

# **Tipos pigmentarios en la estación de serie temporal EPEA: un abordaje quimiotaxonómico al estudio de la comunidad del fitoplancton y de especies potencialmente nocivas**

M. Guillermina Ruiz, M. Belén Mattera, Mario C. Carignan, Macarena

*El presente trabajo ha sido aprobado para su publicación el 31-03-2022 por NOTA GDE Nro.*

Citar como:

Ruiz M.G, Mattera M.B., Carignan, M.C., Albornoz M y Montoya N.G. 2022. Tipos pigmentarios en la estación de serie temporal EPEA: un abordaje quimiotaxonómico al estudio de la comunidad del fitoplancton y de especies potencialmente nocivas. Inf Invest INIDEP N° 038/22, 21 pp.





# Tipos pigmentarios en la estación de serie temporal EPEA: un abordaje quimiotaxonómico al estudio de la comunidad del fitoplancton y de especies potencialmente nocivas

M. Guillermina Ruiz, M. Belén Mattera, Mario C. Carignan, Macarena Albornoz y Nora G. Montoya

Programa Química Marina y Marea Roja, Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero.

## Resumen

Se caracterizó la composición, abundancia y estructura de tamaños de la comunidad del fitoplancton en la Estación Permanente de Estudios Ambientales (EPEA, 38°28'S 57°41'O) por medio de un abordaje quimiotaxonómico entre los años 2000-2005 y 2012-2019. Se identificó el ciclo anual de la diversidad de pigmentos determinados por cromatografía líquida de alta performance (HPLC) y de variables ambientales (nutrientes, temperatura y estratificación de la columna de agua). El programa CHEMTAX se utilizó para estimar la abundancia en términos de contribución a la concentración de clorofila *a* de los distintos tipos pigmentarios del fitoplancton (TPFs). Se compararon dos índices pigmentarios para estimar fracciones de tamaño de la comunidad del fitoplancton a lo largo del ciclo anual, lo que indicó que el nanoplancton parece ser la fracción dominante. Se observó que la columna de agua en la EPEA está mayormente mezclada, con temperaturas mínimas entre julio y septiembre y máximas entre enero-febrero, en un rango de 8-24°C. El nitrato fue el nutriente limitante, con concentraciones mínimas al final del verano. La concentración nitrato varía en un rango de 0,01 – 13,33  $\mu\text{M}$  con máximos en agosto, la de silicato entre 0,016 – 10,670  $\mu\text{M}$  sin variaciones estacionales marcadas, la de nitrito osciló en un rango de 0,01 – 1,91  $\mu\text{M}$  y la de fosfato entre 0,120 – 2,180  $\mu\text{M}$ , con un ligero incremento hacia el mes de julio. Fucoxantina, peridina, prasinoxantina, alloxantina, clorofila *b*, 19'-hexanoil-oxi-fucoxantina y 19'-butanoil-oxi-fucoxantina fueron los pigmentos más frecuentes. Los tipos pigmentarios fitoplanctónicos DYNO-1 (dinoflagelados con peridina), HAPTO-6, HAPTO-7, HAPTO-8 y PELAGO-1 mostraron un ciclo estacional con picos en otoño y primavera, mientras que los grupos DIATO-1 y DIATO-2 tuvieron máximos en invierno principalmente. Este trabajo constituye la primera descripción de la variabilidad en la abundancia de los principales TPFs en la estación EPEA a lo largo del ciclo anual, demostrando el poder de la quimiotaxonomía y del programa CHEMTAX en el análisis descriptivo de una serie temporal conformada por un número elevado de muestras.

## Palabras Clave

Pigmentos fitoplanctónicos, nutrientes, dinoflagelados, CHEMTAX, EPEA.

## Introducción

La composición de las comunidades del fitoplancton es variable en tiempo y espacio, abarcando numerosos taxones y varios órdenes de magnitud en tamaño celular. La concentración de clorofila *a* (Chl<sub>a</sub>) en el agua de mar (expresada en  $\text{mgm}^{-3}$ ) es el indicador de biomasa del fitoplancton más utilizado, a pesar de que no aporta información sobre la composición de la comunidad ni de las funciones del fitoplancton en el ecosistema. A su vez, es un indicador sesgado debido a la variabilidad en el contenido celular de clorofila y de la relación C:Chl<sub>a</sub> en los distintos tipos de fitoplancton. El desarrollo de métodos analíticos en cromatografía líquida de alta performance (HPLC) ha permitido separar, identificar y cuantificar la diversidad de pigmentos del fitoplancton con alta precisión y reproducibilidad. Conforme se fueron descubriendo y caracterizando nuevos pigmentos en los distintos taxones de algas, la quimiotaxonomía se estableció como una herramienta muy potente para estudiar las comunidades de fitoplancton de forma rápida, superando



algunas de las limitaciones de la microscopía, como la alta demanda de tiempo y experticia o la subestimación de taxones que no resisten la conservación o carecen de rasgos identificatorios.

La quimiotaxonomía se basa en la existencia de pigmentos marcadores asignables a diferentes niveles taxonómicos, generalmente al nivel de clase y excepcionalmente al nivel de género y especie (Jeffrey et al. 1997). En general los pigmentos marcadores tienen una distribución restringida a una clase algal, como los carotenoides alloxantina (Allo) a las criptofitas, y peridina (Peri) a los dinoflagelados. En otros casos, es una combinación de pigmentos la que establece la capacidad marcadora. Son pocos los casos en los que un único pigmento es marcador de una única especie o género, como por ejemplo las formas divinílicas de las clorofilas *a* y *b* en la cianobacteria *Prochlorococcus marinus* (Jeffrey et al. 1997). La interpretación de los pigmentos hallados en una muestra natural requiere el conocimiento de los pigmentos característicos y sus concentraciones relativas típicas en cada grupo o tipo pigmentario fitoplanctónico (TPF) aislado. Uno de los principales obstáculos de esta aproximación se presenta cuando dos TPFs o más comparten su perfil pigmentario y deben considerarse las relaciones pigmento:Chl<sub>a</sub> para diferenciarlos, lo cual introduce un mayor margen de error.

Para determinar la contribución de cada tipo pigmentario del fitoplancton al total de la Chl<sub>a</sub> de una muestra, Mackey et al. (1996) propusieron un método de análisis factorial denominado "CHEMTAX" a partir de la determinación de clorofilas y carotenoides por HPLC. Este análisis permite estimar la abundancia relativa de los distintos tipos pigmentarios presentes en las muestras, lo cual requiere conocer previamente qué tipos pigmentarios están presentes y las relaciones pigmento:Chl<sub>a</sub> de sus pigmentos marcadores. Si bien se conoce que las relaciones de pigmento:Chl<sub>a</sub> dentro de un tipo pigmentario pueden variar como consecuencia de procesos de fotoadaptación y fotoaclimatación, cambios estacionales en el ambiente lumínico o en la disponibilidad de nutrientes (Schlüter et al. 2000), CHEMTAX es una muy buena aproximación a la estimación de la biomasa de los distintos tipos pigmentarios. Este análisis ha sido utilizado ampliamente en distintos ambientes incluido el Atlántico Sur (Carreto et al. 2003; Carreto et al. 2016; Goela et al. 2013; Nunes et al. 2019; Wright et al. 2002).

A partir de la concentración de pigmentos se han desarrollado distintas ecuaciones para estimar de forma indirecta la proporción de las fracciones de tamaño del fitoplancton (clasificación propuesta por Sieburth et al. (1978): picoplancton <2 µm, nanoplancton 2-20 µm y microplancton >20 µm). La microscopía óptica y filtración fraccionada por tamaño han evidenciado que algunos taxones mayores de algas están mayormente representados en alguna de estas tres clases de tamaño, como por ejemplo las cianobacterias en el picoplancton o las criptofitas en el nanoplancton. Visussi et al. (2001) propusieron un método para estimar la proporción relativa de estas tres clases basado en 7 pigmentos diagnósticos (DPs) determinados por HPLC. El método amplía el concepto propuesto por Claustre et al. (1994) para estimar la proporción de diatomeas y dinoflagelados y se fundamenta en la relación lineal que existe entre la suma de los DPs y la concentración de Chl<sub>a</sub>. Posteriormente, Uitz et al. (2006), teniendo en cuenta que las relaciones naturales entre los DPs y la Chl<sub>a</sub> es distinta a la unidad, mejoraron el método de Vidussi e incorporaron coeficientes ponderados a los mismos 7 DPs, lo que le permitió obtener ecuaciones para calcular el aporte a la concentración de Chl<sub>a</sub> de cada una de estas clases de tamaño. Los "índices de Uitz" se han usado en numerosos estudios desde 2006 a la actualidad, sus supuestos han sido revisados y se han propuesto nuevas ecuaciones ajustando los coeficientes de los DPs (Hirata et al. 2008; Devred et al. 2011). Recientemente, Chase et al. (2020) propusieron nuevas ecuaciones para estimar las fracciones de tamaño del fitoplancton usando DPs, basadas en estudios que aplican citometría de flujo para estimar con menor incerteza el tamaño de células individuales.

