAR por sus siglas en inglés) fue registrado utilizando un radiómetro sumergible (PUV 500/510B Profiling Ultraviolet Radiometer). La capa eufótica fue definida a la profundidad donde se encontraba el 1% del valor de PAR en superficie. Los perfiles de temperatura y salinidad se realizaron con un CTD (Sea Bird SBE 19). La capa de mezcla fue definida como la profundidad en la cual la densidad cambia 0,125 kg m^{-3} a partir del valor de referencia de superficie; y cuando no hubo registro de salinidad, se consideró la profundidad en la cual la temperatura cambia 0,5º del valor de superficie (Levitus, 1982). El índice de estratificación de la columna de agua fue obtenido calculando el desvío estándar de la densidad, o en su defecto, el de la temperatura (Plisnier *et al.*, 1996).

Se tomaron muestras de agua con botellas Niskin de 5 l a profundidades correspondientes a distintos niveles de penetración de PAR (con respecto a la superficie): 100 %, 25%, 10% y 1%. Estas muestras fueron utilizadas para la determinación espectrofluorométrica de la concentración de clorofila *a* total y de la fracción menor de 5 μm, a partir de extractos en acetona (datos proporcionados gentilmente por Daniel Cucchi-Colleoni, INIDEP; ver detalles en Capítulo II);

concentración de nitratos utilizando un auto-analizador para su determinación (datos proporcionados gentilmente por Mario Carignan, INIDEP); y la abundancia de los componentes del fitoplancton por análisis microscópico (detallado a continuación).

Identificación y cuantificación de organismos del plancton

Utilización del método de fluorescencia

La cuantificación de los componentes del ultrafitoplancton fue realizada mediante el siguiente proceso: muestras de agua de 250 ml provenientes de diferentes profundidades, fueron fijadas con formaldehído neutralizado con hexametilentetramina (concentración final 0,4%); luego, sub-muestras de 50 ml fueron teñidas con los fluorocromos DAPI y proflavina, y posteriormente filtradas a través de una membrana de policarbonato negro de 0,2 μm de poro; a continuación, estos filtros se colocaron sobre portaobjetos con aceite de inmersión y se almacenaron a -20ºC hasta su análisis posterior en el laboratorio. Se cuantificaron las células con clorofila *a*, ficobilinas (ficocianina y ficoeritrina), proflavina (membrana celular) y DAPI (ADN) utilizando microscopía de epifluorescencia y análisis de imágenes (Sieracki and Viles., 1990; Booth, 1993; MacIsaac and Stockner, 1993). El microscopio utilizado fue un Olympus IX70 provisto con filtros de excitación azul (Olympus U-M514), verde (Olympus U-M524), y ultravioleta (Olympus U-M534).

Utilización del método de sedimentación

Se realizó el análisis cuantitativo de sub-muestras, de 100 ml de la muestra fijada con formaldehído neutralizado, por el método de sedimentación (Lund *et al.*, 1958), utilizando un microscopio invertido equipado con contraste diferencial de interferencias (DIC) bajo objetivo de inmersión (1000x). Este último análisis permitió la cuantificación y la identificación hasta el menor nivel taxonómico de los organismos del ultrafitoplancton y formas heterotróficas, que no pudieron ser caracterizados por el método de fluorescencia (Tabla 2.1). También se estimó la abundancia de los principales grupos del fitoplancton de mayor tamaño (micro- y nano-fitoplancton) como las diatomeas y los dinoflagelados (Tabla 2.1, datos proporcionados gentilmente por Rubén Negri, INIDEP). Este método sólo se utilizó para estudiar las muestras de 5 m de profundidad.

Biomasas de los componentes del ultrafitoplancton

A partir de los valores de abundancias y dimensiones celulares obtenidas de las imágenes digitales, se realizó la estimación de la biomasa utilizando factores de conversión de volumen celular a carbono: 0,22 pg C μm^3 para células < 5 µm (Booth, 1993) y 0,21 pg C por célula para *Synechococcus* (Waterbury *et al.*, 1986).

Análisis estadístico de los datos de 5 m de profundidad

Los datos físicos, químicos y biológicos obtenidos en ambos ciclos anuales a la profundidad de 5 m fueron estudiados a través de diferentes análisis estadísticos.

El primer estudio realizado para comprender la estructura de la comunidad del ultrafitoplancton fue un análisis multivariado con el programa estadístico PRIMER (Plymouth Routines In Multivariate Ecological Research, versión 6 para Windows) (Clarke & Warwick, 2001). En un primer paso, se realizó una transformación de todas las variables ambientales [log (x +1)] para calcular las distancias euclidianas y así, determinar el agrupamiento de las diferentes campañas. Luego, los valores de biomasa del ultrafitoplancton, que representaron > 1% del total, fueron transformados con la raíz cuarta y se determinó el índice de similitud de Bray-Curtis. En cada matriz, la distancia y similitud promedio entre las diferentes campañas se determinó mediante los métodos de ordenación de Escalamiento Multidimensional no Métrico (sigla en inglés MDS). Esta ordenación de los datos en dos dimensiones se evaluó utilizando el valor de "stress" (<0,1 muy buena, 0,1-0,2 buena y >0,2 mala), que indica la calidad de dicha representación. Para determinar las variables que contribuían a diferenciar los grupos definidos en el análisis MDS se utilizó el test de similitud porcentual (SIMPER). Luego, se realizó un análisis estadístico entre la matriz ambiental y la de la biomasa del ultrafitoplancton para detectar posibles correlaciones entre ellas, con la rutina BIO-ENV. Este análisis utilizó el coeficiente de Spearman para determinar qué combinación de variables ambientales explicaría la estructura temporal de la comunidad del ultrafitoplancton.

El segundo estudio, para analizar la variabilidad de la biomasa de cada componente del ultrafitoplancton, utilizó los modelos aditivos generalizados (Hastie & Tibshirani, 1990). Este análisis fue realizado con la rutina "mgcv" de la biblioteca del programa estadístico R (http://cran.r-project.org) (en colaboración con Emiliano Di Marco, INIDEP). Los valores de biomasa fueron trasformados por el logaritmo de base decimal, log10 (biomasa), y en el caso de valores nulos, log10 (biomasa+1), para ser utilizados en los modelos GAMs. Estos modelos GAMs se corrieron a partir de una sola variable explicativa, para estudiar la influencia de cada

una de estas variables individualmente sobre la distribución de la biomasa de los grupos del ultrafitoplancton. La significatividad de cada modelo se estimó utilizando los siguientes criterios: el resultado de la validación generalizada cruzada (GCV, siendo la más baja la mejor); el nivel de desvianza explicado (0 a 100%, siendo el más alto el mejor); y el rango de confianza del suavizado.

Resultados

Condiciones Ambientales

Distribución de temperatura

En el ciclo 2000 los valores de temperatura (temp) variaron entre 9,7 y 22,1 ºC. La columna de agua se presentó homogénea desde abril hasta octubre, alcanzando condiciones de estratificación entre diciembre y marzo, período en el que se presentaron los mayores valores de temperatura superficial (Figura 2.1A). En el ciclo 2003, el patrón fue similar al anterior pero las temperaturas oscilaron entre 10,0 y 21,5ºC (Figura 3.1A).

Distribución de salinidad

En el ciclo 2000, los valores de salinidad (sal) oscilaron entre 33,1 y 34,1. Durante gran parte de este ciclo se observó la columna de agua homogénea con valores de 33,9-34,1. Sin embargo, se registraron dos situaciones particulares de estratificación con la presencia de aguas de baja salinidad en superficie: una durante el verano de 2000 y la otra en el otoño de 2001 (Figura 2B). En el ciclo 2003, los valores de salinidad mostraron un rango de 31,4 a 34,0, con presencia de aguas de baja salinidad registrada durante el verano (Figura 3B).

Variación anual de la profundidad de la capa de mezcla y la penetración luminosa en la columna de agua

En el ciclo 2000, los valores de PAR registrados en la superficie oscilaron entre 551 µmol quanta m^{-2} s^{-1} durante el invierno y 1773 µmol quanta m^{-2} s^{-1} en el verano. La capa eufótica (Zeu) varió entre 15 m en el invierno y 40 m en el verano. La capa de mezcla (Zm) varió entre 14 y 48 m; los máximos se observaron durante el invierno y primavera, y los mínimos durante el verano. La relación entre estas dos últimas variables (Zeu/Zm) mostró altos valores durante los períodos cálidos (Figura 4.1A). Durante el ciclo 2003, los valores de PAR fueron elevados (2110 µmol quanta m^{-2} s^{-1}) durante el verano, y mínimos (268 µmol quanta m^{-2} s^{-1}) en el invierno (Figura

4.1B). La distribución temporal de las profundidades de la capa eufótica, la de mezcla, y la relación entre ambas, siguió el mismo patrón general que en el ciclo 2000.

Distribución anual de la concentración de clorofila a total y de la fracción menor de 5 µm

La concentración de clorofila a total (ClaT) varió entre 0,16 y 3,30 mg m^{-3} en el ciclo 2000 (Figura 5.1A) y entre 0,07 y 1,18 mg m^{-3} en el ciclo 2003 (Figura 6.1A). Las máximas concentraciones de TCla se observaron en aguas superficiales en el invierno del ciclo 2000, mientras que en el ciclo 2003 los mayores valores se observaron en aguas superficiales en otoño e invierno.

La concentración de clorofila a de la fracción <5 µm (Cla <5) mostró el mismo patrón temporal que TCla y los valores oscilaron entre 0,04 y 0,73 mg m^{-3} en el ciclo 2000 (Figura 5.1B) y entre 0,02 y 0,84 mg m^{-3} en el ciclo 2003 (Figura 6.1B). Los máximos de Cla <5 en ambos ciclos anuales se observaron en profundidad.

Las contribuciones de la fracción Cla <5 a la clorofila a total, en el ciclo 2000 (Figura 5.1C), mostraron mínimos entre abril y septiembre (Cla<5/ClaT: 0,1-0,3) coincidiendo con el período homogéneo de la columna de agua. Este cociente aumentó hacia el comienzo de la estratificación de la columna de agua entre los meses de noviembre y diciembre (Cla<5/ClaT: 0,5), y alcanzó el máximo valor en el período de mayor estratificación en marzo y abril (Cla<5/ClaT: 0,6). En el ciclo 2003, sin embargo, los valores más altos de este cociente (Cla<5/ClaT: 0,7) se observaron entre junio y septiembre cuando no se había desarrollado una estratificación marcada (Figura 6.1C).

Componentes del plancton

Ultrafitoplancton

Entre los componentes **procariotas del ultrafitoplancton** se hallaron:

- Cianobacterias del género ***Synechococcus*** **(Syn)** como miembros conspicuos de esta comunidad (Figura 7.1 y Tabla 2.1). Se encontraron cianobacterias solitarias que se caracterizan por su forma esférica, por su tamaño de aproximadamente 1 µm y por poseer ficoeritrina del tipo I (ficourobilina y ficoeritrobilina) como pigmento dominante (Figura 7.1A). En los períodos de verano se obsevó la presencia de agregados de cianobacterias de forma baciloide de 1,3 x 0,7 µm, que también poseen ficoeritrina del tipo I (Figura 7.1B). Cabe aclarar que en este trabajo se utilizaron, para los estudios cuantitativos y

análisis estadísticos, sólo las células solitarias de este género; es decir que, de aquí en adelante, cuando se hace referencia a *Synechococcus*, no se considera a los agregados.

Los componentes **eucariotas del ultrafitoplancton** fueron los siguientes:

- El grupo de las **Picofitoeucariotas (Pfe)** con un tamaño <2 µm, que incluyen:
    - Formas cocales y flageladas, en su gran mayoría pertenecientes al Phylum Chlorophyta (Figura 8.1A). Debido a sus pequeños tamaños y a las pocas características morfológicas particulares de sus células, se las agrupó en Pfe.
- **Otras células fotosintéticas de 2-5 µm** de tamaño, que incluyen:
    - Las que poseen sólo un plástido de acuerdo a la microscopía de fluorescencia (Figura 8.1D). Se las denominó **ultrafitoplancton SP (Usp)**. En este grupo se identificaron varios taxa utilizando también la microscopía de campo claro.
    - Las Bacillariophyceae estuvieron representadas por céntricas y pennadas **(Udiat)** (Figura 8.1G).
    - Las Chrysophyceae en las que sólo se identificó el género ***Ollicola*** **(Olli)** (Figura 8.1F).
    - Células flageladas dentro del Phylum Chlorophyta, pertenecientes a:
        - Prasinophyceae del género ***Pyramimonas*** **(Pyr)** (Figura 8.1H)
        - otros géneros, como *Nephroselmis*, *Pseudoscourfieldia*, *Mamiella*, *Pachysphaera*, que fueron agrupados como **otras Prasinofitas (oPras)** (Figura 8.1I).
    - Diversos componentes del Phylum Haptophyta, entre los que se identificaron:
        - varios géneros como *Imantonia*, *Dicrateria* y *Chrysochromulina*. Sin embargo, por las técnicas microscópicas utilizadas, no se pudieron diferenciar en todos los casos, por lo tanto se agruparon en **"tipo *Chrysochromulina*" (tChryso)** (Figura 8.1B).
        - **cocolitofóridos (Coco)**. En este grupo, analizando algunas muestras por microscopía electrónica, se identificaron *Emiliania huxleyi*, *Gephyrocapsa oceánica* y otras pertenecientes a la familia Syracosphaeraceae. De todos modos, en los recuentos al microscopio óptico no se pudieron diferenciar, por lo que se las agrupó como **coco**.
    - Las **Cryptophyta (Cri)** que se pudieron diferenciar ya que, además de fluorescencia de clorofila *a,* presentan fluorescencia de ficoeritrina (Figura 8.1 C1 y C2) como principal pigmento accesorio, y su rango de tamaño es de 4-5 µm. Los géneros presentes fueron *Plagioselmis* y *Hemiselmis*.

- Células que no pudieron ser identificadas, que se colocaron en el grupo **'otras ultra-algas' (Oultra)**.

Fitoplancton mayor de 5 μm

- Diatomeas:
  - Diatomeas del nanoplancton (Diat-nano)
  - Diatomeas del microplancton (Diat-micro)
- Dinoflagelados:
  - Dinoflagelados fotosintéticos del nanoplancton (Dinof- nano)
  - Dinoflagelados fotosintéticos del microplancton (Dinof- micro)

Heterótrofos

Estos organismos se agruparon en:

- Ultraprotozooplancton (células heterotróficas < 5 μm):
  - coanoflagelados (Cflg)
  - ultraprotozooplancton (Uzo), formas no identificadas observadas por microscopía de fluorescencia
- flagelados entre 5-20 μm:
  - *Leucocryptos* (Leu)
  - Otras formas flageladas no identificadas; nanoflagelados heterótrofos (Nflgh)
- dinoflagelados heterotróficos:
  - nanoplancton (Dinoh-nano)
  - microplancton (Dinoh-micro)
- ciliados:
  - ciliados desnudos:
    - nanoplancton (Cildes-nano)
    - microplancton (Cildes-micro)

Distribución anual de los principales componentes del ultraplancton en la columna de agua

La biomasa en carbono de ***Synechococcus*** mostró valores entre 0,1 y 32,0 mg C m^{-3} en el ciclo 2000 (Figura 9.1A) y entre 0,1 y 41,5 mg C m^{-3} en el ciclo 2003 (Figura 10.1A). Los máximos valores se observaron en aguas superficiales durante el verano en ambos ciclos y en

particular a inicios del otoño en 2001.

La biomasa de las **picofitoeucariotas** osciló entre 0,1 y 5,7 mg C m^{-3} en el ciclo 2000 (Figura 9.1B) y entre 0,1 y 4,3 mg C m^{-3} en el ciclo 2003 (Figura 10.1B). Los mayores valores se observaron en aguas superficiales del invierno en el ciclo 2000, mientras que los correspondientes al ciclo 2003 se registraron en el otoño, también en superficie.

El grupo **tipo *Chrysochromulina*** mostró altos valores que oscilaron entre 0,1 y 18,2 mg C m^{-3} durante el período de primavera e inicios del verano en toda la capa eufótica del ciclo 2000 (Figura 9.1C). El patrón estacional del ciclo 2003 fue similar, mostrando valores entre 5,0 y 7,0 mg C m^{-3} (Figura 10.1C).

La concentración de carbono del **ultrafitoplancton SP** varió entre 0,1 y 6,5 mg C m^{-3} en el ciclo 2000 y entre 0,2 y 9,0 mg C m^{-3} en 2003. Las máximas concentraciones se observaron en la base de la termoclina en el verano, en superficie durante el mes de abril, y sub-superficie al inicio de la etapa cálida en el ciclo 2000 (Figura 11.1A). Los valores más altos se observaron a fines del invierno y primavera del ciclo 2003, en aguas superficiales (Figura 12.1A).

Las concentraciones de carbono de las **criptofitas** presentaron un máximo (6,0 mg C m^{-3})en aguas sub-superficiales durante el otoño y otro, de menor magnitud (3,0 mg C m^{-3}), en primavera del ciclo 2000, en profundidad (Figura 11.1B). Durante el ciclo 2003 las mayores biomasas se observaron en aguas superficiales y sub-superficiales del otoño y en menor magnitud en profundidad durante el verano (Figura 12.1B).

Por otro lado, la distribución estacional de la abundancia del **ultraprotozooplancton** <5 µm (Uzo) mostró altas concentraciones en la superficie durante el otoño y primavera de 2000 (Figura 11.1C) y en verano de 2003 (Figura 12.1C).

Distribución anual de otros componentes del ultrafitoplancton a 5 m

Las **ultra diatomeas (Udiat)** mostraron altos valores de biomasa durante el otoño en ambos ciclos. Durante el ciclo 2000 se observó un máximo de 3,0 mg C m^{-3} en el mes de mayo (Figura 13.1A), mientras que en el ciclo 2003 el máximo de 1,2 mg C m^{-3} se observó en el mes de abril (Figura 14.1A).

La biomasa de ***Ollicola*** **(Olli)** mostró los máximos durante el otoño en ambos períodos, siendo de 0,1 mg C m^{-3} en el ciclo 2000 (Figura 13.1B) y de 0,4 mg C m^{-3} en el 2003 (Figura 14.1B).

La variación anual de la biomasa de ***Pyramimonas*** **(Pyr)** mostró su máximo valor (5,0 mg C m^{-3}) en el mes de mayo del ciclo 2000 (Figura 13.1C), mientras que en el 2003 (Figura 14C) se observó en el mes de agosto (1,4 mg C m^{-3}).

La biomasa de las **otras Prasinofitas (oPras)** no presentó un ciclo anual muy claro, y sus máximos fueron de 0,3 mg C m^{-3} tanto en el ciclo 2000 (Figura 13.1D) como en el 2003 (Figura 14.1D).

La biomasa de los **cocolitofóridos (Coco)** mostró los máximos valores en septiembre (1,0 mg C m^{-3}) del ciclo 2000 (Figura 13.1E), mientras que en el 2003 (Figura 14.1E) se observó en diciembre (4,0 mg C m^{-3}).

La variación de la biomasa de las **otras ultra-algas (Oultra)** mostró los más altos valores en los meses de diciembre y enero (8,0 mg C m^{-3}) del ciclo 2000 (Figura 13.1F), mientras que en el 2003 (Figura 14.1F) éstos fueron en mayo (1,3 mg C m^{-3}).

Contribución estacional de los distintos grupos a la biomasa total del ultrafitoplancton a 5 m de profundidad

Se estimó la contribución de los grupos descriptos al total de la biomasa del ultrafitoplancton en valores relativos de 0 a 1. Los grupos con mayor contribución fueron, en orden de importancia, *Synechococcus*, "tipo *Chrysochromulina*", criptofitas y las picofitoeucariotas para ambos ciclos anuales estudiados.

Synechococcus representó casi la totalidad de la biomasa del ultrafitoplancton durante el verano, particularmente en el mes de febrero en ambos ciclos (Figuras 15.1A y 16.1A). Además, en el ciclo 2000, también se registraron altos valores durante los meses de marzo y abril de 2001.

Siguieron en importancia los organismos pertenecientes a **tipo *Chrysochromulina*,** con una contribución de 0,4 – 0,6 durante los meses comprendidos entre septiembre y febrero del ciclo 2000 (Figura 15.1C). Estos organismos representaron entre 0,4 – 0,6 de octubre a diciembre y entre 0,5 – 0,6 de julio a septiembre del ciclo 2003 (Figura 16.1C).

Las **criptofitas** mostraron los mayores aportes entre 0,2 y 0,7 durante los meses de abril y julio del ciclo 2000 (Figura 15.1D). En el ciclo 2003, contribuyeron aproximadamente 0,3 entre los meses de abril y junio, destacándose el valor de 0,5 en el mes de septiembre de 2003 (Figura 16.1D).

Las **picofitoeucariotas** aportaron alrededor de 0,3 entre los meses de julio y septiembre del ciclo 2000 (Figura 15.1B). Durante 2003, la contribución también fue de 0,3, pero durante los meses de mayo y junio (Figura 16.1B).

Con respecto a la participación de otros grupos taxonómicos en el ultrafitoplancton, se destacaron las **ultra diatomeas (Udiat)** que contribuyeron 0,3 en abril del ciclo 2000 (Figura 15.1F) y 0,2 durante junio del 2003 (Figura 16.1F). Las ***Pyramimonas*** aportaron un 0,6 en el mes de mayo del ciclo 2000 (Figura 15.1H). En el ciclo 2003, los **cocolitofóridos** se destacaron con un valor de 0,4 durante el mes de diciembre (Figura 16.1J).

Los grupos otras **ultra-algas**, ***Ollicola*** y **otras Prasinofitas** sólo representaron contribuciones menores a la biomasa del ultrafitoplancton en ambos ciclos (Figuras 14.1 y 15.1 E, G e I)

Distribución anual de los componentes del nano y microfitoplancton a 5 m de profundidad

La distribución temporal de las **diatomeas del nanoplancton** mostró mayores abundancias durante el verano en ambos períodos estudiados (Figuras 17.1 A y 18.1 A), siendo mayor la correspondiente al 2000 (Figura 17.1 A).

Las **diatomeas del microplancton** mostraron las mayores abundancias en la primavera del ciclo 2000 (Figura 17.1 C), y durante la primavera e inicios del verano de 2003 (Figura 18.1 C).

Los **dinoflagelados del nanoplancton** también mostraron altas abundancias durante el verano en ambos períodos (Figuras 17.1 B y 18.1 B), nuevamente con mayores abundancias en el ciclo 2000 (Figura 17.1 B).

Durante el ciclo 2000, los **dinoflagelados del microplancton** mostraron altas abundancias en el otoño de 2000 y de 2001 (Figura 17.1 D). En el ciclo 2003 las mayores abundancias de los micro-dinoflagelados se observaron al inicio del verano (Figura 18.1 D).

Distribución anual de los heterótrofos a 5 m de profundidad

Heterótrofos < 5 µm. Los **coanoflagelados (cflg)** incrementaron sus abundancias durante los meses de enero-abril de 2001 durante el ciclo 2000. (Figura 19.1 A). En cambio, en el 2003 sólo se observaron altos valores en noviembre (Figura 20.1 A).

Flagelados entre 5-20 µm. Los **nanoflagelados heterótrofos (Nflgh)** incrementaron sus abundancias durante los meses de enero-abril de 2001 durante el ciclo 2000 (Figura 19.1 B); en cambio, se observaron las mayores abundancias durante noviembre del 2003 (Figura 20.1 B). Los ***Leucocryptos*** **(Leu)** mostraron un máximo durante febrero en el ciclo 2000 (Figura 19.1 C), mientras que en 2003 fue durante el mes de noviembre (Figura 20.1 C).*Dinoflagelados*

*heterotróficos***.** Los pertenecientes al nano y microplancton mostraron sus máximas abundancias durante los meses de marzo y abril de 2000, respectivamente (Figuras 19.1D y E). Sin embargo, en el ciclo 2003 la mayor concentración para la fracción del nanoplancton, se observó en febrero y para la del microplancton en diciembre (Figuras 20.1 D y E).

Ciliados. Los **ciliados desnudos** mostraron abundancias elevadas durante el mes de marzo de 2000 para las fracciones nanoplanctónicas, mientras que para las microplanctónicas se observaron en noviembre (Figuras 19.1 F y G). En el ciclo 2003, los ciliados desnudos del nanoplancton mostraron mayores concentraciones en los meses de febrero y junio, mientras que los del microplancton mostraron dos máximos, en febrero y en mayo (Figuras 20.1 F y G).

Análisis estadístico

Con todas las variables disponibles, se realizó un proceso de selección analizando la matriz de correlación entre variables. Con este proceso se disminuye la colinealidad entre variables, reduciendo la información redundante proporcionada a los algoritmos utilizados. Las variables Zeu y Zm mostraron una alta correlación con la relación entre Zeu/Zm, por lo tanto se consideró esta última variable en lugar de las dos por separado para los análisis estadísticos.

Análisis de los datos ambientales

A partir de la exploración estadística de todos los datos, se seleccionaron las variables ambientales: temperatura (temp), salinidad (sal), concentración de nitratos (No), PAR, Zeu/Zm, e índice de estratificación (IE); éstas fueron agrupadas a partir de distancias euclidianas entre muestras para cada ciclo anual.

Este agrupamiento (matriz de distancias euclidianas) fue ordenado espacialmente (MDS) en dos dimensiones, y mostró un stress de 0,05 en el ciclo 2000 (Figura 21.1i). El **grupo A** estuvo formado solamente por una muestra de invierno. El **grupo B,** representado por la mayoría de muestras de invierno, mostró que las variables No y temp contribuyeron a su definición, mientras que el **grupo C**, compuesto por muestras de otoño y primavera, fue definido por la relación Zeu/Zm y No. El verano fue claramente representado por el **grupo D** y el IE y No permitió definir este grupo. Con respecto al **grupo E**, compuesto por el otoño, fue determinado por PAR y la relación Zeu/Zm (Tabla 3.1).

La ordenación (MDS) del ciclo 2003 también mostró un stress de 0,05 (Figura 21.1ii). El verano estuvo representado por el **grupo E**, definido predominantemente por el IE, el No y PAR. El **grupo C** representó el período de otoño, determinado principalmente por Zeu/Zm y PAR. El

grupo B, explicado especialmente por PAR, se constituyó principalmente por muestras de invierno, mientras que el **grupo D** representó el período invierno-primavera, caracterizado por No y PAR. El **grupo A** estuvo representado solamente por una muestra de primavera tardía (Tabla 4.1).

Análisis de la biomasa de los componentes del ultrafitoplancton

La ordenación MDS a partir de la matriz de similitud de la biomasa de la comunidad del ultrafitoplancton del ciclo 2000 mostró un stress de 0,19 (Figura 22.1i). El **grupo A**, correspondiente al verano, fue determinado principalmente por *Synechococcus* y tipo *Chrysochromulina*. El **grupo B** del otoño predominaron *Synechococcus* y Criptofitas, mientras que el período primavera-verano del **grupo C** fue representado principalmente por tipo *Chrysochromulina* y *Synechococcus*. El **grupo D** del invierno-primavera estuvo caracterizado por contribuciones similares por todos los grupos del ultrafitoplancton (Tabla 5.1).

En el ciclo 2003, la ordenación del MDS mostró un stress de 0,11 (Figura 22.1ii). El **grupo A** del invierno-primavera estuvo representado principalmente por criptofitas y tipo *Chrysochromulina*. El **grupo B** de verano fue determinado por *Synechococcus* y picofitoeucariotas, mientras que el **grupo D** de primavera-verano estuvo compuesto por similares aportes de tipo *Chrysochromulina*, cocolitofóridos y picofitoeucariotas. **El grupo C** de invierno fue caracterizado sólo por la campaña del 31 de agosto (Tabla 6.1).

Relaciones entre las variables ambientales y las biológicas

Se relacionaron las variables ambientales (matriz de distancias) con los componentes del ultrafitoplancton (matriz de similitud) utilizando el análisis de BIO-ENV. Este análisis mostró que las variables ambientales poseen una pobre correlación (aproximadamente un $\rho = 0,4$) con la comunidad del ultrafitoplancton en ambos ciclos estudiados (Tablas 7.1 y 8.1). La combinación de variables que mejor explicó el patrón del ultrafitoplancton en el ciclo 2000 fue temp, sal y IE ($\rho = 0,397$); esta última variable se destacó, ya que por sí misma presentó un alto ρ (Tabla 7.1). En cambio, la combinación de variables relacionada con el patrón del ciclo 2003 fue temp, No y Zeu/Zm ($\rho = 0,380$). La variable que se encontró en más combinaciones fue No (Tabla 8.1). En los gráficos MDS de cada uno de los grupos analizados, se superpusieron estas variables que se relacionaron con los patrones de distribución estacional de cada ciclo anual (Figura 23.1).

Modelos GAM

Para analizar el modo en que cada una de las variables afecta la distribución temporal de los componentes del ultrafitoplancton, se utilizaron los modelos aditivos generalizados (GAM). Los mismos son modelos de regresión no-lineal que utilizan funciones de suavizado para establecer la mejor relación entre variables. Esta herramienta se aplicó a los grupos más importantes del ultrafitoplancton, denominados *variables respuesta*, en relación a las variables físicas, químicas y biológicas, denominadas *variables explicativas*. Las variables biológicas que se consideraron para este análisis fueron las abundancias de las diatomeas y dinoflagelados pertenecientes al nano y micro-fitoplancton y las abundancias de los grupos heterótrofos definidos por categorías de tamaño: ultra, nano y micro-protozooplancton. Así se determinó cómo influye cada variable explicativa sobre la variabilidad de cada grupo (variables respuesta). Las variables más significativas se seleccionaron teniendo en cuenta el mayor porcentaje de desvianza, el menor puntaje de la validación generalizada cruzada (GCV) (Tabla 9.1) y el rango de confianza del suavizado (Figuras 24.1 y 25.1). El ajuste del suavizado indicaría el efecto de las variables explicativas individuales sobre la distribución temporal de la biomasa de los componentes del ultrafitoplancton (Figura 24.1 y 25.1). El intervalo de confianza para el suavizado brinda información sobre qué parte de la función estimada fue menos precisa; esto se debe usualmente a la falta de datos. En este estudio, la estimación de la biomasa de cada grupo en particular presentó una baja confiabilidad cuando las variables explicativas correspondieron a bajos valores de salinidad, altos valores del índice de estratificación y altas abundancias de las variables biológicas.

Para ***Synechococcus*** se observó que las altas concentraciones de biomasa se relacionaron de forma lineal con altas temperaturas (69,5%), concentraciones bajas de nitratos (55,6%) y altos niveles de la relación Zeu/Zm (26,4%). Además, las altas biomasas se relacionaron de forma no lineal con altos niveles de estratificación de la columna de agua (53,8%) y la salinidad (41,3%) (Figura 24.1 y Tabla 9.1). Las variables biológicas estuvieron muy débilmente relacionadas: sólo se puede mencionar el incremento de la biomasa de *Synechococcus* con el aumento de la abundancia de los dinoflagelados fotosintéticos del microplancton (Figura 25.1B y Tabla 9.1).

Las **tipo *Chrysochromulina*** mostraron altas biomasas en relación al aumento de la Zeu/Zm (28,9%) de forma no lineal (Figura 24.1 y Tabla 9.1). Con respecto a las variables biológicas, sólo se observaron relaciones no lineales con el ultra y nanoprotozooplancton (Tabla 9.1 y Figura 25.1A).

Las **criptofitas** se vincularon de manera no lineal con todas las variables ambientales, con valores de desvianza que oscilaron entre el 13 y el 46%. Entre éstas, los mejores ajustes

fueron con IE, Zeu/Zm y PAR (Figura 24.1 y Tabla 9.1). Con las biológicas, también la relación fue no lineal, con los dinoflagelados fotosintéticos del microplancton y nanoprotozooplancton, aunque con valores menores de desvianza (Figura 25.1A y B y Tabla 9.1).

Las **Picofitoeucariotas** mostraron pobres relaciones con las variables ambientales (Figura 24.1 y Tabla 9.1), mientras que con respecto a las variables biológicas, sólo se relacionaron altas biomasas con altas concentraciones del ultraprotozooplancton de forma no lineal (Figura 25.1 A y Tabla 9.1).

Discusión

Características ambientales

Las condiciones ambientales en la estación EPEA mostraron la variabilidad estacional típica de formación y ruptura de la termoclina en la columna de agua de los sistemas pelágicos templados (Carreto *et al.*, 1995; Guerrero & Piola, 1997). Esta estación está situada en un área de transición entre los sectores costero y de plataforma media (Carreto *et al.*, 1995). En este estudio, durante gran parte del ciclo anual, se presentaron características costeras con aguas de alta salinidad, con pocas excepciones en las que se evidenciaron aguas de baja salinidad. Estas situaciones particulares se observaron en abril de 2001 y febrero de 2004 con la irrupción de aguas superficiales de baja salinidad (33,1 y 31,5 respectivamente), posiblemente provenientes del área del Río de la Plata. Esta influencia del Río de la Plata hacia el sur hasta la latitud de Mar del Plata ya ha sido señalada por diversos autores (Carreto *et al.*, 1995; Guerrero & Piola, 1997). Los nitratos mostraron un patrón estacional característico, con mínimos en verano y máximos en invierno, los cuales ya han sido previamente señalados como limitantes para el crecimiento del fitoplancton en esta área (Carreto *et al.*, 1981; Carreto *et al.*, 1995)

Contribución del ultrafitoplancton a la biomasa total del fitoplancton

En términos de clorofila *a* la contribución de la fracción < 5 μm a la clorofila total (en valores relativos de 0 a 1) mostró un promedio de ~ 0,3 en ambos ciclos anuales estudiados. En el ciclo 2000, las mayores contribuciones de esta fracción (0,5-0,6) a la biomasa total del fitoplancton se encontraron en verano, donde la abundancia de organismos del ultrafitoplancton es mayor. Sin embargo, en el otro ciclo anual estudiado, las mayores contribuciones (> 0,8) se observaron entre fines del invierno e inicio de la primavera. Esta diferencia se debe a la

composición particular de la comunidad del ultrafitoplancton en cada ciclo anual. *Synechococcus* contribuyó mayoritariamente a la clorofila <5 μm en el ciclo 2000, mientras que en el ciclo 2003 estuvo representada por células eucariotas. Generalmente, los organismos eucariotas contribuyen más a la concentración de clorofila total por contener una mayor concentración de pigmentos que los procariotas.

La evaluación de la contribución de las fracciones más pequeñas a la comunidad total del fitoplancton muestra que en ciertas épocas del año, generalmente en verano, las características tróficas se asemejan a ambientes oligotróficos donde se desarrollan cadenas alimentarias microbianas (Fogg, 1995).

Con respecto a la determinación de la concentración de la clorofila *a* fraccionada, cabe señalar que uno de los problemas que se observó, según el análisis microscópico, es que el máximo en profundidad correspondería en algunos casos a plástidos de células rotas del microfitoplancton, por ejemplo, durante el mes de junio de 2000. Esto causaría un sesgo, sobrestimando la cantidad del ultrafitoplancton en profundidad (Gieskes & Elbrächter, 1986). Por lo tanto, hay que ser cuidadosos a la hora de evaluar la importancia de las fracciones más pequeñas en relación con las más grandes del fitoplancton a partir de la concentración de clorofila *a*, y al utilizar estos valores para modelar los flujos de carbono en las tramas tróficas.

Dinámica estacional de la comunidad del ultrafitoplancton

Estudios previos sobre taxonomía, fisiología y ecología del fitoplancton de pequeño tamaño se abocaron principalmente a la fracción del picofitoplancton, es decir, células menores de 2 μm (Platt & Li, 1986; Raven, 1998). Sin embargo, pocos estudios se han realizado sobre las formas fotosintéticas comprendidas entre 2-5 μm (Throndsen, 1978; Booth, 1988). En el sistema costero bonaerense se ha comenzado a estudiar la composición y la variabilidad espacio-temporal de la comunidad del ultrafitoplancton, destacándose su importancia durante el verano (Silva, 1999; Silva *et al.*, 2003; Silva *et al.*, 2009). Este patrón, de abundancias máximas en verano y mínimas en invierno, fue similar a lo observado en otras regiones de aguas templadas (Stockner & Antia, 1986; Weisse, 1993). La dinámica estacional en ambientes templados de las comunidades fitoplanctónicas, referidas en general al micro y nanoplancton, está relacionada con la formación y ruptura de la termoclina y la disponibilidad de nutrientes (Margalef, 1978; Smayda, 1980). Se conoce poco sobre la dinámica de las comunidades del ultrafitoplancton a causa de la falta de resolución taxonómica; sin embargo, se observó que los mecanismos mencionados también actúan sobre esta fracción (Lindell & Post, 1995; Li, 2002). El presente

estudio mostró que las variables ambientales más influyentes sobre la estructura de la comunidad del ultrafitoplancton fueron la estabilidad (IE), los nutrientes (en este caso los nitratos) y la relación entre la profundidad de la penetración luminosa y la profundidad de la capa de mezcla en la columna de agua (Zeu/Zm).

La estructura de la comunidad del ultrafitoplancton estuvo compuesta por algas pertenecientes a los grupos taxonómicos Cyanophyceae, Chlorophyta, Prymnesiophyceae, Cryptophyceae, Bacillariophyceae y Chrysophyceae. Dentro de éstos, los grupos de organismos más importantes en términos de carbono fueron *Synechococcus*, tipo *Chrysochromulina*, criptofitas y picofitoeucariotas.

Synechococcus mostró una gran variabilidad estacional; fue el organismo más abundante y dominó la biomasa del ultrafitoplancton en aguas superficiales durante el verano en los dos ciclos. Generalmente, los valores de abundancia en el área de estudio fueron del mismo orden de magnitud que en otros sistemas costeros (Waterbury *et al.*, 1986). En este estudio, sin embargo, se destaca la presencia de un solo máximo en el mes de febrero correspondiente al período estival en ambos ciclos anuales, mientras que en otras áreas templadas se han observado varios máximos distribuidos durante el florecimiento de *Synechococcus* (Waterbury *et al.*, 1986; Weisse, 1993). Un caso particular de altas biomasas, registradas en el otoño del 2001, posiblemente esté vinculado a un fenómeno de advección de aguas diluidas provenientes del área de influencia del Río de la Plata, y no a un crecimiento *in situ* (Piola *et al.*, 2005; Piola *et al.*, 2008).

Synechococcus es un grupo polifilético que tradicionalmente se ha divido en 5 clados identificados según sus pigmentos, requerimientos nutricionales, movilidad y rango preferencial de salinidad (Stanier & Bazine, 1977; Bergey *et al.*, 1989). En los últimos años el avance de las técnicas moleculares ha permitido identificar 10 clados dentro del grupo marino A, utilizando las relaciones filogenéticas a partir del análisis de la secuencia del ARN ribosómico 16S (Fuller *et al.*, 2003). Con respecto a las especies que componen este género, en la estación EPEA se identificaron hasta el momento sólo células del Clado I del Sub-grupo 5.1 (“cluster” marino A) de los *Synechococcus* marinos en el ciclo anual 2003-2004 (Perez-Cenci *et al.*, 2007; Perez-Cenci *et al.*, 2008). Estos resultados se obtuvieron utilizando técnicas moleculares, a partir de muestras colectadas *in situ* y de cultivos aislados de la estación EPEA. Estudios recientes sobre la variabilidad temporal de *Synechococcus* mostró el dominio de los clados I y IV en ambientes templados costeros (Zwirglmaier *et al.*, 2007; Tai & Palenik, 2009). El análisis del genoma de una especie perteneciente al Clado I, que está relacionada filogenéticamente con la identificada en la estación EPEA, mostró distintas estrategias a nivel de genes con respecto a la variabilidad,

típica del ambiente costero, en la disponibilidad de nutrientes y regímenes de luz (Palenik *et al.*, 2006; Scanlan *et al.*, 2009). La dinámica de la biomasa de *Synechococcus* se relacionó en gran parte con un hábitat de baja concentración de nitratos, alta estabilidad e irradiancia en la columna de agua, como es conocido en otros estudios, y como también se pudo observar en el análisis de los GAM (Figura 24.1). Sin embargo, la corta duración del florecimiento estival de *Synechococcus* podría estar relacionada con algún proceso de pérdida por mortalidad. Por lo tanto, otro factor importante a considerar en la dinámica de *Synechococcus* es la predación. En este trabajo no se determinó la tasa de pastoreo sobre esta fracción del fitoplancton, pero se estudió la variabilidad temporal de los principales grupos heterótrofos. Podemos inferir que la materia producida durante la etapa cálida en la EPEA está disponible para algún tipo de predador. Se sabe que los protistas heterótrofos, flagelados y ciliados desnudos predan eficazmente sobre las fracciones del picoplancton (Simek *et al.*, 1995; Christaki *et al.*, 2009; Chen & Liu, 2010). Los modelos GAM no mostraron ninguna relación de *Synechococcus* con las fracciones heterótrofas estudiadas. Sin embargo, por simple comparación visual de las distribuciones temporales de los potenciales predadores, se observó una relación entre la disminución de la biomasa de *Synechococcus* con las máximas abundancias de los ciliados desnudos y dinoflagelados heterotróficos de la fracción del nanoplancton.

Finalmente, aunque no fueron cuantificadas en este estudio, debe mencionarse la presencia de las células agregadas de *Synechococcus* durante el verano. En otros sistemas pelágicos se ha reportado un aporte significativo de estas formas agregadas durante el verano y el otoño (Whitton & Potts, 2000). Algunas de las explicaciones acerca de por qué se produciría la formación de agregados serían las ventajas para desarrollarse en condiciones de repentinas exposiciones a luz excesiva (Tilzer, 1987; Koblížek *et al.*, 2000) y bajas concentraciones de nutrientes (Crosbie *et al.*, 2003). En este sentido, en futuros estudios en la EPEA habría que considerar la contribución de estas formas.

El hábitat óptimo de las células tipo *Chrysochromulina* se caracterizó por una columna de agua bien iluminada al comienzo de la estabilización (inicio del verano), como puede observarse en la influencia positiva de la Zeu/Zm sobre la biomasa de estos organismos en el modelo GAM (Figura 24.1). Este comportamiento es similar a otros descriptos en aguas costeras templadas (Dahl *et al.*, 2005). Además, este patrón se puede relacionar con estudios fotofisiológicos que demuestran que las prymnesiophyceae poseen poca flexibilidad de aclimatación a cambios impredecibles del campo luminoso (Santarpia, 2005). Por otro lado, muchas especies de *Chrysochromulina* pueden ingerir partículas, como bacterias y algas, y por lo tanto se consideran especies mixótrofas (Jones, 1994). A causa de este comportamiento mixótrofo, que puede

inducirse en condiciones de baja disponibilidad de nutrientes, estas células pueden competir ventajosamente en relación a otros miembros del fitoplancton (Unrein *et al.*, 2007; Stoecker *et al.*, 2009). Además, poseen otra estrategia peculiar: secretar sustancias que inhiben el crecimiento de los predadores, así como del fitoplancton que puede competir con ellos (Granéli & Pavia, 2006). Se podría especular que sus características fisiológicas favorecen su abundancia a comienzos de verano (alto valor Zeu/Zm; relativamente bajas concentraciones de nutrientes). La importancia de este grupo ha quedado demostrada en estudios recientes en los que se observa que forman parte integral de la comunidad del fitoplancton pequeño en diversos sistemas marinos (Liu *et al.*, 2009; Jardillier *et al.*, 2010).

Las criptofitas estuvieron representadas por los géneros *Hemiselmis* y *Plagioselmis*. Este grupo de organismos contribuyó significativamente a la comunidad del ultrafitoplancton, en términos de abundancia y biomasa, durante el otoño en ambos ciclos estudiados. Se conoce muy poco de la ecología de las criptofitas en sistemas marinos (Novarino *et al.*, 1997; Cerino & Zingone, 2006); se destaca su preferencia por habitats de aguas frías y condiciones de baja intensidad de luz. Además, las criptofitas poseen movilidad y pigmentos accesorios, como las ficobilinas, que les confieren ventajas adaptativas a bajas condiciones de luz (Buma *et al.*, 1992); y también pueden ingerir partículas por el proceso de mixotrofía (Jones, 1994). En el presente estudio, el análisis GAM nos permitió explorar las relaciones con las variables biológicas: se observaron relaciones con los dinoflagelados fotosintéticos microplanctónicos y con el nanoprotozooplancton. Estas relaciones son difíciles de explicar, pero podrían estar vinculadas a interacciones como la predación y la retención de plástidos (Cleptoplasticidad) (Stoecker *et al.*, 1988; Skovgaard, 1998).

Los organismos considerados como picofitoeucariotas son muy diversos con respecto a su composición taxonómica (Potter *et al.*, 1997), pero las formas más comúnmente identificadas pertenecen a las Chlorophyta y en especial a las Prasinophyceae (Not *et al.*, 2004; Not *et al.*, 2007b). Debido a sus pequeños tamaños y a la falta de caracteres morfológicos distintivos, se hace difícil identificar estas células, razón por la cual se combinan los métodos microscópicos y de cultivo, la determinación de sus pigmentos fotosintetizadores (HPLC), la citometría de flujo y las técnicas moleculares. En este trabajo se utilizaron varias de estas técnicas (ver Capítulo II), y se identificó el organismo responsable de altas biomasas en el ciclo 2003 como una especie no descripta aún pero relacionada filogenéticamente con formas cocales del clado VII de las prasinofitas (Guillou *et al.*, 2004; Cumino *et al.*, 2005b). En este estudio las mayores contribuciones de este grupo se observaron en condiciones de otoño-invierno, semejante al patrón temporal observado en aguas del Mediterráneo (Charles *et al.*, 2005). Las causas de su

dominancia en aguas frías no son claras, pero aparentemente estarían relacionadas con la competitividad de estas pequeñas células ante la disponibilidad de nutrientes, y de su adaptación a condiciones fluctuantes de luz cuando la columna de agua está homogénea (Raven *et al.*, 2005; Mackey *et al.*, 2009). En este caso, el análisis GAM no mostró relaciones claras con las variables ambientales, pero se relacionó con el ultraprotozooplancton (Figuras 24.1 y 25.1, Tabla 9.1). Con respecto a la interacción con las variables biológicas, la interpretación debe ser cuidadosa, pero podemos especular que las interacciones con el ultraprotozooplancton estarían vinculadas con la predación (Chen & Liu, 2010). Este mecanismo por el cual la biomasa de estas células disminuye sería el factor más importante en la regulación de su dinámica temporal (Bell & Kalff, 2001; Bec *et al.*, 2005). Por lo tanto, es importante conocer la dinámica y ecología de estos organismos y de sus posibles predadores para poder especular sobre algún nexo trófico.

La sucesión del fitoplancton correspondiente en general a las fracciones del nano y microplancton está bien documentada en diferentes regiones marinas (Harvey, 1934; Braarud & Nygaard, 1978; Smayda, 1980; Reynolds, 1997; Reynolds, 2006). Sin embargo, pocos estudios se han realizado para conocer los procesos que afectan la estacionalidad de las comunidades del ultrafitoplancton (Lindell & Post, 1995; Tamigneaux *et al.*, 1995; Silva *et al.*, 2009). En este estudio se pudo observar la sucesión estacional y relacionarla principalmente con la estabilidad de la columna de agua que afecta la distribución de nutrientes y la disponibilidad de luz. El inicio de la sucesión comienza con la ruptura de la termoclina, la homogenización de la columna de agua y la consiguiente disponibilidad de nutrientes. En esta etapa la comunidad del ultrafitoplancton estuvo dominada por las criptofitas. A medida que progresó la sucesión, el grupo de las picofitoeucariotas pasó a dominar cuando la columna de agua estaba homogénea, con altas concentraciones de nutrientes y menores intensidades de luz. Luego de las floraciones del microfitoplancton durante el invierno, el grupo de tipo *Chrysochromulina* comenzó a dominar en la comunidad del ultrafitoplancton a medida que se fue estabilizando la columna de agua. Cuando la estabilización fue mayor, durante el verano, *Synechococcus* dominó ampliamente en estas aguas.

En el marco de este patrón de sucesión del ultrafitoplancton, además de las variables ambientales, otro factor que actúa simultáneamente es el pastoreo por parte de los organismos heterotróficos. En este primer análisis sobre la distribución temporal de los componentes del protozooplancton, se destacaron los ciliados desnudos, dinoflagelados heterótrofos, coanoflagelados y flagelados no identificados. Pocos estudios se han realizado sobre esta comunidad heterotrófica en el área de estudio (Kogan, 2005); sin embargo, podríamos especular acerca de las relaciones tróficas que se desarrollarían en las cadenas tróficas microbianas. A

partir de este estudio se desprende que *Synechococcus* dominaba la biomasa del ultrafitoplancton y, en situaciones particulares de verano, es una parte importante de la biomasa de todo el fitoplancton. Los potenciales predadores de este carbono disponible podrían ser los ciliados desnudos y dinoflagelados del nanoplancton; ésta sería la relación trófica más evidente. Otro grupo importante fue el de las tipo *Chrysochromulina*, que podría relacionarse tróficamente con los dinoflagelados del microprotozooplancton. Con respecto a las criptofitas, estarían relacionadas indistintamente con ciliados o dinoflagelados del microprotozooplancton durante el otoño. Este patrón es comparable al de otros sistemas marinos donde el microprotozooplancton es el responsable de la disminución, a través del pastoreo, del fitoplancton pequeño (Calbet, 2008; Chen & Liu, 2010). Estas potenciales interacciones que observamos serían posibles causas de pérdida de las poblaciones del ultrafitoplancton. Para poder comprender los efectos del pastoreo del protozooplancton sería necesario realizar ensayos experimentales *in situ* o con cultivos.

Dinámica de los principales componentes del ultrafitoplancton (a través de los GAM)

Se aplicó este análisis a la distribución temporal de los grupos dominantes del ultrafitoplancton (variable respuesta), en relación con las variables explicativas ambientales (factores abióticos) y biológicas (factores bióticos), consideradas de a una por vez. Las variables ambientales explicaron mejor que las biologícas la variabilidad en los patrones temporales de biomasa de los principales componentes del ultrafitoplancton. Esto último se debe a las complejas relaciones de esta comunidad con las distintas fracciones de tamaño de los organismos heterotróficos (ultra, nano y microzooplancton) y con las diatomeas y dinoflagelados fotosintéticos (Stenseth *et al.*, 2006; Zarauz *et al.*, 2007; Zarauz *et al.*, 2008).

Los modelos presentados reflejarían los factores más importantes que influyeron en la dinámica general de las poblaciones de *Synechococcus*, picofitoeucariotas, tipo *Chrysochromulina* y criptofitas. Los trabajos sobre la aplicación de estos modelos GAM en el plancton y de modelos de distribución de especies son pocos, pero muestran que la disponibilidad de recursos (control “bottom up”) son las principales causas que explican en gran medida la variabilidad de los distintos organismos del plancton (Zarauz *et al.*, 2008).

Consideraciones Finales

Este estudio nos permitió tener una idea integral de la comunidad del ultrafitoplancton en el sistema pelágico costero durante dos ciclos anuales. Los organismos del ultrafitoplancton fueron identificados y descriptos por primera vez para esta región. La sucesión de los componentes de esta comunidad se relacionó principalmente con la estabilidad de la columna de agua y su influencia sobre los nutrientes y el régimen de luz, durante el ciclo anual. Así, las interacciones más evidentes que influyeron en esta dinámica fueron las variables ambientales. En cuanto a las interacciones biológicas, más complejas de comprender, se observaron potenciales relaciones con los organismos del protozooplancton. Los diferentes componentes del ultrafitoplancton habrían sido el combustible para los potenciales predadores que se encontraron a lo largo de los ciclos anuales. Una comprensión más profunda de estas interacciones, abióticas y bióticas, es fundamental para poder entender la ecología de esta comunidad, y así proveer información valiosa para la adecuada utilización de los modelos que intentan predecir el funcionamiento del sistema pelágico costero.

Tabla 1.1: Fechas e identificación de las campañas realizadas en los ciclos anuales 2000 y 2003.

Código de campañas	Fecha	Ciclo anual	Número de identificación
cc0400	3/2/00	2000	1
cc0700	9/3/00	2000	2
cc0900	29/3/00	2000	3
cc1100	25/4/00	2000	4
cc1300	10/5/00	2000	5
cc1500	24/5/00	2000	6
cc1700	7/6/00	2000	7
cc1900	14/7/00	2000	8
cc2200	8/8/00	2000	9
ob0900	8/900	2000	10
cc2600	28/9/00	2000	11
cc2900	18/10/00	2000	12
cc3200	3/11/00	2000	13
cc3400	17/11/00	2000	14
cc3700	1/12/00	2000	15
cc3800	14/12/00	2000	16
cc0101	8/1/01	2000	17
cc0301	29/1/01	2000	18
cc0501	17/2/01	2000	19
cc0701	14/3/01	2000	20
cc0901	10/4/01	2000	21
cc0403	17/9/03	2003	1
cc0503	3/10/03	2003	2
cc0603	4/11/03	2003	3
cc0803	3/12/03	2003	4
cc1003	18/12/03	2003	5
cc0104	12/1/04	2003	6
cc0204	6/2/04	2003	7
cc0404	25/2/04	2003	8
cc0604	28/4/04	2003	9
cc0804	28/5/04	2003	10
cc1004	28/6/04	2003	11
cc1204	21/7/04	2003	12
cc1404	31/8/04	2003	13
cc1704	24/9/04	2003	14

Tabla 2.1: Términos y características utilizadas en el presente trabajo para agrupar a distintos organismos del plancton.

Categoría trófica	Categoría por tamaño	Morfología celular	Tamaño celular	Super grupos	Categoría taxonómica	Término utilizado	Abreviatura
Fotótrofos	Ultrafitoplancton 0,2-5 µm	Cocal	1 µm	Phylum: Cianobacteria	Clase: Cyanophyceae Género: *Synechococcus*	*Synechococcus*	Syn
		Cocal y Flagelados	1-2 µm	Eucariota de diversos taxa		Picofitoeucariotas	Pfe
		Todas las morfologías	2-5 µm	Eucariota de diversos taxa.		Ultrafitoplancton SP	Usp
		Cocal	2 µm	Archaeplastida	Phylum: Chlorophyta	Clorofita cocal	Cloc
		Flagelados	5 µm		Familia: Prasinophyceae Género: *Pyramimonas*	*Pyramimonas*	Pyr
		Flagelados	5 µm			Otras Prasinofitas	oPras
		Flagelados	3 µm	Heterokonta	Familia: Chrysophyceae Género: *Ollicola*	*Ollicola*	Olli
		Frústulos	3-5 µm		Phylum: Bacillariophyta	Ultra diatomeas céntricas y pennadas	Udiat
		Flagelados	5 µm	Cryptophyta	Géneros: *Hemiselmis/Plagioselmis*	Criptofitas	Cri
		Flagelados	3-5 µm	Haptophyta	Familia: Prymnesiaceae Géneros: *Chrysochromulina Imantonia*, *Dicrateria*,	tipo *Chrysochromulina*	tChryso
		Flagelados	5 µm		Familia: Noëlaerhabdaceae Especies: *Emiliania huxleyi*, *Gephyrocapsa oceanica*	Cocolitoforidos	Coco
			2-5 µm			Otras ultra-algas	Oultra
	Nanofitoplancton 5-20 µm	Frústulos		Heterokonta	Phylum: Bacillariophyta	Diatomeas del nano	Diato-nano
		Flagelados		Alveolata	Phylum: Dinoflagellata	Dinoflagelados del nano	Dinof-nano
	Microfitoplancton 20-200 µm	Frústulos		Heterokonta	Phylum: Bacillariophyta	Diatomeas del micro	Diato-micro
		Flagelados		Alveolata	Phylum: Dinoflagellata	Dinoflagelados del micro	Dinof-micro

Tabla 2.1: Continuación.