La quimiotaxonomía permite caracterizar la diversidad, así como identificar la presencia de tipos pigmentarios a los que pertenecen especies del fitoplancton potencialmente tóxicas. A lo largo de la costa bonaerense se han registrado en distintas oportunidades brotes de toxina paralizante de



molusco asociado a floraciones de los dinoflagelados tóxicos *Gymnodinium catenatum* y *Alexandrium tamarense* y brotes de toxinas lipofílicas asociados a la presencia de *Dinophysis acuminata* y *D. caudata*, los cuales derivaron en el establecimiento de vedas para la extracción de moluscos bivalvos (Sunesen et al. 2008). En particular, en la Estación Permanente de Estudios Ambientales (EPEA), una serie temporal ecológica ubicada en la costa bonaerense en el Atlántico Sudoccidental, se registraron en el año 2000 la floración otoñal de *Gymnodinium catenatum* y la floración primaveral de *A. tamarense*, ambas con altos niveles de toxicidad (Carreto et al. 2004). Recientemente se reportó en el área la presencia de especies del género *Dinophysis* sp. y un bloom del género *Azadinium* sp. (Negri 2019; Lutz 2019), especies asociadas con la producción de toxina diarreaica de molusco y toxina azaspirácido y en noviembre de 2021 se estableció en la costa uruguaya veda al consumo de moluscos debido a la floración de *D. acuminata* y la presencia de altos niveles de toxina diarreaica en el tejido de los mismos.

El análisis por medio de pigmentos marcadores y CHEMTAX para complementar las observaciones por microscopía es cada vez más utilizado en la descripción de la sucesión del fitoplancton series temporales en distintos ambientes (Fragoso et al. 2021, Irigoien et al. 2004). En la EPEA, la sucesión de las especies del fitoplancton ha sido descrita únicamente para las fracciones del ultrafitoplancton (2-5  $\mu\text{m}$ ) y picoplancton (Silva et al. 2009; Silva 2011) mediante estudios de microscopía de fluorescencia.

En este trabajo se caracterizó el ciclo anual de la diversidad y abundancia del fitoplancton en la EPEA mediante la aproximación quimiotaxonómica (diversidad de pigmentos y CHEMTAX) y de las condiciones ambientales, con el fin de caracterizar la comunidad del fitoplancton y evidenciar las condiciones en las que ocurren los principales tipos pigmentarios fitoplanctónicos productores de toxinas (dinoflagelados y diatomeas *Pseudo-nitzschia*). Para esto se analizó una serie de datos de concentraciones de pigmentos de fitoplancton determinadas por HPLC (período 2000-2005 y 2012-2019) y de concentraciones de nutrientes (período 1994-2019) en muestras obtenidas a diferentes profundidades. Los objetivos particulares fueron: 1) caracterizar el ciclo anual de las condiciones ambientales y de la diversidad de pigmentos del fitoplancton en la EPEA, 2) describir el ciclo anual de los tipos pigmentarios de fitoplancton utilizando el análisis de CHEMTAX, 3) describir la estructura de tamaño de la comunidad del fitoplancton usando DPs y 4) discutir cuáles son los principales factores ambientales que impulsan la sucesión estacional de los tipos pigmentarios, con énfasis en el seguimiento de los grupos de fitoplancton potencialmente tóxicos.

## ***Materiales y métodos***

### ***Muestreo en el sitio de estudio***

En 1994 el proyecto “Marea Roja” del INIDEP inició un monitoreo periódico en la posición 38°28' S 57°41' O con el fin de monitorear eventos de floraciones algales nocivas (“FAN”) por medio del análisis de la composición del fitoplancton en busca de especies tóxicas y su relación con variables ambientales. A partir del año 2000 el Programa “Dinámica del Plancton Marino y Cambio Climático” (DiPlaMCC) amplió los estudios incorporando otras variables. Típicamente, el muestreo de agua se realizó con botellas Niskin de 4 litros asociadas a una roseta con CTD. Las profundidades de muestreo fueron 0 y 5 m, la profundidad del máximo de fluorescencia y una profundidad por debajo del mismo antes del fondo (profundidad máxima en la EPEA = 48 m). Se consultó la Base Regional de Datos Oceanográficos BaRDO del INIDEP ([www.inidep.edu.ar](http://www.inidep.edu.ar)) para obtener perfiles de temperatura y el parámetro de Simpson equivalente a la anomalía de energía potencial, el cual es indicativo del grado de homogenización o estratificación de la columna de agua. En este informe se incluyeron datos de CTD y de concentración de nutrientes obtenidos durante el período 1994-2019 y datos de pigmentos de fitoplancton obtenidos entre 2000-2005 y 2012-2019.

Sucesión de tipos pigmentarios del fitoplancton en la serie EPEA



### ***Determinación de la concentración de nutrientes***

Los macronutrientes nitrato, nitrito, fosfato y silicato fueron analizados utilizando dos autoanalizadores diferentes: autoAnalyzer II Technicon (años 1994-2018) y SKALAR San++ (año 2019). El método utilizado para el análisis de nitrato y nitrito corresponde a una modificación del método original de Armstrong et al. (1967) (Skalar Methods, Catnr. 461-032). El método utilizado para el análisis de fosfato es una modificación del procedimiento original de Murphy y Riley (1962), (Skalar Methods, Catnr. 503-010w/r), mientras que para el análisis de silicato el método se basó en el descrito por Grasshoff et al. (1983) (SkalarMethod, Catnr. 563-051).

Desde el año 2013, siguiendo las recomendaciones de Hydes et al. (2010), la calibración de las metodologías se realizó utilizando la dilución serial de estándares de cada uno de los analitos en cuestión y la confirmación y cálculos de concentración verdaderos utilizando Material de Referencia Certificado (CRM), fabricado por Kanso (Osaka, Japón), distribuido por JAMSTEC (Japan Agency for Marine-EarthScience and Technology) y provisto por SCOR WorkingGroup 147.

### ***Determinación de la concentración de pigmentos del fitoplancton por HPLC***

Para el análisis de los pigmentos se utilizó el método de Garrido y Zapata (1997) para las muestras del año 2000 y el método de Zapata et al. (2000) para las muestras de 2001 en adelante. Se filtraron entre 2 y 3 litros de agua de mar de cada profundidad sobre filtros de fibra de vidrio GF/F de 47mm. El material retenido en el filtro fue extraído con ultrasonido durante 30 segundos a 0°C utilizando metanol 100% como disolvente. Luego los extractos fueron filtrados por filtros GF/F para eliminar los residuos. Inmediatamente antes de la inyección en el sistema de HPLC, los extractos fueron diluidos con agua hasta obtener una solución de metanol al 70% (Zapata et al. 2000). La separación analítica se realizó usando una columna Waters Symmetry C8 (150x4,6 mm; 3,5 mm de tamaño de partícula, y 100 Å de tamaño de poro), protegida con una precolumna (15x4.6 mm) de iguales características. Los solventes orgánicos empleados como fases móviles fueron de grado HPLC. Los pigmentos fueron identificados por sus tiempos de retención y espectros de absorción obtenidos en continuo por un detector de arreglo de diodos. Para la cuantificación de los pigmentos identificados, se emplearon estándares de alta pureza que fueron adquiridos al VKI (The International Agency for <sup>14</sup>C Determination, Dinamarca) o aislados de cultivos de *Emiliania huxleyi* (Haptophyta) clone CCMP 370 y del dinoflagelado *Alexandrium tamarense* clone MDQ 1096. Aquellos pigmentos detectados para los que no se conocen los coeficientes de extinción, se cuantificaron empleando los coeficientes de extinción de los pigmentos conteniendo el cromóforo de mayor similitud (por ejemplo, la clorofila *c*<sub>3</sub> y las clorofilas *c* no polares fueron cuantificadas como equivalentes de clorofila *c*<sub>2</sub>).

### ***Análisis utilizando CHEMTAX***

Se utilizó el programa CHEMTAX versión 1.95 basado en Microsoft Excel provisto por el Australian Antarctic Data Centre (<https://data.aad.gov.au>), el cual ha sido aplicado en varias regiones del océano global y del Mar Argentino (Carreto et al. 2008; 2016; 2018). Este programa permite en primer lugar optimizar las relaciones pigmento:Chl\_a seleccionadas para el conjunto de muestras dado y en segundo lugar, determina la biomasa de cada TPF como la proporción de concentración de Chl\_a contribuida en la muestra. Se excluyeron las muestras con Chl\_a < 0.3 mgm<sup>-3</sup> pues valores muy bajos de concentración de pigmentos aumentan el error de las estimaciones. Para los cálculos, el programa CHEMTAX asume que las relaciones de pigmento:Chl\_a son constantes dentro de cada



tipo pigmentario en todo el set de muestras. Debido a que las relaciones pigmento:Chl<sub>a</sub> se ven modificadas por las condiciones ambientales (luz, temperatura, nutrientes, estabilidad (capa de mezcla), fue necesario dividir el set de datos de modo que las condiciones ambientales y por ende fisiológicas del fitoplancton, fueran homogéneas en cada subconjunto. Para esto se realizó un análisis de *cluster* tomando como variables clasificatorias la estabilidad de la columna de agua (parámetro de Simpson), la temperatura y la concentración de nitrato como nutriente limitante. Se obtuvieron básicamente dos grupos: uno correspondiente al período cálido-estratificado (N=26) y otro al período frío-homogéneo (N=139). Para cada subconjunto (invierno – verano) se generó una matriz inicial de relaciones pigmento:Chl<sub>a</sub> y se realizaron sucesivas ejecuciones del programa CHEMTAX. Cada ejecución consiste en generar en forma aleatoria 60 matrices iniciales de acuerdo a límites de variación permitidos para cada relación pigmento:Chl<sub>a</sub> en cada TPF y calcular los resultados de composición relativa como el promedio de las 6 mejores estimaciones (menor residuo RMS). La matriz final de relaciones de cada ejecución es utilizada como la matriz inicial en la siguiente hasta completar un N suficiente de ciclos que permita alcanzar estabilidad en el RMS global.

#### *Construcción de la matriz de tipos pigmentarios y relaciones pigmento:Chl<sub>a</sub>*

La selección de los TPF se basó en las especies descritas para la EPEA en la bibliografía (Silva 2009; Silva 2011), en los informes de campaña y en los seminarios internos del DiPlaMCC y fundamentalmente en base a los pigmentos determinados en las muestras (Tabla 1). Para denominar a los TPF y a los pigmentos se siguió la nomenclatura propuesta por Llewellyn et al. (2011). Cabe recordar que los TPF no se corresponden exactamente con clases taxonómicas de fitoplancton. Por eso, en algunos casos, un tipo pigmentario puede estar compuesto por varias clases taxonómicas, y a la inversa, una clase taxonómica puede estar representada en más de un TPF.

- La zeaxantina (Zea) indica la presencia de cianobacterias del grupo CYANO-2 y de crisofitas del grupo CHRYSO-1, representados en la EPEA por el género *Synnechococcus* sp. y *Ollicola* sp. respectivamente (Silva 2011), pero sólo CYANO-2 se incluyó en la matriz de CHEMTAX.
- La clorofila *b* (Chl<sub>b</sub>) y la luteína (Lut) son pigmentos marcadores de las clorofitas del grupo CHLORO-1, representados por *Pyramimonas* sp. y otras células coccas (Silva 2011; Montoya 2015). A su vez, la Chl<sub>b</sub> junto con la prasinoxantina (Pras) sugiere la presencia de prasinofitas del grupo PRASINO-3. Dada la baja concentración promedio de la Pras (Tabla 1) y al hecho de que este pigmento se detectó en 124 de las 159 muestras que tienen Chl<sub>b</sub>, se asumió que toda la Chl<sub>b</sub> es aportada por prasinofitas y que en ocasiones Pras no fue detectable.
- La alloxantina (Allo) es un pigmento marcador del grupo CRYPTO-1, representado por *Hemiselmis* sp. y *Plagioselmis* sp., el cual tiene mayor ocurrencia en la época invernal (Silva 2011). Este grupo comparte sus pigmentos marcadores con el grupo DYN0-4, al cual pertenecen las especies de dinoflagelados *Dinophysis acuminata*, *D. caudata* y *D. tripos* (Rial et al. 2013), reportadas con frecuencia en la EPEA, por lo que DYN0-4 también se consideró en el análisis, pero sólo en la matriz de verano.
- Entre las haptofitas, se han reportado en los informes de campaña de la EPEA las especies *Emiliana huxleyi*, *Gephyrocapsa oceanica*, *Calciosolemia murrayi*, *Coccolithus pelagicus* y especies de los géneros *Phaeocystis* sp., *Prymnesium* sp. y en menores oportunidades *Chrysocromulina* sp., todas pertenecientes a la fracción del nanoplancton. También se determinó la presencia de MVChl<sub>c3</sub> en 27 muestras, pigmento marcador del grupo HAPTO-6, así como las clorofilas específicas de *Emiliana huxleyi* y *Chrysocromulina* sp. (MG\_*Emiliana* y MG\_*Chryso*). Por lo tanto, en base a la distribución de estos pigmentos, se consideraron los grupos HAPTO-6 y HAPTO-8 en la matriz de invierno y HAPTO-6, HAPTO-7 y HAPTO-8 en la de verano. Dado que las clorofilas MG\_*Emiliana*, MG\_*Chryso* y MVChl<sub>c3</sub> fueron hallados en concentraciones muy bajas no fueron incluidas en la matriz del CHEMTAX.



- El TPF PELAGO-1 abarca a las algas con cantidades apreciables de 19'-hexanoil-oxi-fucoxantina (But\_fuco), que incluye silicoflagelados, dictiocas y pelagofitas.
- La peridina (Peri) indica la presencia inequívoca del grupo DYNO-1, al cual pertenecen entre otras las especies tóxicas del complejo *Alexandrium tamarense/catenella*, varias veces observado en la EPEA.
- Por último, varias especies de diatomeas están presentes en el sitio, entre ellas *Rhizosolenia setigera*, *Chetoceros* spp., *Leptocylindrus minimum*, *Odontella mobiliensis*, *Thalassionema nitzschioides*, *Thalassiosira* sp. y la potencialmente toxica *Pseudo-nitzschia* spp. Por lo tanto, se analizó la presencia de los grupos DYATO-1 y DYATO-2, dada la alta frecuencia de ocurrencia de fucoxantina (Fuco), y de las clorofilas Chl\_c1, Chl\_c2 y Chl\_c3.

Las relaciones pigmento:Chl\_a utilizadas se obtuvieron de estudios de cultivos de especies aisladas en la EPEA para los grupos PRASINO-3, CRYPTO-1, HAPTO-6 y PELAGO-1 (Montoya et al. 2015), análisis de HPLC de muestras propias de floraciones mono-específicas para DYNO-1 (floración de enero de 2021, puerto de Mar del Plata) y DYATO-1 (campana GEF 2005, florecimiento de *Thalassiosira* sp.), y para el resto de los grupos de resultados de CHEMTAX previos en el área y de la literatura (DYNO-4: Rial et al. 2013; HAPTO-7 y HAPTO-8: Carreto 2003 y Carreto 2008). En la matriz correspondiente a verano, se agregaron los grupos HAPTO-7 y DINO-4 pero se excluyó el grupo DIATO-2, pues las haptofitas y los dinoflagelados del género *Dinophysis* son más frecuentes en verano, en tanto que la diversidad de diatomeas es menor. Las relaciones pigmento:Chl\_a son iguales en ambas matrices excepto para la Zea en CYANO-1, dada la marcada variación estacional de la relación Zea:Chl\_a registrada para las cianobacterias (Jeffrey et al. 1997).

Tabla 1. Concentración promedio ( $\text{mgm}^{-3}$ ) y frecuencia de la presencia (N) de los pigmentos del fitoplancton detectados en la estación EPEA en el período 2000-2005 y 2012-2019. Se indican el nombre convencional y la abreviatura internacional utilizadas en este trabajo.