Categoría trófica	Categoría de tamaño	Morfología celular	Tamaño celular	Grupo filogenético	Categoría taxonómica	Término utilizado	Abreviatura
Heterótrofos Protozoo-plancton	Ultraprotozoo-plancton 0,2-5 µm	Flagelados	2-4 µm	Opistokonta	Phylum: Choanozoa Clase: Choanomonada	Coanoflagelados	Cflg
			<5 µm			Ultraprotozooplancton desconocidos	Uzo
		Ciliados	<5 µm	Alveolata	Phylum: Ciliophora Clase: Spirotrichea	Ciliado desnudo del ultraplancton	Cildes
	Nanoprotozoo-plancton 5-20 µm	Flagelados	10-15 µm	Incertae sedis	Familia: Kathablepharidae	*Leucocryptos*	Leu
		Flagelados	5-20 µm			Nano-flagelados heterótrofos	Nflgh
		Flagelados	5-20 µm	Alveolata	Phylum: Dinoflagellata	Nano-dinoflagelados heterótrofos	Dinoh-nano
		Ciliados	5-20 µm	Alveolata	Phylum: Ciliophora Clase: Spirotrichea	Ciliado desnudo del nanoplancton	Cildes-nano
	Microprotozoo-plancton 20-200 µm	Flagelados	>20 µm	Alveolata	Phylum: Dinoflagellata	Micro-dinoflagelados heterótrofos	Dinoh-micro
		Ciliados	>20 µm	Alveolata	Phylum: Ciliophora Clase: Spirotrichea	Ciliado desnudo del microplancton	Cildes-micro

Tabla 2.1B: Abreviaturas utilizadas para las variables ambientales.

Término	**Abreviatura**
temperatura	temp
salinidad	sal
nitratos	No
Radiación fotosintéticamente activa	PAR
profundidad de la capa eufótica	Zeu
Profundidad de la capa de mezcla	Zm
Relación profundidad de la capa eufótica con la capa de mezcla	Zeu/Zm
Índice de estratificación	IE
Clorofila *a* total	ClaT
Clorofila *a* < 5 µm	Cla < 5µm
Relación de la Clorofila *a* < 5 µm con la Clorofila *a* total	Cla < 5µm/ClaT

Tabla 3.1: Principales variables ambientales que definen los grupos de campañas del ciclo 2000.

Grupos	Fechas de las campañas	Porcentaje de contribución de las variables ambientales
A	8/8/00	
B	10/5/00; 24/5/00; 7/6/00; 8/9/00; 28/9/00; 14/7/00	No (40,1), temp (33,2), PAR (21,8), Zeu/Zm (4,6)
C	29/3/00; 25/4/00; 17/10/00; 18/10/00; 3/10/00	Zeu/Zm (33,2), No (24,8), PAR (23,4), temp (7,6), PAR (6,3)
D	3/2/00; 1/12/00; 14/12/00, 8/1/01; 29/1/01; 17/2/01	IE(42,7), No (30), Zeu/Zm (13,5), temp (13)
E	9/3/00; 14/3/01; 10/4/01	PAR (66), Zeu/Zm (25,2), No (6), IE (1,2)

Tabla 4.1: Principales variables ambientales que definen los grupos de campañas del ciclo 2003.

Grupos	Fechas de las campañas	Porcentaje de contribución de las variables ambientales
A	3/12/03	
B	24/9/04, 21/7/04	PAR (76,8), No (17,9), Zeu/Zm (5,1)
C	28/4/04, 28/5/04, 28/6/04,	Zeu/Zm (48,7), PAR (23,7), temp (17,2), No (9,3)
D	17/9/03, 3/10/03, 31/8/04, 4/11/03,	No (44,4), PAR (36,2), Zeu/Zm (12), temp (7,3)
E	18/12/03, 12/1/04,25/2/04, 6/2/04,	IE (35,3), No (28), PAR (26,7), Zeu/Zm (8,3)

Tabla 5.1: Principales taxa del ultrafitoplancton que definen los grupos de campañas del ciclo 2000.

Grupos	Fechas de las campañas	Porcentaje de contribución de los taxa
A	3/2/00, 29/1/01	Syn (42), tChryso (26), Pfe (17), Oultra (14)
B	29/3/00, 25/4/00	Syn (40), Cri (38), Pfe (21)
C	9/3/00, 8/9/00, 18/10/00, 1/12/00, 14/12/00, 8/1/01, 17/2/01, 14/3/01	tChryso (21), Syn (20) Pfe (17), Oultra (15, Pyr (14), Cri (11)
D	10/5/00,24/5/00, 7/6/00, 14/8/00, 8/9/00, 28/9/00, 3/10/00, 17/10/00, 10/3/01	tChryso (20), Cri (19), Syn (18), Pfe (17), Udiat (14), Pyr (10)

Tabla 6.1: Principales taxa del ultrafitoplancton que definen los grupos de campañas del ciclo 2003.

Grupos	Fecha de la campaña	Porcentaje de contribución de los taxa
A	17/9/03, 3/10/03, 28/4/04, 28/5/04, 28/6/04, 21/7/04	Cri (24), tChryso (23), Syn (18), Pfe (16), Coco (12)
B	12/1/04,25/2/04	Syn (47), Pfe (29), tChryso (24)
C	31/8/04	
D	4/11/03, 3/12/03, 18/12/03, 6/2/04, 24/9/04	tChryso (29), Coco (23), Pfe (22), Syn (21)

Tabla 7.1: Coeficientes de correlación de Spearman obtenidos utilizando el análisis BIOENV, combinando las variables ambientales y las biomasas de los componentes del ultrafitoplancton del ciclo 2000.

Numero de variables	Correlación de Spearman	Variables seleccionadas
2	0,397	1,6
3	0,397	1,2,6
4	0,394	1,2,5,6
3	0,394	1,5,6
3	0,380	3,5,6
4	0,379	2,3,5,6
4	0,376	1,3,5,6
5	0,376	1-3,5,6
1	0,362	6
2	0,362	2,6

1: temp; 2: sal; 3: No; 4: PAR; 5: Zeu/Zm; 6: IE

Tabla 8.1: Coeficientes de correlación de Spearman obtenidos utilizando el análisis BIOENV, combinando las variables ambientales y las biomasas de los componentes del ultrafitoplancton del ciclo 2003.

Numero de variables	Correlación de Spearman	Variables seleccionadas
3	0,380	1,3,5
4	0,379	1-3,5
5	0,378	1-3,5,6
4	0,378	1,3,5,6
3	0,374	3,5,6
4	0,373	2,3,5,6
3	0,369	1,3,6
4	0,369	1-3,6
3	0,367	1,2,5
2	0,366	1,5

1: temp; 2: sal; 3: No; 4: PAR; 5: Zeu/Zm; 6: IE

Tabla 9.1: GAMs con cada una de las variables explicativas para *Synechococcus*, tipo *Chrysochromulina*, Criptofitas y Picofitoeucariotas. Para cada modelo se muestra el porcentaje de desvianza (Dev.), puntaje de la validación cruzada generalizada (GCV). Las funciones de suavizado (s) y las variables explicativas utilizadas en cada modelo entre paréntesis.

Modelo	***Synechococcus***		**t*Chrysochromulina***		**Criptofitas**		**Picofitoeucariotas**	
	Dev. %	GCV	Dev. %	GCV	Dev. %	GCV	Dev. %	GCV
~s(Temp)	69,5	0,895	9,6	1,494	13,5	0,301	2,9	1,229
~s(Sal)	41,3	2,444	12,1	1,711	23,1	0,270	0,0	1,265
~s(No)	55,6	1,301	1,1	1,634	19,3	0,284	1,0	1,254
~s(PAR)	7,2	2,723	6,2	1,550	31,8	0,252	1,8	1,243
~s(Zeu/Zm)	26,4	2,159	28,9	1,407	44,8	0,192	0,8	1,256
~s(IE)	53,8	1,540	12,7	1,494	46,0	0,229	0,0	1,266
~s(Nanoprotozooplancton)	0,7	2,913	13,7	1,604	27,7	0,296	0,1	1,265
~s(Microprotozooplancton)	0,9	2,906	0,4	1,645	11,3	0,299	2,5	1,233
~s(Ultraprotozooplancton)	5,8	2,622	41,8	1,180	15,8	0,309	14,2	1,296
~s(Nano diatomeas)	1,3	2,895	6,6	1,543	34,1	0,303	1,6	1,247
~s(Nano dinoflagelados)	3,4	2,833	2,4	1,613	2,5	0,331	9,8	1,194
~s(Micro diatomeas)	8,5	2,684	3,4	1,597	0,4	0,332	0,1	1,265
~s(Micro dinoflagelados)	11,9	2,665	0,4	1,646	58,4	0,201	0,4	1,260

Figura 1.1. Localización de la Estación Permanente de Estudios Ambientales (EPEA).

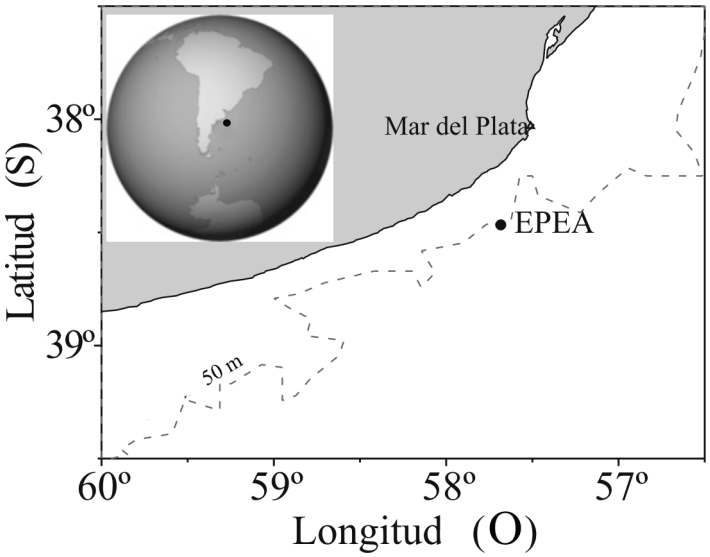


Figura 2.1. Ciclo 2000. Distribución estacional de la temperatura ºC (A), salinidad (B), y densidad kg m^{-3} (C) en la EPEA. El diámetro de los círculos denota variaciones en el índice de estratificación en la columna de agua. En la parte superior, los números corresponden a la identificación de las campañas (Tabla 1.1).

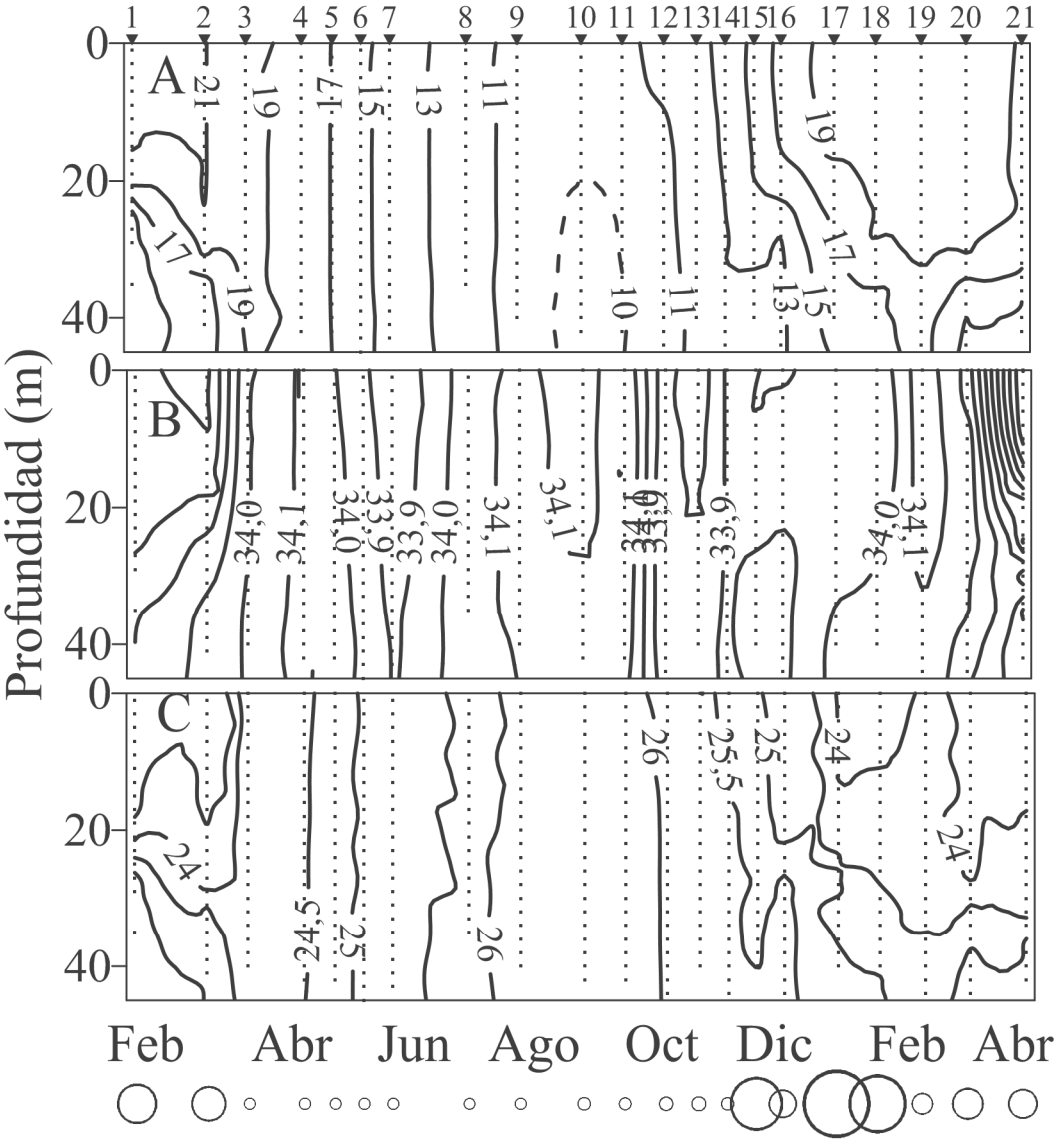


Figura 3.1. Ciclo 2003. Distribución estacional de la temperatura ºC (A), salinidad (B), y densidad kg m^{-3} (C) en la EPEA. El diámetro de los círculos denota variaciones en el índice de estratificación en la columna de agua. En la parte superior, los números corresponden a la identificación de las campañas (Tabla 1.1).

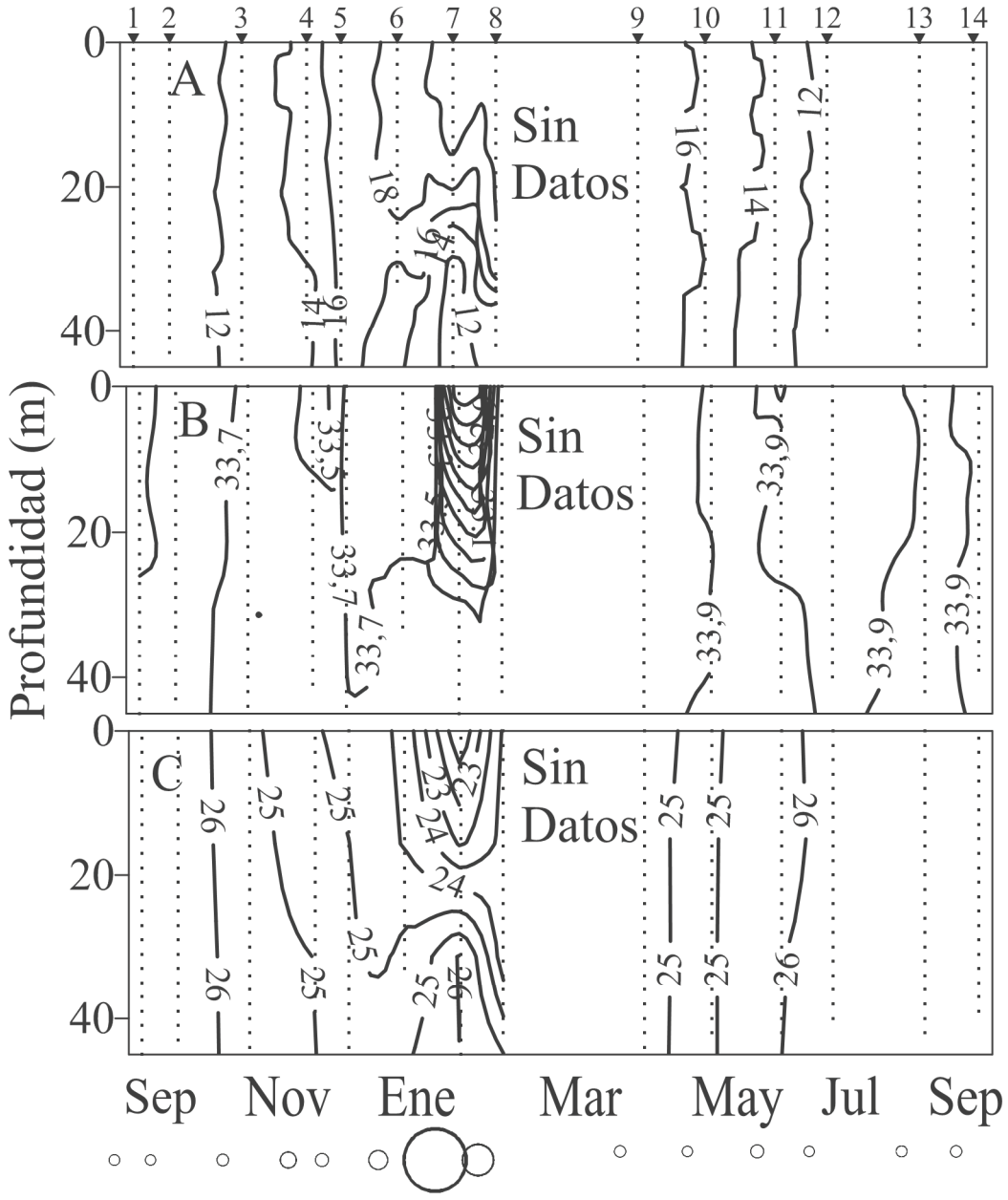


Figura 4.1.A Ciclo 2000. Variación estacional en la EPEA de: los valores de PAR en superficie (µmol quanta m^{-2} s^{-1}); la profundidad de la capa de mezcla (m); la profundidad de la capa eufótica (m); la relación [Zeu/Zm].

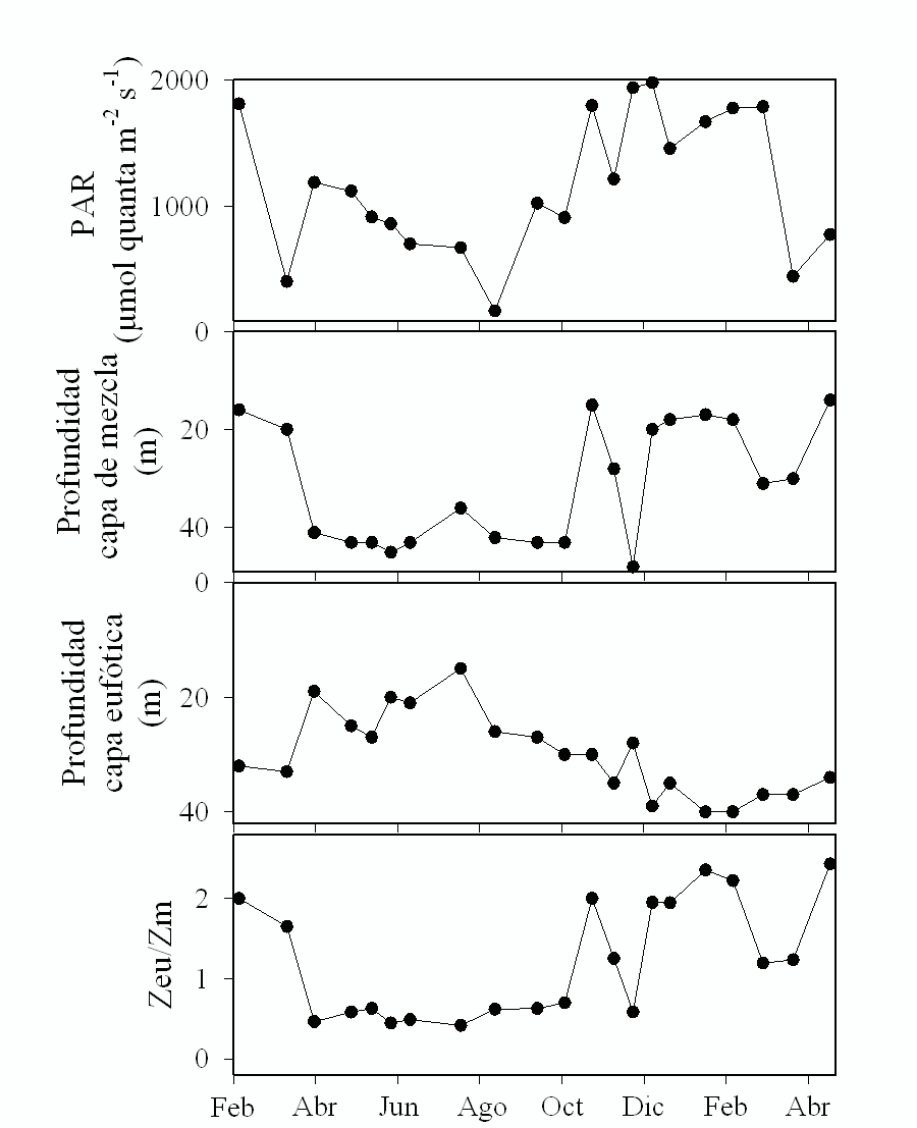


Figura 4.1.B Ciclo 2003. Variación estacional en la EPEA de: los valores de PAR en superficie (µmol quanta m^{-2} s^{-1}); la profundidad de la capa de mezcla (m); la profundidad de la capa eufótica (m); la relación [Zeu/Zm].

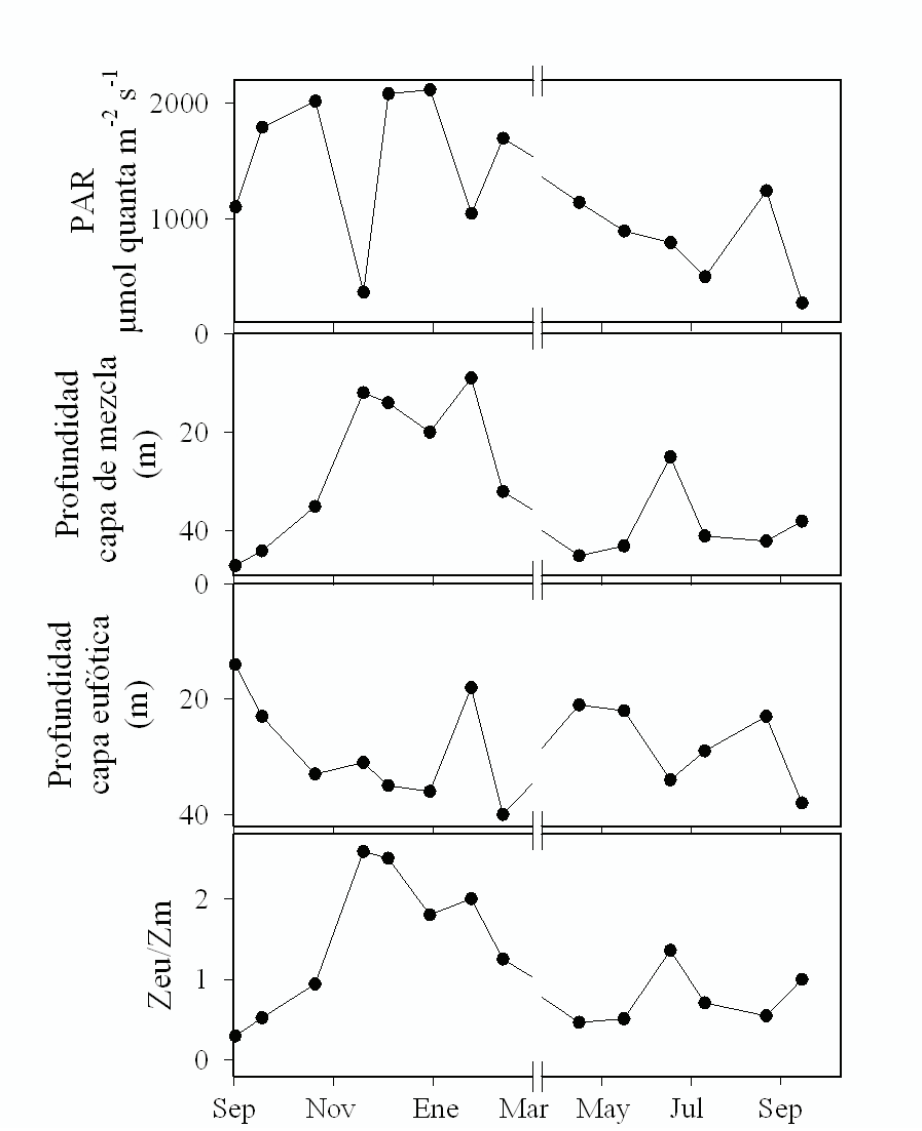


Figura 5.1. Ciclo 2000. Distribución de la concentración de la clorofila *a* total (A), clorofila <5 µm (B) y la relación Cla<5/ClaT (C) en la columna de agua de la EPEA. En la parte superior, los números corresponden a la identificación de las campañas (Tabla 1.1).

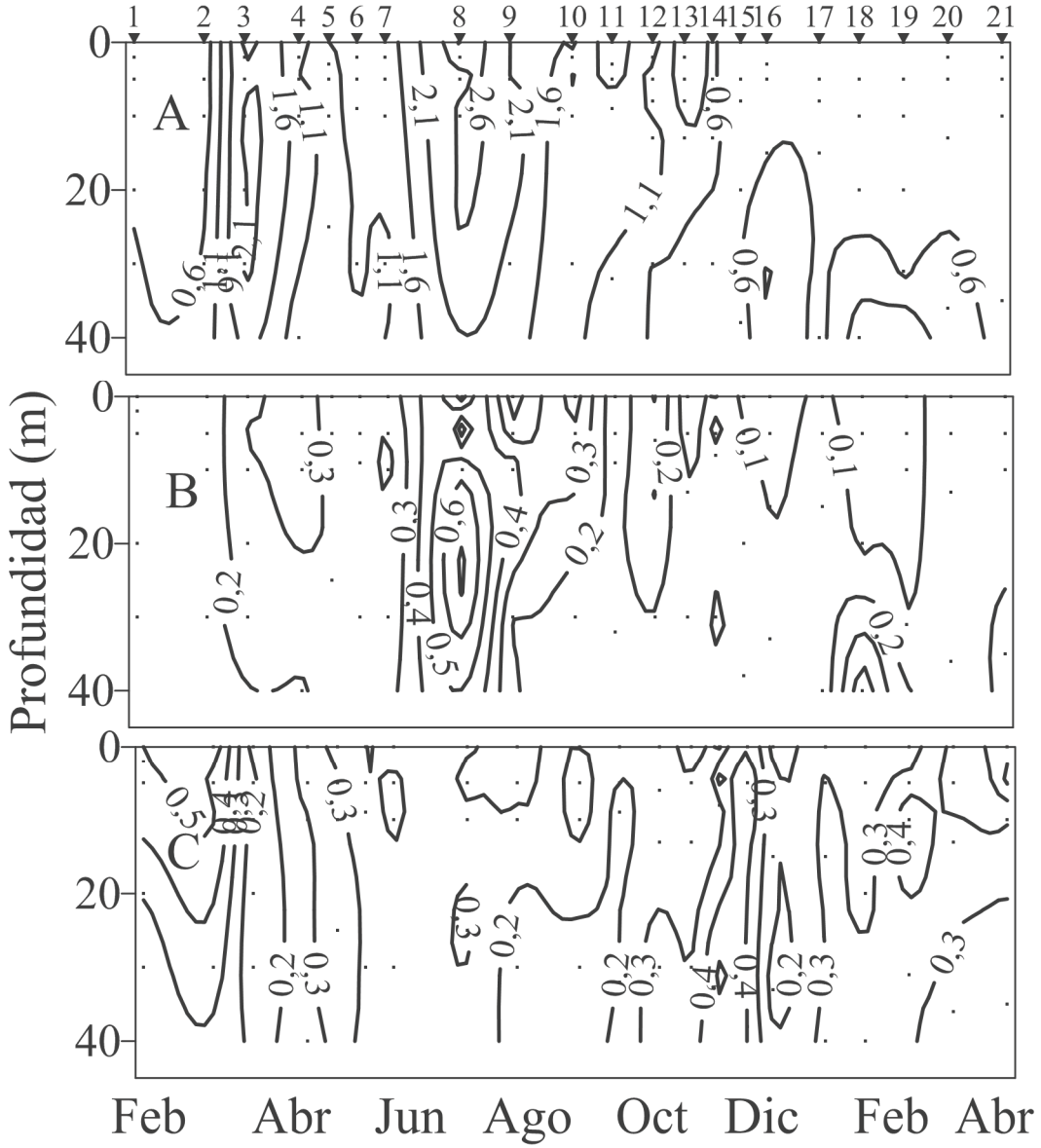


Figura 6.1. Ciclo 2003. Distribución de la concentración de la clorofila *a* total (A), clorofila <5 µm (B) y la relación Cla<5/ClaT (C) en la columna de agua de la EPEA. En la parte superior, los números corresponden a la identificación de las campañas (Tabla 1.1).

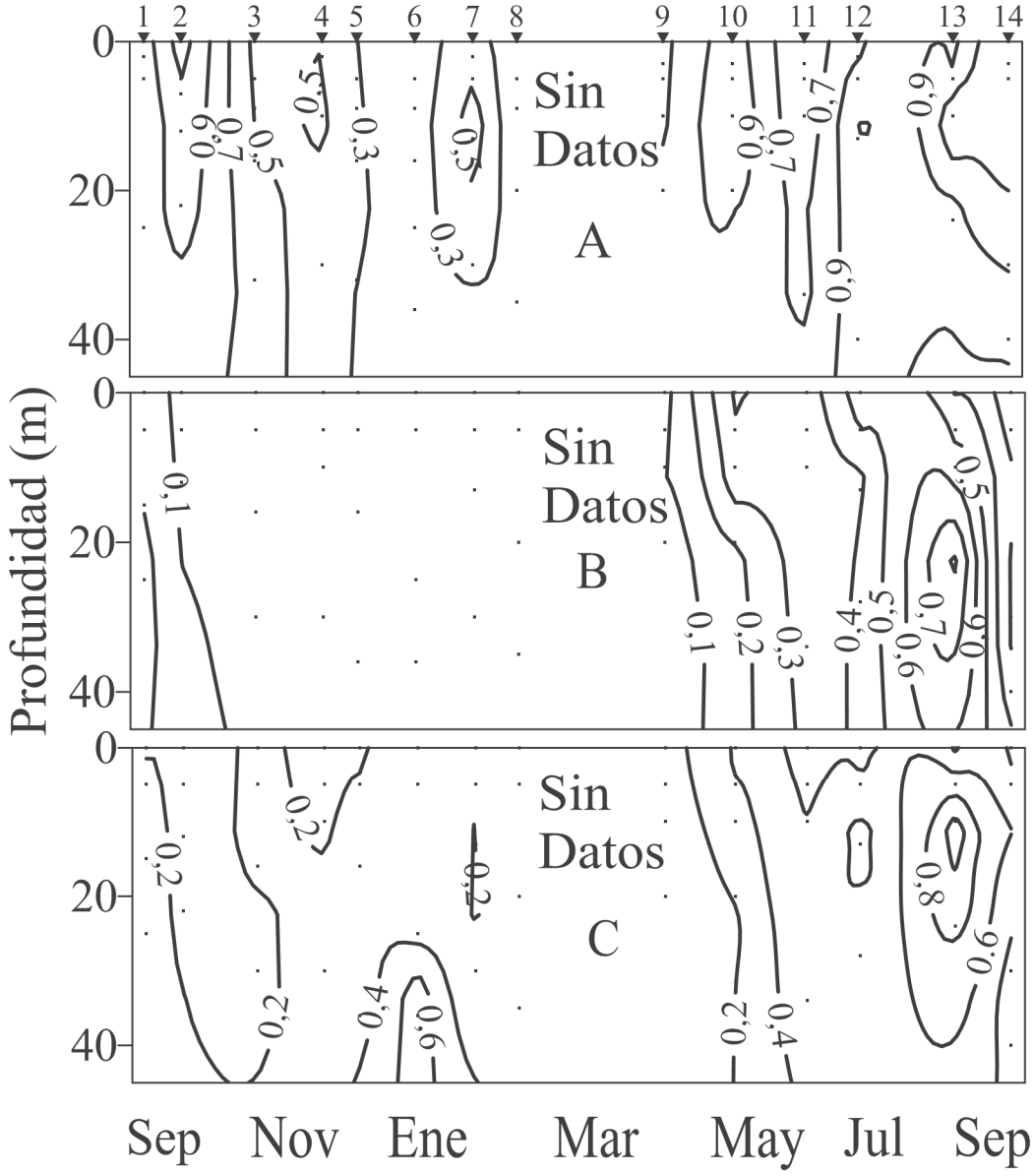


Figura 7.1. Microfotografías de Cianobacterias solitarias (A) y agregadas (B) observadas en este estudio.

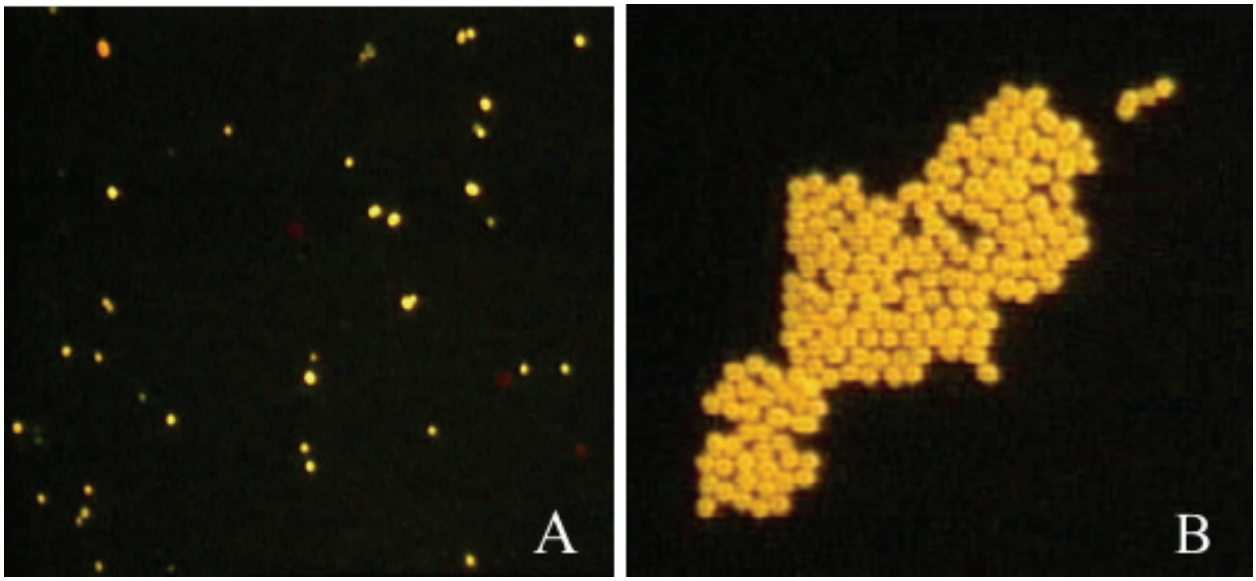


Figura 8.1. Ejemplos de imágenes de los diferentes componentes del ultrafitoplancton eucariota obtenidas utilizando microscopia clásica y de fluorescencia. A) Algas picoeucariotas; B) tipo *Chrysochromulina*; C) Criptofitas; D) Ultrafitoplancton Sp; E) Cocolitofóridos; F) *Ollicola*; G) Ultra diatomeas (Udiat); H) *Pyramimonas* e I) otras prasinofitas. En A, B, C1 y D: el color rojo/naranja indica la presencia de Cl *a*; en C2: el color rojo indica la presencia de ficoeritrina. Ver abreviaturas en tabla 2.1.

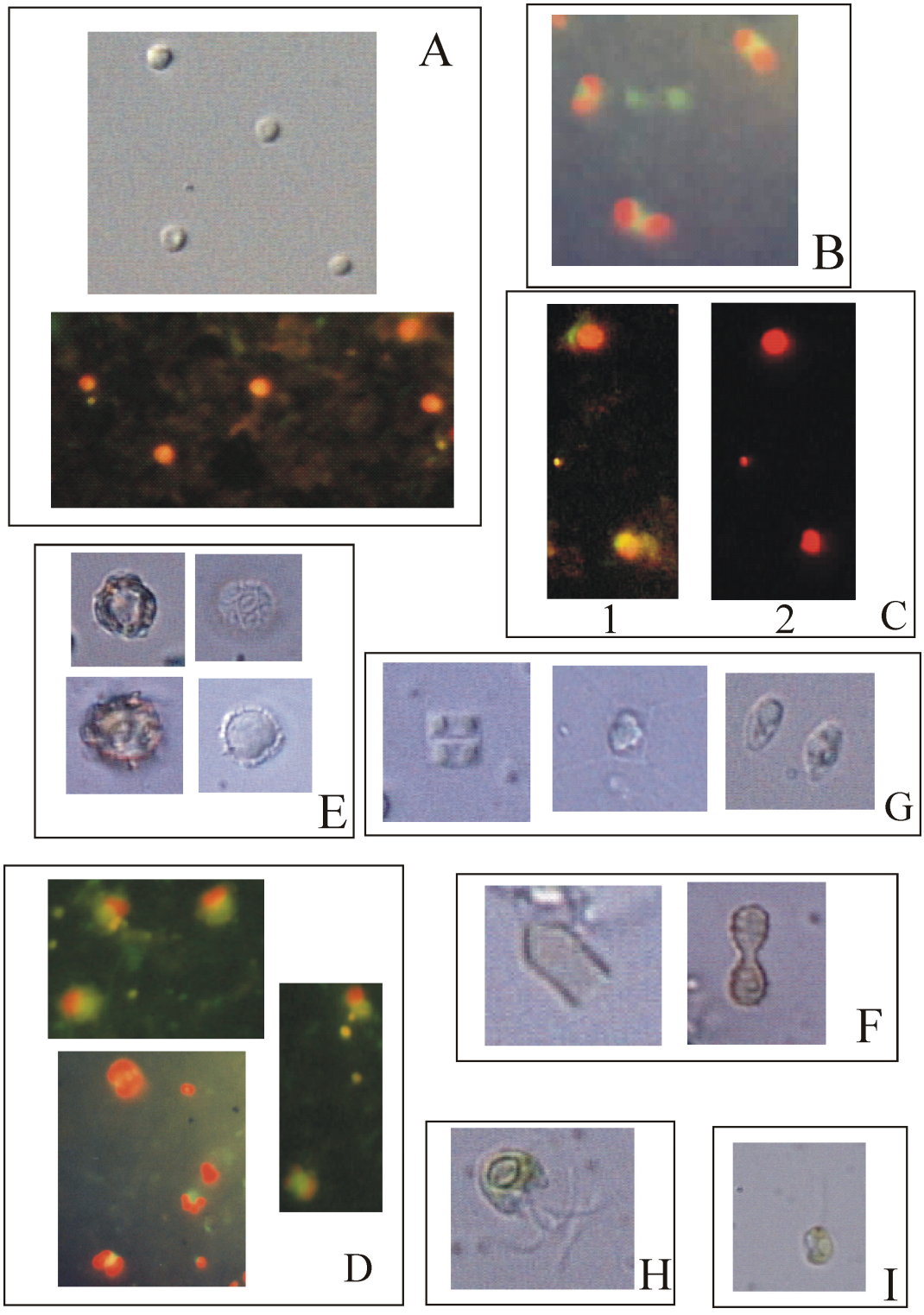


Figura 9.1. Ciclo 2000. Distribución de la biomasa (mg C m^{-3}) de *Synechococcus* (A), Picofitoeucariotas (B), tipo *Chrysochromulina* (C) en la columna de agua de la EPEA. En la parte superior, los números corresponden a la identificación de las campañas (Tabla 1.1).

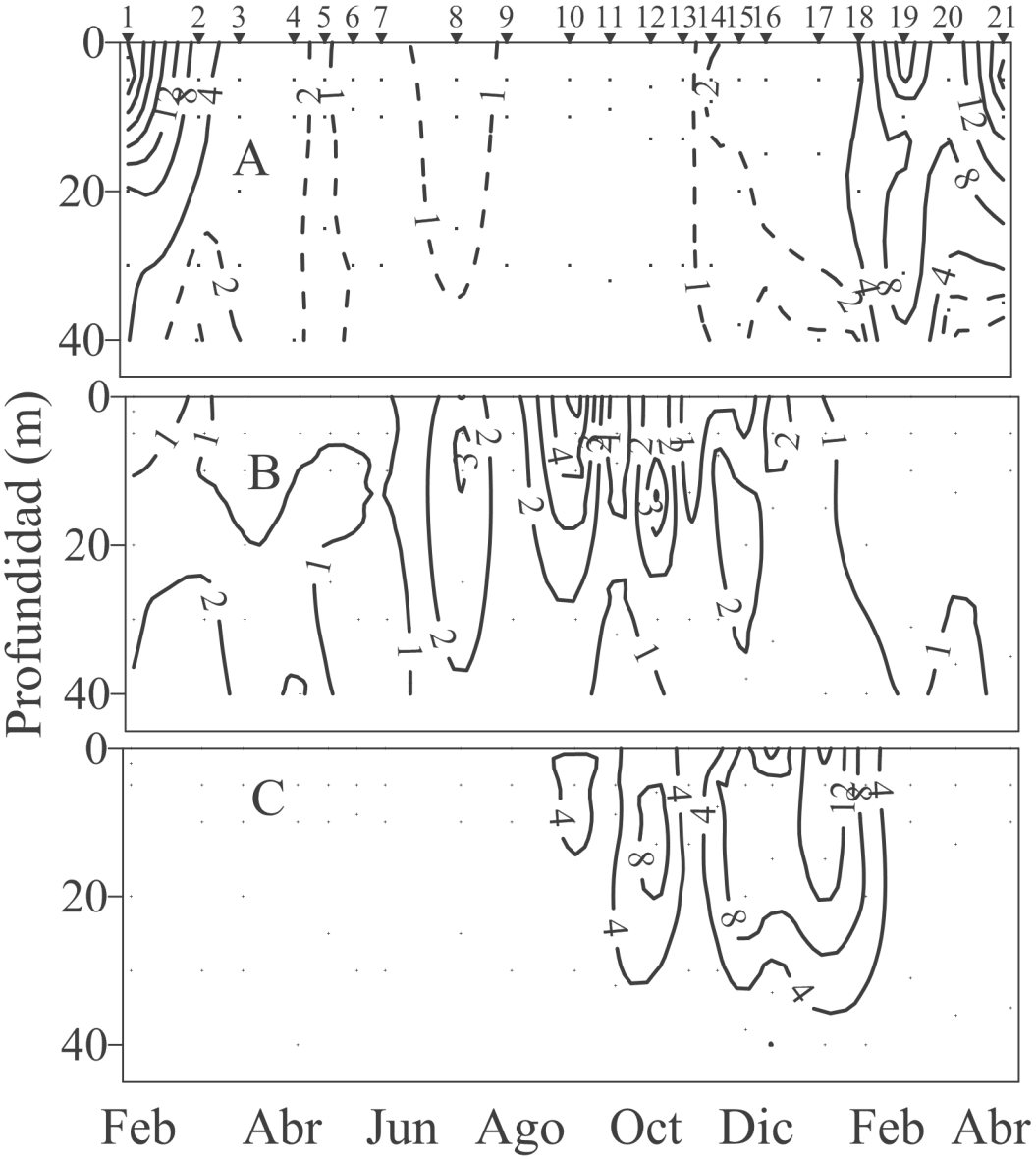


Figura 10.1. Ciclo 2003. Distribución de la biomasa (mg C m^{-3}) de *Synechococcus* (A), Picofitoeucariotas (B), tipo *Chrysochromulina* (C) en la columna de agua de la EPEA. En la parte superior, los números corresponden a la identificación de las campañas (Tabla 1.1).

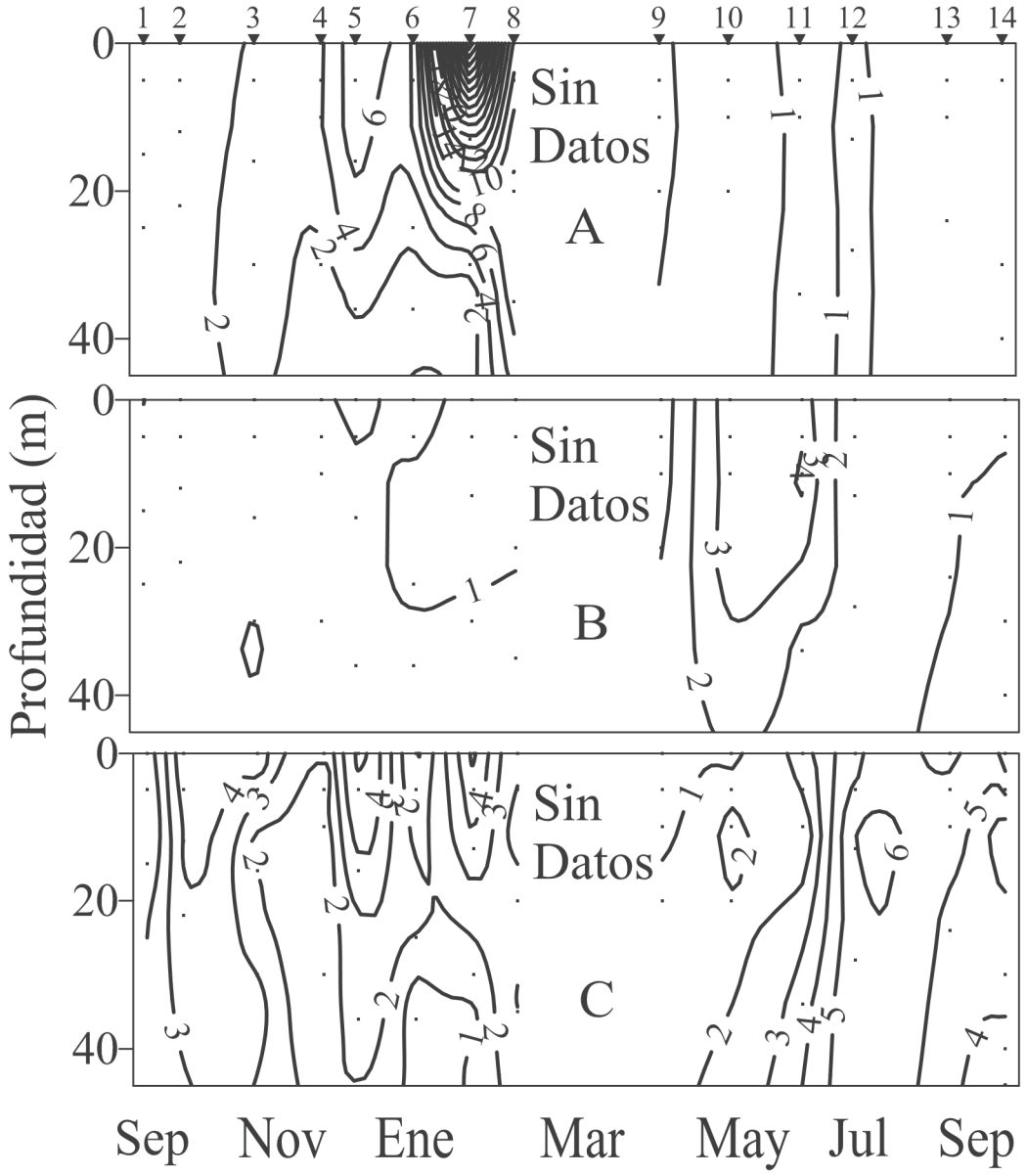


Figura 11.1. Ciclo 2000. Distribución de la biomasa (mg C m^{-3}) de ultrafitoplancton SP (A), Criptofitas (B) en la columna de agua de la EPEA. Abundancia del ultraprotozooplancton <5 µm [cél ml^{-1} x 10^3] (C). En la parte superior, los números corresponden a la identificación de las campañas (Tabla 1.1).

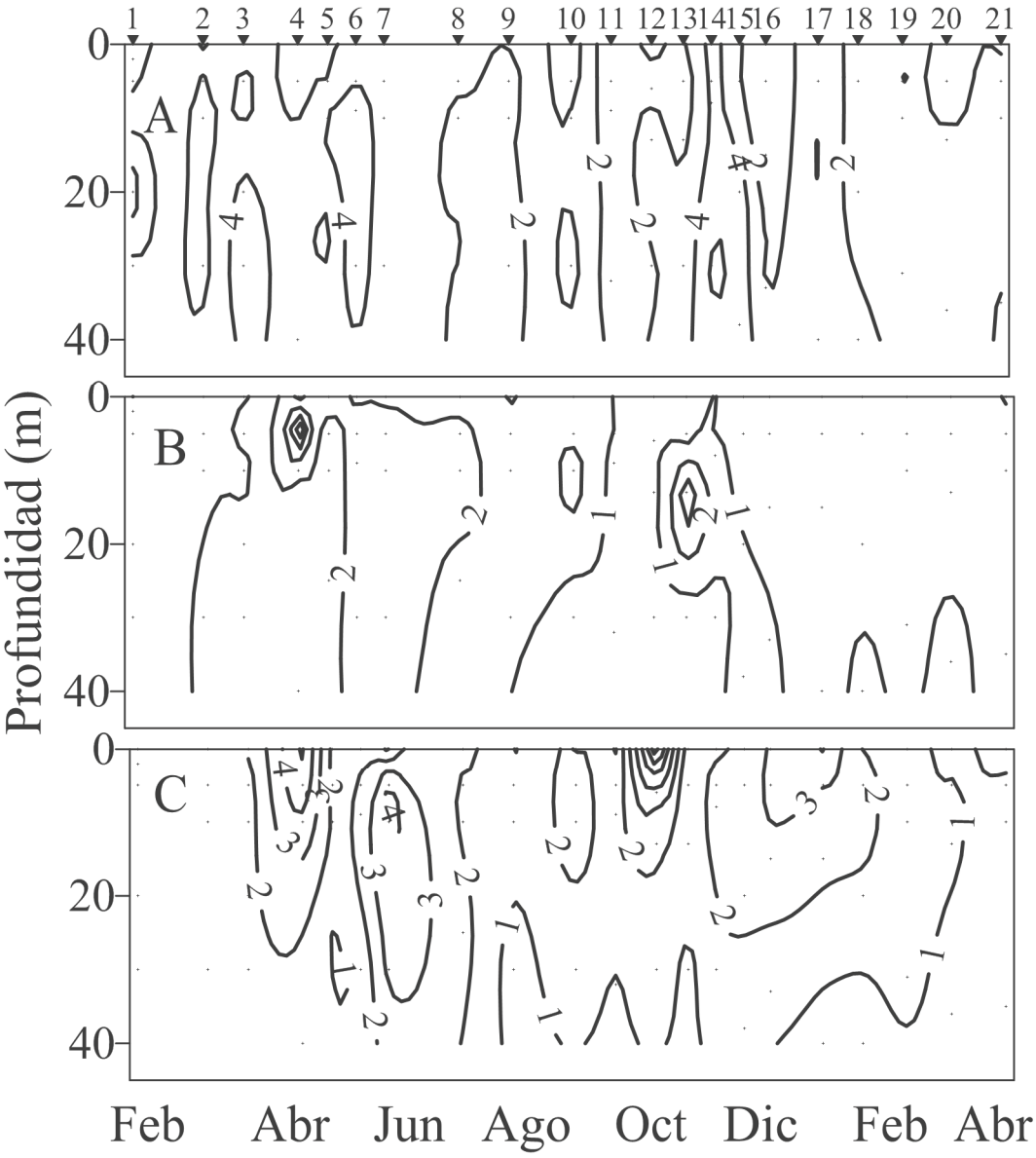


Figura 12.1. Ciclo 2003. Distribución de la biomasa (mg C m^{-3}) de ultrafitoplancton SP (A), Criptofitas (B) en la columna de agua de la EPEA. Abundancia del ultraprotozooplancton <5 µm [cél ml^{-1} x 10^3] (C). En la parte superior, los números corresponden a la identificación de las campañas (Tabla 1.1).

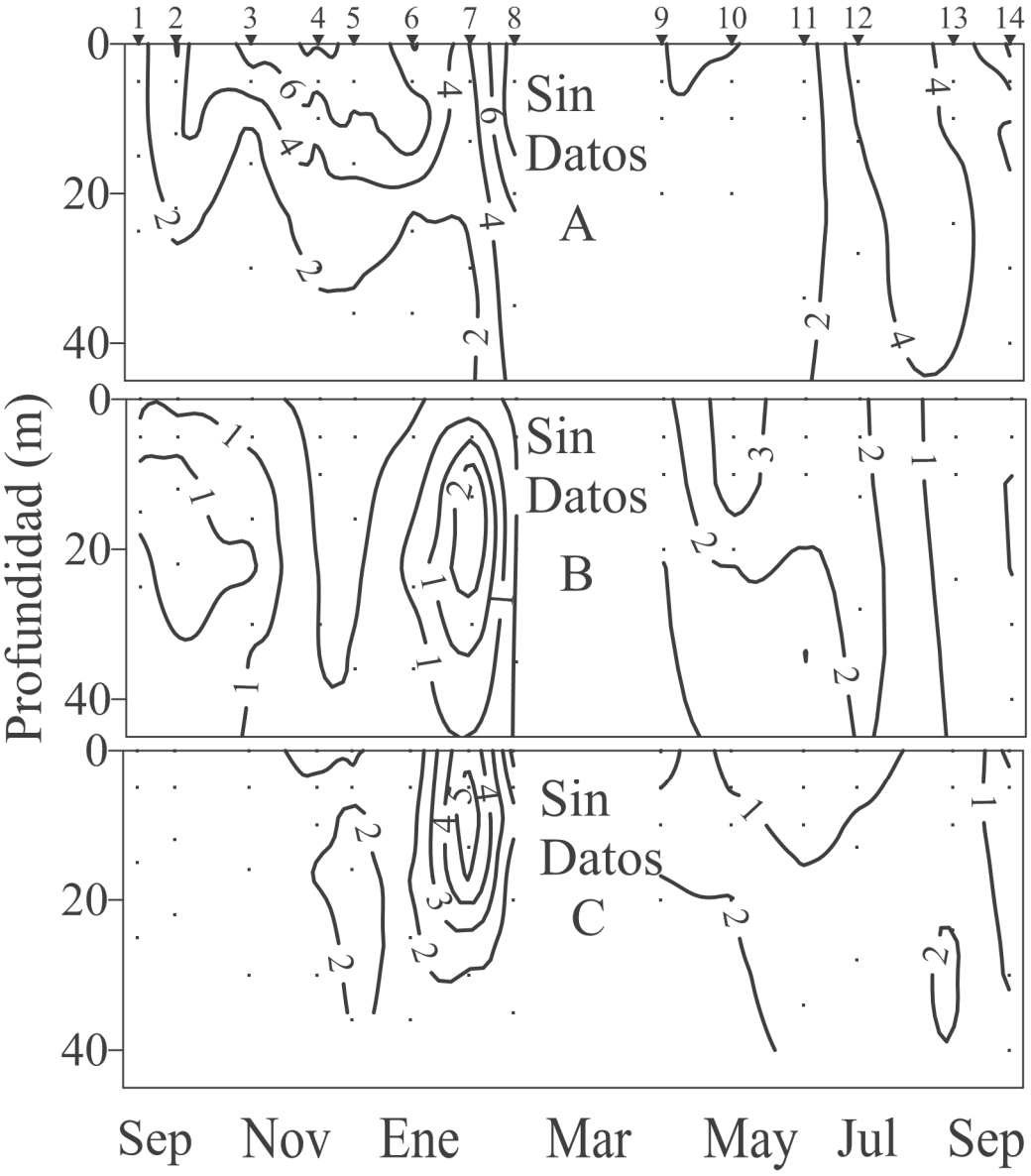


Figura 13.1. Ciclo 2000. Distribución anual de la biomasa (mg C m^{-3}) de las ultra diatomeas (A), de *Ollicola* (B), de *Pyramimonas* (C), de otras prasinofitas (D), de los cocolitofóridos (E) y otras ultra-algas (F) a 5 m de profundidad, en la EPEA.