Pigmento	Abreviatura	Concentración promedio ( $\text{mgm}^{-3}$ )	Desvío estándar	Mínimo	Máximo	N
Clorofila a	Chl_a	1,012	0,916	0,157	<b>8,301</b>	171
Fucoxantina	Fuco	0,43	0,632	0,038	<b>5,404</b>	170
Clorofila c2	Chl_c2	0,152	0,206	0,009	1,732	167
19'-hexanoiloxifucoxantina	Hex_fuco	0,07	0,049	0,004	0,294	161
Diadinoxantina	Diadino	0,087	0,136	0,007	1,553	160
Clorofila b	Chl_b	0,08	0,052	0,004	0,297	159
Clorofila c3	Chl_c3	0,044	0,047	0,003	0,367	159
Peridina	Peri	0,108	0,275	0,006	<b>3,236</b>	149
Alloxantina	Allo	0,038	0,07	0,001	<b>0,782</b>	137
19'-butanoiloxifucoxantina	But_fuco	0,027	0,033	0,001	0,247	132
Magnesio divinilfeofirina	MgDVP	0,015	0,022	0,002	0,230	128
Prasinoxantina	Pras	0,021	0,017	0,002	0,118	124
Neoxantina	Neo	0,015	0,009	0,002	0,049	120
Clorofila c1	Chl_c1	0,031	0,042	0,001	0,283	119
$\beta\beta$ - caroteno	b_Car	0,025	0,039	0,002	0,301	114
Zeaxantina	Zea	0,028	0,07	0,001	<b>0,720</b>	112
Violaxantina	Viola	0,015	0,009	0,001	0,049	108
4-keto-19'-hexanoiloxifucoxantina	Hex_kfuco	0,016	0,012	0,001	0,055	98
Clorofila no polar de <i>E. huxleyi</i>	MG_Emiliana	0,013	0,024	0,001	0,200	92
Alómero de clorofila a	Chla_allomer	0,066	0,153	0,001	1,020	90
$\beta\epsilon$ caroteno	a_Car	0,01	0,008	0,001	0,035	79
Diatoxantina	Diato	0,026	0,078	0,001	0,653	76
Epímero de clorofila a	Chla_epimer	0,02	0,022	0,003	0,137	59
Luteína	Lut	0,01	0,008	0,001	0,041	57
Clorofila no polar de <i>Chrysocromulina p.</i>	MG_Chryso	0,007	0,014	0,001	0,071	48
Clorofilida a	Chlide	0,061	0,254	0,001	1,622	40

Sucesión de tipos pigmentarios del fitoplancton en la serie EPEA



Dinoxantina	Dino	0,014	0,021	0,002	0,128	40
Anteraxantina	Anth	0,034	0,093	0,002	0,480	26
Monovinil clorofila c3	MVChl_c3	0,047	0,11	0,001	0,510	26
Metilclorofilida a	MeChlide	0,073	0,144	0,002	0,479	10
Feofitina	Phe	0,136	0,173	0,011	0,463	6
Perididinol	perididinol	0,025	0,01	0,011	0,033	4
DehidroLuteina	dehidroLuteina	0,012	0,004	0,008	0,015	3
Uriolide	Uri	0,015	0,006	0,009	0,021	3

### Fracciones de tamaño del fitoplancton en base a DP<sub>w</sub>

Para estimar las fracciones de las clases de tamaño del fitoplancton, se compararon las ecuaciones de Uitz et al, (2006) con las ecuaciones propuestas por Chase et al. (2020). Este modelo se distingue del de Uitz en que asigna la mitad de la concentración de la Chl\_b al picoplancton y la otra mitad al nanoplancton, la mitad de la concentración de Fuco al microplancton y la otra mitad al nanoplancton, el 75% de la Peri al nanoplancton y sólo el 25% al microplancton (Tabla 2). En su artículo Chase sugiere utilizar los mismos coeficientes ponderados que Uitz, ya que no encontró diferencias entre estos, otros coeficientes publicados y los estimados en su estudio.

Tabla 2. Fórmulas para calcular las fracciones de micro ( $F_{micro}$ ), nano ( $F_{nano}$ ) y picoplancton ( $F_{pico}$ ) a partir de concentraciones de pigmentos determinadas por HPLC.  $DP_w$  = suma ponderada de los pigmentos diagnósticos ( $mgm^{-3}$ );  $DP_w = \sum_{i=1}^7 w_i P_i$ , en donde  $w$  = peso ponderado (adimensional) y  $P$  = concentración de pigmento ( $mgm^{-3}$ ).

Pigmento ( $P_i$ )	Índices de Uitz ( $w_i$ )	Ecuaciones de Uitz	Ecuaciones de Chase
Fuco ( $P_1$ )	1,41	$F_{micro} = \frac{\sum_{i=1}^2 w_i P_i}{DP_w}$	$F_{micro} = \frac{0,5 \cdot w_1 P_1 + 0,25 \cdot w_2 P_2}{DP_w}$
Peri ( $P_2$ )	1,41		
Hex_fuco ( $P_3$ )	1,27	$F_{nano} = \frac{\sum_{i=3}^5 w_i P_i}{DP_w}$	$F_{nano} = \frac{0,5 w_i P_1 + 0,75 w_2 P_2 + \sum_{i=3}^5 w_i P_i + 0,5 w_6 P_6}{DP_w}$
But_fuco ( $P_4$ )	0,35		
Allo ( $P_5$ )	0,60	$F_{pico} = \frac{\sum_{i=6}^7 w_i P_i}{DP_w}$	$F_{pico} = \frac{0,5 \cdot w_6 P_6 + w_7 P_7}{DP_w}$
Chl_b ( $P_6$ )	1,01		
Zea ( $P_7$ )	0,86		

## Resultados

### Ciclo anual de las características ambientales

El ciclo anual de la temperatura y salinidad superficial del mar en la EPEA ha sido descrito en otros trabajos (Lutz et al. 2006; Viñas et al. 2013; Ruiz 2018; Ruiz et al. 2020). El rango de temperatura de la columna de agua oscila entre 8°C y 24°C, ocurriendo las mínimas en los meses de julio, agosto y septiembre y las máximas en enero y febrero, evidenciándose principalmente en la superficie (Figura 1). La columna de agua se encuentra homogénea en el período frío (abril - octubre), y se estratifica lentamente a partir de octubre, alcanzando el parámetro de Simpson sus valores máximos en enero. Es notoria la diferencia en la velocidad con la que la columna de agua alcanza el estado homogéneo (2 meses aproximadamente entre febrero y abril) en comparación con el tiempo que tarda en estratificarse (4 meses entre octubre y enero), lo que determina que en este sitio de estudio la columna de agua esté homogéneamente mezclada la mayor parte del año.

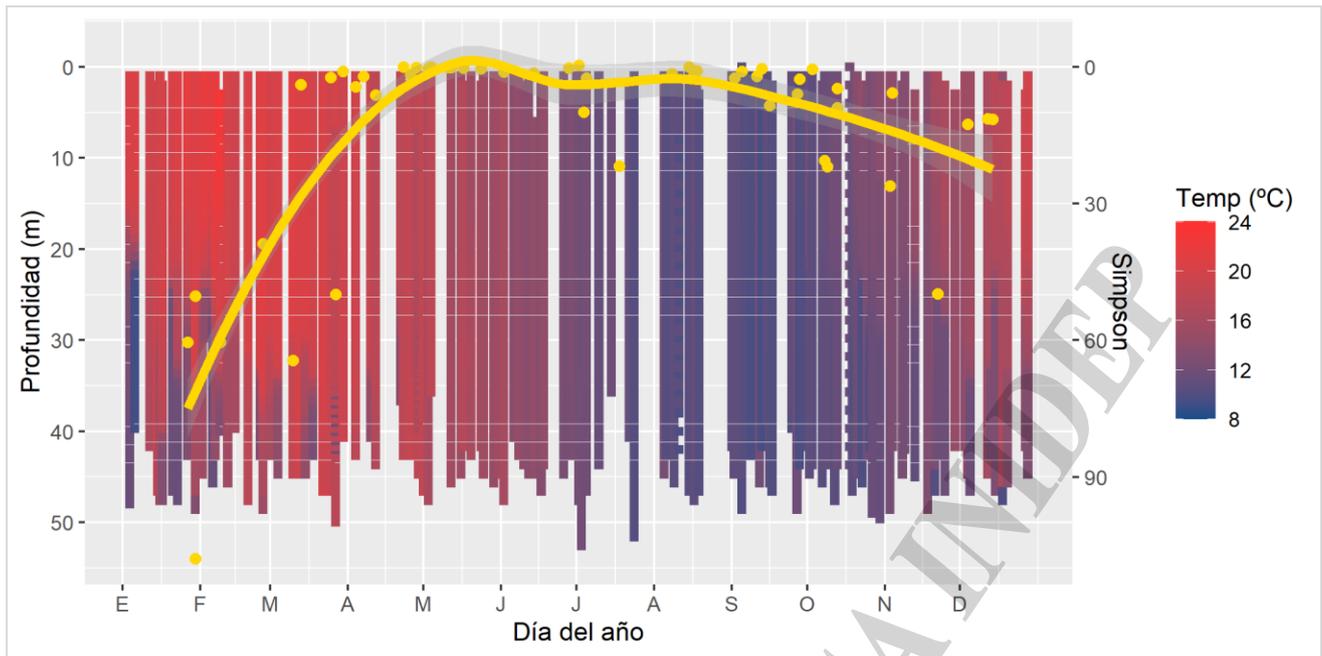


Figura 1. Temperatura del agua en función de la profundidad y del día del año en la estación EPEA a partir de los perfiles de CTD (período 1994 - 2019). En amarillo se superponen los valores del parámetro de Simpson (puntos) y una regresión ponderada local sobre los mismos. Las letras en el eje horizontal corresponden al inicio del mes correspondiente.

En la EPEA la concentración de nitrato varía en un rango de  $0,01 - 13,33 \mu\text{M}$ , ocurriendo las mayores concentraciones en el mes de agosto (DOY 240, Figura 2). La concentración de silicato oscila en un rango similar al nitrato de  $0,016 - 10,670 \mu\text{M}$ , pero a diferencia de éste, no presenta variaciones estacionales marcadas. La concentración de nitrito en promedio es bastante menor pues oscila en un rango de  $0,01 - 1,91 \mu\text{M}$  y la de fosfato aún menor (rango de  $0,120 - 2,180 \mu\text{M}$ ), con un ligero incremento hacia el mes de julio (DOY 200). En el sitio y período de estudio se han observado algunos eventos de alta concentración de nitrato ( $> 5\mu\text{M}$ ), destacándose la campaña 072\_021\_CC0901 el 10 de abril de 2001, asociada un evento de baja salinidad ( $\text{SSS}=33,08$ ) y la campaña 126\_075\_OB0408 el 17 de diciembre de 2008, año en que se registró una importante floración de diatomeas en el mes de agosto.

Los macronutrientes nitrato y fosfato presentan una variación cíclica estacional con máximos de concentración durante el invierno (julio-agosto). Esta variación, relacionada de manera inversa a la evolución térmica, es consecuente con los aportes del Agua Subantártica de Plataforma (ASAP) y el consumo durante el ciclo estacional de crecimiento fitoplanctónico. El silicato no muestra un modo particular de evolución en el año, presentando concentraciones variables dentro de límites definidos, característica compartida con el ion nitrito.

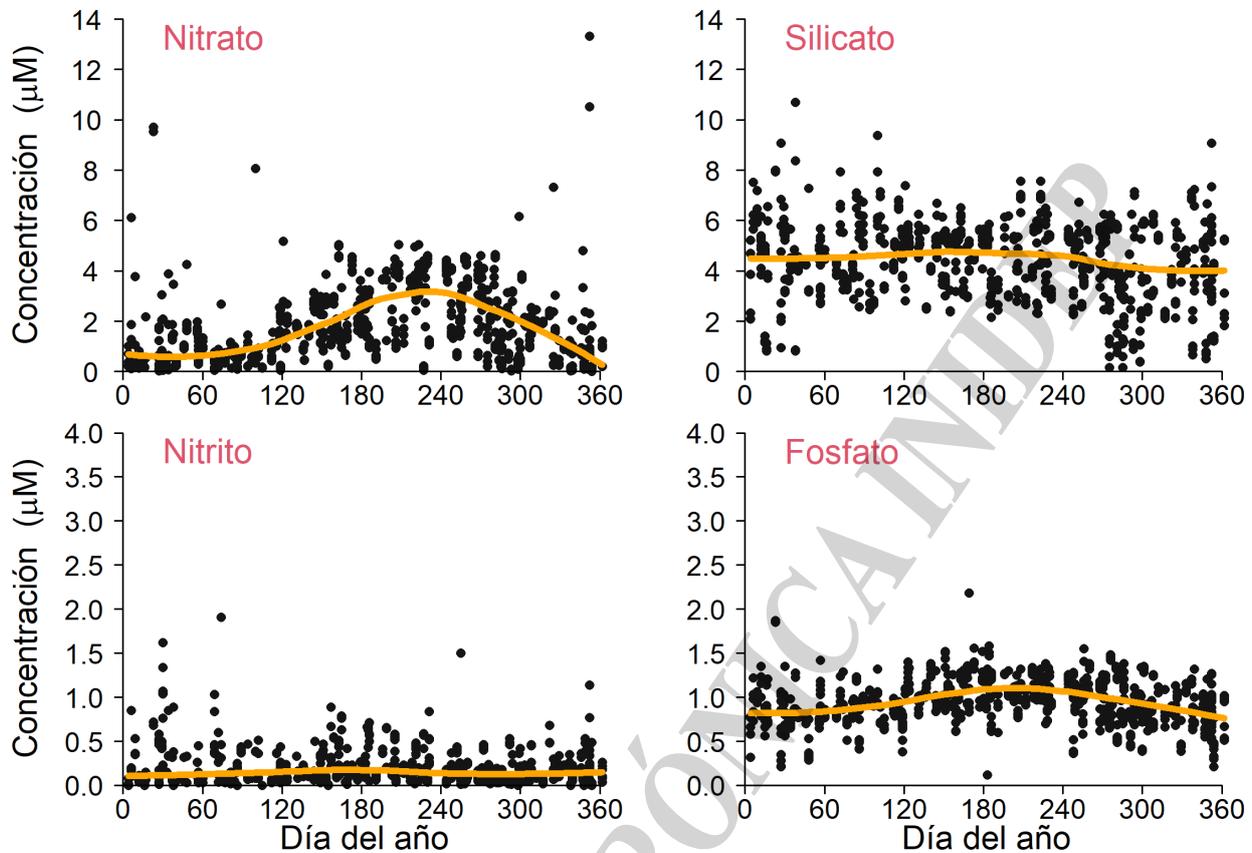


Figura 2. Concentración de los principales macronutrientes determinada en la estación EPEA en el período 1994-2019 (N=934, no se discrimina la profundidad de muestreo). La línea anaranjada corresponde a una regresión ponderada local.

### ***Diversidad de pigmentos del fitoplancton***

Se analizaron 171 muestras de distintas profundidades (0-47 m) en el período 2000-2005 (n=64, 20 campañas) y 2012-2019 (n=107, 31 campañas). Se identificaron 34 pigmentos a lo largo de los años, algunos de ellos sólo en contadas ocasiones, otros en muy baja concentración (Tabla 1): 8 clorofilas (a, b, c1, c2, c3, MVChl\_c3, y Mg\_Emiliana y Mg\_chryso), 2 carotenos y 19 carotenoides; el resto de los pigmentos corresponde a formas degradadas de la clorofila *a* (epímeros, alómeros y otros). El valor máximo de Chl\_a ( $8,301 \text{ mgm}^{-3}$ ) se observó a los 15 m de profundidad en la EPEA Nro. 187\_136\_AH0219 en otoño. Fuco, un pigmento accesorio fotosintético, fue el segundo más frecuente, seguido por Peri, un pigmento marcador de dinoflagelados del tipo DYNO-1, al cual pertenece las especies *Alexandrium tamarense*, productora de toxina paralizante de molusco. La Chl\_b, presente en algas verdes y la Pras, presente en Prasinofitas se encontraron en muy alta frecuencia, y considerando la baja concentración promedio de Pras, se asume que toda la Pras hallada corresponde a Prasinofitas y que posiblemente en algunas ocasiones pudo hallarse por debajo del límite de detección. En el período de estudio se han observado algunos eventos de alta concentración de pigmentos. La máxima concentración de Fuco fue  $5,404 \text{ mgm}^{-3}$  correspondiente a un florecimiento de diatomeas (EPEA Nro. 187\_136\_AH0219, 7 de abril de 2019). Ese mismo año se registró la máxima concentración de Peri ( $3,236 \text{ mgm}^{-3}$  (EPEA Nro. 191\_140\_AH0519, 9 de octubre de 2019), correspondiente a un florecimiento de un dinoflagelado atecado carente de Peri del género *Karenia sp* (Negri 2019; Montoya et al. 2020), género productor de brevetoxinas, las cuales causan síntomas

Sucesión de tipos pigmentarios del fitoplancton en la serie EPEA



gastrointestinales y neurológicos que pueden además, afectar a peces y organismos bentónicos. La máxima concentración de Zea se observó en la campaña 184\_133\_AH0718 el 4 de diciembre de 2018 junto a un crecimiento extraordinario de cianobacterias a 5 m de profundidad, asociado a una fuerte estratificación de la columna de agua.