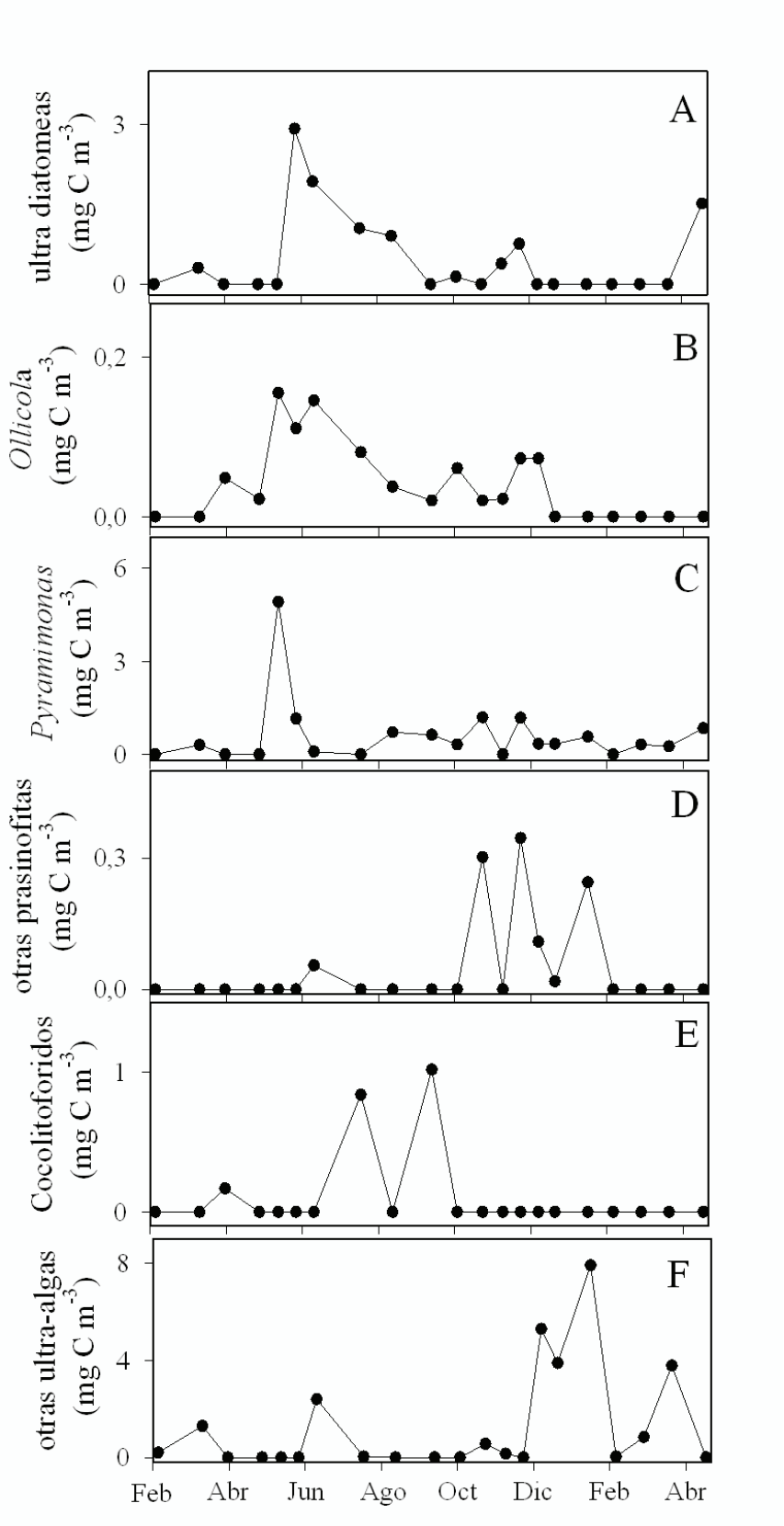


Figura 14.1. Ciclo 2003. Distribución anual de la biomasa (mg C m^{-3}) de las ultra diatomeas (A), de *Ollicola* (B), de *Pyramimonas* (C), de otras prasinofitas (D), de los cocolitofóridos (E) y otras ultra-algas (F) a 5 m de profundidad, en la EPEA.

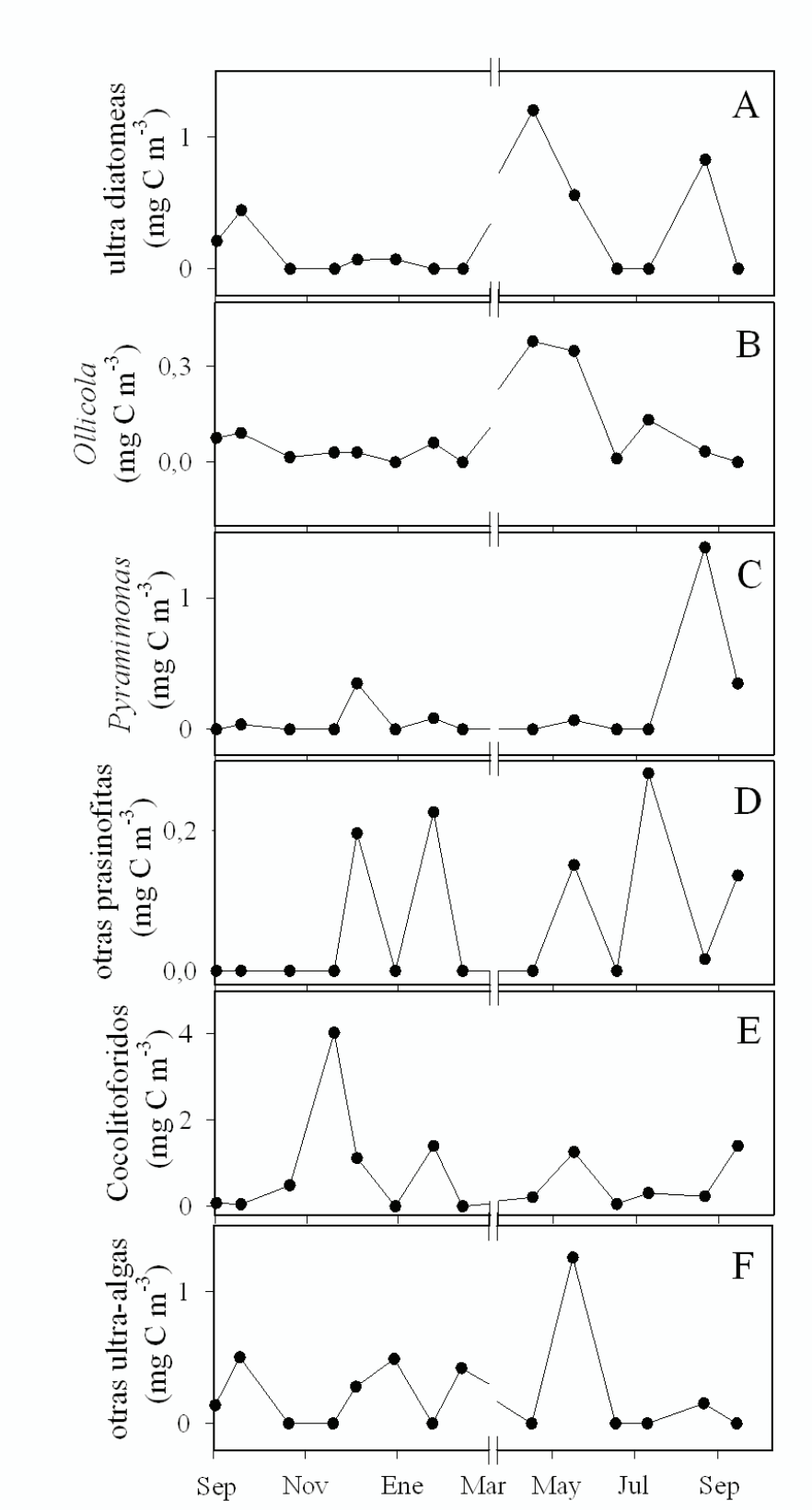


Figura 15.1. Ciclo 2000. Distribución anual de la contribución (0 - 1) de *Synechococcus* (A), de las picofitoeucariotas (B), de las tipo *Chrysochromulina* (C), de las criptofitas (D), de otras ultra-algas (E) a la biomasa total del ultrafitoplancton a 5 m de profundidad, en la EPEA.

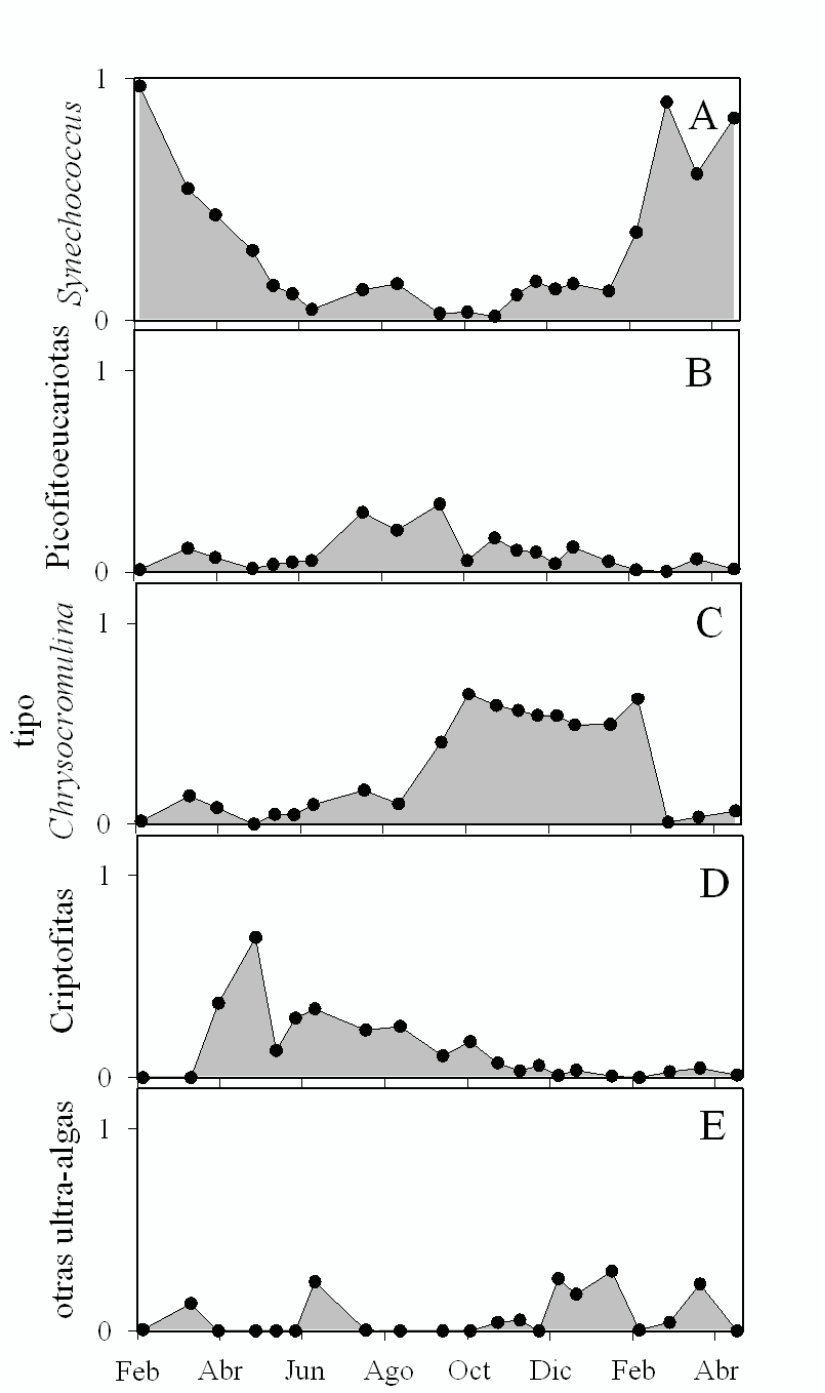


Figura 15.1. Continuación. Ciclo 2000. Distribución anual de la contribución (0 - 1) de las ultra diatomeas (F), de *Ollicola* (G), de *Pyramimonas* (H), de otras prasinofitas (I), de los cocolitofóridos (J) a la biomasa total del ultrafitoplancton a 5 m de profundidad, en la EPEA.

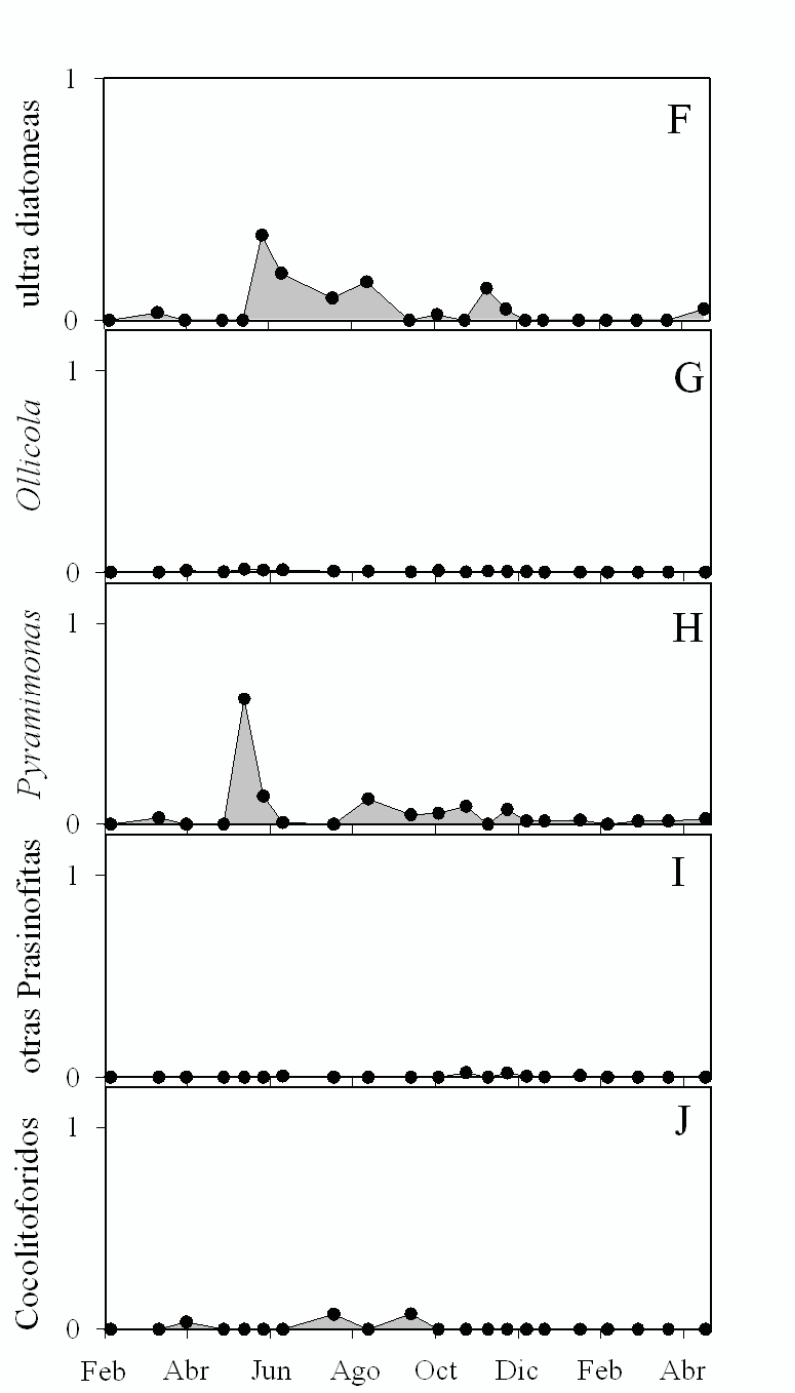


Figura 16.1. Ciclo 2003. Distribución anual de la contribución (0 - 1) de *Synechococcus* (A), de las picofitoeucariotas (B), de las tipo *Chrysochromulina* (C), de las criptofitas (D), de otras ultra-algas (E) a la biomasa total del ultrafitoplancton a 5 m de profundidad, en la EPEA.

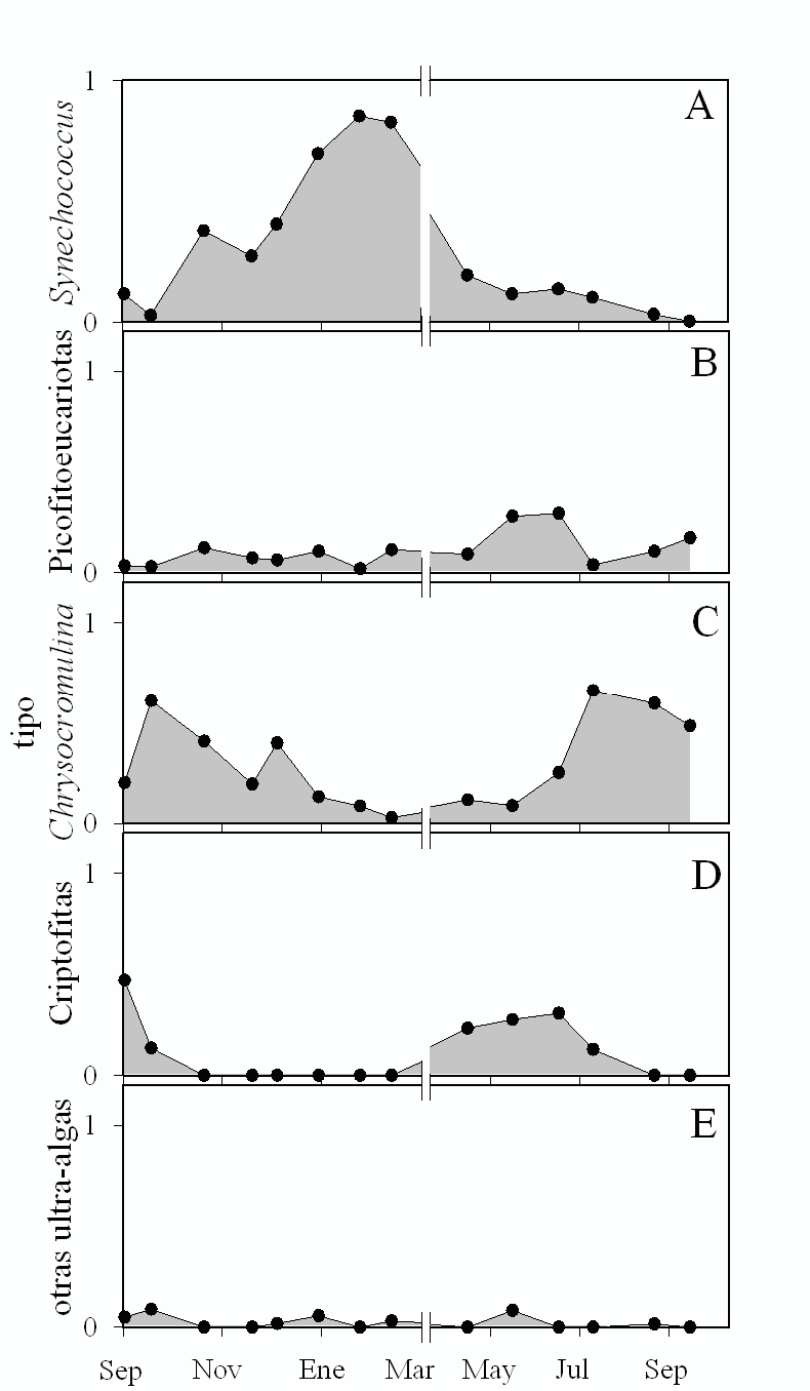


Figura 16.1. Continuación. Ciclo 2003. Distribución anual de la contribución (0 - 1) de las ultra diatomeas (F), de *Ollicola* (G), de *Pyramimonas* (H), de otras prasinofitas (I), de los cocolitofóridos (J) a la biomasa total del ultrafitoplancton a 5 m de profundidad, en la EPEA.

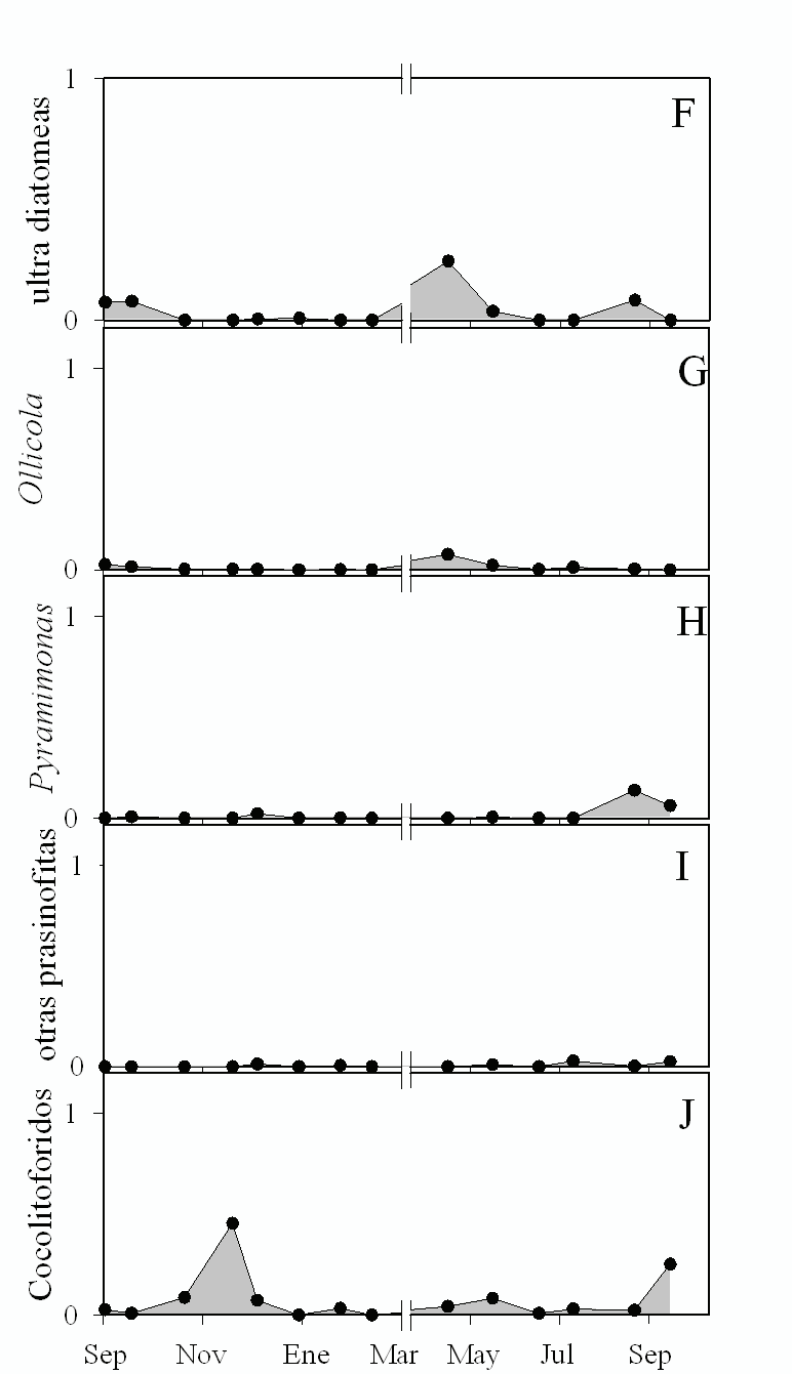


Figura 17.1. Ciclo 2000. Distribución anual de la abundancia (células x ml $^{-1}$) de las diatomeas (A) y dinoflagelados fotótrofos (B) del nanoplancton, y de las diatomeas (C) y dinoflagelados fotótrofos (D) del microplancton a 5 m de profundidad, en la EPEA.

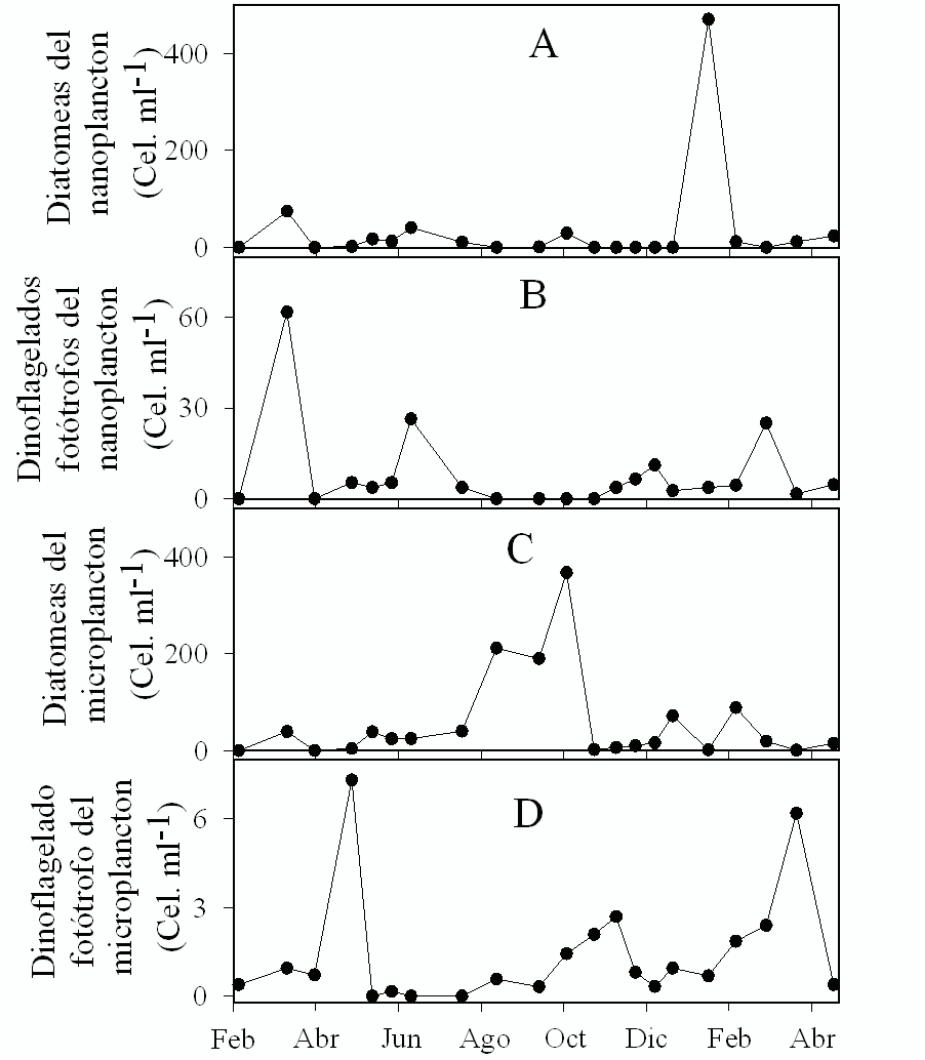


Figura 18.1. Ciclo 2003. Distribución anual de la abundancia (células x ml $^{-1}$) de las diatomeas (A) y dinoflagelados fotótrofos (B) del nanoplancton y de las diatomeas (C) y dinoflagelados fotótrofos (D) del microplancton a 5 m de profundidad, en la EPEA.

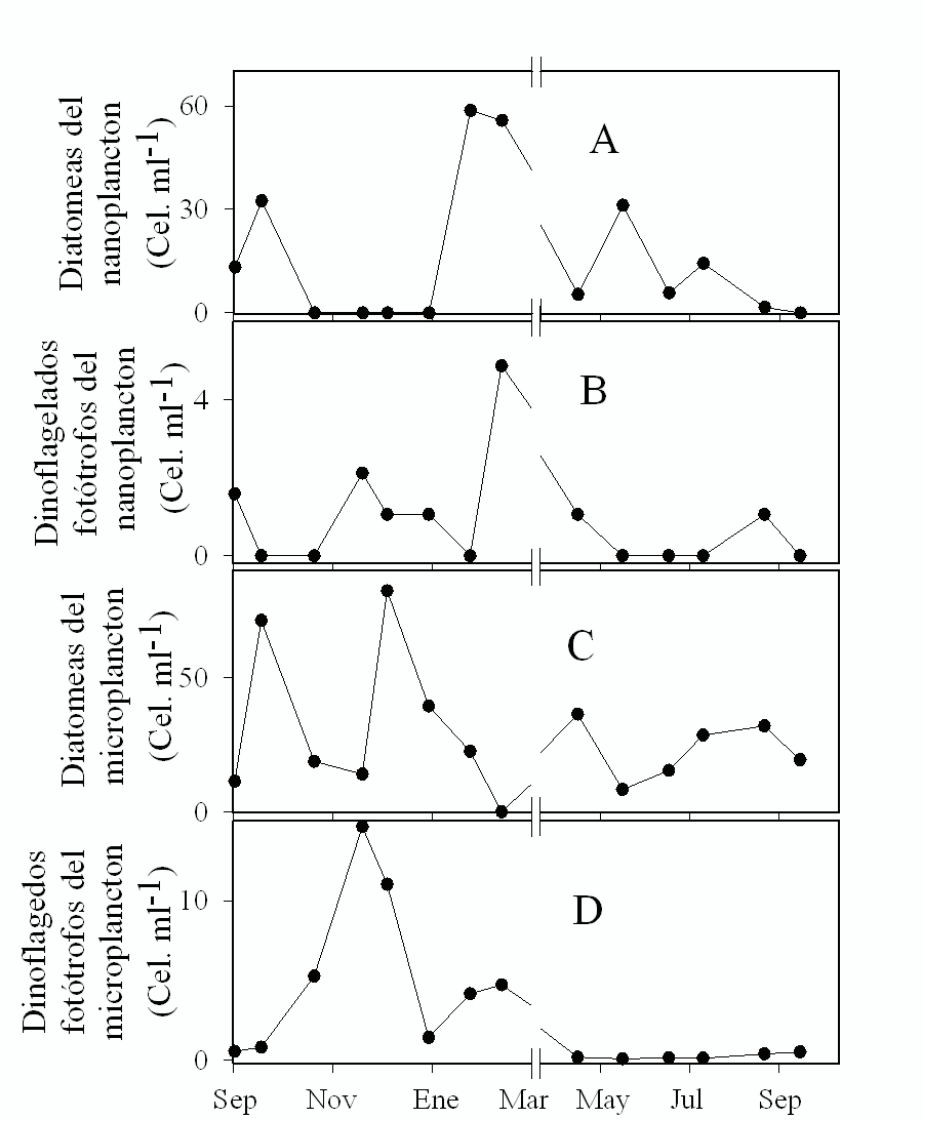


Figura 19.1. Ciclo 2000. Distribución de la abundancia (células x ml $^{-1}$) de los coanoflagelados (A), de los nanoflagelados heterótrofos (B), de los *Leucocryptos* (C), de ciliados < 20 µm (D) a 5 m de profundidad en la EPEA.

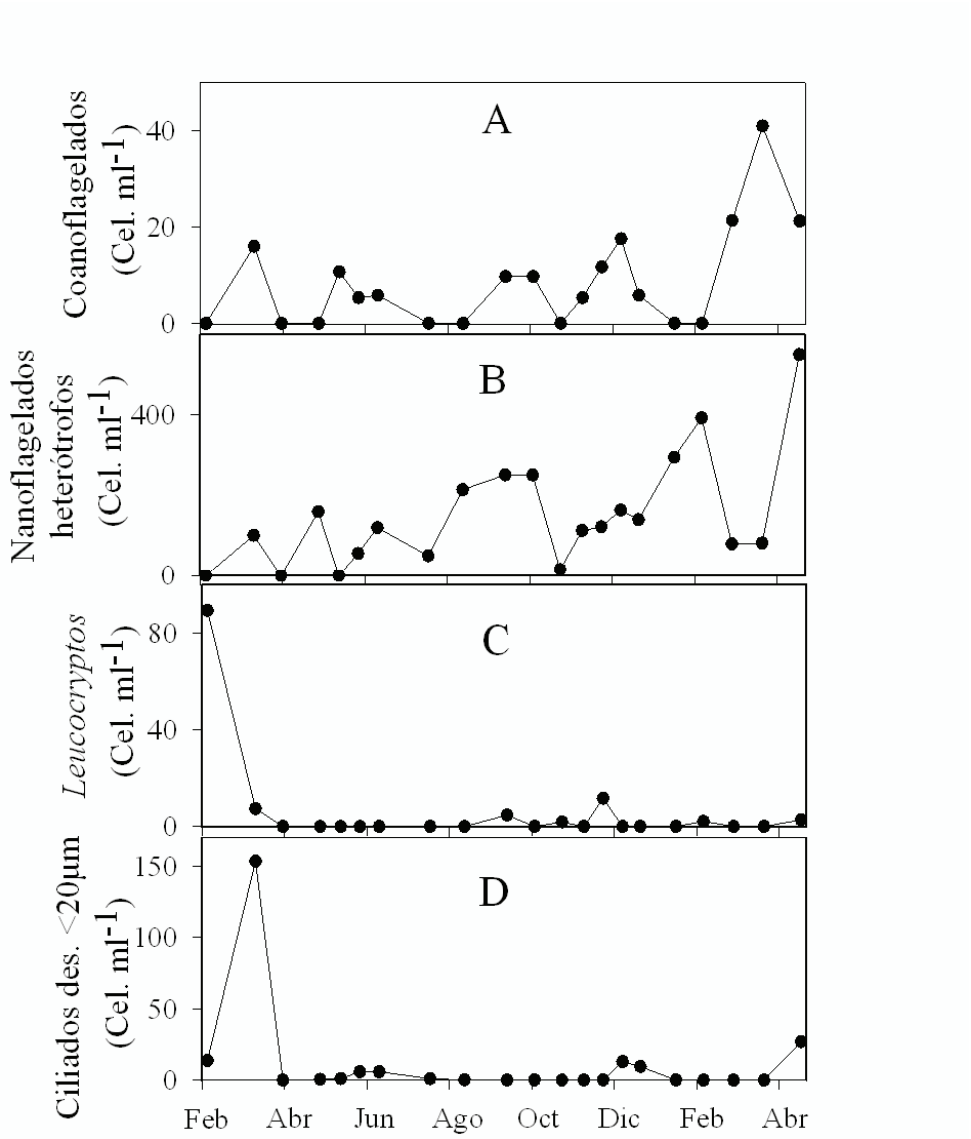


Figura 19.1. Continuación. Ciclo 2000. Distribución de la abundancia (células x ml $^{-1}$) de los dinoflagelados heterótrofos < 20 µm (E), de los dinoflagelados heterótrofos entre 20 – 200 µm (F) y los ciliados desnudos entre 20 – 200 µm (G) a 5 m de profundidad en la EPEA.

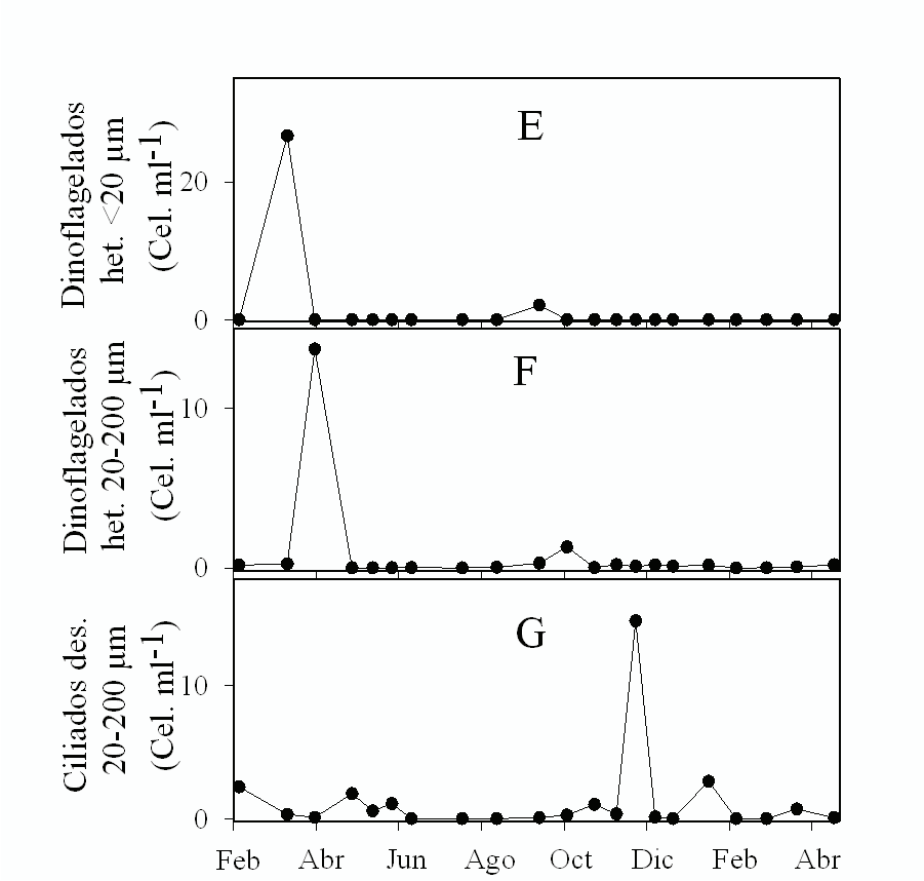


Figura 20.1. Ciclo 2003. Distribución de la abundancia (células x ml $^{-1}$) de los coanoflagelados (A), de los nanoflagelados heterótrofos (B), de los *Leucocryptos* (C), de ciliados < 20 µm (D) a 5 m de profundidad en la EPEA.

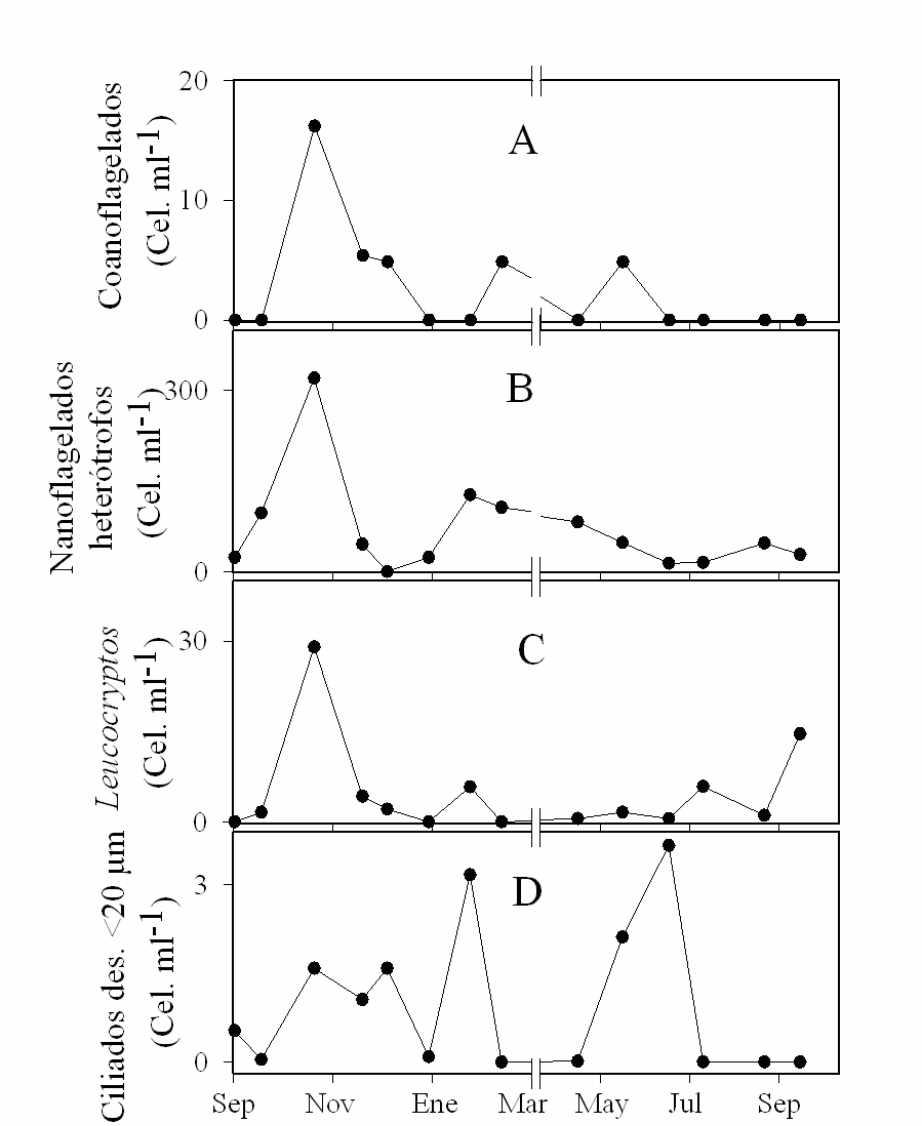


Figura 20.1. Continuación. Ciclo 2003. Distribución de la abundancia (células x ml $^{-1}$) de los dinoflagelados heterótrofos < 20 µm (E), de los dinoflagelados heterótrofos entre 20 – 200 µm (F) y los ciliados desnudos entre 20 – 200 µm (G) a 5 m de profundidad en la EPEA.

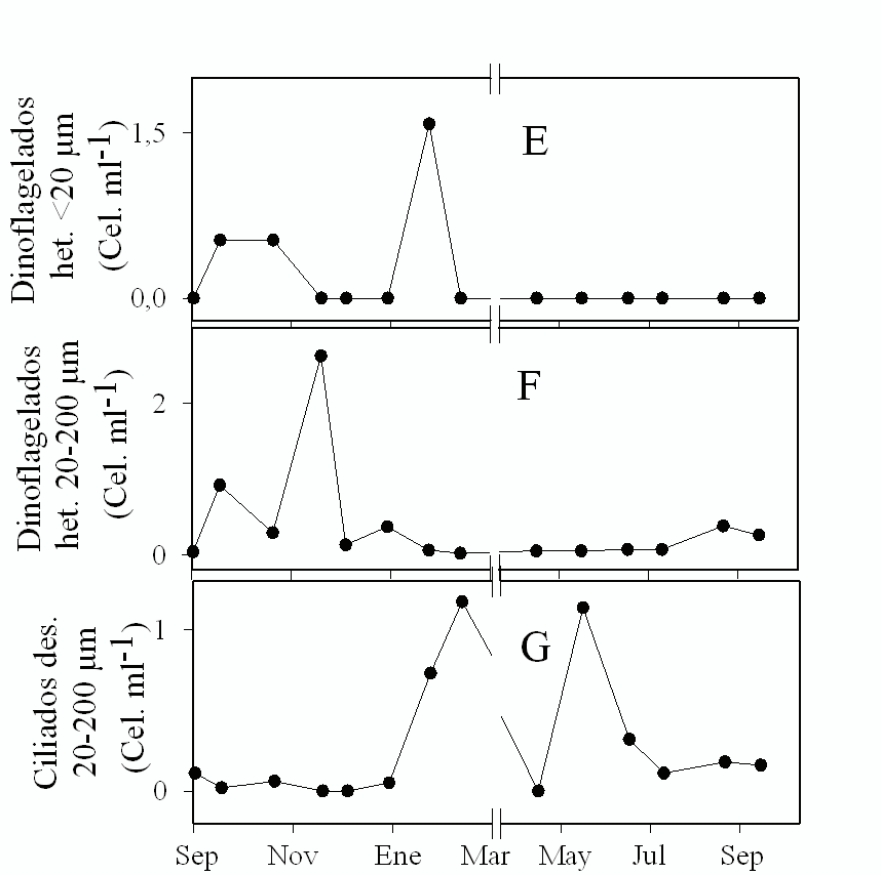
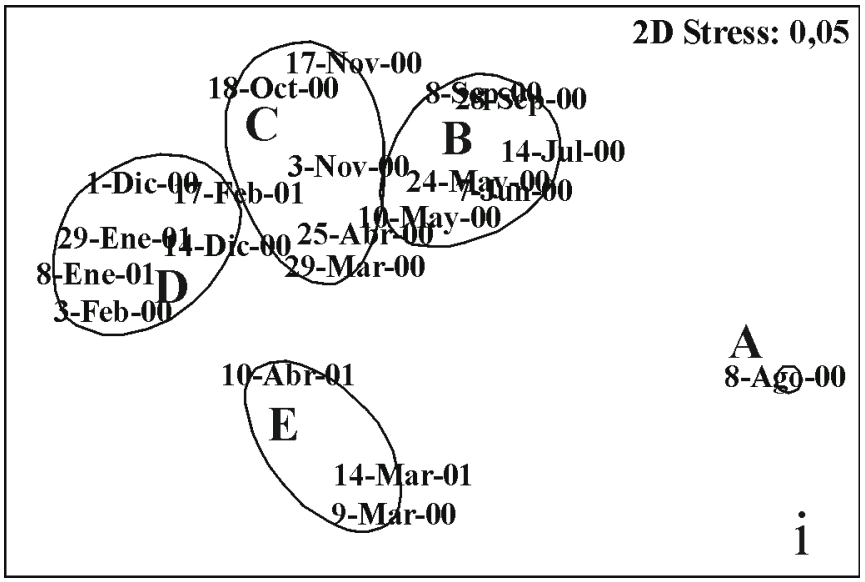


Figura 21.1. Ordenación de escalamiento multidimensional no métrico por fecha de las campañas a partir de las variables ambientales. Ciclo 2000 (i). Ciclo 2003 (ii).



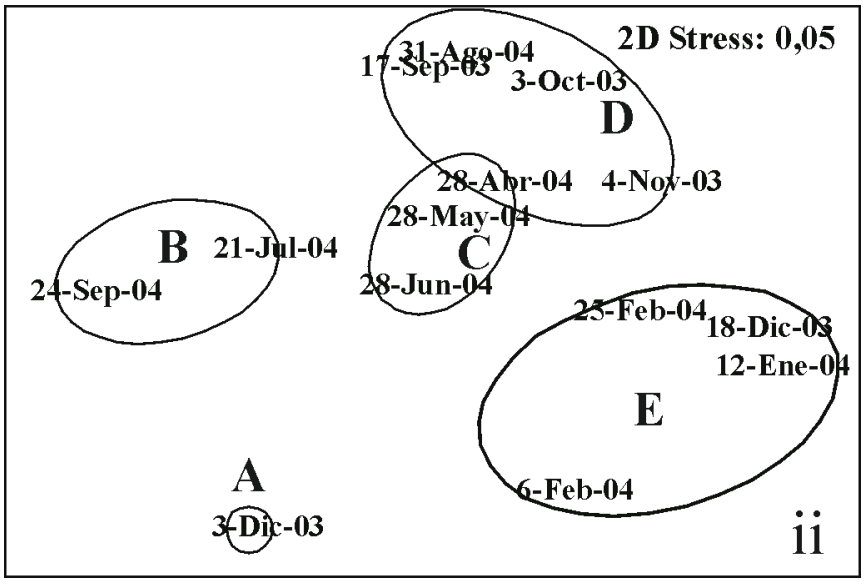
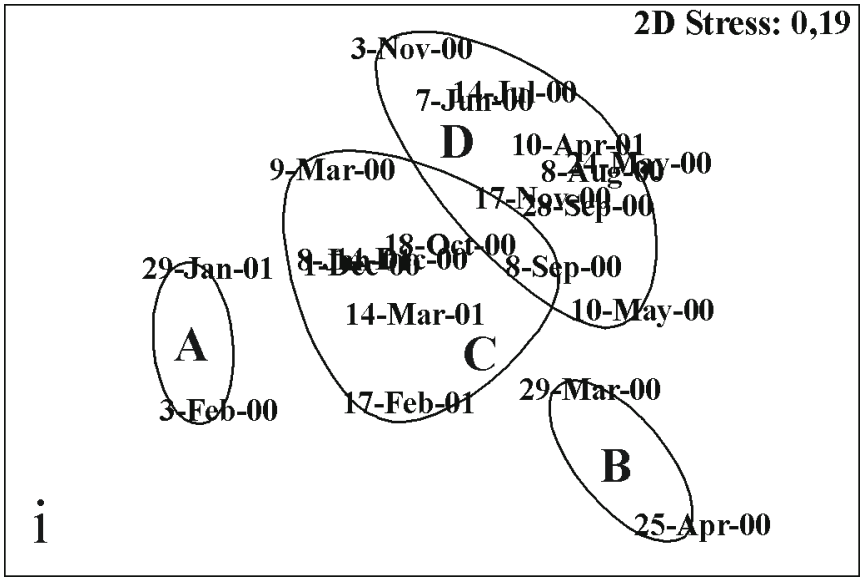


Figura 22.1. Ordenación de escalamiento multidimensional no métrico por fechas de las campañas a partir de las biomasas del ultrafitoplancton. Ciclo 2000 (i). Ciclo 2003 (ii).



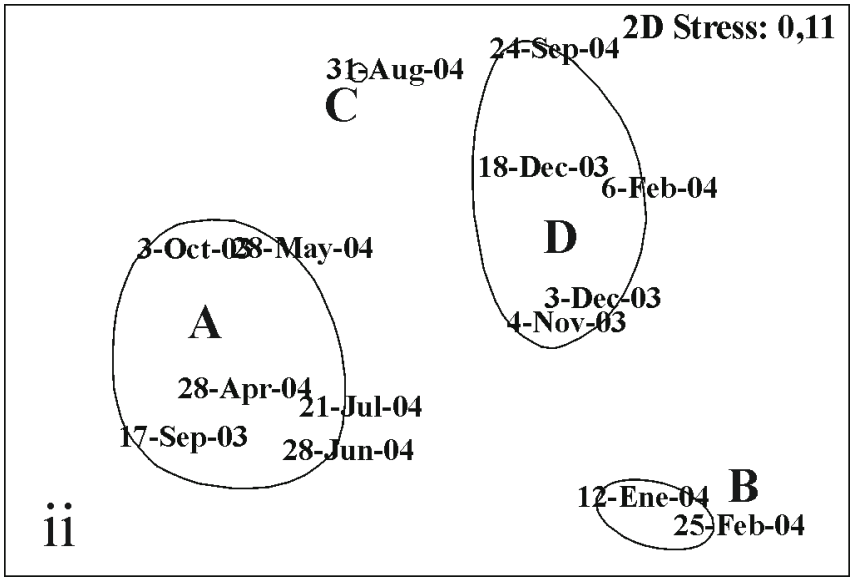


Figura 23.1. Ordenación de escalamiento multidimensional no métrico por fecha de las campañas a partir de las biomasas del ultrafitoplancton en ambos ciclos (las mismas de la Figura 22) donde se super-pusieron círculos que indican los valores de las principales variables que influencian cada ordenación (obtenidas del análisis BIO-ENV).

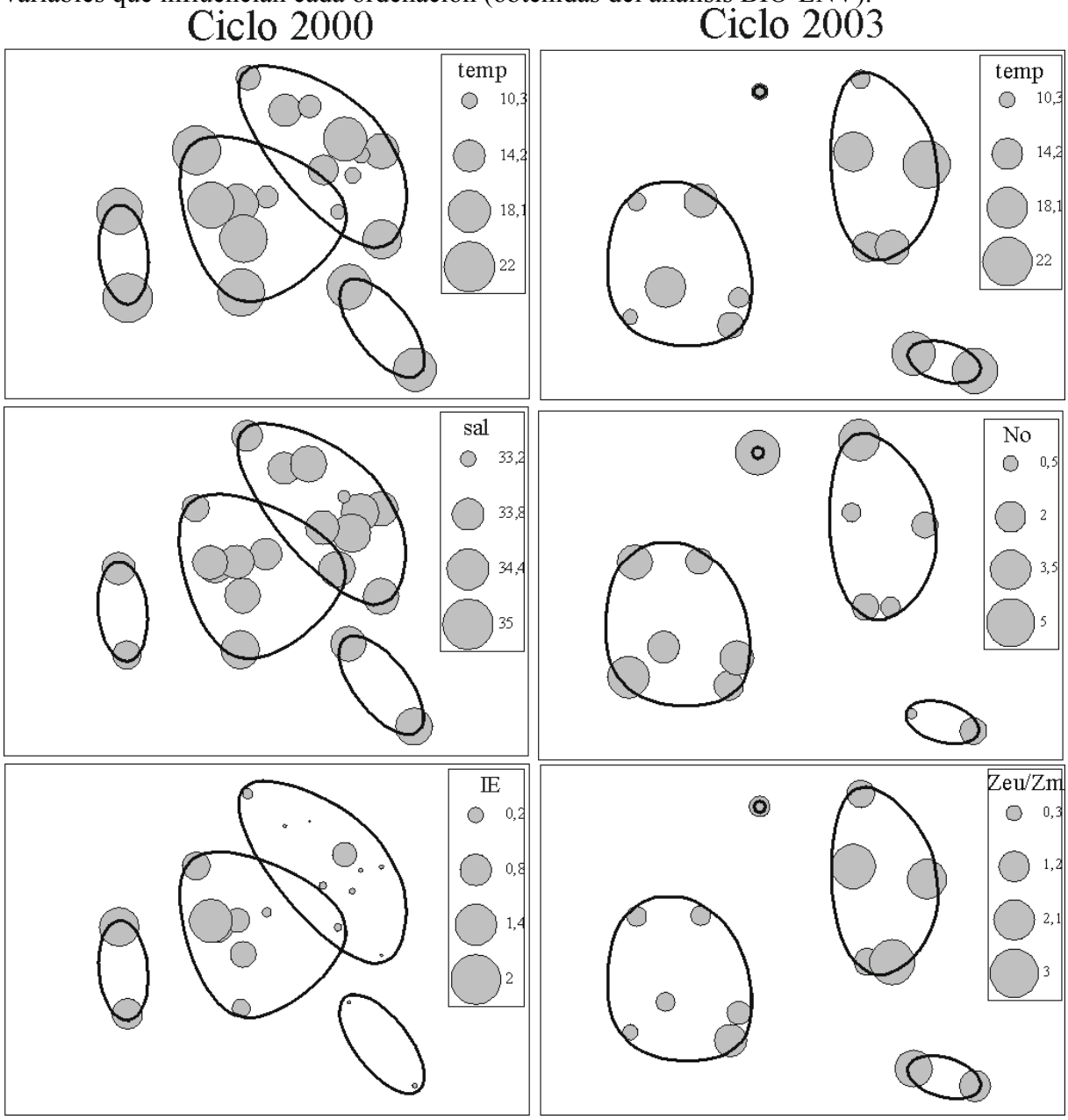


Figura 24.1. Modelos GAM basados en variables explicativas ambientales individuales para los índices de variación de las biomasas de *Synechococcus*, tipo *Chrysochromulina*, Criptofitas y Picofitoeucariotas. Las líneas punteadas corresponden al rango de confianza, por debajo y por arriba de las funciones estimadas por el suavizado.