### ***Ciclo anual de la clorofila a y de los principales pigmentos***

La variación estacional de la Chl\_a en superficie fue descrita en otros trabajos (Carreto et al. 2004; Lutz et al. 2006, Ruiz 2018; Ruiz et al. 2020), caracterizándose por presentar sus valores más altos en invierno y un rango de concentración de 0,157-8,301  $\text{mgm}^{-3}$ . Fuco presentó el mismo patrón estacional y con una relación Fuco:Chl\_a igual a 0,5. La concentración de Peri aumenta notablemente en otoño y en primavera, al igual que la de Hex\_fuco, aunque la concentración de esta es en promedio un 50% menor. En cambio, Zea incrementa su concentración en los meses de diciembre, enero y febrero, y But\_fuco presenta mayores valores a principio de verano, cuando la columna está estratificada. Chl\_b, Pras y Allo no presentan grandes variaciones a lo largo del ciclo anual. El rango de variación de Chl\_a es pequeño y por ende, el de los demás pigmentos aún más.

COPIA ELECTRÓNICA

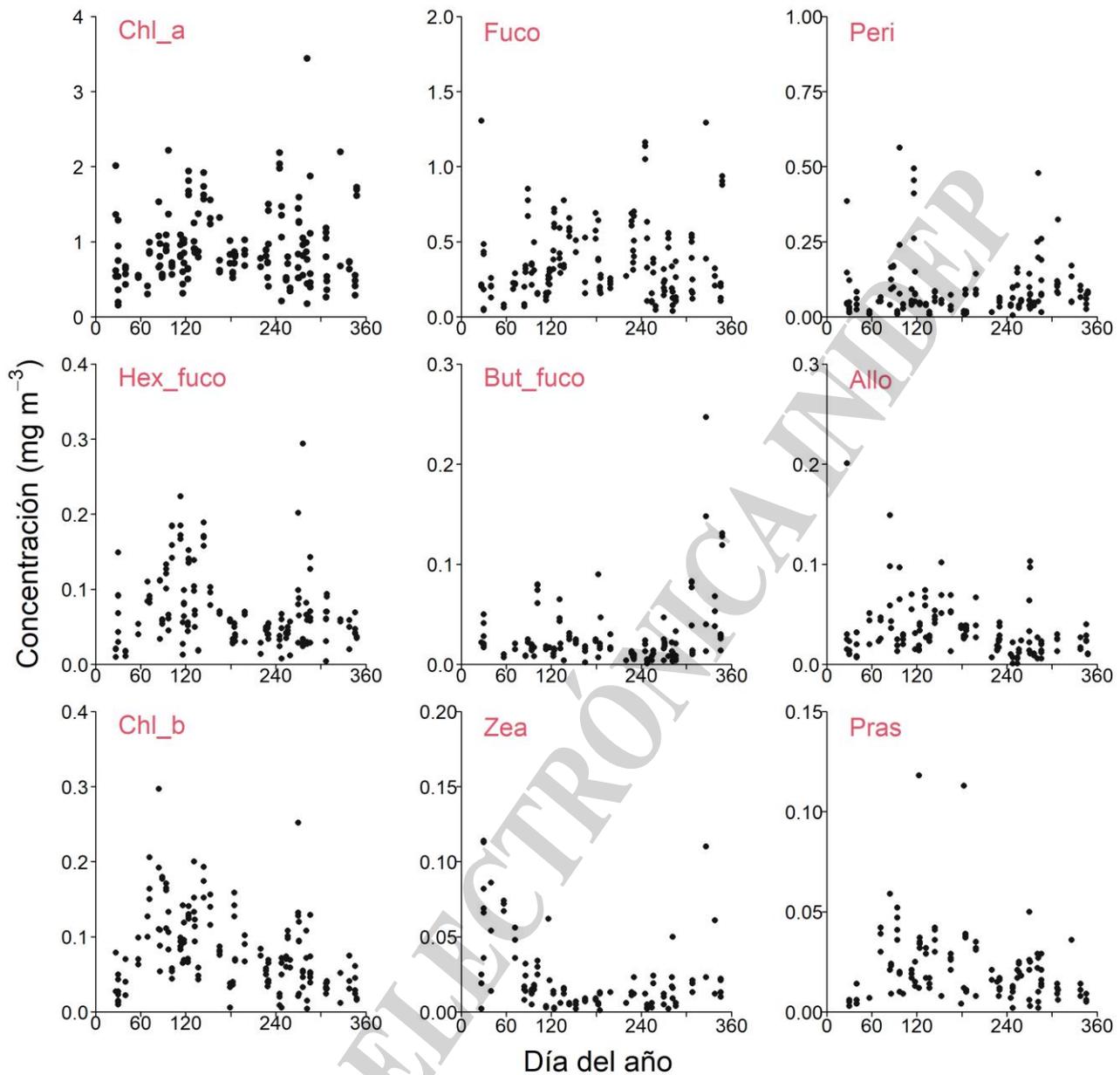


Figura 3. Ciclo anual de la concentración de Chl\_a y de los principales pigmentos encontrados en la estación EPEA. Notar las diferencias en la escala de concentración de cada pigmento. Los valores máximos correspondientes a eventos poco frecuentes fueron excluidos para mayor apreciación de la variabilidad a lo largo del año (ver Tabla 1).

### *Ciclo anual de los Tipos Pigmentarios Fitoplanctónicos*

En base a las concentraciones de pigmentos obtenidas en la EPEA y a las matrices de relaciones iniciales diseñadas, el programa CHEMTAX optimizó las relaciones pigmento:Chl\_a para cada TPF dando como resultado la matriz final de relaciones para el periodo frío y el cálido (Tablas 3 y 4). Las diferencias entre las relaciones iniciales y las estimadas fueron mucho menores en el grupo



de muestras de invierno que en el de verano. Las mayores diferencias se observaron para los grupos PRASINO-3, HAPTO-6, HAPTO-7 y HAPTO-8 en verano.

Luego, se calculó la proporción relativa de cada TPF a lo largo del ciclo anual (Figura 4), para lo cual CHEMTAX estimó la concentración de Chl<sub>a</sub> aportada por cada TPF en cada una de las muestras a partir de la matriz final de relaciones (Tablas 3 y 4). El RMS de las mejores estimaciones en el análisis de las muestras de invierno fue  $0,130 \pm 0,001$  (promedio  $\pm$  SD) y el de las muestras de verano fue  $0,154 \pm 0,001$ , ambos valores aceptables de acuerdo a los autores del programa (Mackey et al. 1996). Los resultados confirmaron que en la EPEA dominan los tipos pigmentarios al que pertenecen las diatomeas durante todo el año, aunque se observaron diferencias entre los períodos cálido-estratificado y frío-homogéneo. En el período cálido-estratificado, en promedio, el TPF DIATO-1 fue el mayoritario, seguido por DYNO-1 y en tercer lugar por la suma de los TPFs HAPTO-6, HAPTO-7 y HAPTO-8. En cambio, en el período frío-homogéneo, el TPF DIATO-2 fue el que más contribuyó a la Chl<sub>a</sub>, seguido por DIATO-1 y en tercer lugar casi en la misma proporción, por DYNO-1 y la suma de HAPTO-6 y HAPTO-8 (Tabla 5).

COPIA ELECTRÓNICA INDIAPES





Tabla 5. Contribución promedio a la Chl<sub>a</sub> aportada por cada grupo pigmentario para el período cálido-estratificado (verano) y para el período frío-homogéneo (invierno). Notar la diferencia en los TPFs presentes en cada período.

VERANO	CYANO-1	PRASINO-3	CRYPTO-1	DYNO-4	HAPTO-6	HAPTO-7	HAPTO-8	PELAGO-1	DYNO-1	DIATO-1
Chl <sub>a</sub> promedio	0,026	0,040	0,077	0,014	0,042	0,051	0,013	0,036	0,121	0,726
SD	0,003	0,004	0,016	0,004	0,006	0,005	0,002	0,007	0,031	0,039
% SD	9,816	10,114	20,480	27,157	14,987	10,139	14,926	18,103	25,889	5,433
INVIERNO	CYANO-1	PRASINO-3	CRYPTO-1	HAPTO-6	HAPTO-8	PELAGO-1	DYNO-1	DIATO-1	DIATO-2	
Chl <sub>a</sub> promedio	0,017	0,117	0,106	0,091	0,034	0,012	0,127	0,186	0,305	
SD	0,002	0,022	0,026	0,006	0,003	0,002	0,013	0,028	0,035	
% SD	10,051	18,350	24,115	6,931	8,765	15,024	9,975	14,796	11,400	