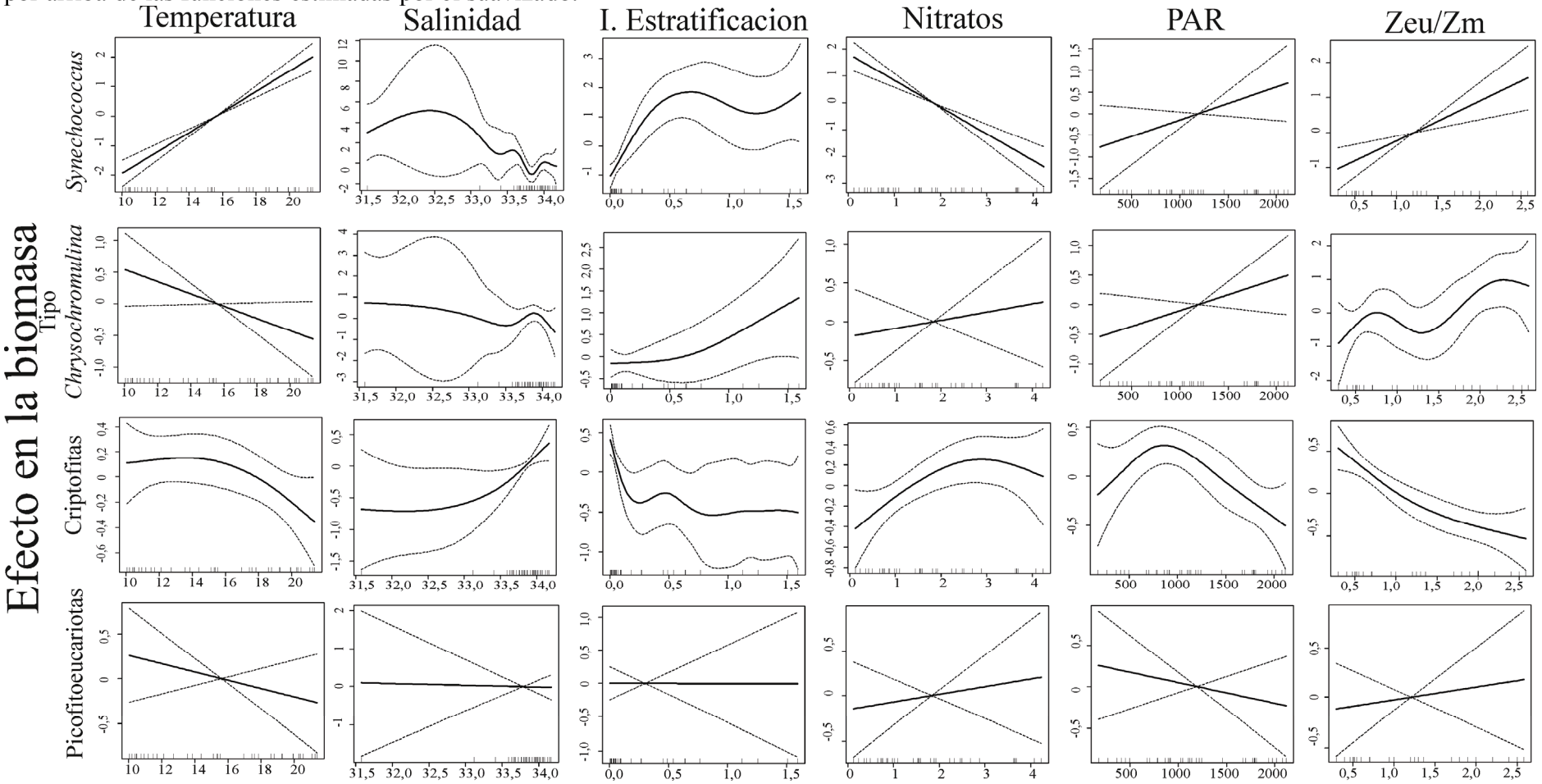


Figura 25.1A. Modelos GAM basados en variables explicativas biológicas individuales para los índices de variación de las biomasas de *Synechococcus*, tipo *Chrysochromulina*, Criptofitas y Picofitoeucariotas. Las líneas punteadas corresponden al rango de confianza, por debajo y por arriba de las funciones estimadas por el suavizado.

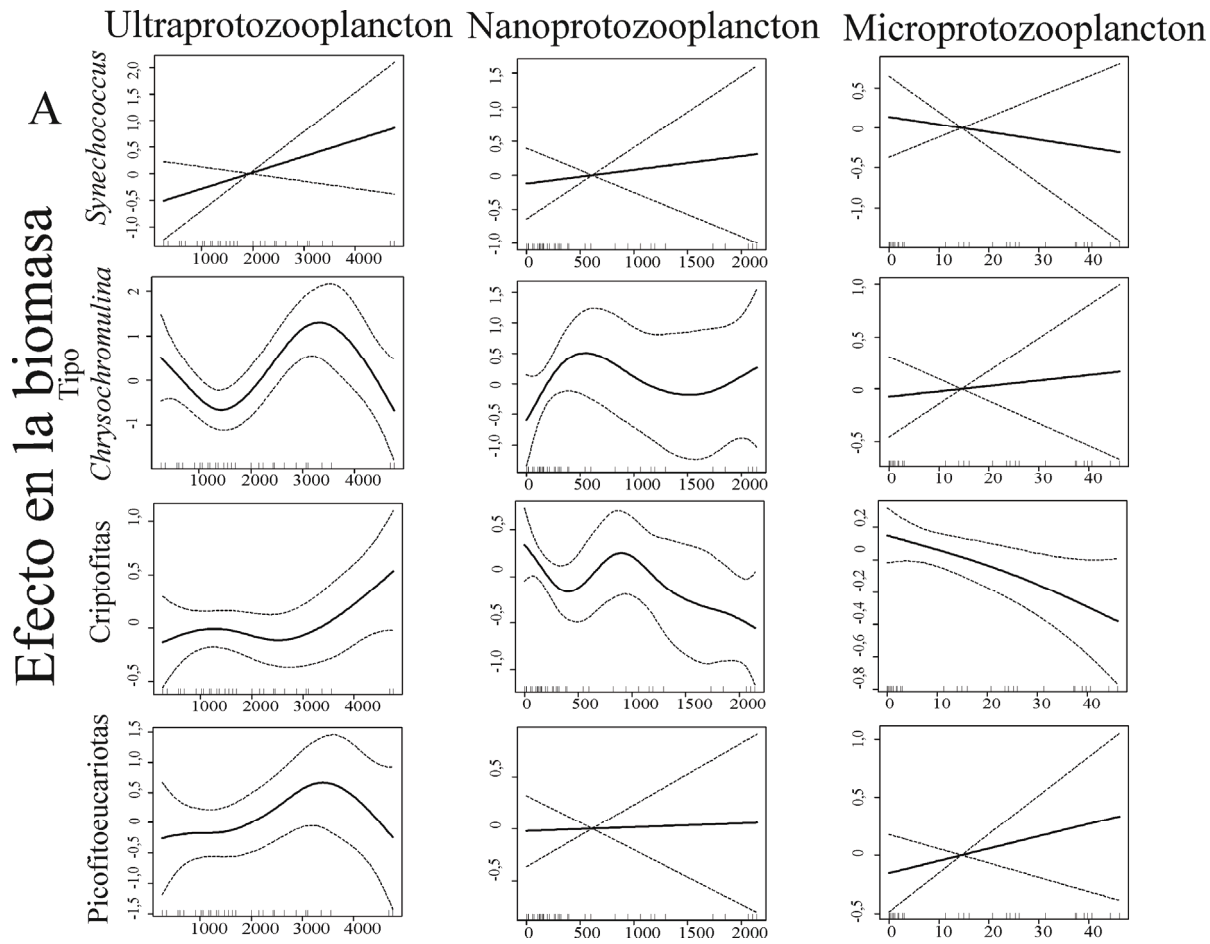
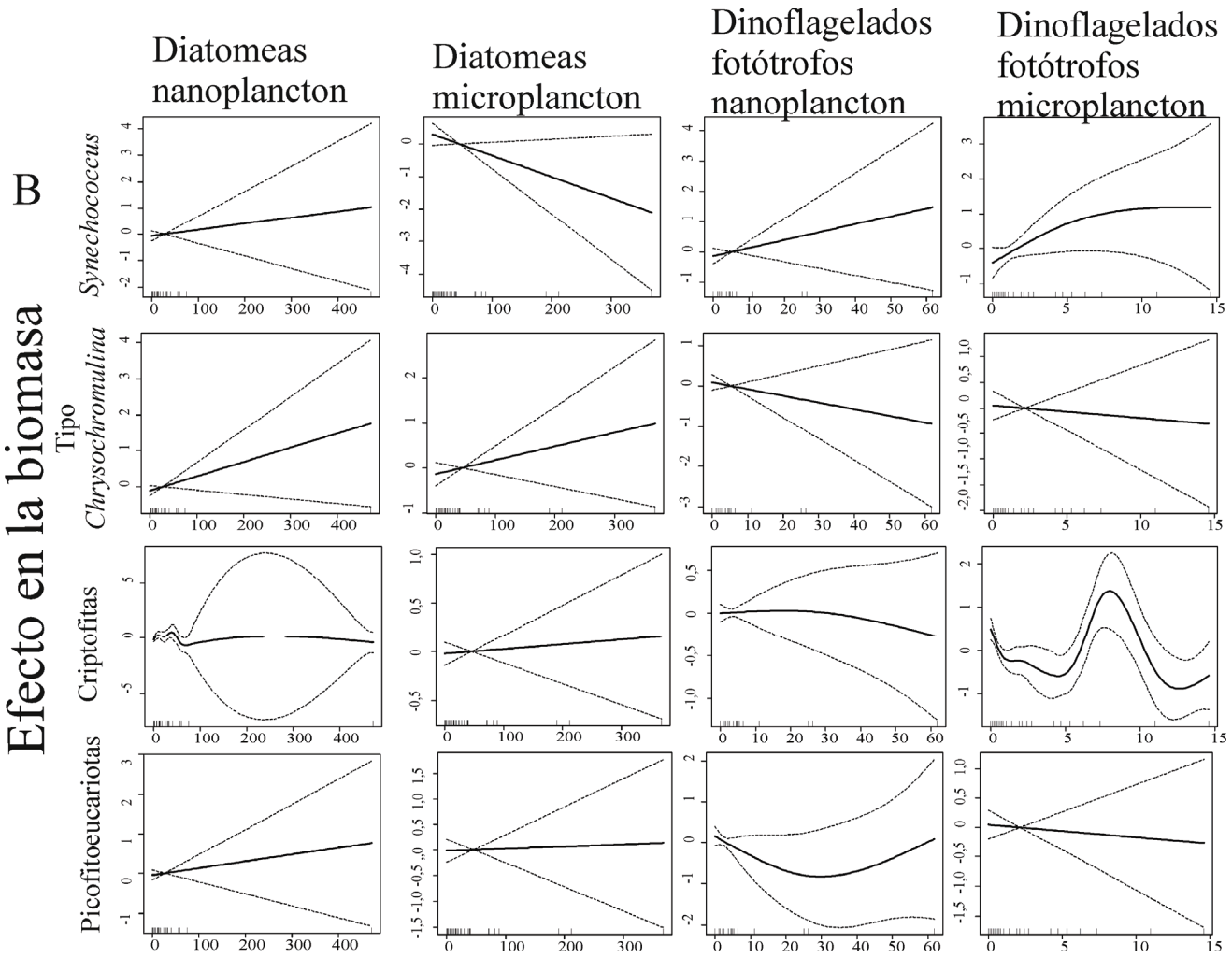


Figura 25.1B. Modelos GAM basados en variables explicatorias biológicas individuales para la biomasa de *Synechococcus*, tipo *Chrysochromulina*, Criptofitas y Picofitoeucariotas. Las líneas punteadas corresponden al rango de confianza, por debajo y por arriba de las funciones estimadas por el suavizado.



CAPÍTULO II

Sucesión estival del ultrafitoplancton en la estación costera EPEA

***Este capítulo se encuentra publicado como*:**

Silva, R., Negri, R. and Lutz, V. (2009) Summer succession of ultraphytoplankton at the EPEA coastal station (Northern Argentina). *J. Plankton Res.*, **31**, 447-458.

Introducción

Los organismos del ultrafitoplancton (< 5 μm, incluyendo células del picoplancton) involucrados en las tramas alimenticias microbianas juegan un rol significativo en el flujo de materia y energía en cualquier ecosistema pelágico marino (Pomeroy, 1974). Es sabido que la biomasa de estas pequeñas algas generalmente domina en aguas oceánicas oligotróficas, como así, también en aguas de plataforma fuertemente estratificadas (Johnson & Sieburth, 1982). Se ha demostrado que el ultrafitoplancton contribuye significativamente a la biomasa total del fitoplancton en verano después del florecimiento primaveral en aguas templadas del Hemisferio Norte (Weisse, 1993).

En contraste con la importancia ecológica del ultrafitoplancton como grupo funcional, su taxonomía es pobremente conocida debido a su pequeño tamaño y a su falta de rasgos morfológicos distintivos. Durante las últimas décadas, ha habido una disminución en estudios taxonómicos en pos de estudios 'cuantitativos' o de 'biomasa' no diferenciada, y algunos 'multi-grupales'. Más recientemente, la biología molecular ha facilitado avances en estudios de diversidad y el descubrimiento de nuevos grupos de algas (Guillou *et al.*, 1999; Moon-van der Staay *et al.*, 2001). En referencia a grandes grupos taxonómicos, la comunidad del ultrafitoplancton está compuesta por cianobacterias procariotas (*Synechococcus* y *Prochlorococcus*), y por diversos grupos eucariotas, principalmente *Chlorophyta, Prasinophyceae, Prymnesiophyceae, Dinophyceae, Pelagophyceae, Bacillariophyceae,* y *Chrysophyceae*.

La sucesión clásica de los grupos grandes como diatomeas y dinoflagelados, acoplada al ciclo de formación y erosión de la termoclina estacional en la columna de agua, ha sido bien descripta (Margalef, 1958; Smayda, 1980). En contraste con ésto, la sucesión del ultrafitoplancton ha sido poco estudiada, debido, principalmente a la dificultad de su identificación taxonómica. Los escasos estudios dedicados al tema han mostrado que la sucesión temporal del ultrafitoplancton parece ser una función de los mismos procesos ambientales que afectan a las células más grandes (Lindell & Post, 1995; Tamigneaux *et al.*, 1995), por ejemplo la regulación por predadores o la disponibilidad de nutrientes (Fogg, 1995). Otro enfoque considera las 'estrategias' de adaptación a las fuentes de estrés incluyendo factores hidrológicos y biológicos (Reynolds, 1997). En este sentido, se han reportado diversas ventajas de supervivencia de estos pequeños fitoplánctetes: ellos tienen una tasa de adquisición de nutrientes más

alta por unidad de volumen celular, y ellos son capaces de una mayor eficiencia de absorción de fotones en un campo de luz dado que las células más grandes (Fogg, 1991).

Los espectros de absorción del fitoplancton son característicos de la composición de especies, de sus pigmentos y del tamaño celular, como así también del estado de fotoaclimatación de las células; es decir que están condicionados por el régimen de luz al cual son expuestas (Kirk, 1994). Por lo tanto, variaciones en los espectros de absorción del fitoplancton en diferentes áreas del océano, o en diferentes épocas del año, pueden relacionarse a los grupos de fitoplancton presente. Por ejemplo, la abundancia de diferentes tamaños celulares podría ser inferida a partir de los coeficientes específicos de absorción (Ciotti *et al.*, 2002; Bricaud, 2004). Esto está basado en el principio del 'efecto empaquetamiento', el cual en términos simples predice que a medida que el tamaño celular decrece, la eficiencia de absorción por unidad de clorofila aumenta (Duysens, 1956; Sathyendranath *et al.*, 1987). Sathyendranath y colaboradores (Sathyendranath *et al.*, 2004) demostraron que la ocurrencia de diatomeas podría ser predicha por sensoramiento remoto basado en el efecto de las características de absorción sobre el cociente de las reflectancias azul/verde captadas por el sensor. Esta posible discriminación de 'tipos funcionales del fitoplancton' presentes en diferentes áreas del océano ha sido explorada en varios estudios (Alvain *et al.*, 2005; Aiken *et al.*, 2008; Nair *et al.*, 2008). Las variaciones en las características de absorción del fitoplancton relacionadas a la predominancia de diferentes tamaños celulares y sus posibles efectos en la estimación satelital de la clorofila en la estación EPEA, han sido objeto de un estudio previo (Lutz *et al.*, 2006).

Un estudio de serie-de-tiempo enfocado a variaciones a largo plazo en el plancton, de bacterioplancton a ictioplancton, en relación a factores ambientales está siendo llevado a cabo en la estación costera EPEA al norte de Argentina. Aunque su localización podría corresponder a 'Aguas Costeras', debido a su proximidad con la isobata de 50 m, puede en algunos momentos estar influenciada por advección de 'Aguas de Plataforma Intermedia' de origen Subantártico, y en ocasiones particulares por agua más dulce del río de La Plata (Carreto *et al.*, 1995; Guerrero & Piola, 1997). Esto hace que esta estación sea altamente dinámica hidrográficamente. Resultados previos muestran que las células < 5 μm contribuyen hasta el 50% del total de la concentración de clorofila *a* durante el verano (2000-2001) en la estación EPEA (Lutz *et al.*, 2006). Existen pocos estudios de la estructura de la comunidad fitoplanctónica en

el Mar Argentino, especialmente de la fracción de tamaño < 5 μm. Hasta el momento, la única información disponible es acerca de fitoplancton grande, principalmente dinoflagelados y diatomeas en relación con mareas rojas (Carreto *et al.*, 1986; Negri *et al.*, 1992). El presente estudio fue llevado a cabo para entender la sucesión del ultrafitoplancton y su significancia ecológica en las aguas costeras de la estación EPEA durante un ciclo de verano. Especialmente los objetivos fueron evaluar: i) la contribución del ultrafitoplancton a la biomasa total del fitoplancton, ii) la contribución del ultrafitoplancton al espectro de absorción total del fitoplancton, iii) la variación temporal de los grupos dominantes del ultrafitoplancton (en lo posible hasta el nivel de especie) en relación a los factores ambientales.

Métodos

La estación costera de serie-de-tiempo EPEA está localizada frente a Mar del Plata a 38º 28' S – 57º 41' W en el Mar Argentino (Figura 1.2). Las campañas se llevaron a cabo mensualmente a bordo del BIP "Capitán Cánepa", a partir de diciembre 2001 a marzo 2002 (12 de diciembre 2001, 30 de enero 2002, 26 de febrero 2002, 13 de marzo 2002). Los perfiles de temperatura y salinidad fueron determinados por medio de un CTD Seabird SBE1901. La luz subacuática [radiación fotosintéticamente activa (su sigla en inglés PAR)] y los perfiles de fluorescencia natural fueron obtenidos con un radiómetro PUV-500/510B Biospherical.

Las muestras de agua fueron tomadas usando un balde en superficie, y botellas Niskin a diferentes profundidades. Tres a cinco profundidades fueron elegidas de acuerdo al porcentaje de luz con respecto al PAR superficial (50, 20, 10 y 1%) y la forma del perfil de fluorescencia (si hubo un máximo profundo). La Tabla 1.2 muestra las variables muestreadas a cada una de las diferentes profundidades.

La clorofila *a* (Cla) fue medida a partir de extractos en acetona 90% del material colectado sobre filtros de fibra de vidrio (tamaño similar a GF/F) utilizando el método fluorométrico de Holm-Hansen et al. (Holm-Hansen *et al.*, 1965). Otro juego de muestras fueron pre-filtradas por membranas de nylon de 5 μm de poro, y el filtrado fue filtrado nuevamente sobre filtros GF/F para analizar la concentración de Cla en la fracción < 5 μm (datos proporcionados gentilmente por Daniel Cucchi-Colleoni, INIDEP).

La concentración de nitratos fue determinada utilizando la técnica estándar con un auto-analizador Technicon TA AutoAnalyzer (Grasshoff, 1976) (datos proporcionados gentilmente por Mario Carignan, INIDEP).

Absorción del material particulado

Las muestras de agua de mar, total y la fracción < 5 μm, fueron filtradas a bordo sobre filtros de fibra de vidrio (GF/F), bajo luz tenue y a baja presión (< 35 kPa). Los filtros fueron mantenidos en nitrógeno líquido hasta el arribo al laboratorio, donde fueron almacenados en un ultra-freezer (-85 ºC) hasta el momento de medición. La densidad óptica del material particulado total fue medida entre 350 y 750 nm en un espectrofotómetro Shimadzu UV-2101 de doble haz siguiendo la técnica cuantitativa sobre filtro (Yentsch, 1962; Kishino *et al.*, 1985; Mitchell, 1990). Los filtros fueron lavados con metanol para extraer los pigmentos, enjuagados con agua de mar filtrada y leídos nuevamente en el espectrofotómetro para determinar la densidad óptica del detrito (Kishino *et al.*, 1985). El valor promedio de la densidad óptica, 710-750 nm, fue sustraida del espectro total. Los espectros fueron corregidos por el factor de amplificación de la luz, aplicando una ecuación cuadrática (Mitchell, 1990), usando los coeficientes reportados por Hoepffner y Sathyendranath (Hoepffner & Sathyendranath, 1992). Los coeficientes de absorción en m^{-1} del material particulado total [$a\pi(\lambda)$], del detrito [$a_d(\lambda)$] y del fitoplancton [$a_{ph}(\lambda)=a_p(\lambda)- a_d(\lambda)$] fueron estimados teniendo en cuenta el factor de conversión de logaritmos decimales a naturales, el área de filtrado y el volumen de agua de mar filtrado.

Identificación y cuantificación de los organismos del ultrafitoplancton

Los grupos del ultrafitoplancton fueron caracterizados por una combinación de métodos: microscopía de luz (ML) y de epifluorescencia (ME) para células de tamaño > 2 μm; citometría de flujo (CF) para células de tamaño < 2 μm (Tabla 2.2).

Las muestras de agua (250 ml) fueron preservadas con formaldehído (0,4 % concentración final). Una alícuota (100 ml) fueron enumeradas siguiendo la técnica de Uthermöl a una magnificación de X40 y X100 (Lund *et al.*, 1958). Las células del ultrafitoplancton fueron identificadas al nivel taxonómico más bajo microscópicamente.

Las células heterotróficas fueron clasificadas sólo en dos categorías como flagelados o ciliados.

Para ME, una alícuota de 50 ml de agua fue filtrada por una membrana de policarbonato negra de 0,2 μm usando baja presión. Las muestras fueron luego tratadas siguiendo el método de doble tinción: primero los filtros fueron teñidos con DAPI por 10 min y segundo con proflavina por ~ 1 min (Verity & Sieracki, 1993). Los filtros fueron luego montados sobre un portaobjetos con aceite de inmersión (baja fluorescencia Cargille Type A) y preservados a -20 ºC. La enumeración y caracterización de las células que emiten fluorescencia por Cla o por ficoeritrina (células fototróficas), así como las células que no auto-fluorecen (células heterotróficas), fue llevada a cabo usando un microscopio invertido de fluorescencia Olympus IX 70 provisto con filtros de excitación azul (Olympus U-M514), verde (Olympus U-M524), y ultravioleta (Olympus U-M534). El analizador de imágenes adjunto utilizado estaba compuesto por una cámara de video CCD-RGB (Sony DXC 151ª), una PC con una plaqueta digitalizadora (Matrox Meteor) y un programa de análisis de imágenes Inspector 2.2 (Matrox Electronic Systems).

Para los análisis de citrometría de flujo, una sub-muestra de 1,8 ml fue fijada con paraformaldehído al 1% por 10 min y congelada rápidamente en nitrógeno líquido a bordo. En el laboratorio, las muestras fueron almacenadas en un ultra-freezer. Los grupos del picofitoplancton fueron analizados con un citómetro de flujo FACS-Calibur Becton Dickinson, utilizando un laser de 15 mW de 448 nm (en el PROFC, Universidad de Concepción, Chile).

La biomasa de carbono de *Synechococcus* fue calculada directamente a partir del número de células usando un factor de conversión de 0,21 pg C cel^{-1} (Waterbury *et al.*, 1986). El contenido de carbono de las algas eucariotas fue calculado usando un factor de conversión estándar de 0,22 pg C μm^3 (Booth, 1995), a partir de mediciones de bio-volúmenes. En el caso de las clorofitas cocales, los tamaños celulares se estimaron por citometría de flujo a partir de la luz dispersada en ángulo-recto (FSD por su sigla en inglés) estandarizada con el FSD de partículas de tamaño conocido ("beads" de 1 μm). Para el resto de los ultrafitoeucariotas se realizaron mediciones sobre imágenes obtenidas con microscopio.

Para agrupar las muestras de acuerdo a su composición taxonómica se llevaron a cabo análisis multivariados. La abundancia de células del ultraplancton fue transformada por log (x+1), y fueron asociadas usando coeficientes de similitud Bray-

Curtis. A partir una matriz de similitud, se aplicó un análisis de cluster y un análisis no-métrico de dos-dimensiones 'escala multi-dimensional (MDS)' usando el programa PRIMER v.5 (Clarke & Warwick, 2001).

Resultados

Condiciones ambientales físicas y químicas

La temperatura osciló entre 14 ºC y 20 ºC y la variación temporal mostró un ciclo completo de formación y erosión de la termoclina de verano (Figura 2.2). La salinidad más baja se registró en enero con un valor de 33,5, y luego aumentó hasta 33,7 hacia febrero y marzo (Figura 2.2). La concentración de nitratos tuvo un rango entre 0,2 y 2,0 μM, habiéndose encontrado los valores máximos en aguas superficiales en diciembre y enero (Figura 2.2). La luz PAR fue siempre medida en la superficie y en la columna de agua al mediodía (12:00-14:00 hora local). Considerando el porcentaje de penetración luminosa (Figura 2.2), toda la columna de agua fue eufótica (> 1% del valor de PAR superficial) durante el período estudiado.

Se estimó un índice de estratificación (IE) por campaña utilizando la desviación estándar del perfil de densidad (Figura 2.2). El índice adimensional IE es una forma de cuantificar la estabilidad de la columna de agua (Plisnier *et al.*, 1996). Un bajo valor de IE indica muy poca estratificación y baja estabilidad, y viceversa. En esta serie temporal el IE fue: 0,09 en diciembre, 0,83 en enero, 0,38 en febrero y 0,06 en marzo.

Variaciones temporales en la biomasa del ultrafitoplancton

La concentración de clorofila *a* (Cla) tuvo un rango entre 0,15 y 1,60 mg m^{-3} (Figura 2.2). En diciembre, la concentración de Cla fue ~ 1 mg m^{-3} en la superficie y mostró un agudo incremento (1,60 mg m^{-3}) con la profundidad en la columna de agua. En enero, el valor más bajo de Cla fue de 0,15 mg m^{-3} en superficie y aumentó (~ 0,30 mg m^{-3}) en profundidad. En febrero, la concentración de Cla fue más alta (0,50 mg m^{-3}) en la superficie y disminuyó hasta 0,20 mg m^{-3} con la profundidad. En marzo, la concentración de Cla mostró valores de ~ 0,60 mg m^{-3} en toda la columna de agua.

La biomasa del ultrafitoplancton estimada por la Cla < 5 μm siguió la misma tendencia que la Cla total pero con concentraciones menores, variando entre 0,13 y 0,96

mg m^{-3} (Figura 2.2). El cociente [Cla < 5 μm/Cla total] varió entre 0,26 y 0,87 durante este período (Figura 2.2). En diciembre, el ultrafitoplancton contribuyó en un cociente de ~ 0,54 de la Cla total, uniformemente en la columna de agua. El máximo cociente de 0,87 se observó en la superficie en enero. Durante febrero, el cociente fue 0,53 en la superficie, disminuyó en la profundidad media, e incrementó nuevamente a mayor profundidad. El cociente mínimo de 0,26 en toda la columna de agua se observó en marzo.

Absorción de luz por el ultrafitoplancton

El coeficiente de absorción del fitoplancton total normalizado por la concentración de Cla (es decir, el coeficiente de absorción específico), $a^*_{ph}(\lambda)$, así como aquel exclusivo de la fracción del ultrafitoplancton, $a^*_{up}(\lambda)$, fueron analizados durante el período de estudio (Figura 3.2). Se compararon los coeficientes específicos de absorción del total y del ultrafitoplancton, a diferentes profundidades y a lo largo de los diferentes meses usando un análisis de varianza no-paramétrico Mann-Whitney (Tabla 3). Este test permitió comparar el valor de las medianas (*Me*) espectrales de los coeficientes específicos de absorción, mostrando que la magnitud de la $Me(a^*_{up})$ a todas las profundidades fue significativamente más alta que la $Me(a^*_{ph})$ en diciembre, febrero y marzo; pero fue similar en enero (Figura 3.2 y Tabla 3.2). Los valores de $a^*_{up}(440)$ en la superficie en los diferentes meses mostró marcadas variaciones (Tabla 4.2 y Figura 3.2). En contraste, los valores de $a^*_{up}(440)$ a los niveles de profundidad 2 y 3 para un mes dado, en diciembre, enero y febrero no mostraron grandes diferencias, mientras que en marzo los valores de $a^*_{up}(440)$ a las mayores profundidades fueron menores que los dos de la capa superior (Tabla 4.2).

Algunos rasgos característicos fueron notables en la forma de los espectros de absorción específicos del ultrafitoplancton. Por ejemplo, en diciembre $a^*_{up}(\lambda)$ mostró una inflexión a aproximadamente 470-480 nm (Figura 3.2); este hombro fue más pronunciado en febrero y marzo, y hubo otro hombro distintivo a aproximadamente 650 nm. Estas bandas de absorción son características de la clorofila *b*. El valor del cociente de absorción en la región del azul respecto a la del rojo [$a_{up}(440)/a_{up}(676)$] fue más alto

en aguas superficiales en enero (3,6), seguido por el de diciembre (3,1) y fue similar para febrero y marzo (2,6) (Figura 3.2).

Estructura de la comunidad del ultrafitoplancton

En este estudio la estructura del ultrafitoplancton estuvo representada principalmente por seis grupos algales: Cyanophyceae, Chlorophyta, Cryptophyceae, Prymnesiophyceae, Bacillariophyceae y Chrysophyceae. La biomasa total del ultrafitoplancton (en términos de carbono) varió entre 4 μg C L^{-1} en diciembre a 28 μg C L^{-1} en enero.

Las Cyanophyceae estuvieron representadas sólo por células de *Synechococcus* en este estudio. Estas células pudieron ser identificadas bajo ME y CF (Anexo A) por su forma cocoide de 1 μm de diámetro medio y su contenido de ficoeritrina tipo I como pigmento dominante. Su biomasa varió entre 1 y 27 μg C L^{-1}, encontrándose los valores máximos durante enero en la capa superior y disminuyendo con la profundidad. Durante febrero y marzo, la biomasa fue homogénea en la columna de agua y de aproximadamente 5-7 μg C L^{-1} (Figura 4.2).

Los miembros de las Chlorophyta, responsables del característico domo a 650 nm visto en algunos espectros de absorción, estuvieron representados por *Pyramimonas* y células verdes cocales. Estas últimas fueron identificadas y cuantificadas por ME y CF (Anexo A). Además, estas células fueron aisladas en cultivo a partir de muestras naturales y se determinaron sus características morfologícas al microscopio. Sobre este cultivo se determinó la composición pigmentaria en la que se destacaron la clorofila *b* y la luteína, pigmentos marcadores de las clorofitas (datos obtenidos por HPLC proporcionados gentilmente por Nora Montoya y Jose Carreto, INIDEP). A partir de aquí, estas células se identificaron como clorofita cocal (1,5 – 2,0 μm de diámetro). Su biomasa fue homogénea en la columna de agua, osciló entre 0,1 y 0,2 μg C L^{-1} durante diciembre y enero; y tuvo un máximo de 2 μg C L^{-1} en febrero (Figura 4.2). Las *Pyramimonas* fueron identificadas por LM como células de ~ 5 μm de tamaño con cuatro flagelos. La distribución temporal de estas células mostró una alta biomasa sólo durante marzo alcanzando valores de 1,3 μg C L^{-1} en superficie, con valores más bajos en profundidad (Figura 4.2).

La identificación taxonómica de las Cryptophyceae fue una tarea más dificultosa porque el formaldehído utilizado como fijador altera la forma de las células. Sin embargo, la presencia de ficoeritrina (por ME) permitió su caracterización. Más aún, características morfológicas permitieron (por ML) la identificación de los géneros *Hemiselmis/Plagioselmis*. Estas células fueron dominantes durante diciembre a profundidades intermedias con valores de biomasa de hasta 2,8 μg C L^{-1} (Figura 4).

Las Haptophyta estuvieron representadas por células pertenecientes a las Prymnesiophyceae, y los cocolitofóridos dominantes fueron identificados como *Gephyrocapsa oceánica*. Los segundos cocolitofóridos en importancia fueron del tipo Syracosphaeraceae, los cuales fueron encontrados sólo en enero con una biomasa de 0,3 μg C L^{-1}. *Gephyrocapsa oceánica* estuvo presente a lo largo de todo el período de estudio y su tendencia temporal mostró un incremento en biomasa desde diciembre, con valores de 0,2 μg C L^{-1} a un máximo en marzo de 0,8 μg C L^{-1}. Otras Prymnesiophyceae caracterizadas por su forma esférica, de aproximadamente 3 - 5 μm, y conteniendo dos flagelos iguales y dos plástidos, no pudieron ser taxonómicamente resueltas en forma completa; aunque probablemente pertenezcan a *Imantonia, Dicrateria* o *Chrysochromulina*. Estas otras Prymnesiophyceae mostraron altas biomasas a profundidad durante diciembre (0,1 μg C L^{-1}) y enero (0,2 μg C L^{-1}); mientras que en marzo la tendencia vertical cambió y su biomasa más alta (0,2 μg C L^{-1}) fue observada en la superficie (Figura 4.2).

Las Chrysophyceae fueron identificadas por ML como pertenecientes sólo al género *Ollicola*. Estas células estuvieron presentes sólo durante diciembre y marzo, y mostraron máximos valores de 0,4 μg C L^{-1} en la superficie durante marzo (Figura 4.2).

Las Bacillariophyceae estuvieron representadas por pequeñas diatomeas céntricas, de entre 3 y 5 μm de diámetro, *Chaetoceros* unicelulares y formas pennadas como *Phaeodactylum*. Estas pequeñas diatomeas estuvieron presentes en valores bajos durante casi todo el período, mostrando altas biomasas (1,5 – 3 μg C L^{-1}) durante marzo en toda la caolumna de agua (Figura 4.2).

Componentes heterotróficos

La abundancia de algunos potenciales predadores del ultrafitoplancton fue estimada usando LM. Los grupos principales fueron flagelados y ciliados desnudos en

el rango de tamaño del nanoplancton (Figura 5.2). Los dinoflagelados microplanctónicos contribuyeron poco a los componentes heterotróficos (datos no mostrados). La distribución temporal de los ciliados mostró altas abundancias durante enero (1,2 x 10^4 cel L^{-1}) y febrero (0,4 x 10^4 cel L^{-1}), mientras que los flagelados mostraron una tendencia similar, pero sus densidades variaron entre 13 x 10^4 cel L^{-1} en enero a 6 x 10^4 cel L^{-1} en febrero.

Sucesión del ultrafitoplancton en verano

En la figura 6.2 se muestra la biomasa acumulada para los principales grupos presentes en las cuatro campañas. La contribución más alta fue la de *Synechococcus*, que mostró altos valores a lo largo de todo el período de estudio en la capa superficial (24% - 97%), con un máximo durante enero en toda la columna de agua. La biomasa de clorofita cocal siguió en importancia durante febrero y marzo, contribuyendo alrededor del 20% en la columna de agua. El resto de los grupos taxonómicos mantuvo una contribución constante a la biomasa total del ultrafitoplancton. Sin embargo, las Cryptophyeceae mostraron una mayor contribución en profundidad en diciembre (60%), y las pequeñas diatomeas tuvieron una contribución ligeramente mayor en toda la columna de agua en marzo (20%). Así, las etapas de la sucesión estival observada fueron: Cryptophyceae – *Synechococcus* – Chlorophyta cocal – Bacillariophyceae.

Análisis multivariado

El análisis de cluster realizado sobre una matriz de similitud (de acuerdo a la abundancia de especies) mostró una separación de las muestras en cuatro grupos (Figura 7.2A). Cada uno de esos grupos estuvo compuesto por muestras de una determinada campaña; nótese que las muestras de superficie de diciembre fueron las más distantes.

El análisis MDS mostró una distribución de estos grupos en dos dimensiones (Figura 7.2B). La distribución de las diferentes variables ambientales (temperatura, nitratos y PAR) correspondiente a cada muestra fue graficada súper-impuesta para investigar cual de ellas podría explicar la separación de los grupos (resultados no mostrados). La variable que resultó en una más clara distinción entre los grupos fue la IE, como se muestra en la Figura 7.2B. Concordantemente con la distribución de los grupos en el gráfico del análisis MDS, se dibujó una línea que divide las muestras

correspondientes al período homogéneo, de aquellas correspondientes al período estratificado.

Discusión

Contribución del ultrafitoplancton a la biomasa total del fitoplancton

El presente estudio muestra la dominancia del ultrafitoplancton en la comunidad del fitoplancton en la estación costera EPEA durante el verano. La máxima contribución de esta fracción de tamaño a la biomasa total del fitoplancton encontrada en este estudio (como concentración de Cla) fue más alta (90%) que la previamente reportada (46%) para este sitio (Lutz *et al.*, 2006). Estas altas y variables contribuciones a la biomasa total han sido también observadas principalmente en ecosistemas de océanos oligotróficos y plataformas continentales templadas durante el verano (Weisse, 1993).

Coincidentemente con estudios previos (Guerrero & Piola, 1997), las condiciones hidrográficas mostraron la presencia de aguas mayormente costeras (salinidad alrededor de 33,7). El valor de salinidad ligeramente más bajo encontrado en la superficie en enero (< 33,6) fue probablemente debido a la advección de aguas de Plataforma Media más que a una influencia del Río de la Plata, el cual ocasionalmente produce valores de salinidad conspicuamente más bajos en esta región. Por lo tanto, la estratificación durante este período fue debida al calentamiento estacional. La capa eufótica se extendió a través de toda la columna de agua. Así, durante la máxima estratificación la zona fótica se extendió por debajo de la termoclina, indicando que la luz no fue un factor limitante para el crecimiento del fitoplancton. Los valores de nitratos coincidieron con los bajos valores registrados durante el verano en el ciclo estacional en estas aguas (Carreto et al., 1998). Las características físicas (alta temperatura), ópticas (alta irradiancia), químicas (bajas concentraciones de nitratos) y biológicas (bajas concentraciones de Cla) permitieron definir este hábitat como tipo-oligotrófico durante el verano. La biomasa del ultrafitoplancton alcanzó una contribución máxima en la superficie durante el período de alta estabilidad en enero coincidiendo con las concentraciones más bajas de Cla (Figura 2.2). Con respecto a la abundancia de células, las algas ultraplanctónicas también dominaron la comunidad fotrófica total (datos no mostrados) durante el período de estudio. Esta tendencia es

similar a la observada en otras aguas pelágicas del mundo con valores de alta temperatura, bajos nutrientes, alta luz y baja Cla (Chisholm, 1992; Agawin *et al.*, 2000).

Sucesión del ultrafitoplancton: estrategias de vida en condiciones de verano

La media de la contribución a la biomasa de carbono de los diferentes componentes del ultrafitoplancton en la estación EPEA durante este período de estudio (para los cuatro meses a todas las profundidades) mostró una clara dominancia de *Synechococcus* (68%), seguido por las Chlorophyta (11%), Cryptophyceae (9%), Prymnesiophyceae (6%), Bacillariophyceae (6%) y Chrysophyceae (1%). La biomasa de estos grupos a lo largo del período varió de acuerdo a su habilidad para ajustarse a las condiciones ambientales cambiantes. Como se mostró con el análisis multivariado (Figura 7.2), el grado de mezcla en la columna de agua (estimado a través del IE) fue el principal factor acoplado a las variaciones en la abundancia de especies. Aunque se conoce que cada una de las variables ambientales testeadas (temperatura, disponibilidad de nutrientes y luz) pueden tener un impacto sobre la forma en que las diferentes especies se distribuyen, el conjunto de datos usados en este estudio puede haber sido demasiado pequeño para mostrar relaciones estadísticamente significativas (Tabla 5.2). El grado de estratificación pudo destacarse como conductor de cambios en la composición del fitoplancton, denotando su capacidad para combinar los efectos de distintas variables ambientales. Este es otro ejemplo de los conceptos descriptos por Margalef (Margalef, 1978) explicando que la turbulencia cambia el ambiente físico-químico exponiendo a las células a diferentes condiciones de luz y nutrientes. Por ejemplo, una fuerte mezcla (columna de agua homogénea) hará disponibles nutrientes de profundidad, pero al mismo tiempo moverá a las células verticalmente de baja luz en profundidad a alta luz en la superficie; mientras que un sistema estratificado (una picnoclina fuerte) mantendrá a las células siempre en la capa superior iluminada, pero no renovará el suministro de nutrientes. El balance entre la tasa de mezcla física (cuan rápido cambia el ambiente) y la capacidad de respuesta fisiológica de las células (cuan rápido se pueden ajustar a las nuevas condiciones) será un factor determinante para la presencia de diferentes especies de fitoplancton. Así, el efecto del ciclo de formación y erosión de la picnoclina sobre la sucesión de especies del fitoplancton ha sido estudiado desde hace años (Margalef, 1958; Smayda, 1980). A continuación se discutirá la

sucesión mostrada por los distintos grupos del ultrafitoplancton en la estación EPEA de acuerdo a los cambios ambientales durante el ciclo de verano.

Al comienzo del verano (diciembre), el rasgo más conspicuo fue un pico de criptofitas (*Hemiselmis/Plagioselmis*) que contribuyeron al máximo profundo de Cla (Figuras 2.2 y 4.2, Tabla 5.2). La abundancia de estas criptofitas en esta región fue comparable con aquella de áreas más frías del océano sur, donde ellas también han sido observadas en relación al comienzo de la estabilización de la columna de agua (Mura & Agustí, 1998). Este grupo posee una composición de pigmentos particular combinando aquellos típicos de las Cromofitas (clorofilas *a* y *c*) y ficobilinas (dentro del lumen de los tilacoides); teniendo por lo tanto capacidad colectora, en un amplio espectro de longitudes de onda. En este caso, el cociente carbono/clorofila *a* (C:Cla) fue el más bajo encontrado, con un mínimo valor de 4,8 en el pico profundo, probablemente indicando una aclimatación a baja luz ambiental. Así, estas células de tamaño relativamente grande (~ 5 μm de diámetro) pueden ajustarse a las condiciones variables de luz, características del régimen casi mezclado en diciembre.

En el medio del verano (enero), *Synechococcus* fue el grupo dominante. La biomasa máxima coincidió con la presencia de aguas de Plataforma Media, las cuales mostraron valores de nitratos ligeramente más altos, y temperaturas y IE más altos (Figuras 2.2 y 6.2), reflejando las condiciones ambientales preferidas por este género (Scanlan, 2003). Un aumento en la estabilización de la columna de agua fue mencionado como el principal factor disparador de florecimientos de cianobacterias (Waterbury *et al.*, 1986).

Fueron observados valores similares en los coeficientes específicos de absorción del fitoplancton total y de la fracción < 5 μm, sugiriendo la influencia dominante de *Synechococcus* en las propiedades ópticas de las aguas superficiales durante enero. Altos valores de los coeficientes específicos han sido ya observados para especies de cianobacterias creciendo en cultivos (Morel *et al.*, 1993). La dominancia de cianobacterias puede modificar las propiedades ópticas de las aguas superficiales en condiciones oligotróficas (Morel, 1997). Esto es resultado de la alta concentración del pigmento zeaxantina en *Synechococcus*, combinado con su pequeño tamaño, determinando un reducido efecto de empaquetamiento (Morel, 1997). Los resultados presentados aquí muestran que el coeficiente de absorción específico a 440 nm y el cociente [$a_{up}(440)/a_{up}(676)$] aumentan significativamente con la concentración de *Synechococcus* (Tabla 5.2). Esto es también consistente con la dominancia de

Synechococcus a altas irradiancias, como así también con los altos valores del cociente C:Cla (187,7) observado durante enero en aguas superficiales.

Synechococcus estuvo también presente en forma ubicua a lo largo de todo el período, pero fue predominante en enero y secundariamente en febrero. La predación por células heterotróficas fue también reportada como un factor, regulando la dinámica de *Synechococcus* (Sherr & Sherr, 1994). Aquí, fue encontrada una relación significativa entre la biomasa de *Synechococcus* y la abundancia de ciliados nanoplanctónicos (Tabla 5.2). Esto sugiere que la biomasa de *Synechococcus* puede estar disponible como fuente de alimento en las aguas superficiales en enero y febrero.

La cianobacteria *Prochlorococcus*, es otro componente del picofitoplancton, muy abundante y de amplia distribución en áreas oceánicas (Partensky *et al.*, 1999; Scanlan *et al.*, 2009). Estos organismos son más pequeños que *Synechococcus* y no se pueden detectar por microscopía de epifluorescencia, pero sí por citometría de flujo. Sin embargo, la presencia de *Prochlorococcus* no fue detectada en las muestras de verano de la EPEA, aún cuando dichas muestras se analizaron por ese método. Es posible que su ausencia se deba a la posición de la estación EPEA, que se ubica próxima al límite sur de distribución global de *Prochlorococcus*, *i.e.,* entre 45ºN y 40ºS y preferencialmente en habitats más oceánicos que costeros (Scanlan *et al.*, 2009). En nuestra región, sólo ha sido detectada a latitudes inferiores, en aguas oceánicas de la Corriente de Brasil, a partir de sus pigmentos marcadores (Carreto *et al.*, 2008).

A medida que el verano progresó, las células cocales verdes representaron hasta el 20% del carbono de la comunidad del ultrafitoplancton en febrero (Figuras 4.2 y 6.2). Estudios previos mostraron la importancia de estas células referidas como ‘bolitas verdes’ (Potter et al., 1997), en diferentes áreas pelágicas del mundo. Actualmente, la aplicación de técnicas de biología molecular en combinación con técnicas clásicas han mostrado que estas pequeñas células, identificadas como Chlorophyta de aguas costeras templadas, corresponden taxonómicamente a las Prasinophyceae (Cumino et al., 2005; Not et al., 2007). Poco se conoce aún acerca de los factores (bióticos o abióticos) que influencian su dinámica en sistemas naturales. Aquí se podría especular que la profundización de la termoclina y la disminución de la biomasa de *Synechococcus* favorecieron el incremento de la biomasa de las clorofitas cocales.

La forma de los espectros de absorción y los altos coeficientes específicos de absorción durante febrero y marzo estuvieron relacionados a la presencia de clorofitas cocales y *Pyramimonas* respectivamente (Figuras 3.2 y 4.2). Estos resultados muestran

que los coeficientes de absorción específicos de la fracción < 5 μm a 650 nm, característica de la clorofila *b*, estuvo relacionada a la alta abundancia de estas células verdes (Tabla 5.2).

En marzo, a medida que la picnoclina se fue erosionando, las Bacillariophyceae se volvieron los componentes dominantes. Las diatomeas, que carecen de movilidad y son relativamente grandes en tamaño, son características de ambientes con baja estabilidad que les permite pasar al menos parte del tiempo en la capa superior iluminada. Ellas tienen una composición pigmentaria más adaptada a niveles de luz relativamente bajos, siendo capaces de aumentar la proporción del caroteno fucoxantina, un eficiente colector de luz, y al mismo tiempo poseen un set de xantofilas capaces de una rápida regulación de fotoprotección ante una repentina exposición a alta luz (Demming-Adams, 1990). Usualmente las diatomeas, debido a su gran tamaño y sus carotenoides fotosintéticos, tienen una forma plana del espectro de absorción (Sathyendranath *et al.*, 1987). Interesantemente, aquí se encontró que el coeficiente específico de absorción del ultrafitoplancton en marzo fue el más alto del período. Se debería tener en cuenta, sin embargo, que otras especies (clorofitas cocales y *Pyramimonas*) estuvieron también presentes en las muestras. Existen pocos estudios de pequeñas diatomeas en esta área (Lange *et al.*, 1983; Gayoso, 1999). Los resultados observados muestran que las pequeñas diatomeas estuvieron presentes durante todo el período y que fueron un importante componente del ultrafitoplancton al final del verano.

Otros componentes del ultrafitoplancton en marzo, fueron los representantes de las clases Prasinophyceae y Chrysophyceae. La abundancia de *Pyramimonas* (Prasinophyceae) fue importante a través de la columna de agua. Este género tiene una amplia distribución en el nanoplancton de los océanos del mundo y, hasta mi conocimiento, no había sido registrado en aguas de Argentina. Las únicas Chrysophyceae identificadas fueron células con una lórica mineralizada del género *Ollicola*, y su presencia estuvo restringida a aguas de baja estabilidad en marzo (y valores menores en diciembre). Su ocurrencia en estas aguas costeras mezcladas podría relacionarse a la presencia de detritos minerales necesarios para formar su lórica (Novarino *et al.*, 2002).

Las Prymnesiphyceae fureron componentes ubicuos a lo largo de todo el período. Este grupo es conocido por tener una presencia permanente en muchas áreas del océano mundial (Thomsen, 1986). En este estudio, ellas estuvieron presentes en

abundancias relativamente constantes a lo largo del verano. Los cocolitofóridos fueron mayormente de la especie *G. oceánica*, la cual había sido previamente reportada en el área (Negri *et al.*, 2003), presentando máximos en diciembre y marzo asociados con la baja estabilidad en la columna de agua (Figuras 2.2 y 4.2). Otros miembros de las Prymnesiophyceae se encontraron en forma ubicua y mostraron máximos asociados con condiciones de estratificación durante el verano (Figuras 2.2 y 4.2). Este grupo, probablemente uno de los más exitosos en el océano mundial, tiene representantes de tamaño mediano-pequeño con una composición de pigmentos flexible. La proporción de diferentes formas de xantofilas (19'hexanoyloxyfucoxantina, 19'butanoyloxyfucoxantina y fucoxantina) difiere en las distintas especies y bajo diferentes condiciones lumínicas (Buma *et al.*, 1991; Stolte *et al.*, 2000).

Como se discutió al comienzo de esta sección, el principal forzante que influencia la distribución temporal de los diferentes grupos del ultrafitoplancton, a lo largo del verano en la EPEA, parece ser la evolución de la estabilidad de la columna de agua. El patrón de la sucesión del ultrafitoplancton podría ser típicamente la de regiones templadas, con abundancia de pequeñas algas cocales (aquí representadas por *Synechococcus* y clorofitas cocales) durante el máximo de estabilidad tal como lo registrado por Tamigneaux et al. (Tamigneaux *et al.*, 1995). Desde un punto de vista ecológico, parece haber una base de pequeñas algas eucariotas (principalmente flagelados y diatomeas) que permanecen relativamente invariantes a lo largo del período y que aumentan ligeramente en abundancia a bajos valores de estratificación de la columna de agua (Li, 2002).

Conclusión

El ultrafitoplancton en esta estación costera produce la mayor contribución a la biomasa total del fitoplancton (hasta > 90%, expresada como Cla) durante el verano. Se puede decir que la diversidad y la abundancia del ultrafitoplancton en la estación EPEA responden principalmente al grado de estabilidad física. Ésta no sólo cambia las condiciones en el agua (temperatura, campo de nutrientes y luz), sino también da forma a la sucesión estival de la comunidad del ultrafitoplancton.

Se encontró que el éxito ecológico de los organismos dominantes, *Synechococcus* y clorofitas cocales, hace que ellos sean una importante fuente de carbono a lo largo del verano, en el sistema pelágico de esta estación costera.

Este evento de sucesión corto (involucrando sólo los meses de verano) fue asociado con las características ópticas (magnitud y calidad espectral de la absorción) de los principales grupos del ultrafitoplancton presentes. Esta información podría ser útil en un futuro para inferir, a cierto nivel (ej., grupos funcionales), la composición del fitoplancton usando herramientas bio-ópticas.

Este análisis de la composición del ultrafitoplancton y su sucesión, de acuerdo con variaciones en el ambiente, brinda información valiosa para el desarrollo de modelos ecológicos para este sitio, relevantes para el manejo de áreas costeras.

Tabla 1.2: Campañas realizadas en la estación EPEA durante el período de estudio. Variables medidas: Nitrato (1), Cl *a* (2), Cl *a* < 5µm (3), $a^*_{ph}(\lambda)$ (4), $a^*_{up}(\lambda)$ (5), microscopia de luz (6), microscopia de epifluorescencia (7), citometría de flujo (8).

Nombre de campaña	Fecha	Profundidad	Variables
CC10/01	12/12/01	0	1,2,3,4,5,6,7,8
		2	1,2
		5	1,2,3,6,7,8
		14	1,2
		23	1,2,3,4,5,6,7,8
		33	1,2,3,4,5,7,8
CC01/02	30/01/02	0	1,2,3,4,5,6,7,8
		5	1,2,3,6,7,8
		9	1,2
		20	1,2,3,4,5,6,7,8
		40	1,2,3,4,5,7,8
CC03/02	26/02/02	0	1,2,3,4,5,6,7,8
		2	1,2
		5	1,2,3,4,5,6,7,8
		16	1,2,3,7,8
		38	1,2,3,4,5,6,7,8
CC04/02	13/03/02	0	1,2,3,4,5,6,7,8
		3	1,2
		5	1,2,3,4,5,6,7,8
		14	1,2,3,7,8
		34	1,2,3,4,5,6,7,8

Tabla 2.2: Métodos utilizados para la identificación de los diferentes taxa en este estudio. ML: microscopia de luz; ME: microscopia de epifluorescencia y; CF: citometría de flujo.

	Tamaño celular	**Taxa**	**Método**		
			CF	ME	ML
Ultrafitoplancton	< 2 µm	*Synechococcus*	*	+	-
		Chlorophyta cocal	*	+	-
	2 – 5 µm	Cryptophyceae	+	*	+
		Prymnesiophyceae	-	+	*
		Prasinophyceae	-	+	*
		Bacillariophyceae	-	+	*
		Chrysophyceae	-	-	*
Protozooplancton	2 – 5 µm	Ciliados	-	+	*
		Flagelados heterotróficos	-	+	*

+ utilizado, -no utilizado, * el más adecuado.

Tabla 3.2: Comparación entre la mediana de los coeficientes de absorción de todo el fitoplancton y el ultrafitoplancton a diferentes profundidades, utilizando el test de Mann-Whitney Rank Sum. Diferencias estadísticamente significativas (* P < 0.05, ** P < 0.001).

Campaña	Profundidad	Mediana espectral	
		$Me(a^*_{ph})$	$Me(a^*_{up})$
1	Superficie	0,0044**	0,0060**
	23m	0,0050**	0,0067**
	33m	0,0047*	0,0058*
2	Superficie	0,0303	0,0286
	20m	0,0303	0,0335
	40m	0,0321*	0,0282*
3	Superficie	0,0070**	0,0191**
	5m	0,0087**	0,0394**
	38m	0,0226**	0,0353**
4	Superficie	0,0180**	0,0497**
	5	0,0244**	0,0630**
	34	0,0171**	0,0213**

Tabla 4.2: Valores discretos de los coeficientes específicos $a_{up}^{*}(440)$ a diferentes profundidades durante el estudio.

	Campaña			
Coeficiente especifico $a_{up}^{*}(440)$	**1**	**2**	**3**	**4**
Superficie	0,028	0,143	0,071	0,198
Profundidad-2	0,022	0,128	0,121	0,239
Profundidad-3	0,021	0,087	0,124	0,071

Table 5.2: Análisis de correlación entre las variables seleccionadas. A- Correlación de Pearson. B- Correlación por rangos de Spearman. Coeficiente r, significancia estadística (* P < 0,05, ** P < 0,001). n = 12.

A-Correlación de Pearson

	Synechococcus	**Chlorophyta cocal**	**Cryptophyceae**	**Bacillariophyceae**
Chl *a* total	-0,64*	n.s.	0,62*	n.s.
Chl *a* <5 µm	n.s.	n.s.	0,61*	n.s.
Nitratos	n.s.	-0,67*	n.s.	n.s.
Temperatura	n.s.	n.s.	n.s	n.s.
PAR	n.s.	n.s.	n.s.	n.s
Ciliados	0,89**	n.s.	n.s.	n.s.