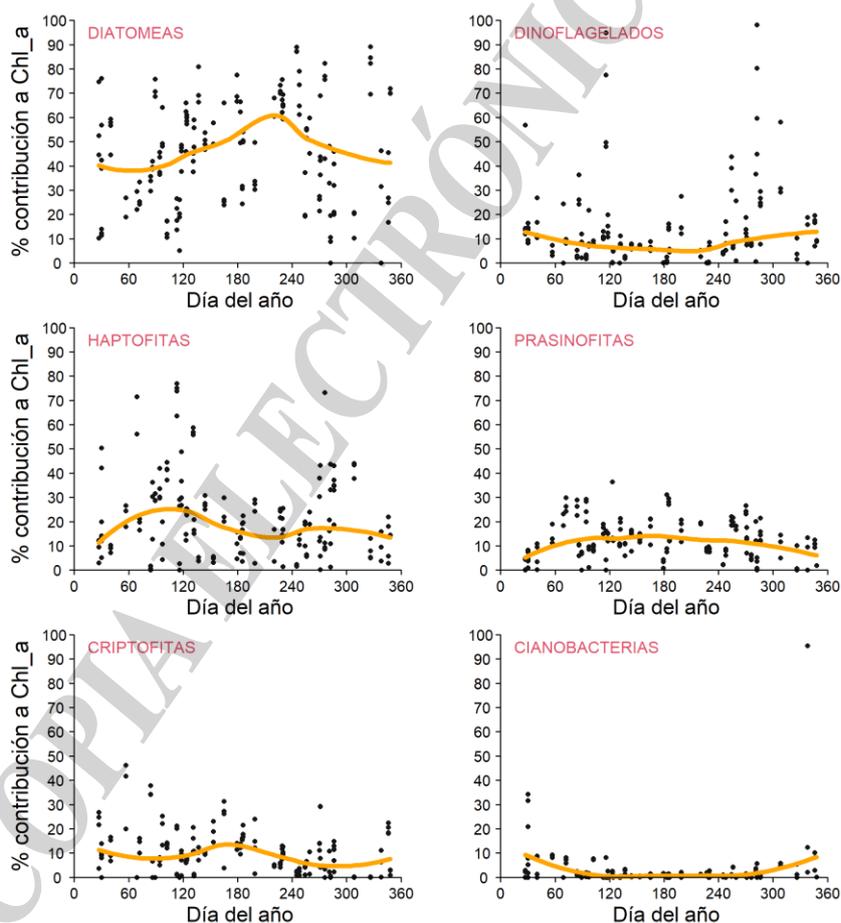


Figura 4. Ciclo anual de los distintos grupos de fitoplancton definidos como tipos pigmentarios de fitoplancton (TPF), en porcentaje de contribución a la concentración de Chl<sub>a</sub> total en cada muestra. DIATOMEAS = DIATO-1 + DIATO-2; DINOFLAGELADOS = DYNO-1 + DYNO-4, HAPTOFITAS = HAPTO-6 + HAPTO-7+ HAPTO-8+PELAGO-1. Las líneas anaranjadas corresponden a una regresión ponderada localmente (LOESS).

### Fracciones de tamaño del fitoplancton

Los modelos de Uitz et al. (2006) y Chase et al. (2020) estimaron porcentajes diferentes de las fracciones de tamaño del fitoplancton a lo largo del ciclo anual en base al análisis de DPs (Figura 5). El modelo de Uitz calculó que el microplancton compone en promedio el 80% de la comunidad a lo largo del año, con un leve descenso hacia el verano, mientras que el modelo de Chase estimó un promedio de 40% para esta fracción. De acuerdo a Chase, el nanoplancton es la fracción dominante a lo largo del ciclo anual (promedio 60%), lo cual es más del doble de lo estimado por el modelo de Uitz (20%). Ambos modelos coincidieron en que el picoplancton alcanza su máximo en enero-febrero (compone el 40% por ciento) y ronda en torno al 10-20% durante el resto del año.

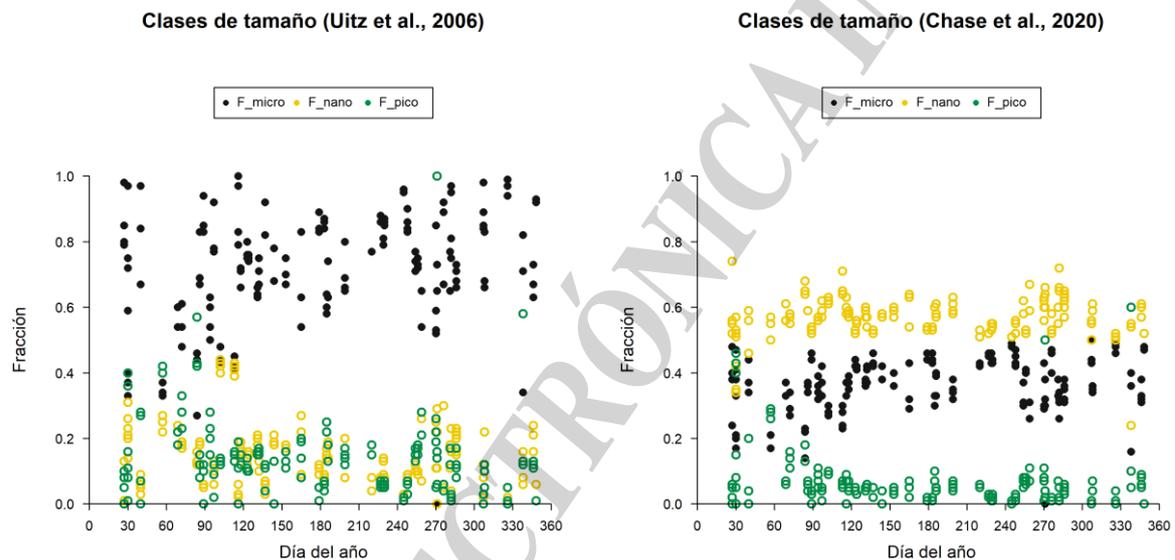


Figura 5. Ciclo anual de las fracciones de tamaño del fitoplancton estimadas de forma indirecta a partir de índices pigmentarios y las ecuaciones propuestas por Uitz et al. (2006) (izquierda) y Chase et al. (2020) (derecha).

### Discusión

La estación EPEA se ubica en un sector costero de la plataforma bonaerense marcado por los ciclos estacionales de formación y ruptura de la termoclina, que está influenciado por la advección de Aguas de Plataforma Media de origen subantártico, y en ocasiones particulares por aguas del Río de la Plata (Lutz et al. 2006; Silva et al. 2009). Esta zona recibe el aporte de nutrientes de las aguas subantárticas de plataforma (ASAP), las cuales se originan por la intrusión de la corriente de Malvinas sobre la plataforma y su posterior modificación, y del proceso de resuspensión debido a la mezcla vertical que ocurre principalmente a fines del invierno. La concentración de nitratos sigue este ciclo, con valores más bajos en verano (debido al consumo por parte del fitoplancton) y mayores durante el invierno. Las concentraciones de silicato y



fosfato varían poco a lo largo del año y no parecen ser limitantes del crecimiento del fitoplancton.

El aporte de este trabajo ha sido caracterizar la comunidad del fitoplancton en la estación EPEA determinando cuáles son los principales TPFs que contribuyen a la concentración de Chl<sub>a</sub> a lo largo del ciclo anual. Para ello, los TPFs que se incluyeron en las matrices iniciales de CHEMTAX se basaron en información de microscopía publicada para la fracción del picoplancton (Silva et al. 2009; Silva 2011) e informes de campaña para las otras fracciones. Para una mejor aproximación, los autores de CHEMTAX sugieren, realizar una comparación con los datos de campo observados con las técnicas tradicionales (microscopía óptica). Sin embargo, al momento de realizar este estudio, esa información aún no estaba disponible. Por lo tanto, es posible que no se hayan incluido en el análisis de CHEMTAX todos los TPFs presentes en cada una de las muestras. Por otro lado, otra fuente probable de error en este análisis son los bajos valores de concentración de Chl<sub>a</sub> y por ende de pigmentos accesorios, aunque esto se ve compensado por el alto número de muestras analizadas (N=165), lo cual contribuye a reducir el error (Mackey et al. 1996).