B-Correlación de Spearman

	Synechococcus	**Chlorophyta cocal**
$a^*_{ph}(440)$	0,78**	
$a^*_{ph}(440/676)$	0,66*	
$a^*_{up}(650)$		0,57*

Figura 1.2. Mapa mostrando la ubicación de la estación EPEA.

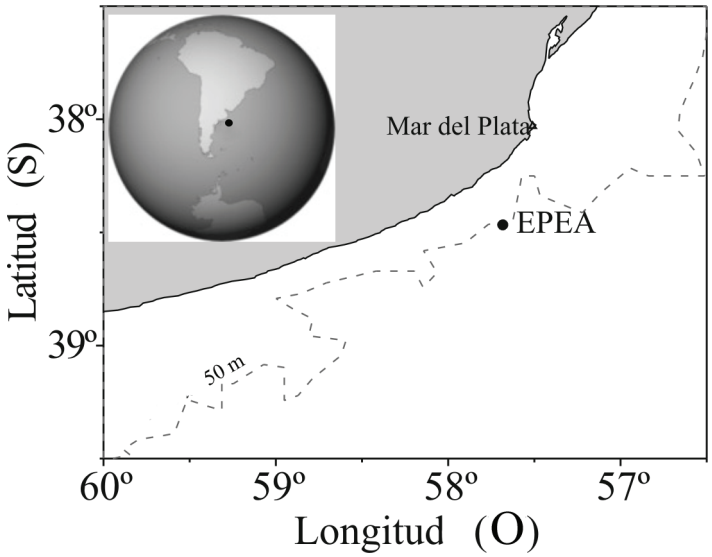


Figura 2.2. Perfiles estivales de: temperatura (ºC); salinidad; concentración de nitratos (μM); porcentaje de penetración de luz; densidad (Kg m^{-3}); concentración de clorofila a total (mg m^{-3}); concentración de Cla < 5 μm (mg m^{-3}); cociente de Cla < 5 μm/Cla total. Los puntos representan las profundidades de muestreo.

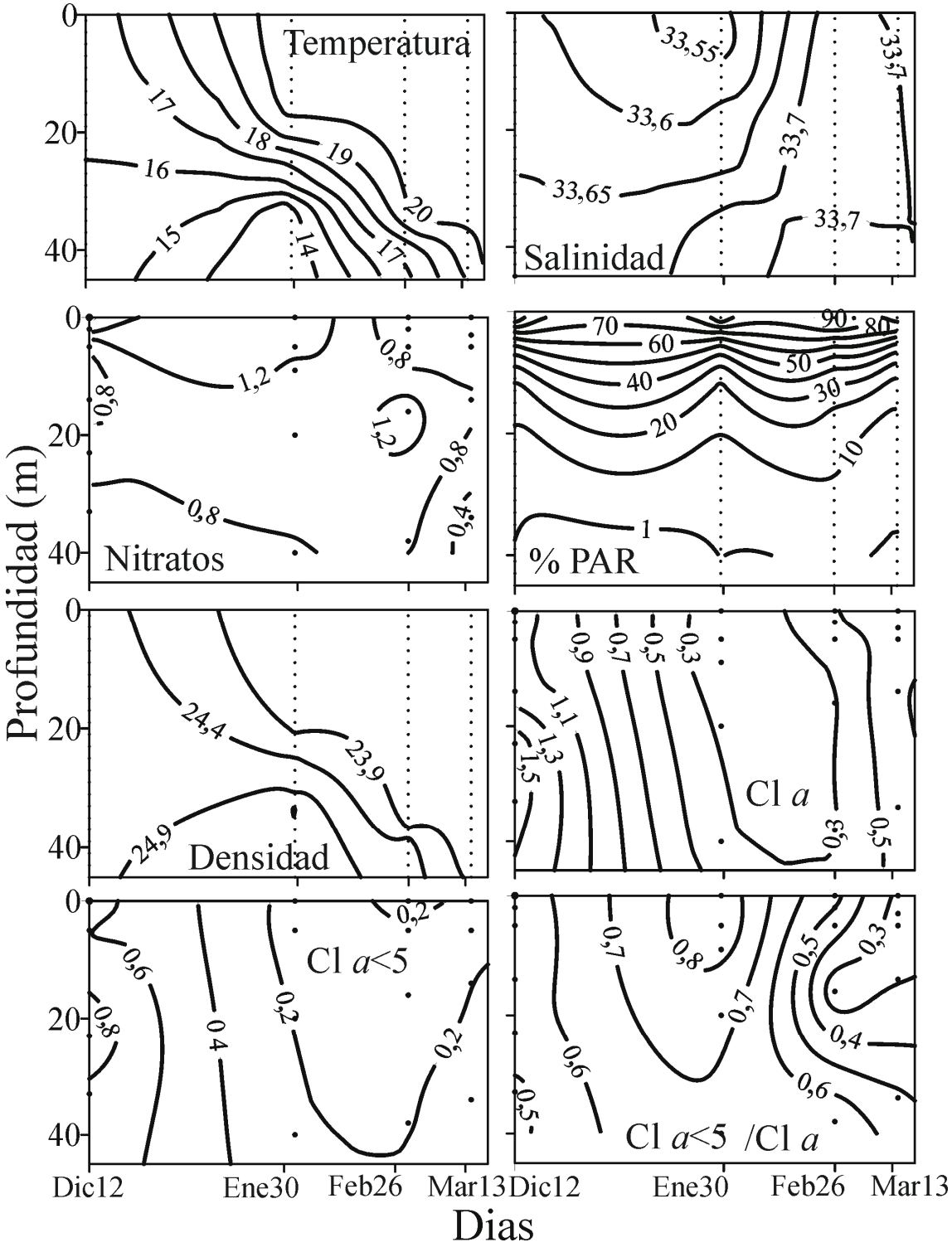


Figura 3.2. Coeficiente específico de absorción del fitoplancton (m^2 mg^{-1} Cla) para los 4 meses, a cada una de las tres profundidades muestreadas. Las líneas sólidas representan fitoplancton total, y las punteadas fitoplancton < 5µm.

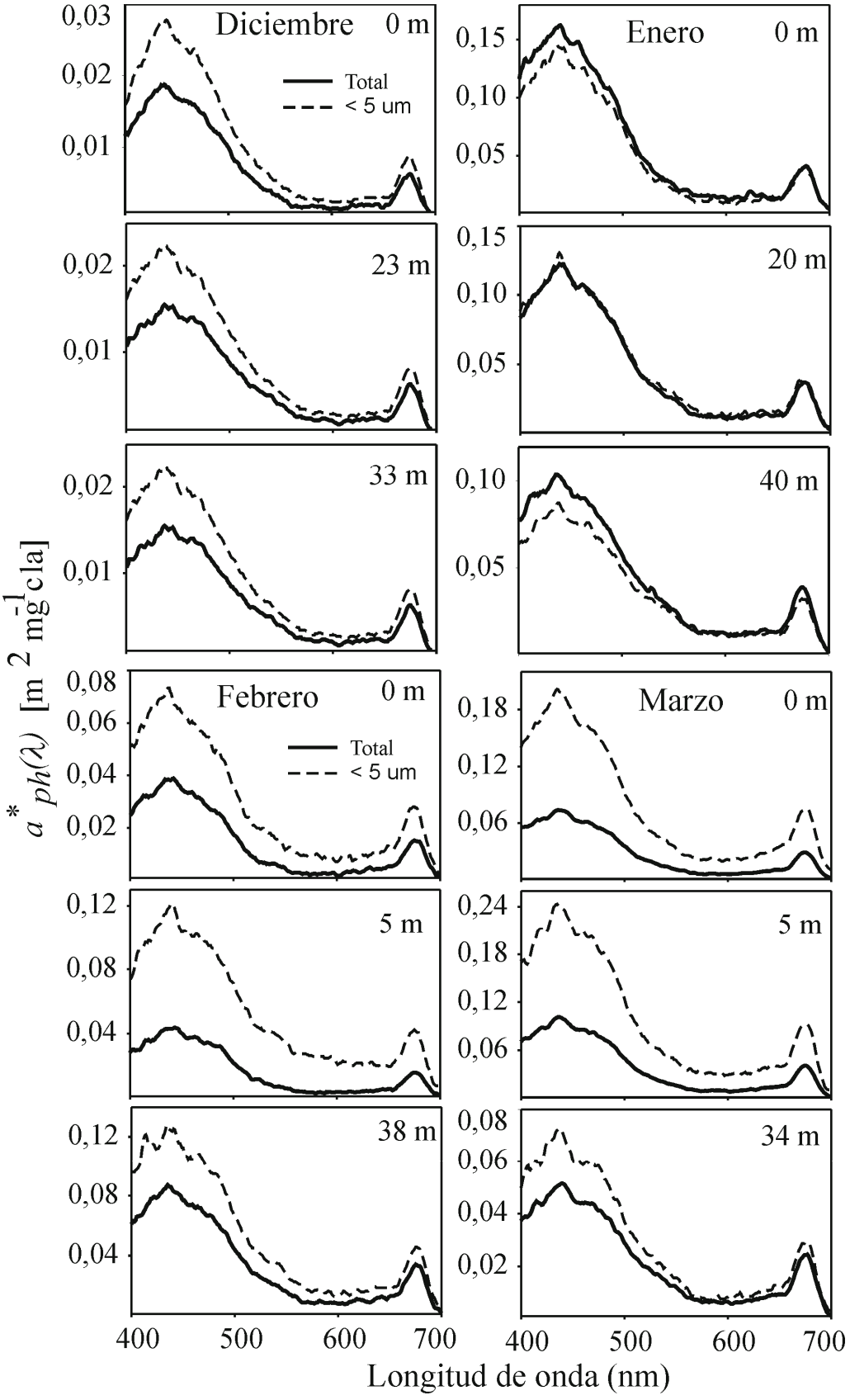


Figura 4.2. Distribución vertical de la biomasa (μg C L^{-1}) de los diferentes grupos del ultrafitoplancton identificados en este estudio.

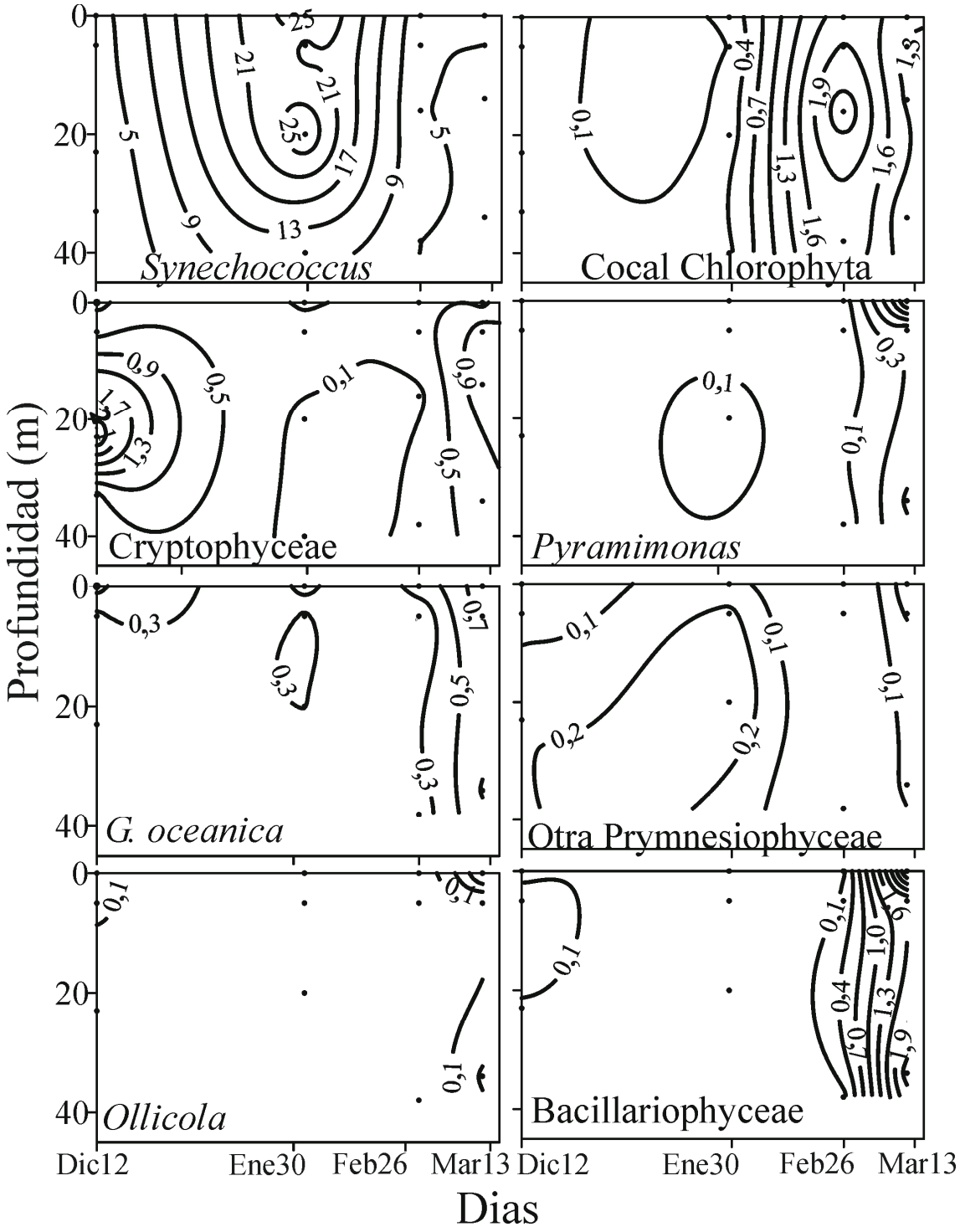


Figura 5.2. Abundancia (células x 10^4 L^{-1}) de flagelados heterotróficos y ciliados.

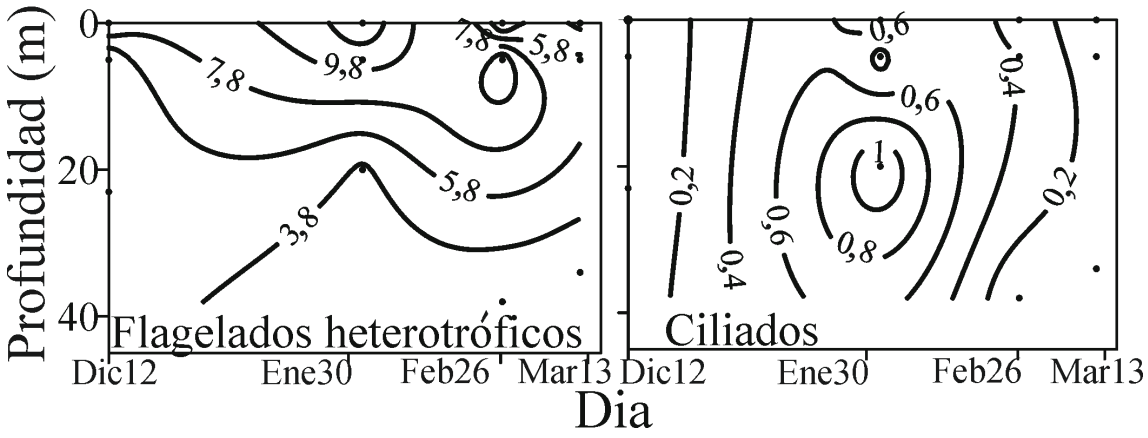


Figura 6.2. Contribución de los distintos taxones individuales a la biomasa total del ultrafitoplancton a diferentes profundidades durante el período de estudio.

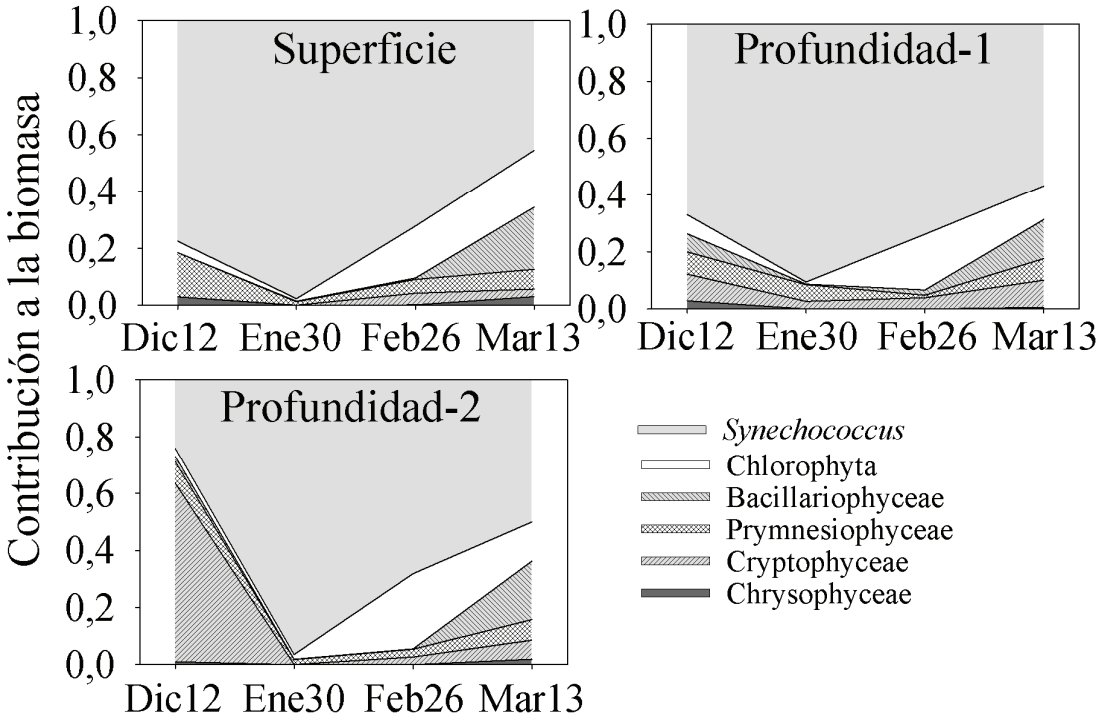
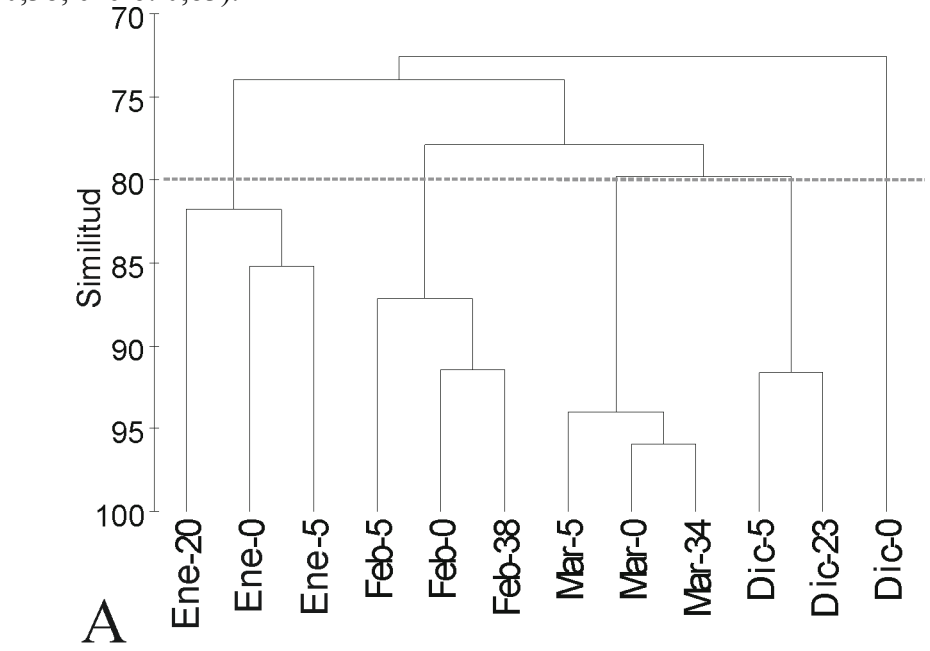
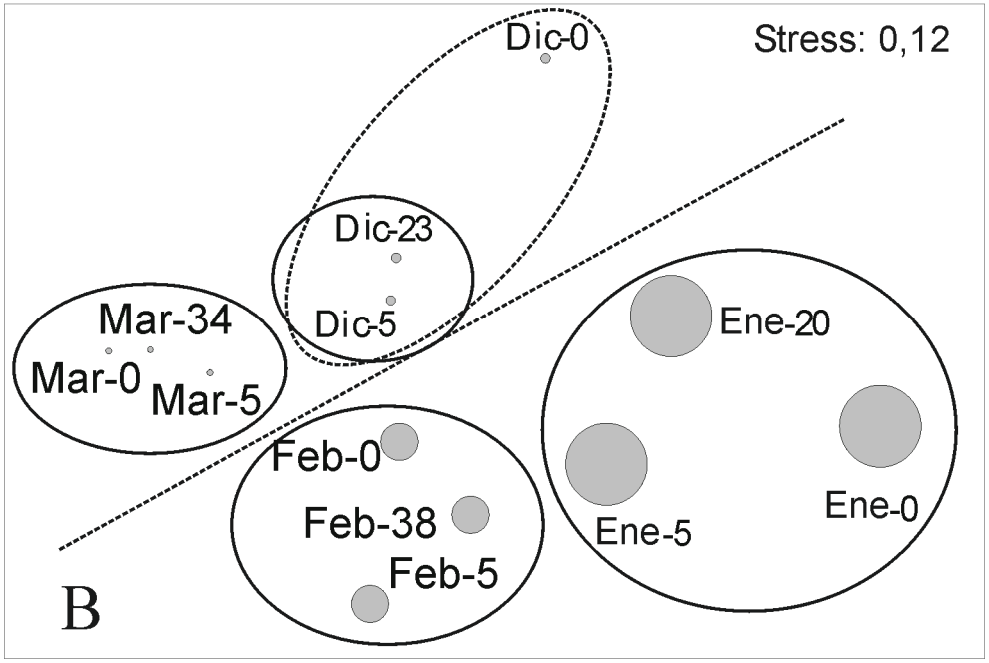


Figura 7.2. (**A**) Diagrama de cluster de la matriz de similitud Bray-Curtis (de acuerdo a la abundancia de las especies) entre las muestras. Una línea umbral al valor de similitud igual a 80 fue dibujada para separar los cuatro grupos. (**B**) Gráfico escalar multi-dimensional de dos dimensiones no-métrico (MDS) construido a partir de la matriz de similitud. Las elipses unen las muestras de cada grupo determinado por el análisis de cluster. Los círculos (de tamaño creciente) súper-impuestos representan los valores de los índices de estratificación para cada muestra (marzo: 0,06; diciembre: 0,09; febrero: 0,38; enero: 0,83).





CAPÍTULO III

Variaciones de la comunidad del ultrafitoplancton: modelado de las relaciones entre las variables bióticas y abióticas durante una serie de tiempo (2000-2009) en la EPEA

Introducción

El fitoplancton ocupa la base de las complejas redes tróficas en los sistemas pelágicos y además cumple un rol importante en los ciclos biogeoquímicos. Las fracciones más pequeñas del fitoplancton son importantes productores y transformadores de materia y energía en condiciones oligotróficas de poca disponibilidad de nutrientes y de gran estabilidad de la columna de agua (Fogg, 1986; Weisse, 1993). Estos pequeños fitoplánctеres son los responsables de producir y mantener altas concentraciones de biomasa disponible para el desarrollo de las cadenas alimentarias microbianas (Sherr & Sherr, 1988).

Los patrones de distribución temporal del fitoplancton en aguas costeras pueden diferir de aquellos que se dan en el océano abierto (Longhurst, 1995). Los ciclos estacionales del fitoplancton en los ecosistemas costeros son muy complejos y están influidos por diversos forzantes ambientales, antropogénicos y climatológicos (Smayda, 1980; Reynolds, 1997; Cloern & Jassby, 2008). Para poder entender estos procesos es necesario realizar observaciones repetidas en el tiempo de variables físicas, químicas y biológicas (Cullen *et al.*, 2007). Estas series de tiempo permiten determinar cuáles son las tendencias temporales naturales y detectar los cambios originados por perturbaciones hidrográficas, climáticas y antropogénicas (McGowan, 1990; Smetacek & Cloern, 2008).

Estudios sobre el plancton y en particular sobre el fitoplancton en series de tiempo son aún escasos (Smayda, 1998; Li, 2002; Guinder *et al.*, 2010; Widdicombe *et al.*, 2010). Esto se debe al enorme esfuerzo que significa mantener observaciones de distintas variables con periodicidad durante un largo tiempo, más aún cuando las observaciones involucran la identificación taxonómica. Igualmente complejo es el procesamiento e interpretación de los datos correspondientes a las distintas variables en las diferentes escalas temporales. Sin embargo, este tipo de estudios multidisciplinarios a largo plazo constituye la única forma de obtener la información requerida para detectar y predecir la evolución de los ecosistemas marinos (Cullen *et al.*, 2007; Borkman *et al.*, 2009; Ducklow *et al.*, 2009; Zingone *et al.*, 2010). Un ejemplo de estudios de serie de tiempo en Argentina es el de la estación EPEA. En esta estación, desde el año 2000, se llevan a cabo estudios sobre los componentes del plancton, desde el bacterioplancton hasta el ictioplancton, en conjunto con variables físicas, químicas y

meteorológicas (Negri & Silva, 2003; Lutz *et al.*, 2006; Silva *et al.*, 2009; Negri *et al.*, 2010).

Los estudios más tradicionales de las relaciones entre el plancton y el ambiente en series de tiempo incluyen mediciones meteorológicas locales. Por otro lado, recientemente se ha incorporado la utilización de índices climáticos de gran escala, por ejemplo, en el Hemisferio Sur, el Índice de Oscilación Antártica (IOA) y el Índice de Oscilación Sur (IOS) (Stenseth *et al.*, 2003; Trathan *et al.*, 2007). Estos índices sintetizan un conjunto o "paquete meteorológico" que representa fenómenos que ocurren en una amplia escala espacial (del orden de cientos de km) y frecuencia temporal (del orden de años). De esta forma, los índices cuantifican el efecto de estos fenómenos y pueden utilizarse así en forma más simple en otros estudios. Algunos autores han relacionado los cambios en la fenología y la distribución geográfica de los organismos del fitoplancton con las variaciones en índices climáticos del Hemisferio Norte (Belgrano *et al.*, 2005; Smayda *et al.*, 2005). Otros estudios han mostrado evidencias de la influencia del clima sobre los cambios en las comunidades de diversos organismos en ecosistemas marinos del Atlántico Norte (Stenseth *et al.*, 2002; Stenseth *et al.*, 2005). Aunque no es sencillo establecer una relación causal entre la variabilidad en la estructura del plancton en un área en particular y el cambio en estos índices climáticos, éstos permiten explorar la posibilidad de interconexiones a mayores escalas temporales y espaciales.

Finalmente, se espera que sobre la base del conocimiento de las variaciones naturales normales en una serie de tiempo, con respecto a las escalas temporales anuales (patrones estacionales) e interanuales (por ejemplo relación con índices climáticos), se puedan detectar perturbaciones producidas por efectos del denominado 'cambio climático' (aumento en la temperatura de la atmósfera debido al incremento de CO_2, causado principalmente por efectos antropogénicos por el uso de combustibles fósiles (I.P.C.C., 1991)). Series de tiempo históricas que se desarrollan en el Hemisferio Norte han provisto evidencias claras de cambios en las comunidades del plancton adjudicadas a cambios climáticos (Reid *et al.*, 1998; Richardson & Schoeman, 2004).

A fin de establecer cuáles son las relaciones naturales entre las comunidades del plancton y las variables ambientales en la serie de tiempo EPEA, se comenzó por un análisis descriptivo clásico. Luego, a fin de abordar en forma más sistemática las complejas relaciones existentes entre la distribución de los organismos del plancton y las variables abióticas y bióticas, se utilizó un modelo aditivo generalizado (conocido

como GAM por su sigla en inglés). Esta herramienta de gran flexibilidad estadística se está comenzando a utilizar en estudios del plancton a diferentes escalas temporales y espaciales (Belgrano *et al.*, 2004; Irwin & Finkel, 2008; Zarauz *et al.*, 2008; Boyce *et al.*, 2010). Este tipo de modelo permite un primer acercamiento al conocimiento de las complejas relaciones entre las variables y es un generador de hipótesis de trabajo.

Utilizando datos de una serie de 10 años en la estación EPEA, los principales objetivos investigados en este trabajo fueron a) analizar si se distinguieron patrones estacionales en la distribución de los grupos del ultrafitoplancton; b) determinar si se observaron significativas variaciones inter-anuales; y c) establecer un primer acercamiento, a través de modelos GAM, de las relaciones entre los principales componentes del ultrafitoplancton y sus forzantes.

Métodos

Muestreo y variables analizadas

Las muestras para este estudio se obtuvieron en la estación EPEA desde el año 2000 hasta el año 2009 (Figura 1.3). Se determinaron la temperatura, salinidad y distribución vertical de la luz para caracterizar física y ópticamente la columna de agua. A partir de la medición de estas variables, se estimaron la estabilidad de la columna de agua (IE) y la profundidad de la capa de mezcla (Zm) y de la capa eufótica (Zeu). En este estudio se analizaron muestras de agua a 5 m para determinar la concentración de los nitratos, de la clorofila *a* total (Cla) y de la clorofila *a* fraccionada por 5 µm (Cla <5). La determinación de la abundancia de los componentes del fitoplancton y del protozooplancton se realizó utilizando un microscopio invertido con fluorescencia y con analizador de imágenes a color. Una descripción más detallada de los métodos utilizados para determinar las variables mencionadas anteriormente se presenta en la sección Métodos de los Capítulos I y II.

Índices Climáticos

El Índice de Oscilación Antártica (IOA) para el período de estudio fue obtenido de la página de Internet de la Administración Nacional Oceánica y Atmosférica (National Oceanic and Atmospheric Administration, NOAA)

(www.cpc.ncep.noaa.gov/products/.shtml) y el Índice de la Oscilación Sur (IOS) de la página de Internet de la Oficina de Meteorología del Gobierno de Australia (www.bom.gov.au/climate/current/soihtm1.shtml).

Análisis estadístico

La climatología de una variable dada, o la representación de sus condiciones 'normales', se obtiene estimando su promedio a lo largo de un número sustancial de años (en estudios del clima, se considera un mínimo de 30 años); las anomalías se obtienen estimando el desvío estándar o cualquier otra medida de variabilidad sobre la climatología (Von Storch & Zwiers, 1999). En este estudio, las anomalías se calcularon en escala logarítmica para el período analizado (O'Brien, 2008). Lamentablemente, por problemas logísticos y políticos, la frecuencia de muestreo en el período estudiado no fue homogénea (Figura 1.3B); por lo tanto, esta climatología y sus anomalías deben considerarse como una primera aproximación que podría robustecerse en los próximos años.

Las anomalías mensuales fueron calculadas para todas las variables consideradas. Sin embargo, debido a las limitaciones del número de datos, se presentan aquí sólo aquellas correspondientes a las ambientales y a los grupos principales del ultrafitoplancton. Incluso éstas sólo se utilizaron para visualizar si existieron cambios de tendencia o eventos particulares para los que se pudo determinar una probable causa.

La visualización gráfica y el análisis de los datos se hizo siguiendo el protocolo utilizado para el estudio comparativo de las diferentes series de tiempo del zooplancton marino en el Hemisferio Norte (O'Brien, 2008) y para diferentes estudios macroecológicos sobre el fitoplancton (Li, 2009). El primer paso fue una visualización de toda la serie de datos, logarítmicamente transformados, de la abundancia de los principales grupos del ultrafitoplancton.

Para todas las variables abióticas y bióticas seleccionadas se realizó el siguiente análisis estadístico descriptivo. En los casos en que había más de una medición en el mismo mes de un año, estos fueron promediados por mes. El promedio de cada mes a lo largo de los años fue el promedio mensual de la serie, que fue tomado a priori como una representación de las condiciones 'normales' de todos los datos.

La siguiente etapa consisitió en visualizar simultáneamente las medias mensuales a una escala inter-anual. Luego, se realizó la visualización y computación de

los desvíos mensuales a partir de las condiciones normales. Esta diferencia aritmética entre cualquier media de mes y el promedio mensual de toda la serie de datos fue la anomalía mensual a escala logarítmica.

Las variaciones en las biomasas de los componentes más representativos del ultrafitoplancton (seleccionados en el Capítulo I) fueron modeladas en función de las variables bióticas y abióticas, utilizando el modelo aditivo generalizado (GAM)(Hastie & Tibshirani, 1990; Wood, 2006). Este análisis fue realizado utilizando la rutina "mgcv" de la biblioteca del programa estadístico R (http://cran.r-project.org) (en colaboración con Emiliano Di Marco, INIDEP). Los valores de biomasa fueron primero transformados a log10 (biomasa) y, en los casos de valores nulos, se transformó a log10 (biomasa +1), para ser utilizados en los modelos GAMs.

En una primera etapa, los GAMs se utilizaron teniendo en cuenta una sola variable explicativa. El objetivo fue estudiar la influencia de esta variable individual seleccionada sobre la distribución de la biomasa de cada uno de los grupos del ultrafitoplancton. La comparación entre modelos se realizó utilizando los siguientes criterios: el resultado de la validación generalizada cruzada (GCV, cuanto más baja mejor), el nivel de desvianza explicado (Dev% 0 a 100%, cuanto más alto mejor) y el rango de confianza del suavizado. A partir de estos resultados, se seleccionaron las variables explicativas para modelar la influencia combinada de múltiples variables explicativas sobre las biomasas de *Synechococcus*, tipo *Chrysochromulina* y las criptofitas con los GAMs. Los modelos para cada grupo taxonómico se seleccionaron según el método de eliminación paso a paso de variables según el valor del GCV.

Resultados

Variabilidad intra-anual e inter-anual de las variables físicas, químicas y biológicas (con exclusión del ultrafitoplancton)

El ciclo anual de la estratificación (Figura 2.3E) a lo largo de los años estudiados fue determinado principalmente por la temperatura (Figura 2.3A). Las anomalías mensuales de la temperatura (a 5 m) no mostraron cambios de tendencia, pero se observaron anomalías mensuales positivas durante octubre y noviembre de 2006, y una anomalía negativa en diciembre de 2008 (Figura 2.3B). La salinidad (a 5 m) no mostró un patrón anual definido, pero se observó una tendencia leve hacia valores bajos durante

las estaciones cálidas y altos durante los otoños e inviernos (Figura 2.3C). Las anomalías mensuales de la salinidad mostraron altos valores durante el año 2000, pero se observaron meses particulares, como abril de 2001 y febrero de 2004, con anomalías negativas importantes (Figura 2.3D). El índice de estratificación mostró altos valores durante el período cálido (Figura 2.3E). Las anomalías mensuales de este índice no mostraron una tendencia definida (Figura 2.3F).

La profundidad de la capa eufótica (Zeu) se relacionó con la intensidad de la luz superficial (PAR), siendo más profunda durante los períodos cálidos y más somera durante el invierno (Figuras 3.3A y 3.3C). El cociente entre las profundidades de la capa eufótica y la capa de mezcla (Zeu/Zm) mostró la predominancia de una alta penetración luminosa en los períodos cálidos, cuando la columna de agua se encontraba altamente estratificada (Zm baja) y una baja penetración de la luz cuando la columna de agua se encontraba mezclada hasta una mayor profundidad (Figuras 3.3B y 3.3D). Debe tenerse en cuenta que estas variables están muy influidas por las condiciones meteorológicas en el momento del muestreo (por ejemplo: presencia de nubes). Esta alta dispersión de los datos hace que el cálculo de anomalías no brinde información clara.

La distribución anual de los valores medios de la concentración total de clorofila *a* a 5 m mostró un máximo definido en el invierno (junio, julio y agosto), durante el período de baja estratificación, con altos valores puntuales en los meses de noviembre y diciembre (Figura 4.3A). Las anomalías mensuales mostraron un cambio de tendencia hacia valores positivos a partir del año 2006. En particular, los valores positivos más destacados se observaron durante los meses de junio de 2001, noviembre de 2005 y diciembre de 2008 (Figura 4.3B). Los valores medios de la concentración de la clorofila *a* < 5 μm, no mostraron un patrón anual claro, pero se destacaron los máximos valores durante el mes de noviembre y de diciembre (Figura 4.3C). Las anomalías mensuales mostraron un cambio de tendencia a incrementar a partir del año 2006, destacándose las anomalías positivas de los meses de noviembre de 2005, enero y marzo de 2007 y diciembre de 2008 (Figura 4.3D).

Los principales componentes del fitoplancton de mayor tamaño (a 5 m), que comparten el hábitat y los recursos con los miembros del ultrafitoplancton, fueron los grupos de diatomeas y dinoflagelados del nano-microplancton. Las diatomeas no mostraron un patrón muy claro en su distribución estacional (Figura 5.3A), mientras que los dinoflagelados fotosintéticos mostraron altas medias mensuales durante el período cálido y particularmente en junio (Figura 5.3B).

Con respecto a los componentes heterotróficos (a 5 m), posibles predadores del ultrafitoplancton, en este estudio se los agrupó en ultraprotozooplancton (células <5 µm), formas flageladas (células entre 5 y 20 µm), dinoflagelados y algunos ciliados desnudos (ver nombres y abreviaturas usadas en tabla 2.1 en Capítulo I). El ultraprotozooplancton (Uzo) no mostró un patrón claro en la distribución anual de sus valores medios, pero se pueden observar altos valores durante los meses de marzo y abril (Figura 6.3A). Los flagelados heterótrofos, compuestos por coanoflagelados más flagelados no identificados, no mostraron un claro patrón anual de sus valores medios, pero podemos observar un leve aumento durante los meses cálidos (Figura 6.3B). Los ciliados desnudos mostraron un patrón estacional con altas abundancias a fines del verano e inicios del otoño, aunque también se destaca un alto valor en octubre (Figura 6.3C). Los dinoflagelados heterótrofos mostraron altos valores de sus medias entre los meses de julio y noviembre, destacándose también el mes de marzo (Figura 6.3D).

Variabilidad intra-anual e inter-anual en la abundancia de los componentes del ultrafitoplancton

La abundancia de *Synechococcus* mostró un claro patrón anual: se incrementó a partir de noviembre hasta alcanzar el máximo en el mes de febrero y luego comenzó a disminuir hasta octubre (Figuras 7.3A y 7.3B, Anexo B). Las anomalías mensuales no mostraron cambios importantes de tendencia. Particularmente se observaron una anomalía negativa en septiembre de 2004, y anomalías positivas en abril de 2001 y septiembre de 2002 (Figura 7.3C).

Los picofitoeucariotas no mostraron un claro patrón anual, aunque se observaron mayores valores medios durante el mes de marzo (Figuras 8.3A y 8.3B, Anexo B). Las anomalías mensuales mostraron un leve cambio de tendencia en los últimos años: se observaron anomalías positivas en diciembre de 2008 y todos los meses del 2009 (Figura 8.3C).

Las tipo *Chrysochromulina* mostraron un patrón anual con altos valores medios durante los meses de octubre y noviembre (Figuras 9.3A y 9.3B, Anexo B). A lo largo de la serie estudiada se destacan los máximos valores del año 2005 (Figura 9.3A), coincidiendo con las anomalías mensuales positivas de ese año (Figura 9.3C). Particularmente, también se pueden mencionar las anomalías mensuales positivas de los meses del 2009, y la negativa de diciembre de 2004 (Figura 9.3C).

Las Criptofitas mostraron un claro patrón anual, con los máximos valores medios durante los meses comprendidos entre abril y julio (Figuras 10.3A y 10.3B, Anexo B). Las anomalías mensuales no mostraron ningún cambio de tendencia, pero se pueden mencionar las anomalías mensuales positivas durante los años 2000 y 2008 (Figura 10.3C).

El ultrafitoplancton SP no mostró un patrón anual claro, pero sus valores medios más altos se observaron a comienzos del verano, durante los meses de diciembre y enero (Figuras 11.3A y 11.3B, Anexo B). Las anomalías mensuales no mostraron ninguna tendencia; sin embargo, se observó una fuerte anomalía negativa en diciembre de 2004 (Figura 11.3C).

Índices climáticos

Una de las variables consideradas fue el Índice de Oscilación Sur (IOS), que representa las condiciones de El Niño. Mientras que altos valores de IOS indican condiciones La Niña, bajos valores negativos indican condiciones El Niño. En la serie estudiada se observaron anomalías positivas importantes que representan condiciones la Niña durante los años 2000 y 2008 (Figura 12.3B). Otro índice utilizado fue el de la Oscilación Antártica (OA), que mostró en valor absoluto la anomalía (positiva) más alta durante el año 2008 (Figura 12.3A).

Análisis estadístico

Se realizó un primer análisis con modelos GAM para observar cómo se comportaba la distribución de las biomasas de los distintos grupos taxonómicos del ultrafitoplancton (variables respuesta) en relación a cada una de las variables explicativas seleccionadas para la serie de tiempo. En este análisis preliminar, entre las variables explicativas, además de las bióticas y abióticas medidas en campo, se consideraron las influencias del mes y del año correspondientes a las observaciones (Tabla 1.3). Los criterios para evaluar el grado de relación entre las variables fueron el porcentaje de desvianza, que se asemeja a un "r^2" de un análisis de regresión múltiple, y el rango de confianza del suavizado.

La distribución de la biomasa de *Synechococcus* se relacionó con el mes, la temperatura, la salinidad, los nitratos, el índice de estratificación y la relación Zeu/Zm.

Además, con algunas variables biológicas como los dinoflagelados fotosintéticos, los flagelados heterotróficos y los ciliados desnudos (Tabla 1.3 y Figura 13.3).

Las tipo *Chrysochromulina* se relacionaron con el mes, PAR, la relación Zeu/Zm y el índice de estratificación. Las principales variables biológicas que se vincularon con este grupo fueron el ultraprotozooplancton, los dinoflagelados y los flagelados heterótrofos (Tabla 1.3 y Figura 14.3).

Las Criptofitas se vincularon con el mes, la salinidad, los nitratos, PAR, la relación Zeu/Zm y el índice de estratificación; entre las variables biológicas, sólo se relacionaron con los dinoflagelados fotosintéticos (Tabla 1.3 y Figura 15.3).

La distribución de las picofitoeucariotas fue afectada por las variables año e índice de estratificación y por las variables biológicas ultraprotozooplancton y dinoflagelados heterótrofos (Tabla 1.3 y Figura 16.3).

Las variables que influyeron en la distribución del ultra SP fueron año, la relación Zeu/Zm, los flagelados y dinoflagelados heterótrofos y los ciliados desnudos (Tabla 1.3 y Figura 17.3).

Modelos

A partir del análisis anterior se seleccionaron las variables explicativas para el desarrollo de los modelos. Las variables respuesta seleccionadas fueron la biomasa de *Synechococcus*, tipo *Chrysochromulina* y Criptofitas, porque estos grupos son los principales contribuyentes a la biomasa del ultrafitoplancton (Capítulos I y II). Las variables explicativas de los modelos fueron las que representan las condiciones físicas de la columna de agua: el índice de estratificación, las condiciones de luz (PAR), la relación Zeu/Zm y los nitratos; las variables biológicas fueron dinoflagelados fotosintéticos, ultraprotozooplancton, dinoflagelados, flagelados heterotróficos y ciliados desnudos. Los modelos para cada grupo taxonómico se seleccionaron según el método de eliminación paso a paso de variables según el valor del GCV (Tabla 2.3).

El mejor modelo para explicar el índice de variabilidad de la biomasa de *Synechococcus* involucró una combinación de variables físico-químicas que caracterizan las condiciones ambientales, como el índice de estratificación, la concentración de nitratos, y la relación Zeu/Zm. Además, el modelo incluyó variables biológicas como los dinoflagelados fotosintéticos, que comparten el habitat, y los flagelados heterotróficos, como posibles predadores (Figura 18.3). Este conjunto de

variables influye sobre *Synechococcus*, explicando un 66,6% de desvianza (Tabla 3.3). Estos términos suavizados del modelo poseen diferentes valores de *p*, relacionados con los grados de significatividad. En este modelo los términos suavizados (índice de estratificación, nitratos y Zeu/Zm) muestran valores de *p* confiables, pero los términos dinoflagelados fotosintéticos y flagelados heterotróficos tienen valores de *p* no confiables (Tabla 3.3). En cuanto al diagnóstico del modelo, se observó una distribución homogénea de los valores residuales respecto de los valores esperados (Figura 19.3). La ausencia de un patrón o tendencia en los residuos indicaría que se cumple el supuesto de independencia en las observaciones. También se halló una buena aproximación a la distribución normal de los datos, tal como se ve en el gráfico de cuantiles (conocido como gráfico Q-Q) (Figura 19.3).

El modelo para tipo *Chrysochromulina* involucró como variables ambientales el índice de estratificación y la relación Zeu/Zm; y como variable biológica, el ultraprotozooplancton (Figura 18.3). Estas variables afectaron el índice de variabilidad de la biomasa de este grupo y explicaron un 46,9% de su desvianza. Con respecto al grado de significatividad del valor de *p* para cada término suavizado, el índice de estratificación y Zeu/Zm son confiables, mientras que el ultraprotozooplancton es poco confiable (Tabla 3.3). El diagnóstico de este modelo mostró una distribución heterogénea de los datos, que puede deberse a posibles problemas de datos 'notablemente extremos' (outliers) de la variable respuesta (Figura 19.3).

El mejor modelo explicativo para las criptofitas incluyó las variables ambientales PAR y Zeu/Zm, y la variable biológica ciliados desnudos. Esta combinación de variables explicó el 61 % de su desvianza (Figura 18.3). Los términos suavizados PAR y Zeu/Zm fueron confiables según su valor de *p*, pero el término ciliados desnudos no fue tan confiable (Tabla 3.3). El diagnóstico del modelo mostró una buena homogeneidad y normalidad de los datos (Figura 19.3).

Discusión

En el estudio de 10 años de la serie de tiempo, detectamos los patrones de distribución del ultrafitoplancton y algunos fenómenos irregulares que afectaron estos patrones. Estos eventos irregulares fueron el florecimiento de algas nocivas en el año 2005 y un incremento importante de toda la comunidad del fitoplancton, en especial el máximo de picofitoeucariotas, durante el año 2008.

Los patrones anuales de las condiciones hidrográficas, temperatura y salinidad, se mantuvieron de forma regular a lo largo de los años estudiados (Figura 2.3). La distribución estacional de la salinidad nos permitió identificar un patrón general: aguas costeras de alta salinidad durante el otoño-invierno y aguas costeras de baja salinidad durante la primavera-verano (Figura 2.3C), que coincide con estudios previos en el área (Carreto *et al.*, 1995; Guerrero & Piola, 1997; Lucas *et al.*, 2005). Sin embargo, se detectaron dos mínimos importantes de salinidad en abril de 2001 y febrero de 2004 (Figuras 2.3C y 2.3D). Estos eventos se asociarían a la influencia de aguas diluidas provenientes del área estuarial del Río de La Plata (Piola *et al.*, 2005; Piola *et al.*, 2008). También se destacaron las anomalías mensuales positivas del año 2000. Para explicar esta condición particular, sería necesario un estudio más detallado de las condiciones del clima a distintas escalas temporales. En general, el patrón de la estabilidad de la columna de agua estuvo controlado por la temperatura a lo largo del ciclo anual (Carreto *et al.*, 1995; Guerrero & Piola, 1997). En particular, se observaron anomalías mensuales positivas en el índice de estratificación, relacionadas con las aguas diluidas mencionadas anteriormente, las de abril de 2001 y febrero de 2004. Además, se detectaron dos situaciones particulares con un alto nivel de estabilidad durante noviembre de 2005 y octubre de 2007 (Figuras 2.3E y 2.3F). Estos eventos especiales de alta estabilidad se relacionaron con aguas de mayor temperatura e importantes anomalías positivas, para las que aún no se encontró causa (Figuras 2.3A, 2.3E y 2.3F).

En este trabajo se consideró importante, como un primer acercamiento, estudiar la influencia de los índices del Hemisferio Sur sobre la distribución de los principales grupos del ultrafitoplancton. Sin embargo, no se detectó ninguna relación estadística clara. Por otro lado, se puede observar una coincidencia entre las anomalías positivas de estos índices con el evento particular de 2008 (Figuras 12.3, 4.3D y 8.3). Estas condiciones climáticas a gran escala podrían estar relacionadas con los cambios de intensidad de los vientos (Sanahuja, 2007); como resultado, pudieron haber producido la surgencia del año 2008.

La clorofila *a* mostró un patrón estacional general con valores máximos durante el invierno. Sobre este patrón general se observaron tres eventos particulares durante 2001, 2005 y 2008 (Negri *et al.*, 2006; Negri *et al.*, 2010) (Figuras 4.3A y 4.3C). Esta tendencia se aleja del patrón estacional clásico del florecimiento primaveral de los mares templados (Longhurst, 1995). Estudios en distintos sistemas costeros templados muestran los diferentes patrones que puede presentar el ciclo estacional de la biomasa

del fitoplancton (Cloern & Jassby, 2010; Zingone *et al.*, 2010). Esto se debería a una serie de complejos procesos hidrográficos y metereológicos, así como antropogénicos y climáticos, que se suman en el área costera (Cloern & Jassby, 2008). En la estación EPEA se pudo detectar un cambio en el régimen de las anomalías de la clorofila total con un incremento a partir del año 2007; sobre el régimen se destacaron algunos eventos particulares durante junio de 2001, octubre de 2005 y diciembre de 2008. Este cambio de régimen a lo largo de los años estudiados estuvo principalmente dado por el incremento de la concentración de la clorofila <5 μm (Figuras 4.3A y 4.3C). Por otra parte, el máximo de clorofila en invierno estaría relacionado principalmente con una mayor abundancia de componentes del microfitoplancton. El florecimiento otoño-invernal estuvo compuesto preponderantemente por diatomeas, floraciones eventuales de dinoflagelados fotosintéticos del microplancton y criptofitas del ultraplancton. Estudios previos sobre el microfitoplancton (Akselman, 1998; Negri & Silva, 2003) coinciden con estos resultados, pero se requerirá un análisis aún más detallado de las fracciones mayores del fitoplancton en toda la serie de tiempo para establecer su contribución relativa. Durante este florecimiento otoño-invernal del fitoplancton se identificó por primera vez la presencia y máxima abundancia de las criptofitas, aunque queda por confirmar cuál es su contribución en términos de biomasa de carbono al fitoplancton total.

El ciclo anual de la clorofila *a* <5 μm no mostró ningún patrón claro a lo largo del período estudiado. Sin embargo, esta fracción de la clorofila se vió influida por dos florecimientos particulares de *Prymnesium* sp. (noviembre de 2005) y de una forma cocal picofitoeucariota (diciembre de 2008) (Figuras 4.3C y 4.3D). Al analizar las anomalías mensuales de la clorofila < 5 μm en los diferentes años, se observó que el régimen cambió positivamente a partir del año 2005, lo cual indica que las fracciones más pequeñas están aumentando su contribución al fitoplancton total (Figura 4.3). Un aumento en la abundancia de picofitoeucariotas, en la escala de años, también ha sido observado en la Bahía de Bedford (Canadá) (Li, 2002) y en el Mar Ártico (Li *et al.*, 2009). Esta tendencia al aumento de las formas pequeñas del fitoplancton ha sido relacionada con los posibles efectos del cambio climático global (Moran *et al.*, 2010). Los futuros escenarios muestran una disminución de la productividad de los océanos a causa del aumento de la temperatura y estratificación de la columna de agua, lo cual favorece a los organismos más pequeños del plancton (Daufresne *et al.*, 2009; Huertas *et al.*, 2011). Este cambio en la estructura de tamaños de la comunidad del fitoplancton

tendrá un impacto en el flujo de carbono en los ecosistemas marinos (Edwards & Richardson, 2004; Hays *et al.*, 2005; Behrenfeld *et al.*, 2006).

Entre los principales grupos taxonómicos que contribuyen a la biomasa del ultrafitoplancton en la estación EPEA, se destacó *Synechococcus*, que mostró un patrón estacional regular que se repite año a año, sólo con pequeñas desviaciones inter-anuales de periodicidad y amplitud (Figura 7.3). El único evento anómalo con una posible explicación fue un incremento de la abundancia sobre la media mensual en abril de 2001 asociado a la presencia de aguas de baja salinidad (Figuras 2.3 y 7.3). El mes de septiembre fue el más variable, donde se observaron la anomalía negativa de 2004 y la positiva de 2002, sin que se encontrara una posible explicación de estos eventos. Estudios previos demostraron la importancia de este organismo en términos de biomasa de carbono en la comunidad del ultrafitoplancton durante el verano (Silva *et al.*, 2003; Silva *et al.*, 2009). Sin embargo, la biomasa de *Synechococcus* no se refleja en la misma magnitud en la clorofila < 5 μm. *Synechococcus* posee usualmente una relación muy baja de los pigmentos (clorofila *a*/ zeaxantina) como consecuencia de la aclimatación a la alta intensidad de luz superficial durante el verano (Kana & Glibert, 1988). Además, la eficiencia del método de extracción con acetona 90% utilizado en este trabajo para cuantificar la concentración de clorofila *a* es baja en esta especie (Wright et al., 1997). Por lo tanto, la utilización de la concentración de clorofila como estimación de biomasa en esta fracción de tamaño debe tomarse con precaución.

La regularidad del ciclo estacional de *Synechococcus* facilitó la utilización de modelos estadísticos GAM para evaluar los efectos de las variables abióticas y bióticas en la estructura del ciclo anual. El GAM que fue desarrollado utilizando múltiples co-variables (ver Tabla 2.3) describió un porcentaje significativo (66,6 %) de la variabilidad temporal de la biomasa de *Synechococcus* (Figura 18.3 y Tabla 3.3). Así, la periodicidad en las variaciones de la biomasa de *Synechococcus* puede ser explicada por la estabilidad de la columna de agua, por la concentración de nitratos y el cociente Zeu/Zm y en menor grado por algunas variables biológicas, como la abundancia de dinoflagelados fotosintéticos y flagelados heterotróficos (Figura 18.3). Estos resultados coinciden en que la capa superior estabilizada, bien iluminada y con bajas concentraciones de nitratos es el hábitat preferencial de *Synechococcus* (Weisse, 1993; Agawin *et al.*, 2000; Silva *et al.*, 2009). Dentro de este hábitat, *Synechococcus* comparte los recursos con los dinoflagelados fotosintéticos; además, se relacionaría tróficamente (como posible alimento) con los flagelados heterotróficos, aunque estas relaciones

biológicas son más complejas de explicar (Sherr & Sherr, 1994). El modelo encontró relación únicamente con los flagelados heterotróficos y no con los otros grupos heterótrofos. Esta relación trófica coincide con lo observado en los estudios de pastoreo, en diferentes fracciones de tamaño, que indican que los flagelados heterotróficos del nanoplancton predarían preferencialmente sobre *Synechococcus* y picofitoeucariotas (Christaki *et al.*, 2005; Chen & Liu, 2010). Se desconoce el motivo por el cual no se relacionaron con los dinoflagelados heterotróficos y ciliados desnudos, otros potenciales predadores de esta fracción de tamaño (Simek *et al.*, 1995; Christaki *et al.*, 2009). Esto pone en evidencia la complejidad de las relaciones tróficas en las cadenas alimentarias del plancton (Calbet, 2008; Chen & Liu, 2010). Dado que *Synechococcus* cumple un rol fundamental en aguas superficiales de verano en este sistema costero (Capítulos 1 y 2), será importante confirmar esta relación e identificar otros nexos tróficos en futuros estudios en la serie de tiempo.

El grupo tipo *Chrysochromulina* no mostró un patrón estacional tan definido como *Synechococcus*, pero fue importante durante la primavera. La variabilidad inter-anual mostró anomalías mensuales positivas durante el año 2009, que contribuyeron a la tendencia de incremento de la clorofila *a* (Figuras 4.3 y 9.3). En diciembre de 2004, se observó una anomalía negativa coincidente con la anomalía negativa del ultrafitoplancton SP (Figuras 9.3C y 11.3C). Se destacan dos floraciones, detectadas por primera vez en la costa bonaerense, durante el año 2005: una en octubre, debido al género *Chrysochromulina,* y otra en noviembre, vinculada al género *Prymnesium*. La abundancia de *Prymnesium* se relacionó con un alto valor de anomalía en la concentración de la clorofila (Figuras 4.3 y 9.3), mientras que el florecimiento de *Chrysochromulina* no influyó destacadamente en las anomalias de la clorofila (Figura 9). Otros autores han encontrado que floraciones de *Chrysochromulina polylepis* y *Aureococcus anophagefferens* no estuvieron asociadas a un valor anómalo de la concentración de clorofila (Smayda, 1997). Sólo el evento de noviembre de 2005 se relacionó con una alta estabilidad de la columna de agua, la máxima encontrada para toda la serie estudiada (Figuras 2.3 y 9.3). Es sabido que estas algas (*Chrysochromulina* y *Prymnesium*) producen floraciones nocivas, que afectan de forma negativa a las poblaciones humanas y al ecosistema costero (Zingone & Oksfeldt, 2000; Anderson, 2009). A escala global, algunos autores han demostrado que el aumento de la frecuencia de floraciones nocivas esta influido por la presencia de aguas estabilizadas con nutrientes de origen antropogénico (Hallegraeff, 2010). Estas floraciones detectadas por

primera vez durante estos 10 años nos permiten especular acerca de la leve influencia antropogénica sobre el ecosistema costero. El modelo GAM explicó un 46,9 % de la variabilidad de la biomasa de tipo *Chrysochromulina*, en la que la estabilidad de la columna de agua, la relación Zeu/Zm y la abundancia del ultraprotozooplancton fueron las variables con efectos más importantes en el modelo (Figura 18.3). Se sabe que las *Chrysochromulina* poseen ventajas para su crecimiento en condiciones de alta estratificación, de disponibilidad de luz y de nutrientes (Dahl *et al.*, 2005). La relación con el ultraprotozooplancton fue compleja de interpretar; esto podría deberse a la utilización de los mismos recursos por fagotrofía de ambos organismos (Jones, 1994). El hábitat óptimo de la población de tipo *Chrysochromulina* estuvo caracterizado por condiciones de alta estabilidad e iluminación de la columna de agua, como se observó en el modelo. Sin embargo, se necesitan más estudios para evaluar la importancia relativa del control "desde abajo" (conocido como "bottom up") versus "desde arriba" (conocido como "top down") para este grupo taxonómico.

Las criptofitas mostraron un patrón estacional regular con pocas desviaciones de su periodicidad (Figura 10.3). Confirmando los estudios previos (Capítulo I), estos organismos muestran sus valores más altos durante el otoño-invierno en el sistema costero. A lo largo de los años, este grupo no mostró ninguna tendencia, pero se observaron anomalías mensuales positivas durante el 2000, posiblemente relacionadas con las altas anomalías de salinidad de ese año (Figuras 2.3D y 10.3C). Las anomalías positivas del 2008 contribuyeron a la tendencia de incremento de la clorofila *a* y se relacionaron con el evento de surgencia de aguas frías de diciembre de ese año (Figuras 2.3 y 10.3C) (Negri *et al.*, 2010; Piola *et al.*, 2010). El modelo GAM explicó un 61% de la variabilidad de la biomasa de las criptofitas, siendo las variables responsables Zeu/Zm, PAR y los ciliados desnudos (Figura 18.3). Al parecer, el hábitat preferencial de este grupo son las aguas frías, mezcladas y con bajas intensidades luminosas. La adaptación a bajas intensidades luminosas estaría favorecida por su composición pigmentaria, como fue discutido en el Capítulo II (Cerino & Zingone, 2006). Se sabe que los ciliados desnudos tienen la capacidad de capturar a las criptofitas y retener sus plásticos; esto se denomina cleptoplasticidad, y es una de las tantas complejas relaciones microbianas (Skovgaard, 1998; Stoecker *et al.*, 2009). Se observó que el máximo de abundancia de criptofitas en la serie, durante el otoño del año 2000, se relacionó con la abundancia de ciliados, los que contenían criptofitas en su interior (confirmado por observación microscópica). Se han realizado pocos estudios sobre la

ecología de este grupo, pero habitualmente co-ocurren con florecimientos de otros grupos del fitoplancton y las características ambientales tendientes a los mismos.

El ultrafitoplancton SP no mostró un patrón estacional definido y su variabilidad inter-anual tampoco mostró cambios importantes (Figura 11.3). Se destaca solamente la anomalía positiva de diciembre de 2008, relacionada con el evento de intrusión de aguas de plataforma (Figuras 2.3 y 11.3) (Negri *et al.*, 2010; Piola *et al.*, 2010). Las mayores abundancias del ultrafitoplancton SP se observaron durante los meses de diciembre y enero. Este grupo está compuesto por diversos taxa; para su estudio se ha comenzado un análisis detallado que aplica diversas técnicas microscópicas y de biología molecular. Por lo tanto, en un futuro cercano se espera poder evaluar la distribución de sus componentes en la serie de tiempo.

El grupo de los picofitoeucariotas no mostró un claro patrón estacional, pero su tendencia a lo largo de los años fue incrementar su contribución a la clorofila a partir de los años 2007, 2008 y 2009 (Figuras 4.3C, 4.3D y 8.3). Este grupo no fue analizado combinando variables a través de modelos GAM, por ser muy diverso taxonómicamente y mostrar poca variabilidad estacional. Sin embargo, se pudo observar que las mayores abundancias se encontraban durante los meses de marzo y diciembre, en situaciones de estabilidad intermedia, como se presentan al comienzo y al final de la estabilización de la columna de agua (Tabla 3.3 y Figura 16.3). La abundancia de este grupo estuvo relacionada con la estratificación y con sus posibles predadores, tal como se observó en los estudios previos del ciclo anual (Capitulo I). La estrategia de estos organismos fue responder rápidamente a los inicios del otoño y del verano por sus ventajas en la adquisición de nutrientes y la captación de luz en la columna de agua (Raven *et al.*, 2005; Santarpia, 2005; Mackey *et al.*, 2009). Se destacó un evento máximo de este grupo en diciembre de 2008, relacionado con la surgencia de aguas más frías, ricas en nutrientes, provenientes de la plataforma media (Negri *et al.*, 2010; Piola *et al.*, 2010).

Consideraciones finales

La evolución en el desarrollo de la estabilidad en la columna de agua fue el factor forzante estacional más importante del sistema costero bonaerense. En este marco ambiental, *Synechococcus*, las criptofitas y las tipo *Chrysochromulina* mostraron diferentes grados de regularidad estacional, pero ninguno de estos grupos tuvo grandes variaciones inter-anuales. La dinámica de cada una de estas poblaciones se pudo

explicar a través de los modelos GAM y se obtuvieron resultados significativos, en mayor grado, con las variables ambientales. Las interacciones biológicas fueron de difícil interpretación en cada uno de los modelos obtenidos debido al escaso conocimiento de estas complejas interacciones biológicas entre protistas y fitoplancton. Se espera que la utilización de modelos aditivos generalizados, otros métodos mixtos y modelos relacionados con los GAM, como los modelos Bayesianos, brinden una importante ayuda para la interpretación y comprensión de la dinámica de las poblaciones.

Estos taxa que estuvieron bien caracterizados por la regularidad de su ciclo anual serían individualizados como fuentes de alimento disponible para los consumidores. Estos patrones estacionales regulares probablemente estén acoplados a algún control de pastoreo particular. Resta aún identificar en mayor detalle estos nexos tróficos, para así poder desarrollar un modelo conceptual de las posibles tramas microbianas en el sistema costero.

Un hallazgo importante fue el incremento en la concentración de la clorofila *a* y especialmente de la Cla <5 μm en los últimos años. Este incremento se debería principalmente a los picofitoeucariotas. Este grupo no fue analizado aún en detalle a través de modelos GAM, ya que para poder utilizar estas herramientas estadísticas será necesario primero identificar los componentes dentro de este grupo tan relevante en este sistema costero. En este sentido, se están logrando avances utilizando una combinación de técnicas microscópicas y moleculares.

Los patrones temporales de los principales grupos del ultrafitoplancton pudieron ser detectados en este estudio a largo plazo. La continuidad de este tipo de observaciones de serie-de-tiempo permitirá obtener una visión más completa del modo como funciona el ecosistema costero y detectar posibles disturbios por causas antropogénicas o climatológicas.

Tabla 1.3: Resultado del ajuste de distintas corridas de los modelos GAM para explicar la distribución de biomasas de: *Synechococcus*, tipo *Chrysochromulina*, criptofitas, picofitoeucariotas y ultrafitoplancton SP. Cada modelo esta dado por las funciones de suavizado (s) de las variables explicativas utilizadas (entre paréntesis).
En cada caso se muestra el porcentaje de desvianza (Dev%) y el puntaje de la validación cruzada generalizada (GCV).

Modelo	***Synechococcus***		**tipo *Chrysochromulina***		**Criptofitas**		**Picofitoeucariotas**		**Ultra SP**	
	Dev%	GCV	Dev%	GCV	Dev%	GCV	Dev%	GCV	Dev %	GCV
~s(Mes)	73,8	0,810	7,1	1,784	40,5	0,180	0,1	1,391	1,3	1,539
~s(Año)	0,3	2,635	1,5	1,808	5,4	0,265	9,9	1,268	22	1,338
~s(temp)	58,6	1,116	0,3	1,831	9,9	0,252	0,1	1,392	0,6	1,549
~s(sal)	23,6	2,324	0,2	1,832	18,7	0,253	0,1	1,392	2,9	1,577
~s(No)	45,9	1,492	0,1	1,860	14,6	0,253	1,9	1,398	0,1	1,576
~s(PAR)	6,5	2,470	9,4	1,702	34,6	0,218	1,6	1,369	5,2	1,513
~s(Zeu/Zm)	15,1	2,288	7,6	1,613	48,2	0,160	0,7	1,417	9,1	1,463
~s(IE)	37,6	1,784	15,9	1,631	39,8	01924	19,8	1,259	5,3	1,476
~s(Diat)	4,1	2,586	3,1	1,796	1,5	0,278	0,3	1,387	0,3	1,555
~s(Dinof)	17,6	2,352	0,1	1,836	11,5	0,268	0,5	1,387	0,1	1,558
~s(Uzo)	1,5	2,579	13,8	1,744	2,7	0,274	3,9	1,364	0,1	1,603
~s(Dinoh)	0,3	2,635	10,3	1,647	2,9	0,274	12	1,239	5,5	1,473
~s(Flagh)	17,2	2,401	10,6	1,641	5,1	0,269	0,2	1,388	5,1	1,514
~s(Cildes)	9,1	2,543	2,5	1,816	2,1	0,274	0,1	1,389	6,6	1,486

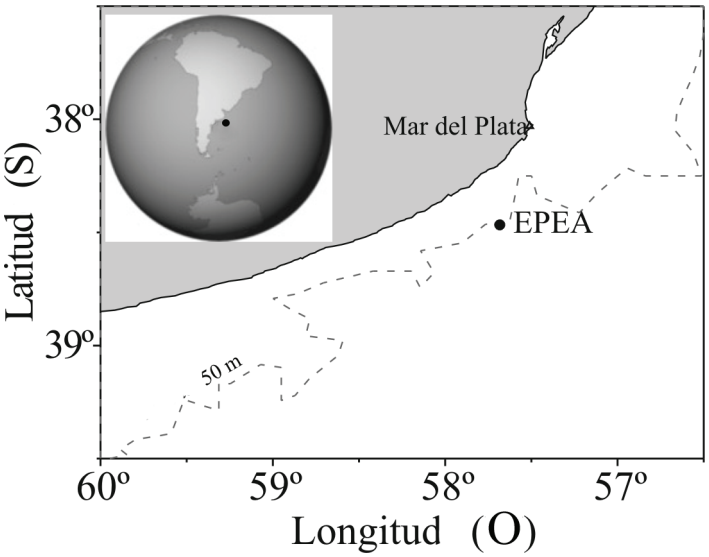
Tabla 2.3: Selección de los modelos GAM que mejor explican las variaciones de las biomasas de: *Synechococcus*, tipo *Chrysochromulina* y criptofitas. Aquellas variables sin un efecto significativo fueron excluidas en cada paso entre dos modelos consecutivos (marcadas en negrita). El modelo seleccionado, incluyendo solo las variables que mostraron el mejor valor para GCV, aparece resaltado en gris.

Synechococcus	GCV
~ s(No) + s(IE) + s(Zeu/Zm) + s(flgh) + s(dinof) + s(Cildes) + **s(PAR)** + s(Uzo)	1,3526
~ s(No) + s(IE) + s(Zeu/Zm) + s(flgh) + s(dinof) + **s(Cildes)** + s(Uzo)	1,3232
~ s(No) + s(IE) + s(Zeu/Zm) + s(flgh) + s(dinof) + **s(Uzo)**	1,2698
~ s(No) + s(IE) + s(Zeu/Zm) + **s(flgh)** + s(dinof)	**1,2398**
~ s(No) + s(IE) + **s(Zeu/Zm)** + s(dinof)	1,2415
~ s(No) + s(IE) + **s(dinof)**	1,2627
~ s(No) + s(IE)	1,2962
"tipo *Chrysochromulina*"	
~ **s(No)** + s(IE) + s(Zeu/Zm) + s(flgh) + s(dinof) + s(Cildes) + s(PAR) + s(Uzo)	1,6603
~ s(IE) + s(Zeu/Zm) + **s(flgh)** + s(dinof) + s(Cildes) + s(PAR) + s(Uzo)	1,5565
~ s(IE) + s(Zeu/Zm) + **s(dinof)** + s(Cildes) + s(PAR) + s(Uzo)	1,507
~ s(IE) + s(Zeu/Zm) + s(Cildes) + **s(PAR)** + s(Uzo)	1,4599
~ s(IE) + s(Zeu/Zm) + **s(Cildes)** + s(Uzo)	1,4662
~ s(IE) + s(Zeu/Zm) + **s(Uzo)**	**1,4462**
~ s(IE) + s(Zeu/Zm)	1,5054
Criptofitas	
~ s(No) + s(IE) + s(Zeu/Zm) + s(flgh) + s(dinof) + s(Cildes) + s(PAR) + **s(Uzo)**	0,17231
~ **s(No)** + s(IE) + s(Zeu/Zm) + s(flgh) + s(dinof) + s(Cildes) + s(PAR)	0,16471
~ s(IE) + s(Zeu/Zm) + s(flgh) + **s(dinof)** + s(Cildes) + s(PAR)	0,15898
~ s(IE) + s(Zeu/Zm) + **s(flgh)** + s(Cildes) + s(PAR)	0,15438
~ **s(IE)** + s(Zeu/Zm) + s(Cildes) + s(PAR)	0,15064
~ s(Zeu/Zm) + **s(Cildes)** + s(PAR)	**0,14828**
~ s(Zeu/Zm) + s(PAR)	0,15212

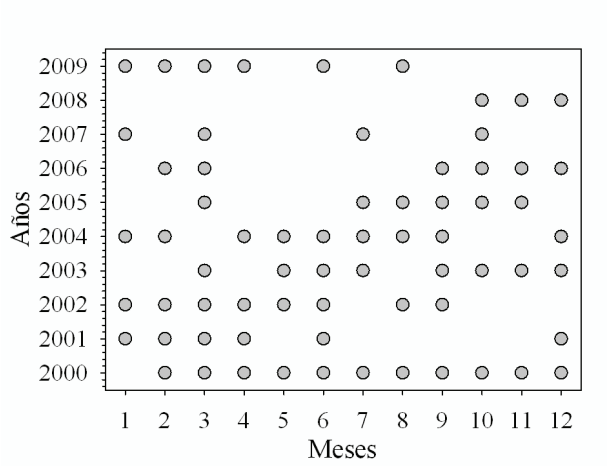
Tabla 3.3: Estructura estadística de los modelos seleccionados para explicar la distribución de las biomasas de *Synechococcus,* tipo *Chrysochromulina* y criptofitas. Significatividad: < 0,001 (***), < 0,01(**), < 0,05 (*), < 0,1 ($^{\#}$). Edf: grados de libertad estimados. Ref.df: Residuales de los grados de libertad estimados. Pr (>|t|): El valor de probabilidad.

Synechococcus				
Coeficientes paramétricos				
	Valor estimado	Error estándar	Relación t	Pr(>|t|)
Intercepción	0,648	0,115	5,625	4,47e-07***
Significatividad aproximada de los términos suavizados				
	edf	Ref.df	F	p-valor
s(No)	1	1	23,409	8,71e-06 ***
s(IE)	5,830	6,548	4,733	0,000337 ***
s(Zeu/Zm)	1,522	1,894	2,077	0,135946
s(flgh)	1	1	0,596	0,442930
s(dinof)	3,144	3,823	2,348	0,066444
R^2 (adj)= 0,601; Desvianza explicada= 66.6%; GCV = 1,2398; escala estimada = 1,0225 ; n = 77				
tipo *Chrysochromulina*				
Coeficientes paramétricos				
	Estimación	Error estándar	Relación t	Pr(>|t|)
Intercepción	0,680	0,123	5,521	7,91e-07 ***
Significatividad aproximada de los términos suavizados				
	edf	Ref.df	F	p-valor
s(IE)	1,663	2,045	4,333	0,0169 *
s(Zeu/Zm)	6,813	7,872	1,716	0,1145
s(Uzo)	6,476	7,496	2,474	0,0243 *
R^2 (adj)= 0,335; Desvianza explicada =46,9%; GCV = 1,4462; escala estimada = 1,1386 ; n = 75				
Criptofitas				
Coeficientes paramétricos				
	Estimación	Error estándar	Relación t	Pr(>|t|)
Intercepción	0,521	0,040	13,010	<2e-16 ***
Significatividad aproximada de los términos suavizados				
	edf	Ref.df	F	p-valor
s(Zeu/Zm)	4,379	5,277	9,929	2,62e-07 ***
s(Cildes)	4,846	5,497	1,954	0,0908 $^{\#}$
s(PAR)	1,732	1,732	4,231	0,0167 *
R^2 (adj)= 0,546; Desvianza explicada= 61%; GCV = 0,1482; escala estimada = 0,1255 ; n = 78				

Figura 1.3. En el panel A, localización de la Estación Permanente de Estudios Ambientales (EPEA). En el panel B, meses muestreados en los diferentes años estudiados.



A



B

Figura 2.3. ***Paneles de la izquierda***, distribución de las principales variables ambientales: A) Temperatura (a 5 m), C) Salinidad (a 5 m), E) Índice de estratificación. Promedios mensuales para cada año (círculos vacíos) y la media mensual de todos los años (círculos grises). ***Paneles de la derecha***, distribución de las anomalías mensuales (escala logarítmica) de las variables seleccionadas (correspondientes a los paneles de la izquierda) para la serie de tiempo 2000-2009.

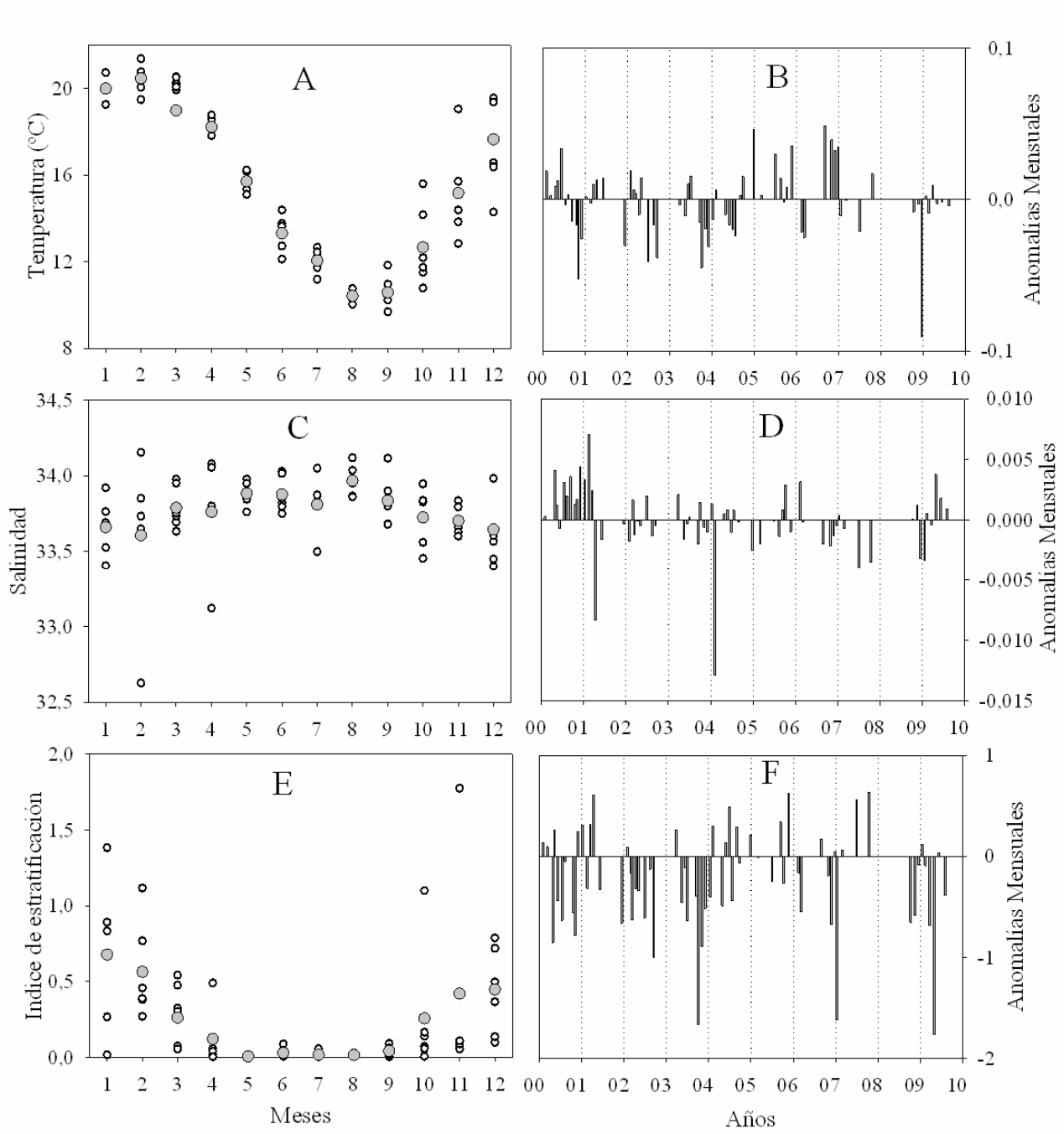


Figura 3.3. Distribución de la: irradiancia en superficie (A); profundidad de la capa de mezcla (B); profundidad de la capa eufótica (C); y relación entre la profundidad de la capa eufótica y la de mezcla (D). Valores mensuales (círculos vacíos) y media mensual de la serie de tiempo 2000-2009 (círculos grises).

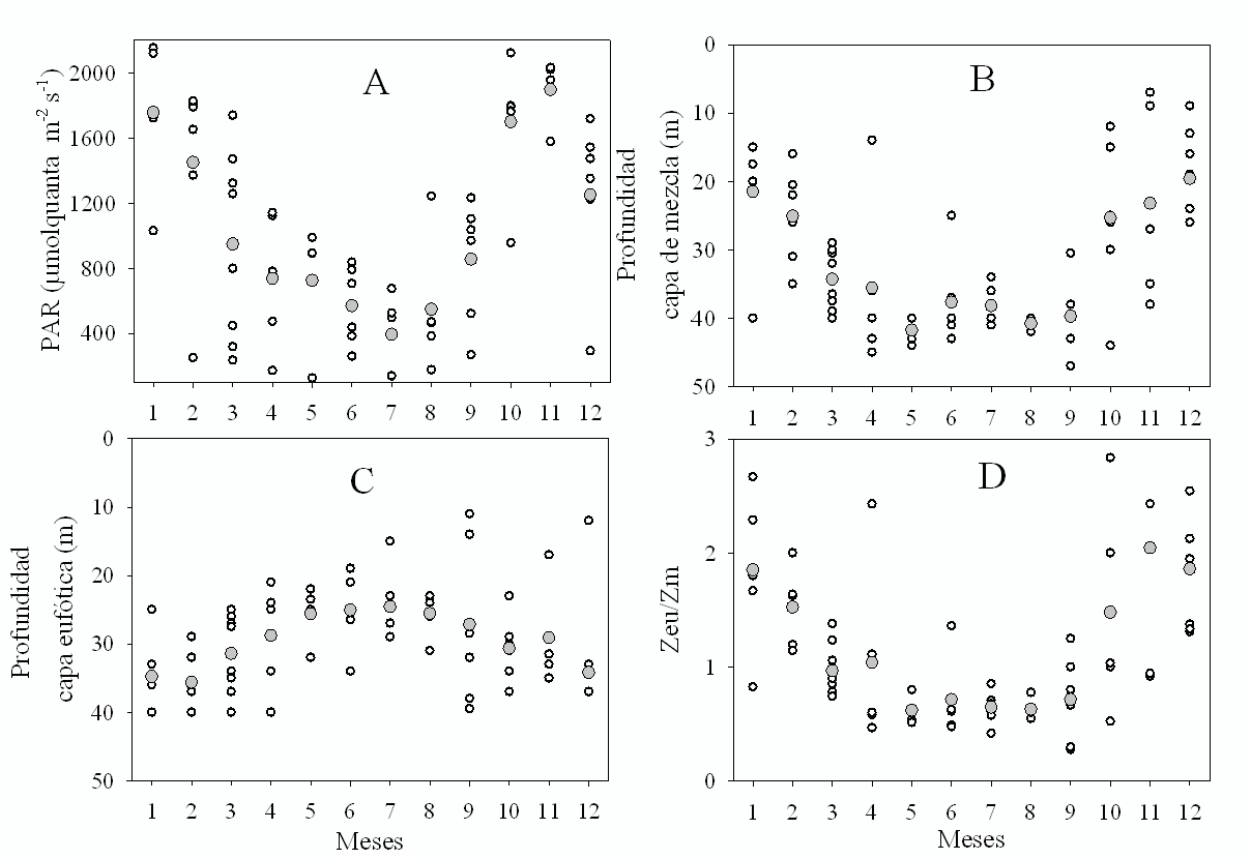


Figura 4.3. Distribución del logaritmo de las concentraciones de Cla (a 5 m) total (A) y Cla < 5 µm (C). Distribución de las anomalías mensuales (escala logarítmica) de estas concentraciones total (B) y < 5 µm (E). Valores mensuales (círculos vacíos), media mensual de la serie de tiempo 2000-2009 (círculos grises).

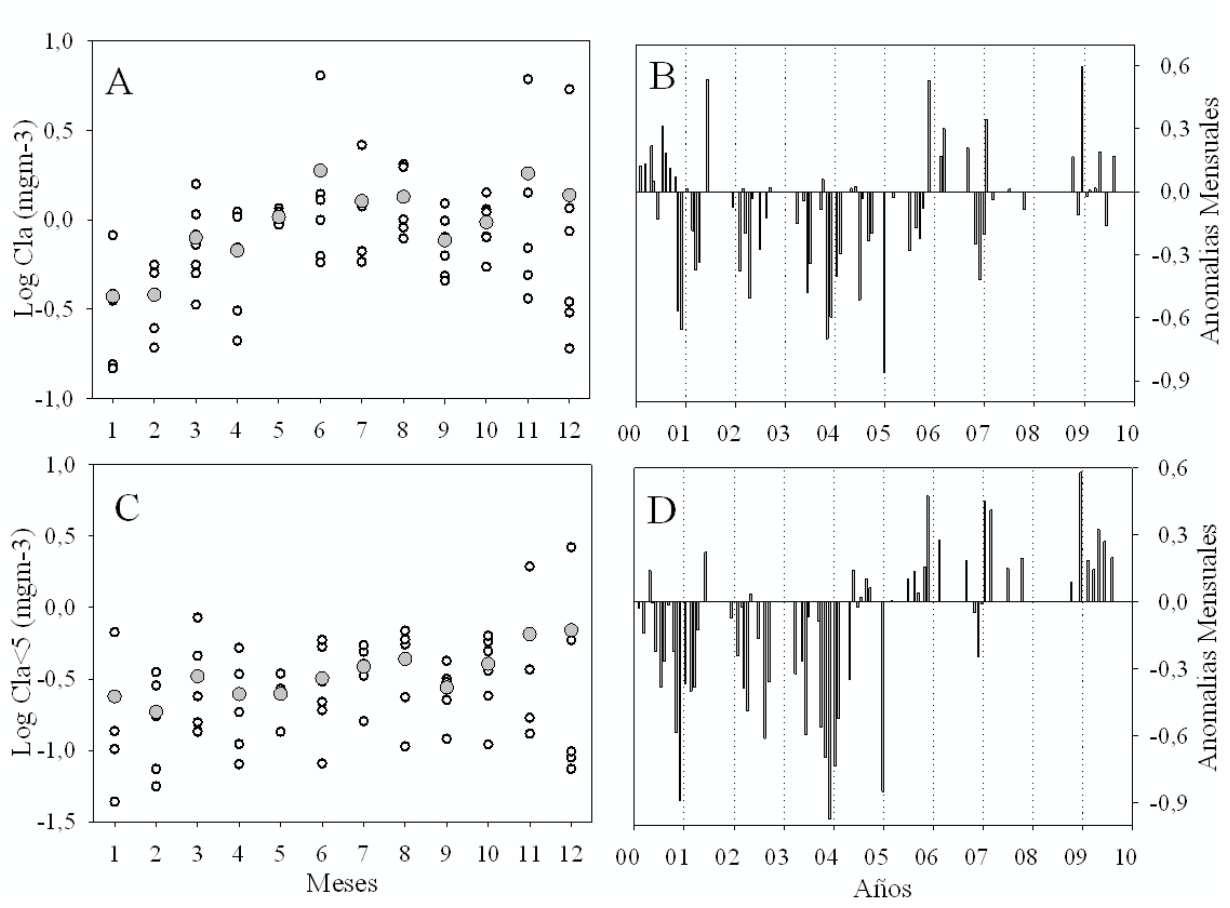


Figura 5.3. Distribución del logaritmo de la abundancia del nano y microfitoplancton (a 5 m); diatomeas (A) y dinoflagelados fotosintéticos (B) en la serie de tiempo 2000-2009. Valores mensuales (círculos vacíos) y media mensual de todos los años (círculos grises).

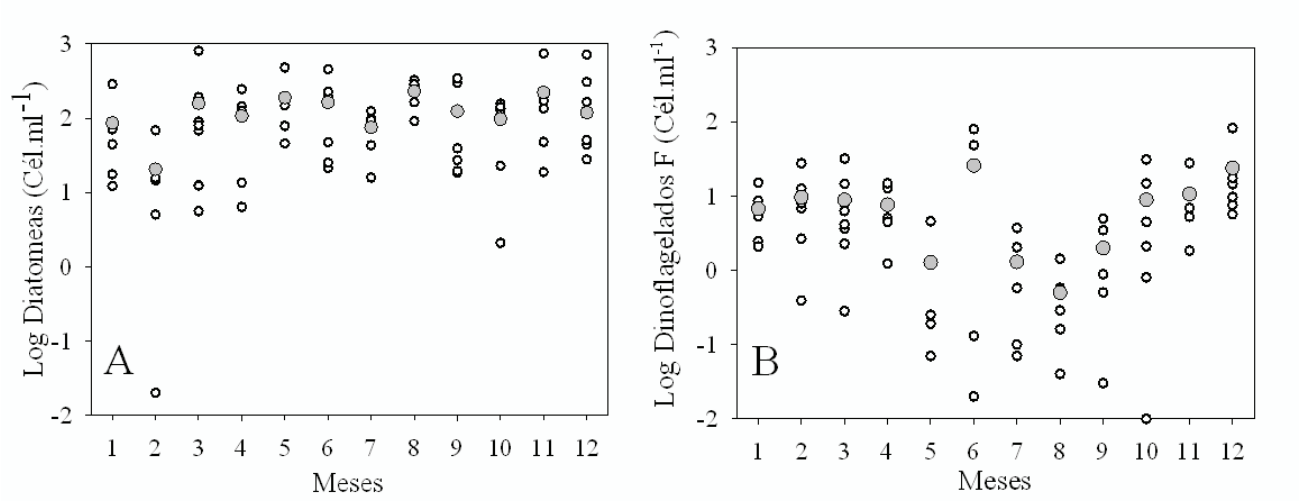


Figura 6.3. Distribución (a 5 m) del logaritmo de la abundancia de ultraprotozooplancton (A), flagelados heterotróficos (B), ciliados desnudos (C) y dinoflagelados heterotróficos (D) en la serie de tiempo 2000-2009. Valores mensuales (círculos vacíos) y media mensual de todos los años (círculos grises).

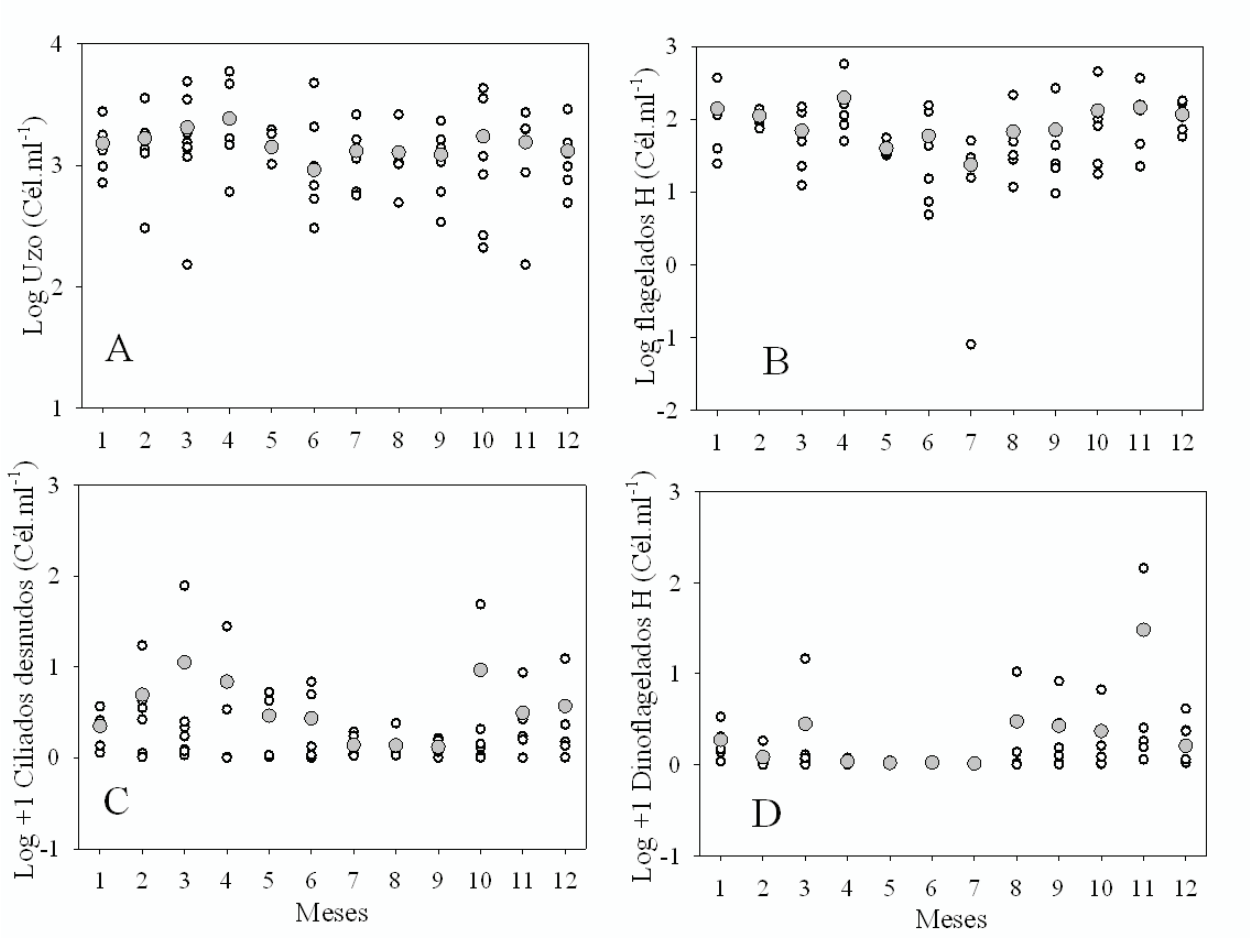


Figura 7.3. (A). Distribución (a 5 m) del logaritmo de la abundancia de *Synechococcus* a lo largo de la serie de tiempo 2000-2009. (B). Distribución de las abundancias mensuales (círculos vacíos) y la media mensual de todos los años (círculos grises). (C). Distribución de las anomalías mensuales (escala logarítmica) de la abundancia de *Synechococcus*.

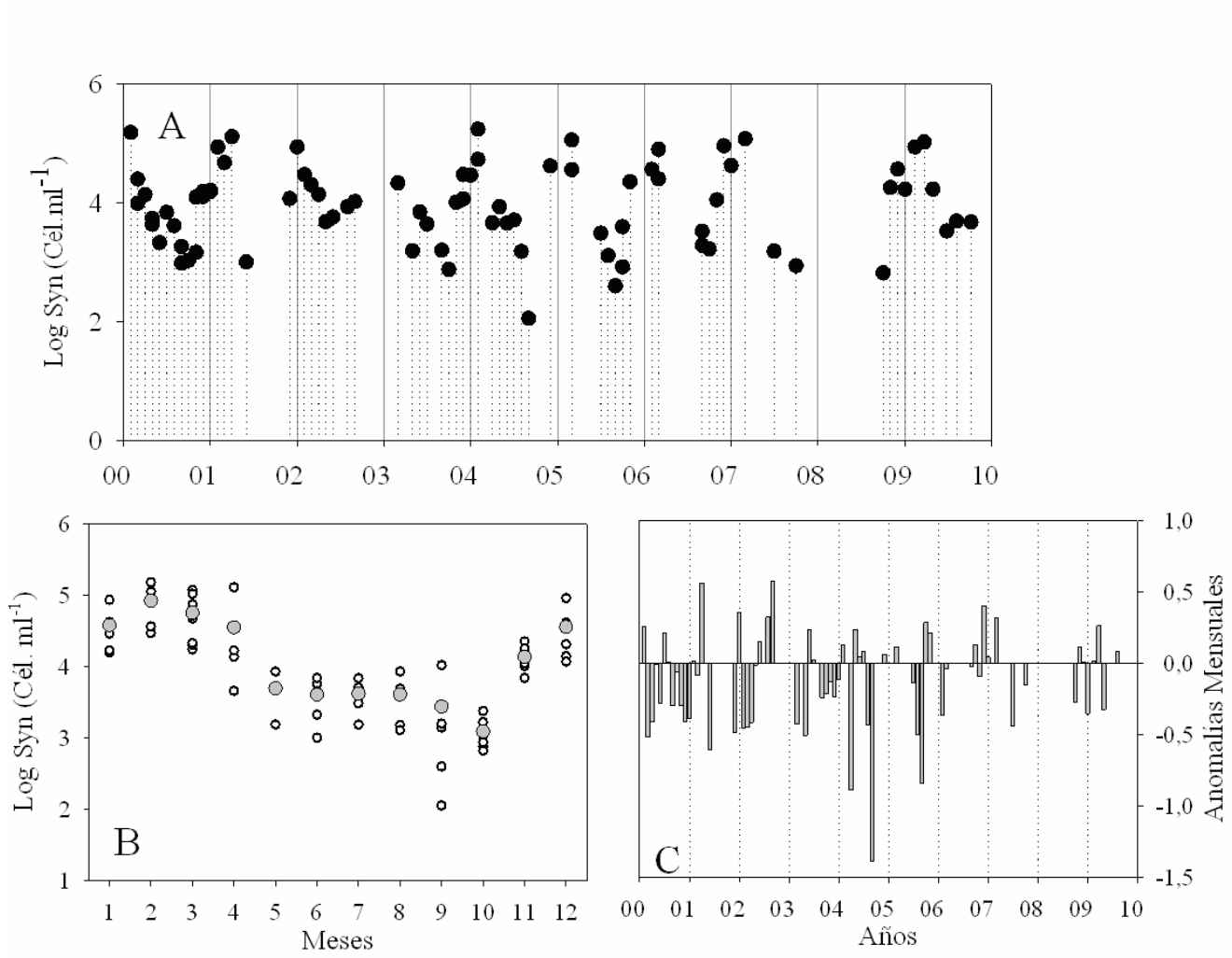


Figura 8.3. (A). Distribución (a 5 m) del logaritmo de la la abundancia de picofitoeucariotas a lo largo de la serie de tiempo 2000-2009. (B). Distribución de las abundancias mensuales (círculos vacíos) y la media mensual de todos los años (círculos grises). (C). Distribución de las anomalías mensuales (escala logarítmica) de la abundancia de Picofitoeucariotas.

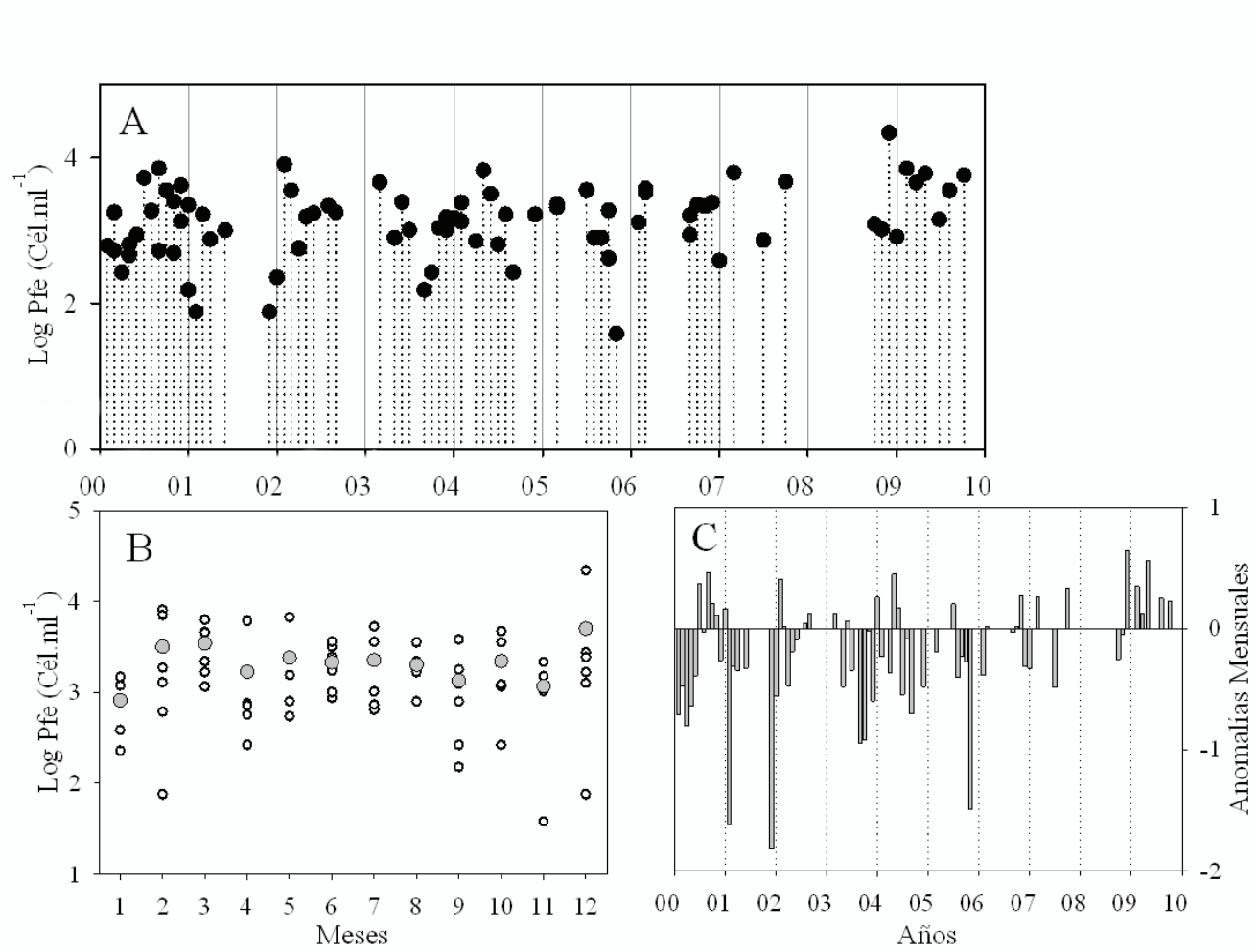


Figura 9.3. (A). Distribución (a 5 m) del logaritmo de la abundancia de las tipo *Chrysochromulina* a lo largo de la serie de tiempo 2000-2009. (B). Distribución de las abundancias mensuales (círculos vacíos) y la media mensual de todos los años (círculos grises). (C). Distribución de las anomalías mensuales (escala logarítmica) de la abundancia de las tipo *Chrysochromulina*.

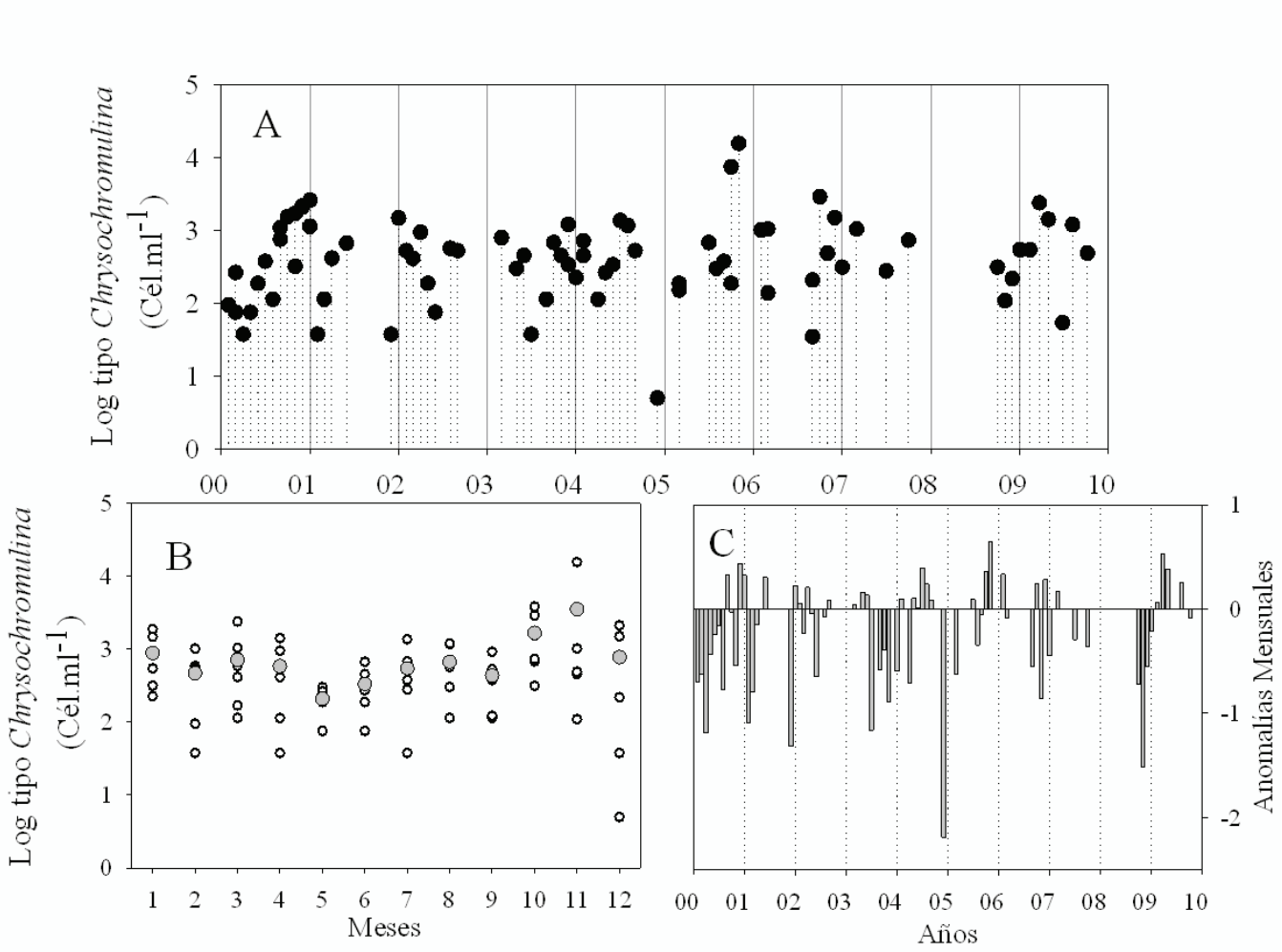


Figura 10.3. (A). Distribución (a 5 m) del logaritmo de la abundancia de criptofitas a lo largo de la serie de tiempo 2000-2009. (B). Distribución de las abundancias mensuales (círculos vacíos) y la media mensual de todos los años (círculos grises). (C). Distribución de las anomalías mensuales (escala logarítmica) de la abundancia de criptofitas.

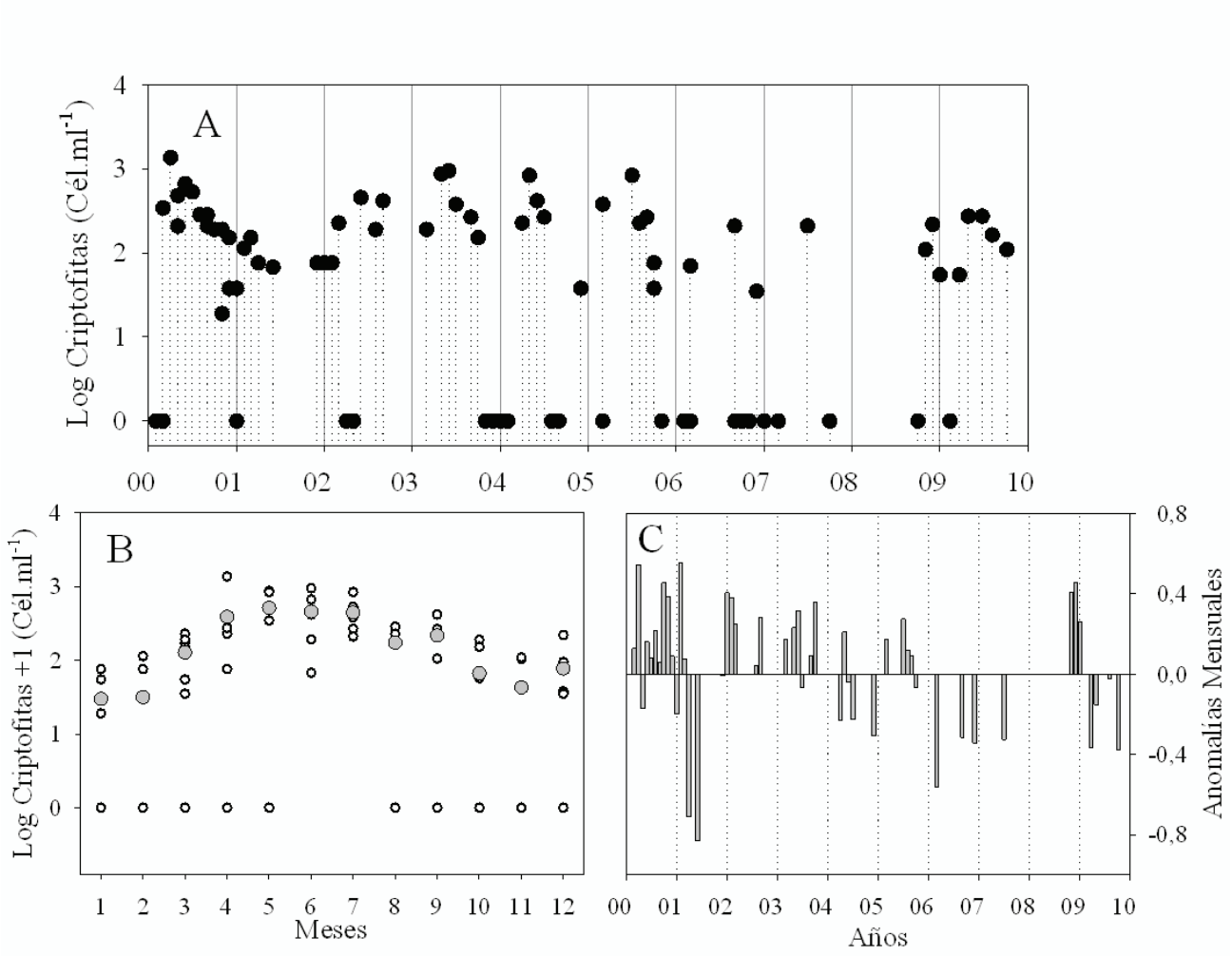


Figura 11.3. (A). Distribución (a 5 m) del logaritmo de la abundancia de los Ultrafitoplancton SP a lo largo de la serie de tiempo 2000-2009. (B). Distribución de las abundancias mensuales (círculos vacíos) y la media mensual de todos los años (círculos grises). (C). Distribución de las anomalías mensuales (escala logarítmica) de la abundancia de los Ultrafitoplancton SP.

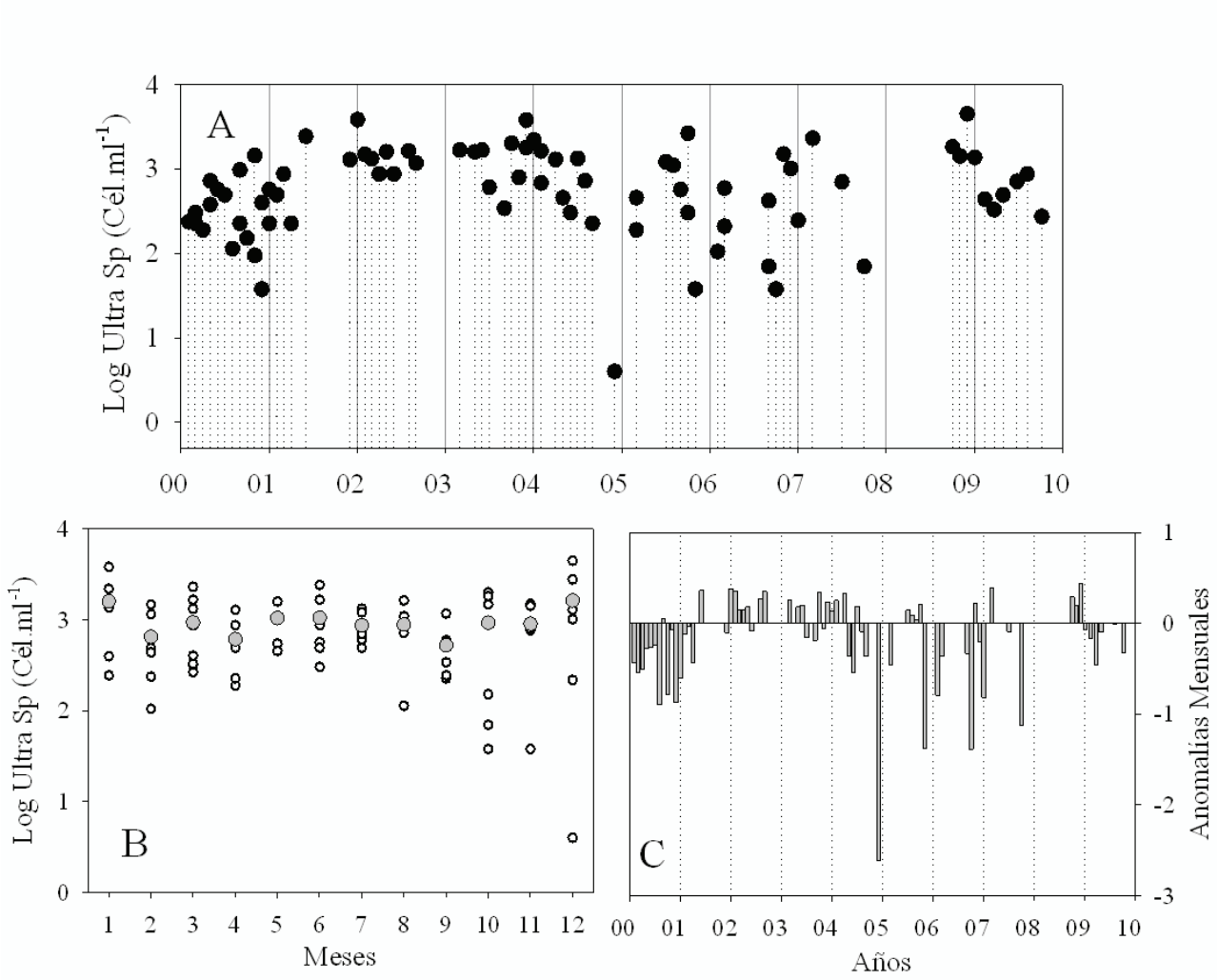


Figura 12.3. Distribución de las anomalías mensuales de los índices climáticos [Índice de Oscilación Antártica e Índice de Oscilación Sur] y sus anomalías anuales (círculos negros).

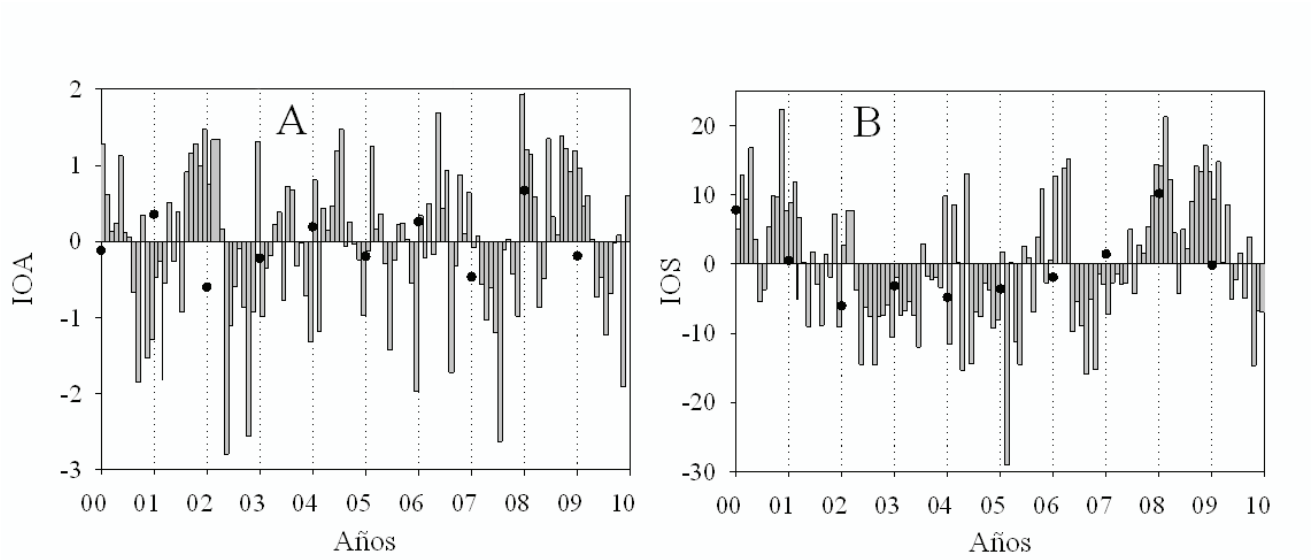


Figura 13.3. Modelo GAM basado en variables explicativas individuales para las variaciones de la biomasa de *Synechococcus*. Las líneas punteadas corresponden al rango de confianza (95%), por debajo y por arriba de las funciones estimadas por el suavizado.

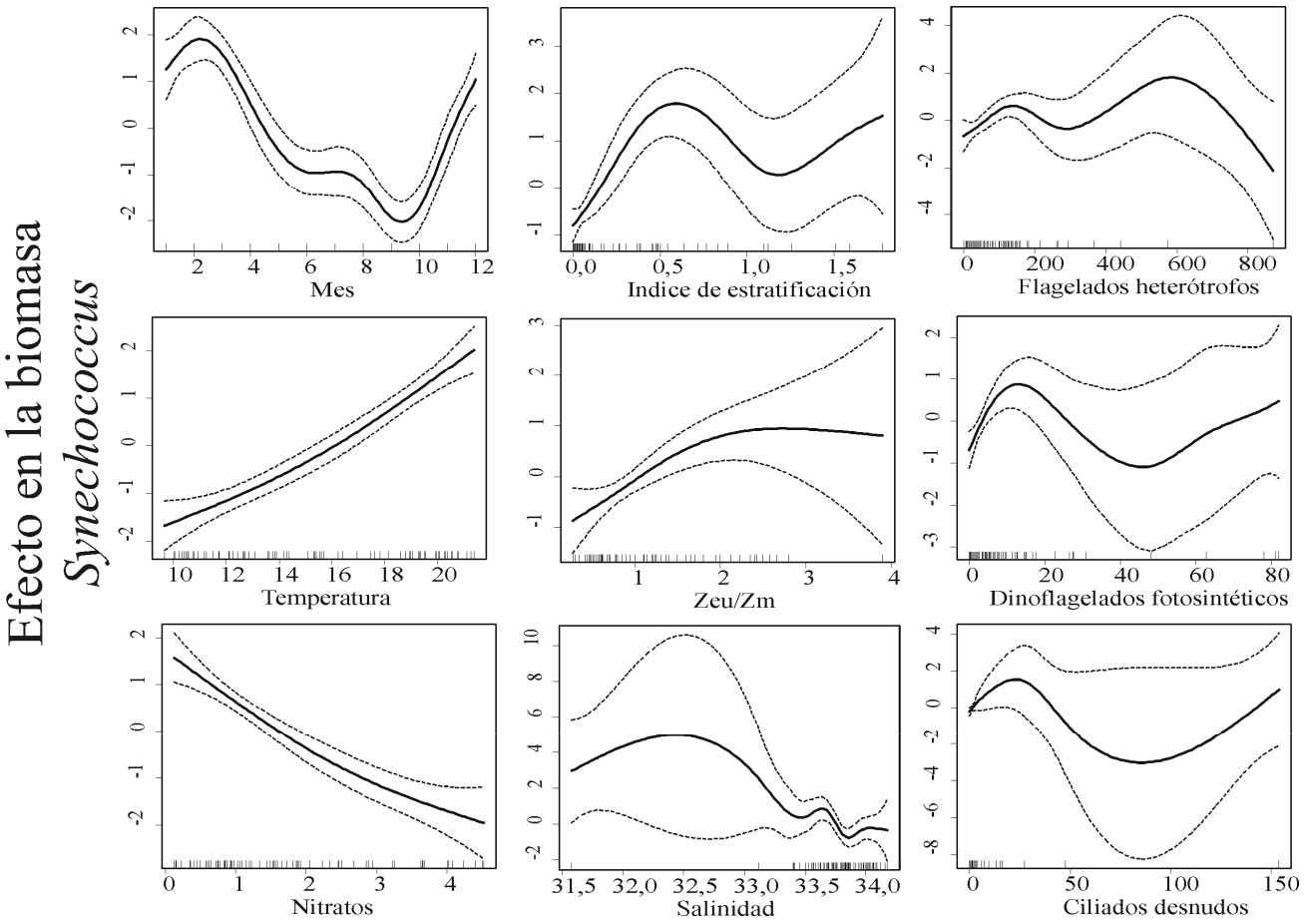


Figura 14.3. Modelo GAM basado en variables explicativas individuales para variaciones en la biomasa de tipo *Chrysochromulina*. Las líneas punteadas corresponden al rango de confianza (95%), por debajo y por arriba de las funciones estimadas por el suavizado.

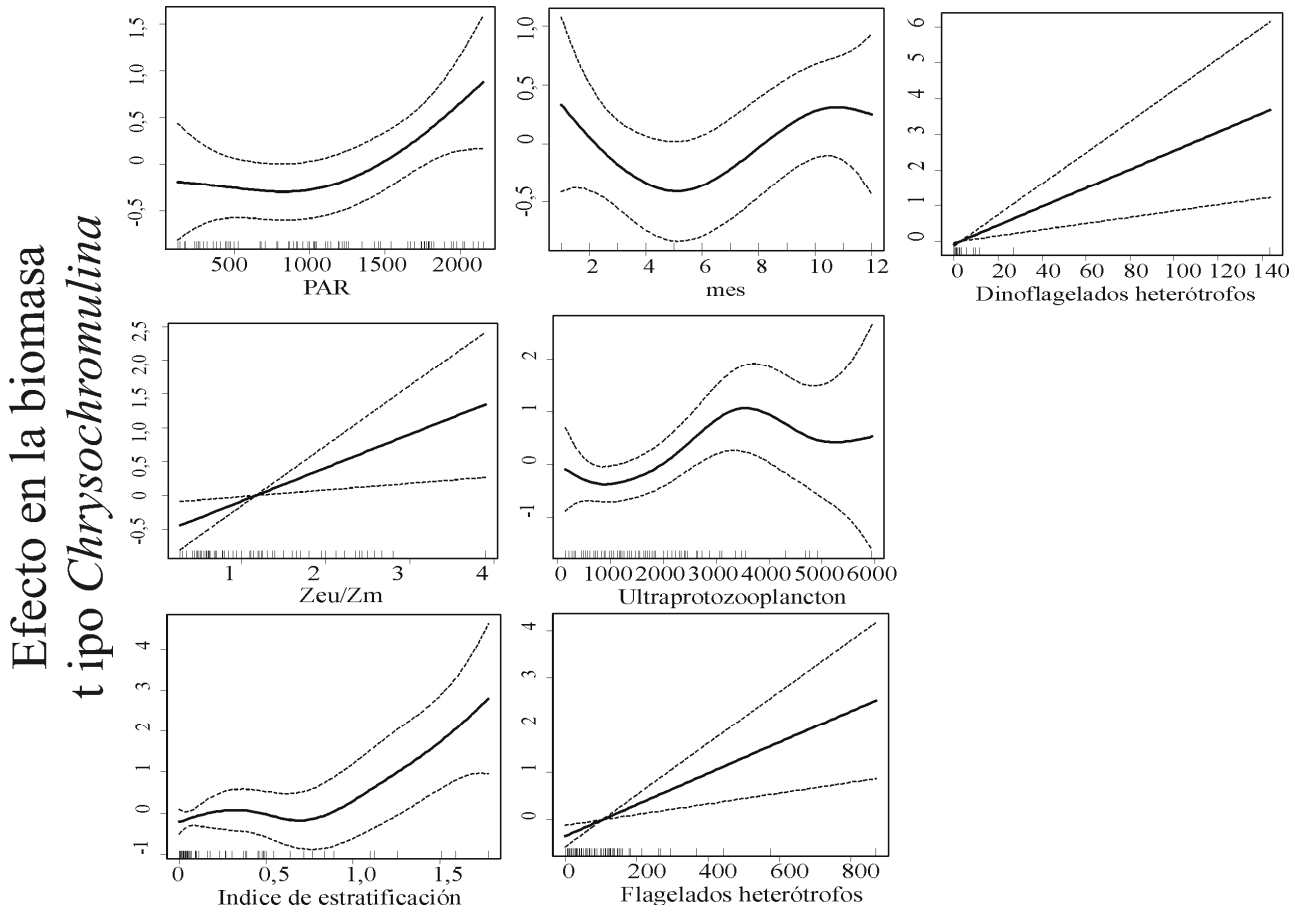


Figura 15.3. Modelo GAM basado en variables explicativas individuales para variaciones en la biomasa de criptofitas. Las líneas punteadas corresponden al rango de confianza (95%), por debajo y por arriba de las funciones estimadas por el suavizado.

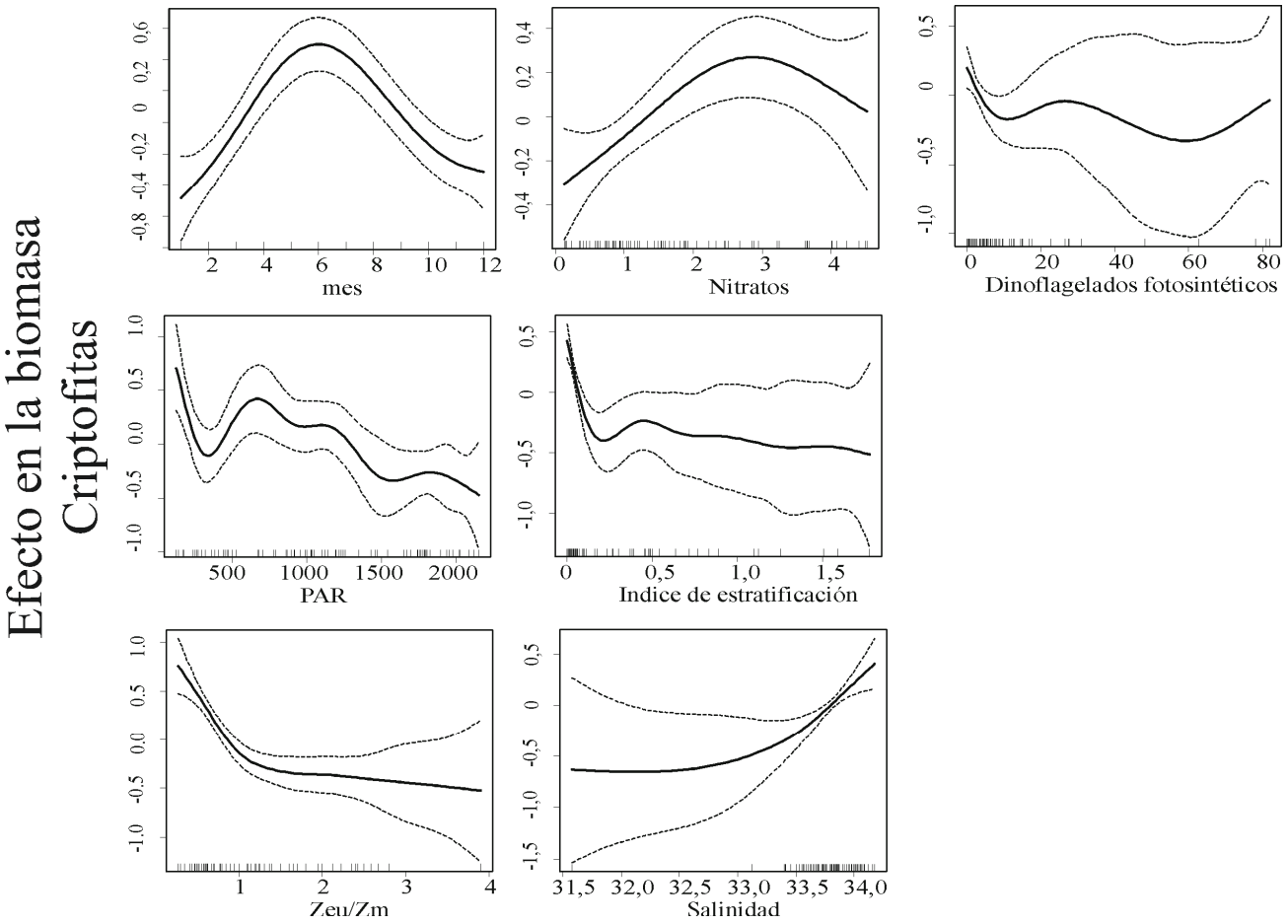


Figura 16.3. Modelo GAM basado en variables explicativas individuales para variaciones en la biomasa de picofitoeucariotas. Las líneas punteadas corresponden al rango de confianza (95%), por debajo y por arriba de las funciones estimadas por el suavizado.

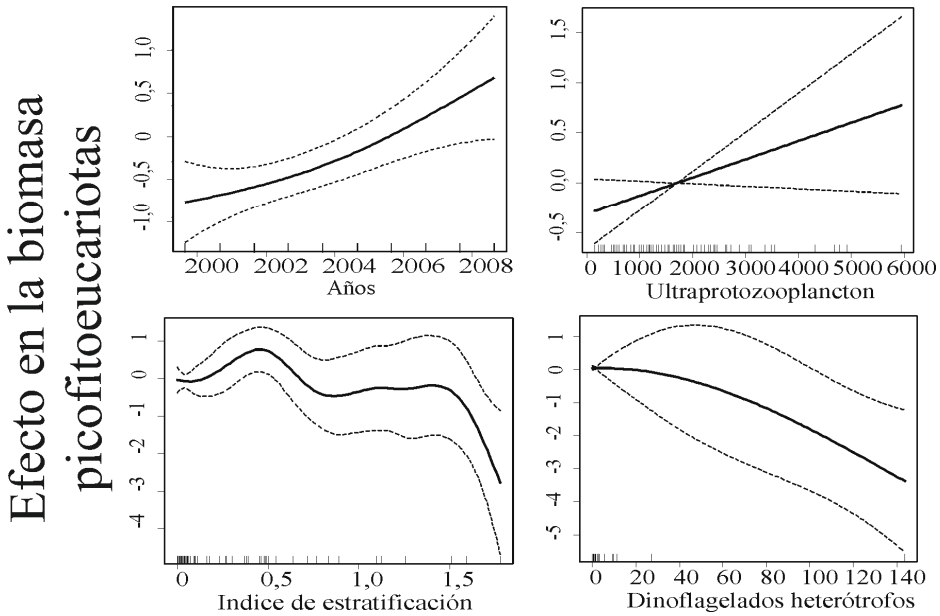


Figura 17.3. Modelo GAM basado en variables explicativas individuales para variaciones en la biomasa de los ultraeucariotas de un plástido. Las líneas punteadas corresponden al rango de confianza (95%), por debajo y por arriba de las funciones estimadas por el suavizado.

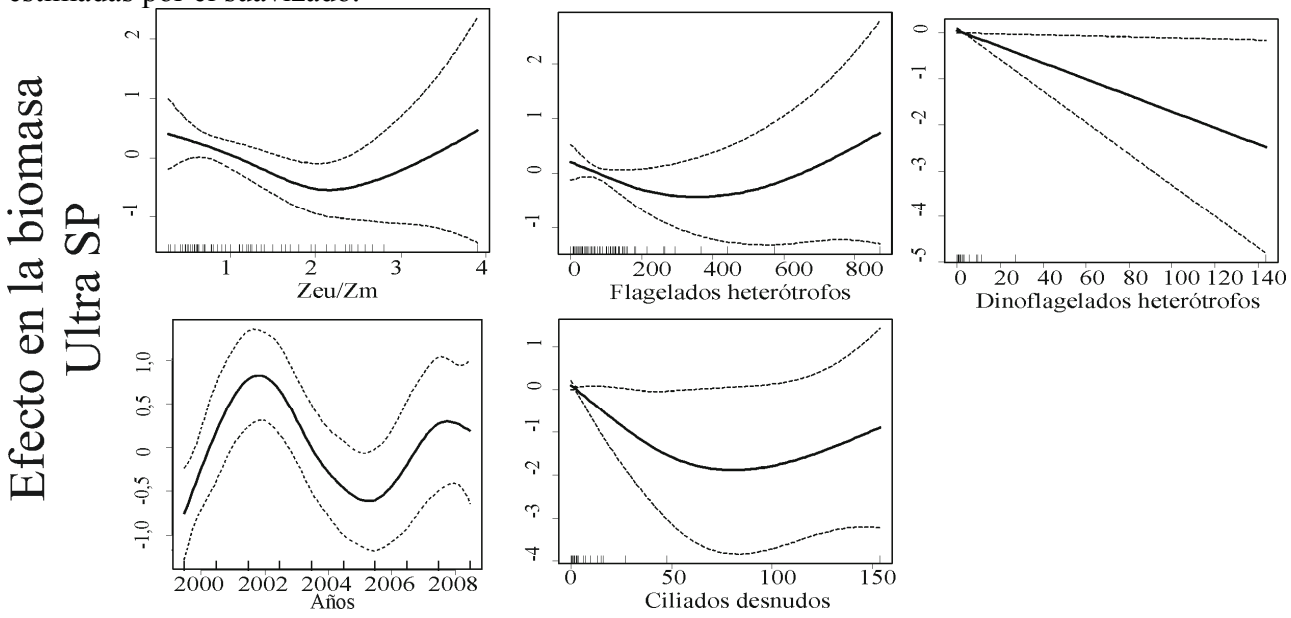


Figura 18.3. Modelos finales GAM que mejor explicaron la distribución temporal de los principales grupos taxonómicos del ultrafitoplancton [*Synechococcus*, tipo *Chrysochromulina* y criptofitas] a lo largo de la serie de tiempo. Los paneles representan cada una de las componentes del modelo total; el eje *y* indica el efecto que tiene cada una de las variables explicativas del eje *x* sobre la variable respuesta (los grupos taxonómicos). Las líneas punteadas son los intervalos de confianza del 95% de las curvas predichas.

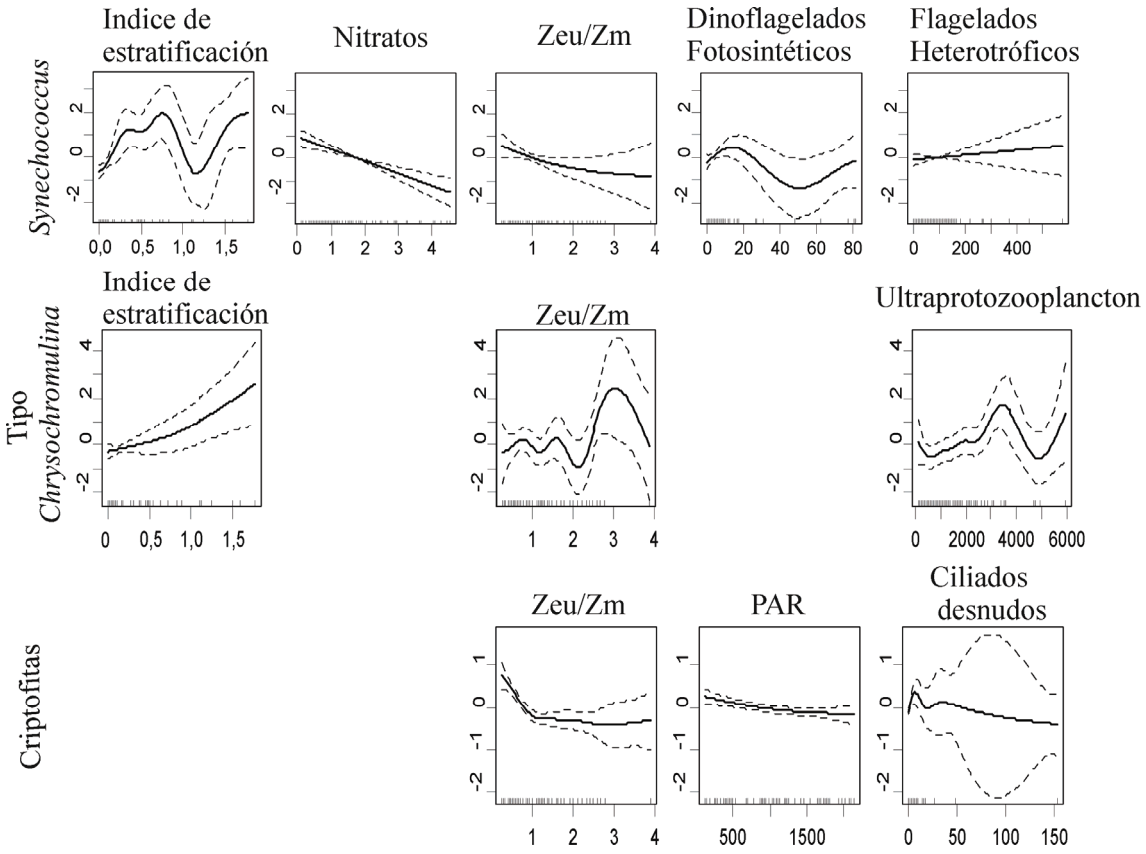
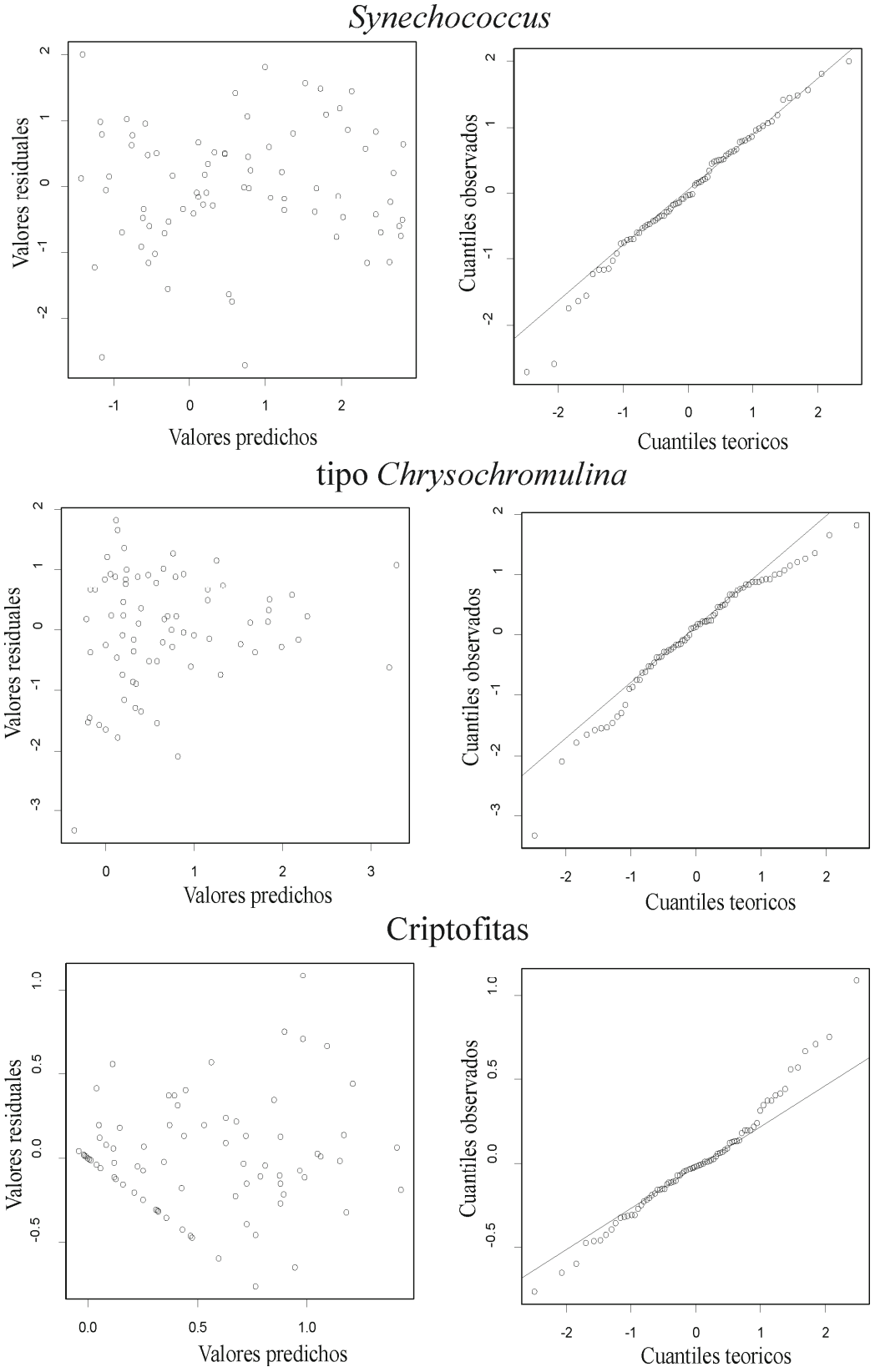


Figura 19.3. Diagnóstico del modelo para *Synechococcus*, tipo *Chrysochromulina* y criptofitas. Los paneles de la izquierda muestran una medida de la homogeneidad entre los valores residuales y los valores estimados; los paneles de la derecha son gráficos de cuantiles del tipo gráfico-QQ para evaluar la normalidad de la distribución de los datos.



DISCUSIÓN GENERAL

Este estudio permitió describir por primera vez en forma integral la estructura y dinámica de la comunidad del ultrafitoplancton en el sistema pelágico costero bonaerense (estación costera EPEA). El ultrafitoplancton contribuyó en promedio un 30 % a la clorofila *a* total del fitoplancton, alcanzando hasta más del 80 % durante el período primavera-verano. Esta contribución se asemeja a los valores estimados de forma global para los organismos fotosintéticos más pequeños (Uitz *et al.*, 2010). El patrón general de esta biomasa mostró que su contribución relativa fue mayor en aguas cálidas y pobres en nutrientes, tal como se ha observado en otras áreas (Raven, 1998).

Un estimador utilizado ampliamente para evaluar la biomasa del fitoplancton en cualquier sistema pelágico es la concentración de clorofila *a*; es cada vez más frecuente su estimación en las distintas fracciones de tamaño. Sin embargo, la concentración de clorofila *a* fraccionada no es el mejor estimador de la biomasa de fitoplancton de distintos tamaños. Para acercarse un poco más a la realidad, habría que estimar la variación anual del factor Carbono:Clorofila *a* total (C:Cla) y de la fracción menor de 5 µm. La variabilidad en el factor (C:Cla) nos permite comprender la distribución de la biomasa y la tasa de fijación de carbono del fitoplancton (Geider, 1987). El factor (C:Cla) del ultrafitoplancton en la EPEA mostró altos valores durante el verano y bajos valores en el invierno; este patrón coincide con el observado en otras áreas templadas (Calvo-Díaz *et al.*, 2008). Existe aún una alta incertidumbre en la estimación de este factor en las poblaciones naturales a causa, en primer lugar de los diferentes métodos usados para estimar la biomasa en carbono, y en segundo lugar, a variaciones naturales de este factor de acuerdo a las especies, tamaños y estado fisiológico de los organismos (Geider *et al.*, 1997). A pesar de las limitaciones mencionadas, debido a la simpleza de su determinación, la concentración de clorofila *a* sigue siendo ampliamente utilizada para estimar la contribución de las distintas fracciones de tamaño al fitoplancton total, y así especular sobre el origen del carbono y la estructura de las cadenas alimentarias pelágicas.

Un primer paso para evaluar las características de un ecosistema en particular es conocer en profundidad la composición taxonómica de la comunidad en estudio. Para ello es necesario identificar los organismos que componen el fitoplancton, en lugar de utilizar términos amplios que incluyen varios grupos taxonómicos o biomasas de

diferentes fracciones. Este concepto de la diversidad de organismos se utiliza comúnmente como una propiedad del ecosistema, y en estos días está fuertemente implicado en los esfuerzos de conservación y en los estudios de impacto del cambio climático global. Sería imprescindible catalogar todos los organismos presentes para entender correctamente la estructura y el funcionamiento del ecosistema (Yarincik & O'Dor, 2005).

En este sentido, en el presente estudio se utilizó un conjunto de métodos para poder clasificar los organismos hasta la menor categoría taxonómica posible. Entre los procariotas, el único organismo identificado fue la cianobacteria del género *Synechococcus*, que se encontró de forma ubicua a lo largo del año en la EPEA. Este organismo se pudo aislar, cultivar y caracterizar por varios métodos microscópicos, bio-ópticos y moleculares. Los estudios filogenéticos obtenidos hasta el momento, utilizando sondas de ADN pertenecientes a la sub-unidad menor del ribosoma (16s ARN), han relacionado este *Synechococcus* con el clado IV del cluster marino 5.1 (Perez-Cenci *et al.*, 2007). Este grupo es dominante en aguas de la EPEA como en otras áreas costeras del Hemisferio Norte a lo largo del año (Tai & Palenik, 2009). El genoma completo de la especie *Synechococcus* C9311 perteneciente a este clado ha sido recientemente determinado (Palenik *et al.*, 2006). Estos nuevos avances nos permitirán identificar y analizar los distintos genes involucrados en los mecanismos fisiológicos de adaptación cromática al campo luminoso y los relacionados con la obtención de nutrientes, para caracterizar su nicho ecológico.

El grupo de los eucariotas mostró una gran diversidad en la estación EPEA. La taxonomía de los eucariotas no está aún totalmente resuelta, pero los avances tecnológicos están permitiendo comenzar a identificar y conocer sus complejas relaciones filogenéticas (Eikrem *et al.*, 2004; Adl *et al.*, 2005; Shalchian-Tabrizi *et al.*, 2006).

El grupo de los picofitoeucariotas presentó algunas dificultades en la determinación de los organismos que lo componen, pero la utilización de una combinación de métodos ópticos y técnicas moleculares ayudó a identificar algunos organismos. La morfología cocal y las especies pertenecientes a las Prasinophyceae fueron dominantes dentro de este grupo (Cumino *et al.*, 2005b). Hasta el momento, se aislaron en cultivo dos especies de formas cocales, una relacionada filogenéticamente al clado VII de las Prasinophyceae (Cumino *et al.*, 2005a) y la otra a las Pelagophyceae. La primera especie todavía no está descripta (Guillou *et al.*, 2004) y la segunda podría

vincularse a la especie *Aureococcus anophagefferens*; este último organismo suele producir floraciones nocivas en áreas costeras (Lomas & Gobler, 2004).

El grupo de los ultraeucariotas fotosintéticos estuvo representado por diversos taxa, de los cuales los más importantes y conspicuos pertenecen a las Haptofitas y Criptofitas. El conjunto denominado tipo *Chrysochromulina*, perteneciente a las Haptofitas, estuvo compuesto por los géneros *Imantonia*, *Dicrateria* y *Chrysochromulina*. Estos organismos presentan dificultad para su identificación y cuantificación en el medio natural, pero la utilización de pigmentos marcadores (por cromatografía líquida de alta performance, HPLC) (Carreto *et al.*, 2003; Carreto *et al.*, 2008) y de técnicas moleculares (Liu *et al.*, 2009) ha permitido determinar la importancia de estas células en la comunidad del ultrafitoplancton. De forma similar, se ha determinado la importancia de las criptofitas por HPLC en otros sistemas (Buma *et al.*, 1992; Carreto *et al.*, 2008). En este estudio la identificación de las criptofitas no fue completa, pero pudo determinarse que estuvieron representadas principalmente por organismos del género *Hemiselmis*.

Otros grupos de ultraeucariotas como las diatomeas, las Chrysophyceae *(Ollicola)*, las Prasinophyceae *(Pyramimonas)*, otras prasinofitas y cocolitofóridos fueron identificados a lo largo de los ciclos anuales. Cabe señalar que estos organismos en el extremo superior de tamaños del ultrafitoplancton no han recibido la misma atención que los del extremo inferior (picoplancton), por lo que aún queda por resolver su caracterización taxonómica. En la década de 1980 se puso énfasis en el estudio del picofitoplancton, dejándose en gran medida de lado los estudios comenzados en los años 1950 de la fracción mayor del ultrafitoplancton (Butcher, 1952). Así, ha quedado un hueco en el conocimiento disponible sobre la composición y abundancia de las poblaciones de estos organismos, incluyendo los heterótrofos, (Throndsen, 1978; Thomsen, 1986; Booth, 1988; Vørs *et al.*, 1995; Novarino *et al.*, 1997). Actualmente se está realizando una intensa tarea de identificación en estos grupos, aplicando una variedad de métodos, principalmente microscópicos y moleculares (Eikrem & Throndsen, 1990; Eikrem, 1996; Guillou *et al.*, 1999; Not *et al.*, 2007b). Es destacable el enorme esfuerzo puesto en conocer la diversidad de esta fracción del fitoplancton (Lepère *et al.*, 2009; Shi *et al.*, 2009; McIntyre, 2010; Tai *et al.*, 2011).

Una vez que se obtuvo una descripción taxonómica lo más precisa posible de los organismos que componían la comunidad del ultrafitoplancton, se procedió a estudiar

las relaciones de estos con el ambiente para intentar analizar cómo se estructuraba este acoplamiento a lo largo del ciclo anual. La variabilidad temporal de la comunidad del ultrafitoplancton se asoció con ciclo de estabilización/desestabilización de la columna de agua y además con la disponibilidad de luz y de nutrientes (nitratos). Los ciclos anuales estudiados permitieron distinguir un patrón en la sucesión de los organismos del ultrafitoplancton. Se consideró el inicio de la sucesión el período en que la columna de agua se encontraba totalmente homogénea durante el invierno. En esta etapa, las criptofitas fueron las más importantes por estar adaptadas a las condiciones fluctuantes del campo luminoso. Luego, las tipo *Chrysochromulina* comenzaron a ser relevantes durante la primavera hasta dominar esta comunidad durante el inicio del verano. Estos organismos parecen estar asociados con los comienzos de la estabilización de la columna de agua (Dahl *et al.*, 2005). Durante el verano, *Synechococcus* dominó esta comunidad por estar bien adaptado a las condiciones de baja concentración de nutrientes y de máxima estratificación de la columna de agua. Cuando la columna de agua comenzó a mezclar, una asociación de organismos pertenecientes a los picofitoeucariotas, pequeñas diatomeas y la Chrysophyceae *Ollicola* fueron los principales miembros de esta comunidad durante el otoño.

Los estudios del ultrafitoplancton se han enfocado preferentemente en el seguimiento de algún grupo en particular; por ejemplo, estudios sobre *Synechococcus*, picofitoeucariotas (Worden *et al.*, 2004), criptofitas (Cerino & Zingone, 2006), etc. Existen pocos estudios que hayan seguido en el tiempo la sucesión de los componentes del ultrafitoplancton en un área en particular; se pueden mencionar los estudios en las aguas costeras de Noruega (Throndsen, 1978), en la Bahía de Bedford (Li, 1995) y en el Golfo de Nápoles (McDonald *et al.*, 2007). Los resultados obtenidos sobre la sucesión del ultrafitoplancton en la estación EPEA guardan cierta similitud con los encontrados en los pocos estudios desarrollados en otras partes del mundo, principalmente en lo que se refiere a los forzantes ambientales (Lindell & Post, 1995; Li, 2002; Charles *et al.*, 2005). Sin embargo, se diferencian algunos de los grupos dominantes en las distintas etapas de la sucesión; por ejemplo, en la Bahía de Bedford el grupo dominante fue el de los picofitoeucariotas en lugar de *Synechococcus* (Li, 1995).

Los mecanismos que desencadenan estos cambios en la dominancia de los organismos están relacionados con las estrategias adaptativas de cada uno de ellos al ambiente, tal como proponen los modelos conceptuales de la Mandala de Margalef y el Intaglio de Reynolds (Margalef, 1978; Reynolds, 1997; Raven, 1998). Este estudio se

centró, como la mayoría de los estudios sobre ecología del fitoplancton, en el marco teórico de la Mandala de Margalef, pero se intentó objetivizar la descripción de estas conocidas relaciones entre los organismos y el ambiente utilizando un método estadístico. Para unificar los conceptos aislados sobre los factores que controlan la dinámica de las poblaciones, se hizo un primer uso de los modelos aditivos generalizados (GAM) para el análisis del ciclo anual (datos de los ciclos 2000 y 2003). Esta novedosa herramienta estadística permitió modelar las relaciones (no lineales) entre las biomasas de los componentes del ultrafitoplancton y cada una de las variables ambientales (Stenseth *et al.*, 2006; Zarauz *et al.*, 2008). Cada uno de estos modelos GAM brindó información sobre el hábitat preferencial de los grupos considerados. Esto permitiría inferir a partir de los cambios ambientales que se desarrollan a lo largo del año en la EPEA cuál sería la sucesión de la comunidad del ultrafitoplancton.

El estudio de estos primeros 10 años de la serie EPEA permitió confirmar el patrón anual de las etapas sucesionales de la comunidad del ultrafitoplancton, evaluar la regularidad de las mismas y detectar sus anomalías. Las relaciones entre los principales componentes del ultrafitoplancton con su entorno se analizaron a través del modelo estadístico GAM. Para esto, se intentó primero reducir la complejidad a proporciones más manejables, enfocándose en la dinámica de los grupos taxonómicos más importantes que contribuyeron significativamente a la biomasa del ultrafitoplancton: *Synechococcus*, tipo *Chrysochromulina* y Criptofitas. La descripción clásica de la serie de datos y el análisis de los GAM permitieron caracterizar por primera vez la dinámica de estos grupos en la EPEA. ***Synechococcus*** mostró un claro patrón estacional a lo largo de toda la serie temporal y su mayor biomasa estuvo asociada a aguas superficiales bien estratificadas, con muy bajas concentraciones de nitratos. Este mismo patrón en su distribución temporal fue observado en muchos estudios en diferentes sistemas pelágicos (Waterbury *et al.*, 1986; Olson *et al.*, 1990; Agawin *et al.*, 1998; Li, 1998; Agawin *et al.*, 2000). Las **Criptofitas** mostraron periodicidad en su ciclo anual; su máximo desarrollo se observó en aguas frías y homogéneas. Sobre este grupo se encuentra poca información, pero otros estudios coinciden en reportar la preferencia por hábitats con las características mencionadas para la EPEA (Buma *et al.*, 1992; Cerino & Zingone, 2006). Las **tipo *Chrysochromulina*** estuvieron relacionadas con los inicios de la estabilización de la columna de agua, que mostró una amplia disponibilidad de luz y nutrientes durante el período primavera-verano. Como sucede con el grupo anterior, no

hay mucha información sobre la ecología de estos organismos (Dahl *et al.*, 2005); la hay sobre su diversidad (Eikrem & Throndsen, 1998; Eikrem & Edvardsen, 1999), y se enfoca preferentemente en especies que producen floraciones nocivas (Edvardsen & Imai, 2006).

La dinámica de estas poblaciones fue explicada en gran parte por las adaptaciones y estrategias de cada uno de los organismos a determinado hábitat. El modelo estadístico no paramétrico GAM fue capaz de capturar algunos aspectos de esta complejidad. Los resultados muestran que la dinámica anual de cada uno de estos grupos en la serie de tiempo EPEA fue principalmente conducida por factores abióticos. Así, los modelos indican una clara evidencia de la regulación "desde abajo". Debemos tener en cuenta que los procesos de interacción biológica como la competencia, la predación y los distintos comportamientos tróficos actúan simultáneamente con los procesos ambientales para determinar la variabilidad de estas poblaciones en los sistemas naturales. Estas poblaciones del ultrafitoplancton son potenciales fuentes de alimento para los organismos heterótrofos (Caron *et al.*, 1999; Chen & Liu, 2010), pero todavía no se detectaron los posibles nexos tróficos entre los miembros de la comunidad microbiana en la EPEA. En los análisis GAM sólo se destacó la relación positiva de *Synechococcus* con la abundancia de flagelados heterótrofos. Cabe destacar también el comportamiento mixotrófico de las tipo *Chrysochromulina* y las Criptofitas, lo cual tendría implicancias en el flujo de carbono en el ecosistema pelágico (Jones, 1994). El GAM para las tipo *Chrysochromulina* mostró una relación positiva con la abundancia del ultraprotozooplancton. Esto posiblemente está vinculado a la utilización de bacterias como fuente de energía para ambos organismos. En este sentido, también el GAM para las Criptofitas se relacionó positivamente con los ciliados desnudos; esto se podría vincular a mecanismos de cleptoplasticidad (Stoecker *et al.*, 1988; Skovgaard, 1998; Stoecker *et al.*, 2009). A pesar de estos enlaces preliminares que se deducen de este estudio, queda aún mucho por estudiar para entender las complejas interacciones del sistema microbiano en la EPEA.

En los últimos años se han reivindicado las series de tiempo, no sólo por las observaciones de variables físicas y químicas, sino también de las variables biológicas en el estudio de la salud de los océanos y el cambio climático global (Ducklow *et al.*, 2009)(recomendaciones finales de la conferencia internacional 'Ocean Observing 2009; http://www.oceanobs09.net/documents/OO09_ConferenceStatement_Final.pdf). Además del

conocimiento ganado sobre los patrones 'normales' de distribución de los principales grupos del ultrafitoplancton, a lo largo de toda la serie en la EPEA se observaron dos floraciones atípicas relacionadas con el grupo de las tipo *Chrysochromulina*. Estos eventos inusuales causados por estas especies de pequeño tamaño pueden tener influencia negativa sobre el ecosistema del área costera (Granéli & Turner, 2007). A nivel global, se ha especulado que el aumento en la frecuencia de los florecimientos estaría asociado al incremento de perturbaciones antropogénicas sobre el sistema costero (Hallegraeff, 2010). Otro hallazgo fue el relativo incremento de la concentración de clorofila en los últimos años en la EPEA. Este cambio de tendencia fue debido al aporte de la fracción más pequeña, y en particular, al grupo de los picofitoeucariotas. A gran escala fue reportado el aumento de estos organismos a causa de variaciones climáticas (Li & Harrison, 2008; Moran *et al.*, 2010). Esta tendencia coincidiría con el incremento de la importancia del fitoplancton pequeño en un futuro escenario de calentamiento global (Sarmiento *et al.*, 2004; Behrenfeld *et al.*, 2006).

Pocos estudios involucran la variabilidad en la composición de los organismos del plancton marino y su fenología a lo largo de distintas escalas temporales (estacionales y anuales). El presente trabajo significó un primer esfuerzo en tal sentido para el ultrafitoplancton en la estación EPEA. Como corolario, se podrían subrayar aspectos en los cuales avanzar en este tipo de estudios. En primer lugar, hay que tener en cuenta el esfuerzo que demanda la identificación y enumeración de organismos, muestra por muestra. El incremento en la resolución taxonómica lograda se corresponde con el aumento de tiempo y experiencia requeridos para analizar cada muestra. Por otro lado, la correcta generación de hipótesis de trabajo se vería favorecida por un manejo estadístico más refinado, que considere el tratamiento de 'outliers' en la exploración de los datos (Zuur *et al.*, 2010), la utilización de criterios objetivos para la selección de las variables explicativas en los GAM (Wood & Augustin, 2002) y el análisis de otros modelos que predigan la distribución de especies (Guisan & Zimmermann, 2000; Guisan & Thuiller, 2005).

Este estudio es una contribución al conocimiento de la diversidad del ultrafitoplancton, su patrón de sucesión y la detección de cambios producidos sobre este patrón. La continuación de estos estudios es fundamental para robustecer el conocimiento de las 'condiciones de base', la validación utilizando modelos estadísticos más sofisticados, y la predicción a través de modelos de los cambios producidos por

perturbaciones naturales, antropogénicas y climáticas, sobre estas comunidades en el ecosistema costero pelágico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adl, S.M., Simpson, A.G.B., Farmer, M.A., Andersen, R.A., Anderson, O.R., Barta, J.R., Bowser, S.S., Brugerolle, G.U.Y., Fensome, R.A., Fredericq, S., James, T.Y., Karpov, S., Kugrens, P., Krug, J., Lane, C.E., Lewis, L.A., Lodge, J., Lynn, D.H., Mann, D.G., McCourt, R.M., Mendoza, L., Moestrup, Ø., Mozley-Standridge, S.E., Nerad, T.A., Shearer, C.A., Smirnov, A.V., Spiegel, F.W. & Taylor, M.F.J.R. 2005. The New Higher Level Classification of Eukaryotes with Emphasis on the Taxonomy of Protists. J. Eukaryot. Microbiol. 52: 399-451.

Agawin, N.S.R., Duarte, C.M. & Agustí, S. 1998. Growth and abundance of *Synechococcus* sp. in a Mediterranean Bay: seasonality and relationship with temperature. Mar. Ecol. Prog. Ser. 170: 45-53.

Agawin, N.S.R., Duarte, C.M. & Agustí, S. 2000. Nutrient and temperature control of the contribution of picoplankton to phytoplankton biomass and production. Limnol. Oceanogr. 45: 591-600.

Aiken, J., Hardman-Mountford, N.J., Barlow, R., Fishwick, J., Hirata, T. & Smyth, T. 2008. Functional links between bioenergetics and bio-optical traits of phytoplankton taxonomic groups: an overarching hypothesis with applications for ocean colour remote sensing. J. Plankton Res. 30: 165-181.

Akselman, R. 1998. Dinámica de las poblaciones fitoplanctónicas en una estación fija en la plataforma frente a Mar del Plata. Período 1994-1997. XIII Simposio Científico-Tecnológico de la Comisión Técnica Mixta del Frente Marítimo, Mar del Plata, Argentina.

Alvain, S., Moulin, C., Dandonneau, Y. & Breon, F.M. 2005. Remote sensing of phytoplankton groups in case 1 waters from global SeaWiFS imagery. Deep Sea Res. (I Oceanogr. Res. Pap.) 52: 1989-2004.

Andersen, R.A., Saundres, G.W., Paskind, M.P. & Sexton, J.P. 1993. Ultraestructure and 18S RNA gene sequence for Pelagomonas calceolata gen. et sp. nov and the description of a new algal class, the Pelagophyceae classis nov. J. Phycol. 29: 701-715.

Anderson, D.M. 2009. Approaches to monitoring, control and management of harmful algal blooms (HABs). Ocean Coast. Manage. 52: 342-347.

Armbrust, E.V., Berges, J.A., Bowler, C., Green, B.R., Martinez, D., Putnam, N.H., Zhou, S., Allen, A.E., Apt, K.E., Bechner, M., Brzezinski, M.A., Chaal, B.K., Chiovitti, A., Davis, A.K., Demarest, M.S., Detter, J.C., Glavina, T., Goodstein, D., Hadi, M.Z., Hellsten, U., Hildebrand, M., Jenkins, B.D., Jurka, J., Kapitonov, V.V., Kröger, N., Lau, W.W.Y., Lane, T.W., Larimer, F.W., Lippmeier, J.C., Lucas, S., Medina, M., Montsant, A., Obornik, M., Parker, M.S., Palenik, B., Pazour, G.J., Richardson, P.M., Rynearson, T.A., Saito, M.A., Schwartz, D.C., Thamatrakoln, K., Valentin, K., Vardi, A., Wilkerson, F.P. & Rokhsar, D.S. 2004. The Genome of the Diatom Thalassiosira Pseudonana: Ecology, Evolution, and Metabolism. Science 306: 79-86.

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

Bec, B., Husseini-Ratrema, J., Collos, Y., Souchu, P. & Vaquer, A. 2005. Phytoplankton seasonal dynamics in a Mediterranean coastal lagoon: emphasis on the picoeukaryote community. J. Plankton Res. 27: 881-894.

Behrenfeld, M.J., O/'Malley, R.T., Siegel, D.A., McClain, C.R., Sarmiento, J.L., Feldman, G.C., Milligan, A.J., Falkowski, P.G., Letelier, R.M. & Boss, E.S. 2006. Climate-driven trends in contemporary ocean productivity. Nature 444: 752-755.

Belgrano, A., Lima, M. & Stenseth, N.C. 2004. Non-linear dynamics in marine-phytoplankton population systems. Mar. Ecol. Prog. Ser. 273: 281-289.

Belgrano, A., Lima, M., Stenseth, N.C. & Lindahl, O. 2005. Responses of phytoplankton communities to climate variability. En: Stenseth, N.C. & Ottersen, G. (Eds.). Ecosystems and Climate Variation. Oxford. New York.

Bell, T. & Kalff, J. 2001. The contribution of picophytoplankton in marine and freshwater systems of different trophic status and depth. Limnol. Oceanogr. 46: 1243-1248.

Bergey, D.H., Holt, J.G. & Krieg, N.R. 1989. Bergey's manual of systematic bacteriology. Williams & Wilkins. 2648 pp.

Booth, B.C. 1988. Size classes and major taxonomic groups of phytoplankton at two locations in the subarctic pacific ocean in May and August, 1984. Mar. Biol. 97: 275-286.

Booth, B.C. 1995. Estimación de la biomasa del plancton autotrofico usando microscopía. En: Alveal, K., Ferrario, M.E., Oliveira, E.C. & Sar, E. (Eds.). Manual de Métodos Ficológicos**:** 187- 198. Universidad de Concepción. Chile.

Borkman, D., Baretta-Bekker, H. & Henriksen, P. 2009. Introduction. J. Sea Res. 61: 1-2.

Boyce, D.G., Lewis, M.R. & Worm, B. 2010. Global phytoplankton decline over the past century. Nature 466: 591-596.

Braarud, T. & Nygaard, I. 1978. Phytoplankton observations in offshore norwegian coastal waters between 62ºN and 69ºN. FiskDir. Skr. HavUnders. 16: 489-505.

Bricaud, A. 2004. Natural variability of phytoplanktonic absorption in oceanic waters: Influence of the size structure of algal populations. J. Geophys. Res. 109: 1-12.

Brown, J.H. 1995. Macroecology. University of Chicago Press. 269 pp. Chicago.

Buma, A.G.J., Bano, N., Veldhuis, M.J.W. & Kraay, G.W. 1991. Comparison of the pigmentation of two strains of the prymnesiophyte Phaeocystis sp. Neth. J. Sea. Res. 27: 173-178.

Buma, A.G.J., Gieskes, W.W.C. & Thomsen, H.A. 1992. Abundance of cryptophyceae and chlorophyll b-containing organisms in the Weddell-Scotia Confluence area in the spring of 1988. Polar Biol. 12: 43-52.

Butcher, R.W. 1952. Contributions to our knowledge of the smaller marine Algae. J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 31: 175-191.

Calbet, A. 2008. The trophic roles of microzooplankton in marine systems. ICES J. Mar. Sci. 65: 325-331.

Calbet, A. & Landry, M.R. 2004. Phytoplankton growth, microzooplankton grazing, and carbon cycling in marine systems. Limnol. Oceanogr. 49: 51-57.

Calvo-Díaz, A., Morán, X.A.G. & Suárez, L.Á. 2008. Seasonality of picophytoplankton chlorophyll a and biomass in the central Cantabrian Sea, southern Bay of Biscay. J. Mar. Syst. 72: 271-281.

Caron, D.A., Gobler, C.J., Lonsdale, D.J., Cerrato, R.M., Schaffner, R.A., Rose, J.M., Buck, N.J., Taylor, G., Boissonneault, K.R. & Mehran, R. 2004. Microbial herbivory on the brown tide alga, Aureococcus anophagefferens: results from natural ecosystems, mesocosms and laboratory experiments. Harmful Algae Brown Tides 3: 439-457.

Caron, D.A., Peele, E.R., Lim, E.L. & Dennett, M.R. 1999. Picoplankton and nanoplankton and their trophic relationships in surface waters of the Sargasso Sea south of Bermuda. Limnol. Oceanogr. 44: 259-272.

Carreto, J.I., Benavides, H.R., Negri, R.M. & Glorioso, P.D. 1986. Toxic red-tide in the Argentine Sea. Phytoplankton distribution and survival of the toxic dinoflagellate Gonyaulax excavata in a frontal area. J. Plankton Res. 8: 15-28.

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

Carreto, J.I., Montoya, N., Akselman, R., Carignan, M.O., Silva, R.I. & Cucchi Colleoni, D.A. 2008. Algal pigment patterns and phytoplankton assemblages in different water masses of the Río de la Plata maritime front. Cont. Shelf Res. 28: 1589-1606.

Carreto, J.I., Montoya, N.G., Benavides, H.R., Guerrero, R. & Carignan, M.O. 2003. Characterization of spring phytoplankton communities in the Río de La Plata maritime front using pigment signatures and cell microscopy. Mar. Biol. 143: 1013-1027.

Carreto, J.I., Negri, R.N. & Benavides, H.R. 1981. Fitoplancton, pigmentos y nutrientes. Resultados campañas III y VI del B/I "Shinkai Maru", 1978. Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero 383: 181-201.

Cerino, F. & Zingone, A. 2006. A survey of cryptomonad diversity and seasonality at a coastal Mediterranean site. Eur. J. Phycol. 41: 363 - 378.

Ciotti, Á.M., Lewis, M.R. & Cullen, J.J. 2002. Assessment of the relationship between dominant cell size in natural phytoplankton communities and the spectral shape of the absorption coefficient. Limnol. Oceanogr. 47: 404-417.

Clarke, K.R. & Warwick, R.M. 2001. Change in Marine Communities: An Approach to Statistical Analysis and Interpretation. PRIMER-E pp. Plymouth, UK.

Cloern, J. & Jassby, A. 2010. Patterns and Scales of Phytoplankton Variability in Estuarine–Coastal Ecosystems. Estuar. Coast. 33: 230-241.

Cloern, J.E. & Jassby, A.D. 2008. Complex seasonal patterns of primary producers at the land–sea interface. Ecol. Lett. 11: 1294-1303.

Cole, H.A. & Knight Jones, E.W. 1949. Quantitative estimation of marine nanoplankton. Nature 164: 694-696.

Crosbie, N.D., Teubner, K. & Weisse, T. 2003. Flow-cytometric mapping provides novel insights into the seasonal and vertical distributions of freshwater autotrophic picoplankton. Aquat. Microb. Ecol. 33: 53-66.

Cullen, J.J., Doolittle, W.F., Levin, S.A. & Li, W.K.W. 2007. Patterns and prediction in microbial oceanography. Oceanography. 20**:** 34-36.

Cumino, A., Silva, R., Negri, R. & Salerno, G. 2005a. Identificación molecular y aislamiento en cultivo de componentes del picofitoplancton eucariota en el Mar Argentino. XI Congreso Latinoamericano de Ciencias del Mar (COLACMAR), Viña del Mar, Chile.

Cumino, A.C., Covacevich, F., Silva, R., Negri, R. & Salerno, G. 2005b. "Picoeukaryotic diversity in Argentinean Sea coastal site studied by molecular approaches". XLI Sociedad Argentina de Investigación en Bioquímica y Biología Molecular (SAIB).

Charles, F., Lantoine, F., Brugel, S., Chrétiennot-Dinet, M.-J., Quiroga, I. & Rivière, B. 2005. Seasonal survey of the phytoplankton biomass, composition and production in a littoral NW Mediterranean site, with special emphasis on the picoplanktonic contribution. Estuar. Coast. Shelf Sci. 65: 199-212.

Chen, B. & Liu, H. 2010. Trophic linkages between grazers and ultraplankton within the microbial food web in subtropical coastal waters. Mar. Ecol. Prog. Ser. 407: 43-53.

Chisholm, S.W. 1992. Phytoplankton size. En: Falkowski, P. & Woodhead, A.D. (Eds.). Primary Productivity and Biogeochemical Cycles in the Sea: 43**:** 213-238. Plenum. New York.

Chisholm, S.W., OIson, R.J., Zettler, E.R., Goericke, R., Waterbury, J.B. & Welschmeyer, N.A. 1988. A novel free-living prochlorophyte abundant in the oceanic euphotic zone. Nature 334: 340-343.

Christaki, U., Courties, C., Joux, F., Jeffrey, W., Neveux, J. & Naudin, J. 2009. Community structure and trophic role of ciliates and heterotrophic

nanoflagellates in Rhone River diluted mesoscale structures (NW Mediterranean Sea). Aquat. Microb. Ecol. 57: 263-277.

Christaki, U., Vázquez-Domínguez, E., Courties, C. & Lebaron, P. 2005. Grazing impact of different heterotrophic nanoflagellates on eukaryotic (Ostreococcus tauri) and prokaryotic picoautotrophs (Prochlorococcus and Synechococcus). Environ. Microbiol. 7: 1200-1210.

Dahl, E., Bagøien, E., Edvardsen, B. & Stenseth, N.C. 2005. The dynamics of Chrysochromulina species in the Skagerrak in relation to environmental conditions. J. Sea Res. 54: 15-24.

Daufresne, M., Lengfellner, K. & Sommer, U. 2009. Global warming benefits the small in aquatic ecosystems. P Natl. Acad. Sci. USA 106: 12788-12793.

Demming-Adams, B. 1990. Carotenoids and photoprotection in plant: A role the xanthophyll zeaxanthin. Biochim. Biophys. Acta 1020: 1-24.

Derelle, E., Ferraz, C., Rombauts, S., Rouzé, P., Worden, A.Z., Robbens, S., Partensky, F., Degroeve, S., Echeynié, S., Cooke, R., Saeys, Y., Wuyts, J., Jabbari, K., Bowler, C., Panaud, O., Piégu, B., Ball, S.G., Ral, J.-P., Bouget, F.-Y., Piganeau, G., De Baets, B., Picard, A., Delseny, M., Demaille, J., Van de Peer, Y. & Moreau, H. 2006. Genome analysis of the smallest free-living eukaryote Ostreococcus tauri unveils many unique features. P Natl. Acad. Sci. USA 103: 11647-11652.

Ducklow, H.W., Doney, S.C. & Steinberg, D.K. 2009. Contributions of Long-Term Research and Time-Series Observations to Marine Ecology and Biogeochemistry. Annu. Rev. Mar. Sci. 1: 279-302.

Duysens, L.N.M. 1956. The flattening of the absorption spectrum of suspensions, as compared to that of solutions. Biochim. Biophys. Acta 19: 1-12.

Edvardsen, B. & Imai, I. 2006. The Ecology of Harmful Flagellates Within Prymnesiophyceae and Raphidophyceae. En: Granéli, E. & Turner, J.T. (Eds.). Ecology of Harmful Algae: 189**:** 67-79. Springer Berlin Heidelberg.

Edwards, M. & Richardson, A.J. 2004. Impact of climate change on marine pelagic phenology and trophic mismatch. Nature 430: 881-884.

Eikrem, W. 1996. Chrysochromulina throndsenii sp. nov. (Prymnesiophyceae). Description of a new haptophyte flagellate from Norwegian waters. Phycologia 35: 377-380.

Eikrem, W. & Edvardsen, B. 1999. Chrysochromulina fragaria sp. nov. (Prymnesiophyceae), a new haptophyte flagellate from Norwegian waters. Phycologia 38: 149-155.

Eikrem, W., Romari, K., Latasa, M., Le Gall, F., Throndsen, J. & Vaulot, D. 2004. Florenciella parvula gen. et sp. nov(Dictyochophyceae, Heterokontophyta), a small flagellate isolated from the English Channel. Phycologia 43: 658-668.

Eikrem, W. & Throndsen, J. 1990. The ultrastructure of Bathycoccus gen. nov. and B. prasinos sp. nov., a non-motile picoplanktonic alga (Chlorophyta, Prasinophyceae) from the Mediterranean and Atlantic. Phycologia 29: 344-350.

Eikrem, W. & Throndsen, J. 1998. Morphology of Chrysochromulina leadbeateri (Prymnesiophyceae) from northern Norway. Phycologia 37: 292-299.

Falkowski, P.G., Barber, R.T. & Smetacek, V. 1998. Biogeochemical controls and feedbacks on ocean primary production. Science 281: 200-206.

Fenchel, T. 1982. Ecology of heterotrophic microflagellates. IV. Quantitative occurrence and importance as bacterial consumers. Mar. Ecol. Prog. Ser. 9: 35-42.

Fenchel, T. 1988. Marine plankton food chains. Annu. Rev. Ecol. Syst. 19: 19-38.

Field, B.F., Behrenfeld, M.J., Randerson, J.T. & Falkowski, P. 1998. Primary production of the biosphere: integrating terrestrial and oceanic components. Science 281: 237-240.

Fogg, G.E. 1986. Review Lecture: Picoplankton. Proc. R. Soc. Lond., Ser. B: Biol. Sci. 228: 1-30.

Fogg, G.E. 1991. Tansley Review No.30 The phytoplanktonic ways of life. New Phytol. 118: 191-232.

Fogg, G.E. 1995. Some comments on picoplankton and its importance in the pelagic ecosystem. Mar. Ecol. Prog. Ser. 9: 33-39.

Fuller, N.J., Marie, D., Partensky, F., Vaulot, D., Post, A.F. & Scanlan, D.J. 2003. Clade-Specific 16S Ribosomal DNA Oligonucleotides Reveal the Predominance of a Single Marine Synechococcus Clade throughout a Stratified Water Column in the Red Sea. Appl. Environ. Microbiol. 69: 2430-2443.

Gayoso, A.M. 1999. Seasonal succession patterns of phytoplankton in the Bahía Blanca estuary (Argentina). Bot. Mar. 42: 367-375.

Geider, R., MacIntyre, H. & Kana, T. 1997. Dynamic model of phytoplankton growth and acclimation: responses of the balanced growth rate and the chlorophyll a:carbon ratio to light, nutrient-limitation and temperature. Mar. Ecol. Prog. Ser. 148: 187-200.

Geider, R.J. 1987. Light and Temperature Dependence of the Carbon to Chlorophyll a Ratio in Microalgae and Cyanobacteria: Implications for Physiology and Growth of Phytoplankton. New Phytol. 106: 1-34.

Gieskes, W.W.C. & Elbrächter, M. 1986. Abundance of nanoplankton-size chlorophyll-containing particles caused by diatom disruption in surface waters of the Southern Ocean (Antarctic Pensinsula region). Neth. J. Sea. Res. 20: 291-303.

Granéli, E. & Pavia, H. 2006. Allelopathy in marine ecosystems. En: Reigosa, M.J., Pedrol, N. & González, L. (Eds.). Allelopathy**:** 415-431. Springer Netherlands.

Granéli, E. & Turner, J.T. 2007. Ecology of Harmful Algae. Springer. 413 pp.

Grasshoff, K. (Ed.) 1976. Methods of seawater analysis. Verlag Chemie. Weinheim.

Grime, J.P. 1974. Vegetation classification by reference to strategies. Nature 250: 26-31.

Guerrero, R. & Piola, A. 1997. Masas de agua en la Plataforma Continental. En: Boschi, E. (Ed.). Antecedentes Históricos de las Exploraciones en el Mar y las Características Ambientales: 1**:** 107-118. INIDEP. Publicaciones especiales. Mar del Plata.

Guillou, L., Chrétiennot-Dinet, M.-J., Medlin, L., Claustre, H., Goër, S.L.-d. & Vaulot, D. 1999. *Bolidomonas*: a new genus with two species belonging to a new algal Class, The Bolidophyceae (Heterokonta). J. Phycol. 35: 368-381.

Guillou, L., Eikrem, W., Chrétiennot-Dinet, M.-J., Le Gall, F., Massana, R., Romari, K., Pedrós-Alió, C. & Vaulot, D. 2004. Diversity of Picoplanktonic Prasinophytes Assessed by Direct Nuclear SSU rDNA Sequencing of Environmental Samples and Novel Isolates Retrieved from Oceanic and Coastal Marine Ecosystems. Protist 155: 193-214.

Guinder, V., Popovich, C., Molinero, J. & Perillo, G. 2010. Long-term changes in phytoplankton phenology and community structure in the Bahía Blanca Estuary, Argentina. Mar. Biol. 157: 2703-2716.

Guisan, A., Edwards, T.C. & Hastie, T. 2002. Generalized linear and generalized additive models in studies of species distributions: setting the scene. Ecol. Model. 157: 89-100.

Guisan, A. & Thuiller, W. 2005. Predicting species distribution: offering more than simple habitat models. Ecol. Lett. 8: 993-1009.

Guisan, A. & Zimmermann, N.E. 2000. Predictive habitat distribution models in ecology. Ecol. Model. 135: 147-186.

Hackett, J.D., Yoon, H., Butterfield, N.J., Sanderson, M.J. & Bhattacharya, D. 2007. Plastid Endosymbiosis: Sources and Timing of the Major Events. En: Paul, G.F. & Andrew, H.K. (Eds.). Evolution of Primary Producers in the Sea**:** 109-132. Academic Press. Burlington.

Hallegraeff, G.M. 2010. Ocean climate change, phytoplankton community responses, and harmful algal blooms: aformidable predictive challenge. J. Phycol. 46: 220-235.

Harvey, H.W. 1934. Annual Variation of Planktonic Vegetation, 1933. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom (New Series) 19: 775-792.

Harvey, H.W., Cooper, L.H.N., Lebour, M.V. & Russell, F. S. 1935. Plankton Production and its Control. J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 20: 407-441.

Hastie, T.J. & Tibshirani, R.J. 1990. Generalized Additive Models pp. Londres.

Hays, G.C., Richardson, A.J. & Robinson, C. 2005. Climate change and marine plankton. Trends Ecol. Evol. 20: 337-344.

Hoepffner, N. & Sathyendranath, S. 1992. Bio-optical characteristics of coastal waters: Absorption spectra of phytoplankton and pigment distribution in the western North Atlantic. Limnol. Oceanogr. 37: 1660-1679.

Holm-Hansen, O., Lorenzen, C.J., Holmes, R.W. & Strickland, J.D.H. 1965. Fluorometric determination of chlorophyll. J. Cons. Int. Explor. Mer 30: 3-15.

Huertas, I.E., Rouco, M., López-Rodas, V. & Costas, E. 2011. Warming will affect phytoplankton differently: evidence through a mechanistic approach. Proc. R. Soc. Lond., Ser. B: Biol. Sci. in press.

I.P.C.C. 1991. Climate change: the IPCC response strategies. Island Press. 272 pp.

Irwin, A.J. & Finkel, Z.V. 2008. Mining a Sea of Data: Deducing the Environmental Controls of Ocean Chlorophyll. PLoS ONE 3: e3836.

Jardillier, L., Zubkov, M.V., Pearman, J. & Scanlan, D.J. 2010. Significant CO2 fixation by small prymnesiophytes in the subtropical and tropical northeast Atlantic Ocean. ISME J 4: 1180-1192.

Johnson, P.W. & Sieburth, J.M. 1979. Chroococcoid cyanobacteria in the sea: A ubiquitous and diverse phototrophic biomass. Limnol. Oceanogr. 24: 928-935.

Johnson, P.W. & Sieburth, J.M. 1982. In-situ morphology and occurrence of eucaryotic phototrophs of bacterial size in picoplankton of estuarine and oceanic waters. J. Phycol. 18: 318-327.

Jones, R.I. 1994. Mixotrophy in planktonic protists as a spectrum of nutritional strategies. Mar. Microbiol. Food Webs 8: 87-96.

Kana, T.M. & Glibert, P.M. 1988. Zeaxanthin and β–carotene in *Synechococcus* WH7803 respond differently to irradiance. Limnol. Oceanogr. 33: 1623-1627.

Kawachi, M., Inouye, I., Honda, D., O'Kelly, C.J., Bailey, J.C., Bidigare, R.R. & Andersen, R.A. 2002. The Pinguiophyceae classis nova, a new class of photosynthetic stramenopiles whose members produce large amounts of omega-3 fatty acids. Phycol. Res. 50: 31-47.

Keeling, P.J. 2010. The endosymbiotic origin, diversification and fate of plastids. Philos. Trans. R. Soc. Lond., Ser. B: Biol. Sci. 365: 729-748.

Kirk, J.T.O. 1994. Light and Photosynthesis in Aquatic Ecosystems. Cambridge University Press. 509 pp. Cambridge.

Kishino, M., Takahashi, M., Okami, N. & Ichimura, S. 1985. Estimation of the spectral absorption coefficients of phytoplankton in the sea. Bull. Mar. Sci. 37: 634-642.

Knoll, A.H., Summons, R.E., Waldbauer, J.R. & Zumberge, J.E. 2007. The Geological Succession of Primary Producers in the Oceans. En: Paul, G.F. & Andrew, H.K. (Eds.). Evolution of Primary Producers in the Sea**:** 133-163. Academic Press. Burlington.

Koblížek, M., Komenda, J., Masojídek, J. & Pechar, L. 2000. Cell aggregation of the Cyanobacterium *Synechococcus elongatus*: role of the electron transport chain. J. Phycol. 36: 662-668.

Kogan, M. 2005. Estudio de la Composición específica, abundancia y distribución espacial del microzooplancton (protozoos y micrometazoos) en esl estuario del Río de La Plata (Argentina-Uruguay). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires. 186 pp.

Lange, C.B., Negri, R.M. & Benavides, H.R. 1983. Algunas especies del genero *Thalassiosira*(Bacillariophyceae) del Mar Argentino. (Parte1). IHERINGIA. Ser. Bot. 31: 9-30.

Lepère, C., Vaulot, D. & Scanlan, D.J. 2009. Photosynthetic picoeukaryote community structure in the South East Pacific Ocean encompassing the most oligotrophic waters on Earth. Environ. Microbiol. 11: 3105-3117.

Levitus, S. 1982. Climatological Atlas of the World Ocean, GFDL, N. E. Princeton, N.J., NOAA/ERL GFDL. Professional Paper 13**:** 173.

Li, W.K.W. 1995. Composition of ultraphytoplankton in the central North Atlantic. Mar. Ecol. Prog. Ser. 122: 1-8.

Li, W.K.W. 1998. Annual average abundance of heterotrophic bacteria and Synechococcus in surface ocean waters. Limnol. Oceanogr. 43: 1746-1753.

Li, W.K.W. 2002. Macroecological patterns of phytoplankton in the northwestern north atlantic ocean. Nature 419: 154-157.

Li, W.K.W. 2009. From cytometry to macroecology: a quarter century quest in microbial oceanography. Aquat. Microb. Ecol. 57: 239-251.

Li, W.K.W. & Harrison, W.G. 2008. Propagation of an atmospheric climate signal to phytoplankton in a small marine basin. Limnol. Oceanogr. 53: 1734-1745.

Li, W.K.W., McLaughlin, F.A., Lovejoy, C. & Carmack, E.C. 2009. Smallest Algae Thrive As the Arctic Ocean Freshens. Science 326: 539-.

Lindell, D. & Post, A. 1995. Ultraphytoplankton succession is triggered by deep winter mixing in the Gulf of Aqaba (eliat), Red Sea. Limnol. Oceanogr. 40: 1130-1141.

Liu, H., Probert, I., Uitz, J., Claustre, H., Aris-Brosou, S., Frada, M., Not, F. & de Vargas, C. 2009. Extreme diversity in noncalcifying haptophytes explains a major pigment paradox in open oceans. Proceedings of the National Academy of Sciences 106: 12803-12808.

Lomas, M.W. & Gobler, C.J. 2004. Aureococcus anophagefferens research: 20 years and counting. Harmful Algae 3: 273-277.

Longhurst, A. 1995. Seasonal cycles of pelagic production and consumption. Prog. Oceanogr. 36: 77-167.

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

Lund, J.W.G., Kipling, C. & Le Cren, E.D. 1958. The inverted microscope method of estimating algal numbers and the statistical basis of estimations by counting. Hydrobiologia 11: 143-170.

Lutz, V.A., Subramaniam, A., Negri, M.R., Silva, R.I. & Carreto, J.I. 2006. Annual variations in bio-optical properties at the "Estación Permanente de Estudios Ambientales (EPEA)" coastal station, Argentina. Cont. Shelf Res. 26: 1093-1112.

Mackey, K., Rivlin, T., Grossman, A., Post, A. & Paytan, A. 2009. Picophytoplankton responses to changing nutrient and light regimes during a bloom. Mar. Biol. 156: 1531-1546.

Margalef, R. 1958. Temporal succession and spatial heterogeneity in phytoplankton. En: Buzzati-Traverso, A.A. (Ed.). Perspectives in Marine Biology**:** 323-349. University California Press. Berkeley.

Margalef, R. 1978. Life-forms of phytoplankton as survival alternatives in an unstable environment. Oceanol. Acta 1: 493-509.

Margulis, L. 1981. Symbiosis in Cell Evolution. Massachusetts, U.o. New York, W.H. Freeman**:** 452.

Massana, R., Guillou, L., Diez, B. & Pedros-Alio, C. 2002. Unveiling the Organisms behind Novel Eukaryotic Ribosomal DNA Sequences from the Ocean. Appl. Environ. Microbiol. 68: 4554-4558.

McDonald, S., Sarno, D., Scanlan, D. & Zingone, A. 2007. Genetic diversity of eukaryotic ultraphytoplankton in the Gulf of Naples during an annual cycle. Aquat. Microb. Ecol. 50: 75-89.

McGowan, J.A. 1990. Climate and change in oceanic ecosystems: The value of time-series data. Trends Ecol. Evol. 5: 293-299.

McIntyre, A. 2010. Life in the World's Oceans: Diversity, Distribution, and Abundance. John Wiley & Sons. 384 pp.

Medlin, L., Metfies, K., Mehl, H., Wiltshire, K. & Valentin, K. 2006. Picoeukaryotic Plankton Diversity at the Helgoland Time Series Site as Assessed by Three Molecular Methods. Microb. Ecol. 52: 53-71.

Mitchell, B.G. 1990. Algorithms for Determining the Absorption Coefficient of Aquatic Particulates Using the Quantitative Filter Technique (QFT). Ocean Optics X, Orlando, Florida, SPIE.

Moon-van der Staay, S.Y., De Wachter, R. & Vaulot, D. 2001. Oceanic 18S rDNA sequences from picoplankton reveal unsuspected eukaryotic diversity. Nature 409: 607-610.

Moran, X.A.G., LoPez-Urrutia, Á., Calvo-Diaz, A. & Li, W.K.W. 2010. Increasing importance of small phytoplankton in a warmer ocean. Global Change Biol. 16: 1137-1144.

Moreira, D. & López-García, P. 2002. The molecular ecology of microbial eukaryotes unveils a hidden world. Trends Microbiol. 10: 31-38.

Morel, A. 1997. Consequences of a *Synechococcus* bloom upon the optical properties of oceanic (case 1) waters. Limnol. Oceanogr. 42: 1746-1754.

Morel, A., Ahn, Y.-H., Partensky, F., Vaulot, D. & Claustre, H. 1993. *Prochlorococcus* and *Synechococcus*: A comparative study of their optical properties in relation to their size and pigmentation. J. Mar. Res. 51: 617-649.

Mura, M.P. & Agustí, S. 1998. Increased frequency of dividing cells of a phototrophic species of Cryptophyceae at a frontal structure off the Antarctic Peninsula. J. Plankton Res. 20: 2357-2367.

Nair, A., Sathyendranath, S., Platt, T., Morales, J., Stuart, V., Forget, M.-H., Devred, E. & Bouman, H. 2008. Remote sensing of phytoplankton functional types. Remote Sens. Environ. 112: 3366-3375.

Negri, R., Silva, R., Akselman, R., Carreto, J., Carignan, M., Costagliola, M., Cucchi Colleoni, D., Diaz, M., Diovisalvi, N., Hozbor, C., Leonarduzzi, E., Lutz, V.A., Montoya, N. & Viñas, M.D. 2006. Un florecimiento inusual en la estación EPEA (38º48'S - 57º41'W): Variación interanual de las condiciones ambientales y del plancton. VI Jornadas Nacionales de Ciencias del Mar. Puerto Madryn.

Negri, R.M., Akselman, R., Carignan, M.O., Cucchi Colleoni, A.D., Díaz, M.V., Diovisalvi, N., Hozbor, C., Leonarduzzi, E., Lutz, V.A., Molinari, G., Pájaro, M., Silva, R.I., Segura, V. & Viñas, M.D. 2010. Plankton Community and Environmental Conditions During a Mid Shelf Waters Intrusion and Upwelling at the EPEA Station (Argentina). 2010 The meeting of Ameritas, AGU. Foz de Iguacu, Brasil.

Negri, R.M., Carreto, J.I., Benavides, H.R., Akselman, R. & Lutz, V.A. 1992. An unusual bloom of *Gyrodinium* cf. *aureolum* in the Argentine sea: community structure and conditioning factors. J. Plankton Res. 14: 261-269.

Negri, R.M. & Silva, R.I. 2003. Contribución de las distintas fracciones del fitoplancton a la biomasa fototrófica durante un ciclo anual en la estación EPEA (38º28'S-57º41'W). Quintas Jornadas Nacionales de Ciencias del Mar Mar del Plata.

Negri, R.M., Silva, R.I. & Valiñas, M. 2003. Distribución de *Gephyrocapsa oceanica* (Haptophyta) en un sector de la plataforma Argentina (Atlántico Sudoccidental, 37-40 S). Bol. Soc. Argent. Bot. 38: 131-137.

Not, F., Latasa, M., Marie, D., Cariou, T., Vaulot, D. & Simon, N. 2004. A single species, Micromonas pusilla (Prasinophyceae), dominates the eukaryotic picoplankton in the Western English Channel. Appl. Environ. Microbiol. 70: 4064-4072.

Not, F., Valentin, K., Romari, K., Lovejoy, C., Massana, R., Töbe, K., Vaulot, D. & Medlin, L.K. 2007a. Picobiliphytes: A marine picoplanktonic algal group with unknown affinities to other eukaryotes. Science 315: 253-255.

Not, F., Zapata, M., Pazos, Y., Campaña, E., Doval, M. & Rodríguez, F. 2007b. Size-fractionated phytoplankton diversity in the NW Iberian coast: a combination of microscopic, pigment and molecular analyses. Aquat. Microb. Ecol. 49: 255-265.

Novarino, G., Mills, D.K. & Hannah, F. 1997. Pelagic flagellate populations in the southern North Sea, 1988-89. I. Qualitative observations. J. Plankton Res. 19: 1081-1109.

Novarino, G., Oliva, E. & Pérez-uz, B. 2002. Nanoplankton protists from the western Mediterranean Sea. I. Ocurrence, ultraestructure, taxonomy and ecological role of the mixotrophic flagellate *Ollicola vangoorii* (Chrysomonadidae = Chrysophyceae p.p.). Sci. Mar. 66: 233-247.

O'Brien, T.D. 2008. Standard analysis and visualization. en ICES Zooplankton Status Report 2006/2007,Copenhagen.8-14

Olson, R.J., Chisholm, S.W., Zettler, E.R. & Armbrast, E.V. 1990. Pigments, size, and distribution of Synechococcus in the North Atlantic and Pacific Oceans. Limnol. Oceanogr. 35: 45-58.

Olson, R.J., Zettler, E.R. & DuRand, M.D. 1993. Phytoplankton analysis using flow cytometry. En: Kemp, P.F., Sherr, B.F., Sherr, E.B. & Cole, J.J. (Eds.). Handbook of Methodology in Aquatic Microbial Ecology.**:** 175-186. Lewis Publishers. Boca Raton, FL.

Palenik, B., Brahamsha, B., Larimer, F.W., Land, M., Hauser, L., Chain, P., Lamerdin, J., Regala, W., Allen, E.E., McCarren, J., Paulsen, I., Dufresne, A., Partensky, F., Webb, E.A. & Waterbury, J. 2003. The genome of a motile marine Synechococcus. Nature 424: 1037-1042.

Palenik, B., Grimwood, J., Aerts, A., Rouzé, P., Salamov, A., Putnam, N., Dupont, C., Jorgensen, R., Derelle, E., Rombauts, S., Zhou, K., Otillar, R., Merchant, S.S., Podell, S., Gaasterland, T., Napoli, C., Gendler, K., Manuell, A., Tai, V., Vallon, O., Piganeau, G., Jancek, S., Heijde, M., Jabbari, K., Bowler, C., Lohr, M., Robbens, S., Werner, G., Dubchak, I., Pazour, G.J., Ren, Q., Paulsen, I., Delwiche, C., Schmutz, J., Rokhsar, D., Van de Peer, Y., Moreau, H. & Grigoriev, I.V. 2007. The tiny eukaryote Ostreococcus provides genomic

insights into the paradox of plankton speciation. P Natl. Acad. Sci. USA 104: 7705-7710.

Palenik, B., Ren, Q., Dupont, C.L., Myers, G.S., Heidelberg, J.F., Badger, J.H., Madupu, R., Nelson, W.C., Brinkac, L.M., Dodson, R.J., Durkin, A.S., Daugherty, S.C., Sullivan, S.A., Khouri, H., Mohamoud, Y., Halpin, R. & Paulsen, I.T. 2006. Genome sequence of Synechococcus CC9311: Insights into adaptation to a coastal environment. P Natl. Acad. Sci. USA 103: 13555-13559.

Partensky, F., Hess, W.R. & Vaulot, D. 1999. Prochlorococcus, a Marine Photosynthetic Prokaryote of Global Significance. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 63: 106-127.

Perez-Cenci, M., Covacevich, F., Silva, R., Berón, C., Negri, R. & Salerno, G.L. 2007. Identificación molecular de cianobacterias del genero Synechococcus en un ciclo anual en el Mar Argentino. XII Congreso Latinoamericano de Ciencias del Mar (COLACMAR). Florianopolis, Brasil.

Perez-Cenci, M., Silva, R., Negri, R., Caló, G. & Salerno, G.L. 2008. Genetic diversity of marine Synechococcus in the Southwest Atlantic Ocean. 7th European Workshop on Molecular Biology of Cyanobacteria. České Budejovice, Czech Republic.

Piola, A.R., Martínez Avellaneda, N., Guerrero, R.A., Jardón, F.P., Palma, E.D. & Romero, S.I. 2010. Malvinas-slope water intrusions on the northern Patagonia continental shelf. Ocean Sci. 6: 345-359.

Piola, A.R., Matano, R.P., Palma, E.D., Möller Jr, O.O. & Campos, E.J.D. 2005. The influence of the Plata River discharge on the western South Atlantic shelf. Geophys. Res. Lett. 32: 1-4.

Piola, A.R., Romero, S.I. & Zajaczkovski, U. 2008. Space-time variability of the Plata plume inferred from ocean color. Cont. Shelf Res. 28: 1556-1567.

Platt, T. & Li, K.W. 1986. Photosynthetic picoplankton. Canadian Bulletin of Fisheries and Aquatic Sciences. 583 pp. Canada.

Plisnier, P.D., Langenberg, V. & Mwape, L. 1996. Limnological sampling during an annual cycle at three stations on Lake Tanganyika (1993-1994), GCP/RAF/271/FIN-TD. 46**:** 136.

Pomeroy, L.R. 1974. The Ocean's food web, a changing paradigm. Bioscience 24: 499-504.

Potter, D., Lajeunesse, T.C., Saunders, G.W. & Anderson, R.A. 1997. Convergent evolution masks extensive biodiversity among marine coccoid picoplankton. Biodivers. Conserv. 6: 99-107.

Raven, J.A. 1998. The Twelfth Tansley Lecture, Small is Beautiful: The Picophytoplankton. Funct. Ecol. 12: 503-513.

Raven, J.A., Finkel, Z.V. & Irwin, A.J. 2005. Picophytoplankton: bottom-up and top-down controls on ecology and evolution. Vie Milieu 55: 209-215.

Reid, P.C., Edwards, M., Hunt, H.G. & Warner, A.J. 1998. Phytoplankton change in the North Atlantic. Nature 391: 546-546.

Reynolds, C.S. 1997. Vegatation Processes in the Pelagic: A Model for Ecosystem Theory. Ecology Institute. 371 pp. Oldendorf.

Reynolds, C.S. 2006. Ecology of phytoplankton. Cambridge University Press pp.

Richardson, A.J. & Schoeman, D.S. 2004. Climate Impact on Plankton Ecosystems in the Northeast Atlantic. Science 305: 1609-1612.

Riley, G.A. 1946. Factors controlling phytoplankton populations on Georges Bank. J. Mar. Res. 6: 54–73.

Romari, K. & Vaulot, D. 2004. Composition and temporal variability of picoeukaryote communities at a coastal site of the English Channel from 18S rDNA sequences. Limnol. Oceanogr. 49: 784-798.

Ryther, J.H. 1969. Photosynthesis and Fish Production in the Sea. Science 166: 72-76.

Sanahuja, G. 2007. Patrones de distribución de las anomalías de temperatura superficial en el Mar Argentino. Su relación con la distribución de especies de interés comercial. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad Nacional de Mar del Plata. Mar del Plata. 78 pp.

Santarpia, I. 2005. Ultraphytoplankton in marine ecosystems: from seasonal cycle to short term responses. Scienze ed Ingegneria del Mare. UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI "FEDERICO II". Napoles. 171 pp.

Sarmiento, J.L., Slater, R., Barber, R., Bopp, L., Doney, S.C., Hirst, A.C., Kleypas, J., Matear, R., Mikolajewicz, U., Monfray, P., Soldatov, V., Spall, S.A. & Stouffer, R. 2004. Response of ocean ecosystems to climate warming. Global Biogeochem. Cycles 18: GB3003.

Sathyendranath, S., Lazzara, L. & Prieur, L. 1987. Variations in the spectral values of specific absorption of phytoplankton. Limnol. Oceanogr. 32: 403-415.

Sathyendranath, S., Watts, L.J., Devred, E., Platt, T., Caverhill, C. & Maass, H. 2004. Discrimination of diatoms from other phytoplankton using ocean-colour data. Mar. Ecol. Prog. Ser. 272: 59-68.

Scanlan, D.J. 2003. Physiological diversity and niche adaptation in marine *Synechococcus*. Adv. Microb. Physiol. 47: 1-64.

Scanlan, D.J., Ostrowski, M., Mazard, S., Dufresne, A., Garczarek, L., Hess, W.R., Post, A.F., Hagemann, M., Paulsen, I. & Partensky, F. 2009. Ecological Genomics of Marine Picocyanobacteria. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 73: 249-299.

Shalchian-Tabrizi, K., Eikrem, W., Klaveness, D., Vaulot, D., Minge, M.A., Le Gall, F., Romari, K., Throndsen, J., Botnen, A., Massana, R., Thomsen, H.A. & Jakobsen, K.S. 2006. Telonemia, a new protist phylum with affinity to chromist lineages. Proc. R. Soc. Lond., Ser. B: Biol. Sci. 273: 1833-1842.

Sherr, E.B. & Sherr, B.F. 1988. Role of microbes in pelagic food webs: A revised concept. Limnol. Oceanogr. 33: 1225-1227.

Sherr, E.B. & Sherr, B.F. 1994. Bacterivory and herbivory: Key roles of phagotrophic protists in pelagic food webs. Microb. Ecol. 28: 223-235.

Shi, X.L., Marie, D., Jardillier, L., Scanlan, D.J. & Vaulot, D. 2009. Groups without Cultured Representatives Dominate Eukaryotic Picophytoplankton in the Oligotrophic South East Pacific Ocean. PLoS ONE 4: e7657.

Sicko-Goad, L. & Stoermer, E.F. 1984. The Need for Uniform Terminology Concerning Phytoplankton Cell Size Fractions and Examples of Picoplankton from the Laurentian Great Lakes. J. Great Lakes Res. 10: 90-93.

Sieburth, J.M., Smetacek, V. & Lenz, J. 1978. Pelagic ecosystem structure: heterotrophic compartments of the plankton and their relationship to plankton size fractions. Limnol. Oceanogr. 23: 1256-1263.

Silva, R., Negri, R. & Lutz, V. 2009. Summer succession of ultraphytoplankton at the EPEA coastal station (Northern Argentina). J. Plankton Res. 31: 447-458.

Silva, R.I. 1999. Biomasa del picoplancton fototrófico en aguas de la plataforma bonaerense entre Necoche y Mar del Plata. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad Nacional de Mar del Plata. Mar del Plata. 27 pp.

Silva, R.I., Negri, R.M. & Lutz, V.A. 2003. Dinámica del picoplancton fototrófico en una estación permanente costera en la plataforma Bonaerense. Quintas Jornadas Nacionales de Ciencias del Mar. Mar del Plata.

Simek, J., Bobkova, J., Macek, M., Nedoma, J. & Psenner, R. 1995. Ciliate grazing on picoplankton in a eutrophic reservoir during the summer phytoplankton maximum: A study at the species and community level. Limnol. Oceanogr. 40: 1077-1090.

Skovgaard, A. 1998. Role of chloroplast retention in a marine dinoflagellate. Aquat. Microb. Ecol. 15: 293-301.

Smayda, T. 1980. Phytoplankton species succession. En: Morris, I. (Ed.). The Physiological Ecology of Phytoplankton: 7. Blackwell Scientific Publications.

Smayda, T.J. 1997. Harmful algal blooms: Their ecophysiology and general relevance to phytoplankton blooms in the sea. Limnol. Oceanogr. 42: 1137-1153.

Smayda, T.J. 1998. Patterns of variability characterizing marine phytoplankton, with examples from Narragansett Bay. ICES J. Mar. Sci. 55: 562-573.

Smayda, T.J., Borkman, D.G., Beaugrand, G. & Belgrano, A. 2005. Responses of marine phytoplankton populations to fluctuations in marine climate. En: Stenseth, N.C. & Ottersen, G. (Eds.). Marine Ecosystems and Climate Variation. Oxford. New York.

Smetacek, V. & Cloern, J.E. 2008. On Phytoplankton Trends. Science 319: 1346-1348.

Sommer, U. & Lengfellner, K. 2008. Climate change and the timing, magnitude, and composition of the phytoplankton spring bloom. Global Change Biol. 14: 1199-1208.

Sommer, U. & Lewandowska, A. 2010. Climate change and the phytoplankton spring bloom: warming and overwintering zooplankton have similar effects on phytoplankton. Global Change Biol.: 154-162.

Stanier, R.Y. & Bazine, G.C. 1977. Phototrophic Prokaryotes: The Cyanobacteria. Annu. Rev. Microbiol. 31: 225-274.

Stenseth, N.C., Llope, M., Anadón, R., Ciannelli, L., Chan, K.-S., Hjermann, D.Ø., Bagøien, E. & Ottersen, G. 2006. Seasonal plankton dynamics along a cross-shelf gradient. Proc. R. Soc. Lond., Ser. B: Biol. Sci. 273: 2831-2838.

Stenseth, N.C., Mysterud, A., Ottersen, G., Hurrell, J.W., Chan, K.-S. & Lima, M. 2002. Ecological Effects of Climate Fluctuations. Science 297: 1292-1296.

Stenseth, N.C., Ottersen, G., Hurrell, J.W. & Belgrano, A. 2005. Marine Ecosystems and Climate Variation The North Atlantic: A Comparative Perspective Oxford University press. 267 pp. New York.

Stenseth, N.C., Ottersen, G., Hurrell, J.W., Mysterud, A., Lima, M., Chan, K.S., Yoccoz, N.G. & Ådlandsvik, B. 2003. Review article. Studying climate effects on ecology through the use of climate indices: the North Atlantic Oscillation, El Niño Southern Oscillation and beyond. Proc. R. Soc. Lond., Ser. B: Biol. Sci. 270: 2087-2096.

Stockner, J.G. 1988. Phototrophic picoplankton: An overview from marine and freshwater ecosystems. Limnol. Oceanogr. 33: 765-775.

Stockner, J.G. & Antia, N.J. 1986. Algal picoplankton from marine and freshwater ecosystems: a multidisciplinary perspective. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 43: 2472-2503.

Stoecker, D., Johnson, M., deVargas, C. & Not, F. 2009. Acquired phototrophy in aquatic protists. Aquat. Microb. Ecol. 57: 279-310.

Stoecker, D.K., Silver, M.W., Michaels, A.E. & Davis, L.H. 1988. Enslavement of algal chloroplasts by four Strombidium spp. (Ciliophora, Oligotrichida). Mar. Microbiol. Food Webs 3: 79-100.

Stolte, W., Kraay, W.G., Noordeloos, A.A.M. & Riegman, R. 2000. Genetic and physiological variation in pigment composition of *Emiliania huxleyi*

(Prymnesiophyceae) and the potential use of its pigment ratios as a quantitative physiological marker. J. Phycol. 36: 529-539.

Sverdrup, H.U. 1953. On conditions for the vernal blooming of phytoplankton. J. Cons. Perm. Int. Explor. Mer 18: 287-295.

Tai, V., Burton, R. & Palenik, B. 2011. Temporal and spatial distributions of marine *Synechococcus* in the Southern California Bight assessed by hybridization to bead-arrays. Mar. Ecol. Prog. Ser. 426: 133-147.

Tai, V. & Palenik, B. 2009. Temporal variation of Synechococcus clades at a coastal Pacific Ocean monitoring site. ISME J 3: 903-915.

Tamigneaux, E., Vazquez, E., Mingelbier, M., Klein, B. & Legendre, L. 1995. Environmental control of phytoplankton assemblages in nearshore marine waters, with special emphasis on phototrophic ultraplankton. J. Plankton Res. 17: 1421-1447.

Thomsen, H.A. 1986. A survey of the smallest eucaryotic organisms of the marine phytoplankton. En: Platt, T. & Li, W.K.W. (Eds.). Photosynthetic Picoplankton: 214**:** 121-158. Canadian Bulletin of Fisheries and Aquatic Sciences. Ottawa.

Throndsen, J. 1978. Productivity and abundance of ultra- and nanoplankton in oslofjorden. Sarsia 63: 273-284.

Tilzer, M.M. 1987. Light-dependence of photosynthesis and growth in cyanobacteria: Implications for their dominance in eutrophic lakes. N. Z. J. Mar. Freshwat. Res. 21: 401 - 412.

Trathan, P.N., Forcada, J. & Murphy, E.J. 2007. Environmental forcing and Southern Ocean marine predator populations: effects of climate change and variability. Philos. Trans. R. Soc. Lond., Ser. B: Biol. Sci. 362: 2351-2365.

Uitz, J., Claustre, H., Gentili, B. & Stramski, D. 2010. Phytoplankton class-specific primary production in the world's oceans: Seasonal and interannual variability from satellite observations. Global. Biogeochem. Cy. 24: GB3016.

Unrein, F., Massana, R., Alonso-Sáez, L. & Gasol, J.M. 2007. Significant year-round effect of small mixotrophic flagellates on bacterioplankton in an oligotrophic coastal system. Limnol. Oceanogr. 52: 456-469.

Urbach, E., Scanlan, D., J. , Distel, D., L. , Waterbury, J., B. & Chisholm, S., W. 1998. Rapid Diversification of Marine Picophytoplankton with Dissimilar Light-Harvesting Structures Inferred from Sequences of Prochlorococcus and Synechococcus (Cyanobacteria). J. Mol. Evol. 46: 188-201.

Verity, P.G. & Sieracki, M.E. 1993. Use of color image analysis and epifluorescence microscopy to measure plankton biomass. En: Kemp, P.F., Sherr, B.F., Sherr, E.B. & Cole, J.J. (Eds.). Handbook of Methodology in Aquatic Microbial Ecology**:** 187-197. Lewis Publishers. Boca Raton.

Von Storch, H. & Zwiers, F.W. 1999. Introduction Statistical Analysis in Climate Research. Cambridge University Press. 484 pp.

Vørs, N., Buck, K.R., Chavez, F.P., Eikrem, W., Hansen, L.E., Østergaard, J.B. & Thomsen, H.A. 1995. Nanoplankton of the equatorial Pacific with emphasis on the heterotrophic protists. Deep Sea Res. (II Top. Stud. Oceanogr.) 42: 585-595.

Waterbury, J.B., Watson, S.W., Guillard, R.R.L. & Brand., L.E. 1979. Widespread occurrence of a unicellular marine planktonic cyanobacterium. Nature 277: 293-294.

Waterbury, J.B., Watson, S.W., Valois, F.W. & D., F. 1986. Biological and ecological characterization of the marine unicellular cyanobacterium *Synechococcus*. En: Platt, T. & Li, W.K.W. (Eds.). Photosynthetic picoplankton: 214**:** 71-120. Canadian Bulletin of Fisheries and Aquatic Sciences.

Weisse, T. 1993. Dynamics of autotrophic picoplankton in marine and freshwater ecosystems. Adv. Microb. Ecol. 13: 327-370.

Whitton, B.A. & Potts, M. 2000. The ecology of cyanobacteria: their diversity in time and space. Kluwer Academic. 669 pp.

Widdicombe, C.E., Eloire, D., Harbour, D., Harris, R.P. & Somerfield, P.J. 2010. Long-term phytoplankton community dynamics in the Western English Channel. J. Plankton Res. 32: 643-655.

Witman, J.D. & Roy, K. 2009. Marine Macroecology. University of Chicago Press. 440 pp. Chicago.

Woese, C., Kandler, O. & Wheelis, M. 1990. Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87: 4576 - 4569.

Wood, S.N. 2006. Generalized additive models: an introduction with R. Chapman & Hall/CRC. 391 pp.

Wood, S.N. & Augustin, N.H. 2002. GAMs with integrated model selection using penalized regression splines and applications to environmental modelling. Ecol. Model. 157: 157-177.

Worden, A.Z., Lee, J.-H., Mock, T., Rouze, P., Simmons, M.P., Aerts, A.L., Allen, A.E., Cuvelier, M.L., Derelle, E., Everett, M.V., Foulon, E., Grimwood, J., Gundlach, H., Henrissat, B., Napoli, C., McDonald, S.M., Parker, M.S., Rombauts, S., Salamov, A., Von Dassow, P., Badger, J.H., Coutinho, P.M., Demir, E., Dubchak, I., Gentemann, C., Eikrem, W., Gready, J.E., John, U., Lanier, W., Lindquist, E.A., Lucas, S., Mayer, K.F.X., Moreau, H., Not, F., Otillar, R., Panaud, O., Pangilinan, J., Paulsen, I., Piegu, B., Poliakov, A., Robbens, S., Schmutz, J., Toulza, E., Wyss, T., Zelensky, A., Zhou, K., Armbrust, E.V., Bhattacharya, D., Goodenough, U.W., Van de Peer, Y. & Grigoriev, I.V. 2009. Green Evolution and Dynamic Adaptations Revealed by Genomes of the Marine Picoeukaryotes Micromonas. Science 324: 268-272.

Worden, A.Z., Palenik, B. & Nolan, J.K. 2004. Assessing the dynamics and ecology of marine picophytoplankton: The importance of the eukaryotic component. Limnol. Oceanogr. 49: 168-179.

Yarincik, K. & O'Dor, R. 2005. The Census of Marine Life: goals, scope and strategy. Sci. Mar. 69: 201-208.

Yentsch, C.M. 1962. Measuretment of visible light absorption by particulate matter in the ocean. Limnol. Oceanogr. 7: 207-217.

Yentsch, C.M. & Spinrad, R.W. 1987. Particles in flow. Mar. Technol. Soc. J. 21: 58-68.

Zarauz, L., Irigoien, X. & Fernandes, J.A. 2008. Modelling the influence of abiotic and biotic factors on plankton distribution in the Bay of Biscay, during three consecutive years (2004–06). J. Plankton Res. 30: 857-872.

Zarauz, L., Irigoien, X., Urtizberea, A. & Gonzalez, M. 2007. Mapping plankton distribution in the Bay of Biscay during three consecutive spring surveys. Mar. Ecol. Prog. Ser. 345: 27-39.

Zhai, L., Platt, T., Tang, C., Sathyendranath, S., Fuentes-Yaco, C., Devred, E. & Wu, Y. 2010. Seasonal and geographic variations in phytoplankton losses from the mixed layer on the Northwest Atlantic Shelf. J. Mar. Syst. 80: 36-46.

Zingone, A. & Oksfeldt, E.H. 2000. The diversity of harmful algal blooms: a challenge for science and management. Ocean Coast. Manage. 43: 725-748.

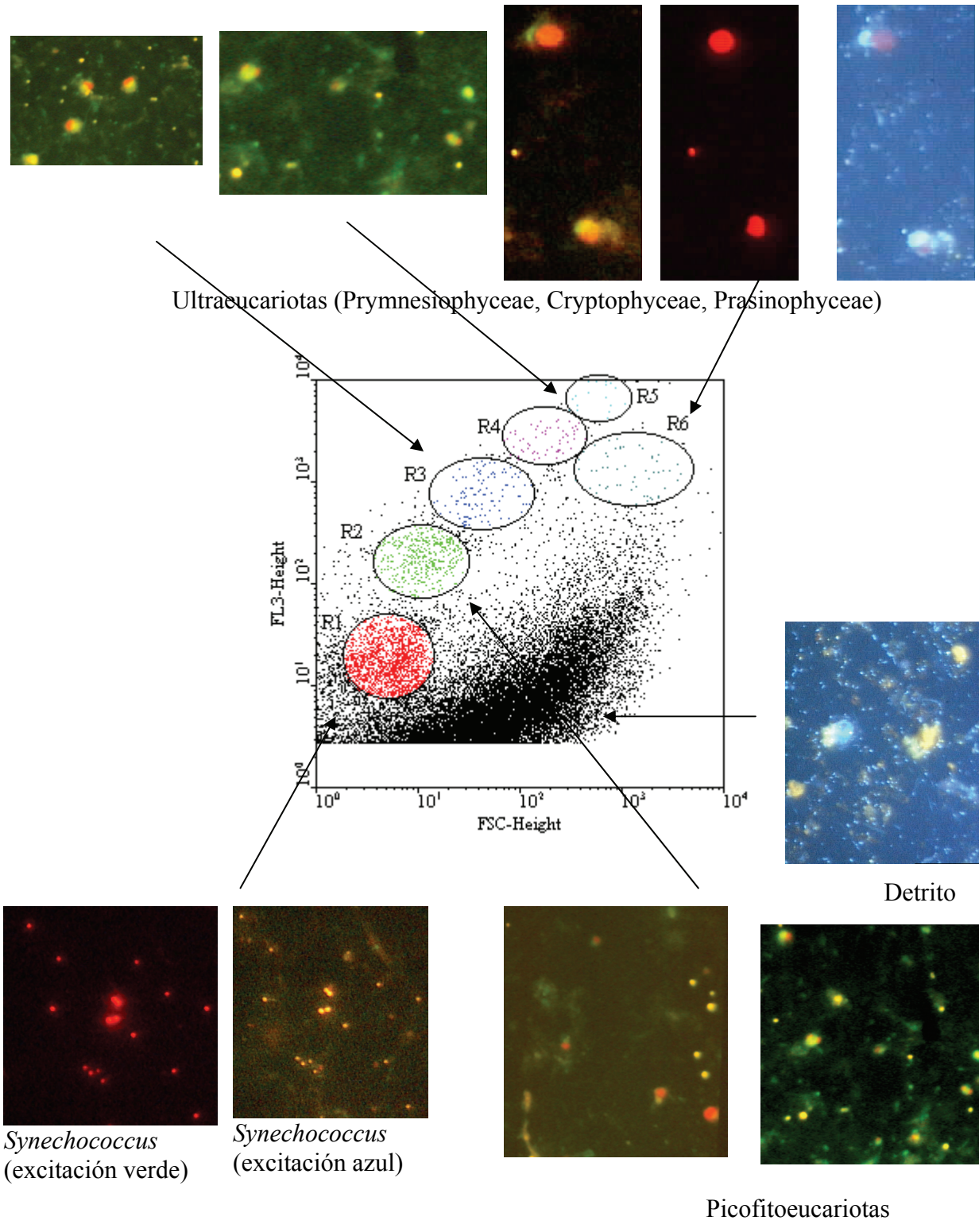
Zingone, A., Phlips, E. & Harrison, P. 2010. Multiscale Variability of Twenty-Two Coastal Phytoplankton Time Series: a Global Scale Comparison. Estuar. Coast. 33: 224-229.

Zuur, A.F., Ieno, E.N. & Elphick, C.S. 2010. A protocol for data exploration to avoid common statistical problems. Meth. Ecol. Evol. 1: 3-14.

Zwirglmaier, K., Heywood, J.L., Chamberlain, K., Woodward, E.M.S., Zubkov, M.V. & Scanlan, D.J. 2007. Basin-scale distribution patterns of picocyanobacterial lineages in the Atlantic Ocean. Environ. Microbiol. 9: 1278-1290.

ANEXO A

Figura A1. Ejemplo de citograma de los componentes del ultrafitoplancton (Capítulo II) obtenido con el citómetro de flujo FACScalibur (Beckton-Dickinson) FSC (Forward Side Scatter): estimador de tamaño; FL3: fluorescencia de la clorofila.



ANEXO B

Tabla B.1: Abundancia celular (Células x ml^{-1}) de los componentes del ultrafitoplancton de la serie de datos (2000 – 2009) a la profundidad de 5 m en la EPEA.

Fecha	*Synechococcus*	Picofitoeucariotas	tipo *Chrysochromulina*	Criptofitas	Ultrafitoplancton SP
03-02-00	151104	614	95	0	236
09-03-00	24877	1777	265	0	302
29-03-00	9754	529	76	340	227
25-04-00	13724	265	38	1361	189
10-05-00	5415	454	76	208	378
24-05-00	4335	643	76	479	718
07-06-00	2117	870	189	662	567
14-07-00	6843	5312	378	529	491
08-08-00	4102	1853	113	284	113
08-09-00	1834	7127	1078	284	964
28-09-00	964	529	756	208	227
18-10-00	1078	3554	1550	189	151
03-11-00	1456	491	321	19	95
17-11-00	12401	2514	1720	189	1437
01-12-00	12628	1342	2174	38	397
14-12-00	15425	4159	2079	151	38
09-01-01	15501	2231	2609	38	567
29-01-01	16030	151	1134	0	227
17-02-01	86093	76	38	113	491
14-03-01	47108	1664	113	151	870
10-04-01	128545	756	416	76	227
06-06-01	1009	1009	672	67	2421
12-12-01	11758	76	38	76	1285
30-01-02	86390	227	1474	76	3819
27-02-02	29565	8091	529	76	1474
13-03-02	20151	3554	416	227	1323
12-04-02	13686	567	945	0	870
03-05-02	4802	1550	189	0	1588
28-06-02	5747	1739	76	454	870
15-08-02	8544	2193	567	189	1626
13-09-02	10435	1777	529	416	1172
27-03-03	21361	4613	794	189	1664
16-05-03	1550	794	302	870	1588
12-06-03	6957	2457	454	945	1664
02-07-03	4386	1021	38	378	605
17-09-03	1588	151	113	265	340
03-10-03	756	265	681	151	2004
04-11-03	10170	1096	454	0	794
03-12-03	11569	1021	340	0	3781
18-12-03	29717	1512	1210	0	1777
12-01-04	29036	1474	227	0	2193
06-02-04	171192	1323	718	0	681
25-02-04	53098	2420	454	0	1626

28-04-04	4575	718	113	227	1285
28-05-04	8544	6730	265	832	454
28-06-04	4499	3176	340	416	302
21-07-04	5104	643	1361	265	1323
31-08-04	1512	1664	1172	0	718
24-09-04	113	265	529	0	227
27-12-04	41232	1664	5	38	4
04-03-05	112666	2079	151	0	189
22-03-05	35841	2306	189	378	454
01-07-05	3062	3592	681	832	1210
17-08-05	1285	794	302	227	1096
15-09-05	400	794	378	265	567
08-10-05	3932	416	189	38	302
28-10-05	832	1890	7448	76	2647
22-11-05	22533	38	15614	0	38
15-02-06	36351	1291	1012	0	105
10-03-06	79074	3733	1047	70	593
22-03-06	25025	3349	140	0	209
01-09-06	1919	872	209	209	70
05-09-06	3314	1605	35	0	419
30-10-06	1675	2268	2896	0	38
29-11-06	11129	2163	488	0	1500
27-12-06	90703	2442	1500	35	1012
15-01-07	42062	384	314	0	244
01-03-07	118332	6279	1047	0	2302
02-07-07	1535	733	279	209	698
17-10-07	872	4710	733	0	70
10-10-08	663	1221	314	0	1814
20-11-08	17934	1036	109	109	1417
17-12-08	36358	22022	218	218	4470
21-01-09	16843	818	545	55	1363
12-02-09	86561	7086	545	0	436
23-03-09	104440	4579	2398	55	327
29-04-09	16843	6105	1417	273	491
10-06-09	4742	5778	491	109	273
26-06-09	3325	1417	55	273	709
06-08-09	4906	3543	1199	164	872

Tabla B.2: Estadística descriptiva de toda la serie de datos (2000 – 2009) de la abundancia (Células x ml^{-1}) de los distintos componentes del ultrafitoplancton a la profundidad de 5 m en la EPEA.

Grupo	**media**	**máximo**	**mínimo**
Synechococcus	25569	171192	113
Picofitoeucariotas tipo *Chrysochromulina*	2325	22022	38
	903	15614	5
Criptofitas	188	1361	0
Ultrafitoplancton SP	929	4470	4