La concentración de Chl<sub>a</sub> determinada por HPLC sigue un patrón aproximadamente similar al de la mezcla y estratificación de la columna de agua (Carreto et al. 2004; Lutz et al. 2006; Ruiz 2018; Ruiz et al. 2020). En términos de TPFs y de contribución porcentual a la concentración de Chl<sub>a</sub>, la comunidad del fitoplancton en la EPEA está dominada durante todo el año por los grupos pigmentarios DIATO-1 y DIATO-2 (diatomeas), con el mayor aporte durante el período frío, más precisamente entre abril y principios de octubre, momento en el que se rompe la estratificación por acción de los vientos, comienza a aumentar la concentración de nitrato y a enfriarse el agua. La dominancia de diatomeas es típica de mares templados y se corresponde con lo descrito para este sitio previamente (Carreto et al. 2004; Negri et al. 2011). Un análisis más detallado de los resultados permitió observar que el ciclo anual del TPF DIATO-2 parece seguir un patrón estacional más marcado que el grupo DIATO-1, o dicho de otra manera, que el grupo DIATO-1 mostró abundancias muy altas en verano (datos no mostrados). Esto se debió a que CHEMTAX ha sobreestimado la abundancia de DIATO-1 y subestimado la de haptofitas con perfil pigmentario similar al de DIATO-1 para algunas muestras de verano. Esto se evidenció ante el caso de un florecimiento extraordinario de *Prymnesium* (*Prymnesiophyceae*) ocurrido en la EPEA Nro. 110\_059\_CC1005 el 22 de noviembre de 2005, con concentraciones de hasta  $12 \times 10^6$  células l<sup>-1</sup> y que produjo una discoloración de color verde brillante (Negri 2005). Debido a que este género es poco frecuente en la EPEA, no se incluyó en el análisis de CHEMTAX al TPF HAPTO-4, grupo al que pertenecen las prymensiofitas. Este TPF carece de Hex<sub>fuco</sub>, el pigmento marcador de la mayoría de las haptofitas y posee un patrón pigmentario similar al de DIATO-1 (Chl<sub>c1</sub>, Chl<sub>c3</sub> y Fuco, principalmente), razón por la cual CHEMTAX incluyó a estas muestras en el grupo grupo DIATO-1. Estas deficiencias no invalidan los resultados aquí presentados, pues CHEMTAX es altamente efectivo para estimar “cuánto hay” de lo que “se hipotetiza que hay”. Vale recordar que lo que se hipotetiza que hay son “grupos o tipos pigmentarios” (TPFs) y no precisamente grupos taxonómicos, es por eso que CHEMTAX es un abordaje “quimiotaxonómico” para estimar la abundancia dentro de una comunidad.

Para mejorar las estimaciones de la abundancia de estos grupos así como distinguir entre TPFs con perfiles pigmentarios semejantes debería conocerse, por un lado, los taxones de fitoplancton presentes en cada una de las muestras a partir de microscopía, y por otro, incluir en las matrices de CHEMTAX pigmentos marcadores



minoritarios presentes sólo en condiciones de crecimiento extraordinario. Pero a su vez, es muy importante conocer con mayor exactitud las relaciones pigmento:Chl<sub>a</sub> para los distintos grupos de haptofitas, las cuales varían en rangos muy altos de acuerdo a las diferentes condiciones fisiológicas en las que pueden hallarse las células (Zapata et al. 2004; Schülter et al. 2002). Estudios de los patrones de pigmentos ya sea de cultivo o de muestras *in situ* provenientes de eventos de floraciones ocurridos en la zona de interés ayudarán a mejorar las estimaciones de CHEMTAX en futuros trabajos.

El programa CHEMTAX permitió evidenciar el ciclo anual de los dinoflagelados, grupo al que pertenecen las principales especies nocivas descritas para la costa bonaerense, *A. tamarense*, *G. catenatum*, *D. acuminata* y *D. caudata*. Al igual que en trabajos previos (ej. Carreto et al. 2004), se evidenció un ciclo con dos modos de presencia, uno en otoño, justo antes de que comience el período de mayor mezcla vertical de la columna de agua y otro en primavera, coincidente con el comienzo de la estratificación y calentamiento de la columna de agua. El aporte a la Chl<sub>a</sub> total de los dinoflagelados es bastante menor que el de las diatomeas, en parte debido a su menor abundancia y también, probablemente, a la presencia de dinoflagelados del nanoplancton. CHEMTAX también fue efectivo en la identificación de dos eventos de crecimiento extraordinario de dinoflagelados, uno originado por especies del género *Dinophysis* (Negri 2019) y otro del género *Karenia* (Montoya 2020).

Los grupos HAPTO-6, HAPTO-7 y HAPTO-8 y PELAGO-1 caracterizados por Chl<sub>c3</sub>, Fuco, But<sub>fuco</sub> y Hex<sub>fuco</sub>, entre otros (ver Figura 4 “Haptofitas”) mostraron un ciclo anual similar al de los dinoflagelados. En conjunto, estos TFPs hicieron una mayor contribución a la biomasa del fitoplancton en el período frío que el grupo DYNO-1 (caracterizado por Peri). Dado que las haptofitas corresponden a la fracción del nanoplancton y picoplancton, el modelo de Chase et al. (2020) parece ser más acertado que el de Uitz et al. (2006) para estimar las fracciones de tamaño en la EPEA por medio de DPs, si se considera que el 60% promedio estimado por el modelo de Chase para la fracción del nanoplancton está compuesto principalmente por parte de las diatomeas, parte de los dinoflagelados, las haptofitas y pelagofitas. No obstante, para validar estos modelos en el sitio de estudio se deberá contar con información más exacta de microscopía o de nuevas técnicas ópticas de análisis automático como Flow Cam. La abundancia relativa de los TFPs a los que pertenecen las cianobacterias y criptofitas fue mayor en verano, en coincidencia con los mayores valores de temperatura y parámetro de Simpson, al igual que lo observado anteriormente en la EPEA (Silva et al. 2009; Silva 2011).

Este es el primer análisis sobre TFPs realizado con el programa CHEMTAX en la estación EPEA, la serie temporal de observaciones ecológicas más larga del Atlántico Sur, y se demuestra que la quimiotaxonomía es una herramienta poderosa para realizar una estimación rápida de la abundancia de las diferentes clases de fitoplancton en una gran cantidad de muestras. Sin duda, esta herramienta permitirá estudiar la ecología de los grupos fitoplanctónicos nocivos o tóxicos y realizar aportes al conocimiento de su variación estacional o interanual en la EPEA y en otros ambientes costeros.

## **Bibliografía**

CARRETO JI, CARIGNAN MO, MONTOYA NG, COZZOLINO E, AKSELMAN R. 2018. Mycosporine-like amino acids and xanthophyll-cycle pigments favour a massive spring



- bloom development of the dinoflagellate *Prorocentrum minimum* in Grande Bay (Argentina), an ozone hole affected area. *Journal of Marine Systems* 178:15-28.
- CARRETO JI, MONTOYA NG, AKSELMAN R, CARIGNAN MO, SILVA RI, COLLEONI DAC. 2008. Algal pigment patterns and phytoplankton assemblages in different water masses of the Río de la Plata maritime front. *Continental Shelf Research* 28:1589-1606.
- CARRETO JI, MONTOYA NG, BENAVIDES HR, GUERRERO R, CARIGNAN MO. 2003. Characterization of spring phytoplankton communities in the Río de La Plata maritime front using pigment signatures and cell microscopy. *Marine Biology* 143:1013-1027.
- CARRETO JI, MONTOYA NG, CARIGNAN MO, AKSELMAN R, ACHA EM, DERISIO C. 2016. Environmental and biological factors controlling the spring phytoplankton bloom at the Patagonian shelf-break front "Degraded fucoxanthin pigments and the importance of microzooplankton grazing. *Progress in Oceanography* 146:1-21.
- CHASE AP, KRAMER SJ, HAËNTJENS N, BOSS ES, KARP-BOSS L, EDMONDSON M, GRAFF JR. 2020. Evaluation of diagnostic pigments to estimate phytoplankton size classes. *Limnology and Oceanography: Methods* 18(10):570-584.
- CLAUSTRE H. 1994. The trophic status of various oceanic provinces as revealed by phytoplankton pigment signatures. *Limnology and Oceanography* 39(5):1206-1210.
- DEVRED E, SATHYENDRANATH S, STUART V, PLATT T. 2011. A three component classification of phytoplankton absorption spectra: Application to ocean-color data. *Remote Sensing of Environment* 115:2255-2266.
- FRAGOSO GM, JOHNSEN G, CHAUTON MS, COTTIER F, ELLINGSEN I. 2021. Phytoplankton community succession and dynamics using optical approaches. *Continental Shelf Research* 213: 104322. <https://doi.org/10.1016/j.csr.2020.104322>.
- GARRIDO J, ZAPATA M. 2006. Chlorophyll Analysis by New High Performance Liquid Chromatography Methods. In: GRIMM B, PORRA R, RÜDIGER W, SCHEER H, editors. *Chlorophylls and Bacteriochlorophylls: Springer Netherlands*. p 109-121.
- GARRIDO JL, ZAPATA M. 1997. Reversed-phase high-performance liquid chromatographic separation of mono- and divinyl chlorophyll forms using pyridine-containing mobile phases and a polymeric octadecylsilica column. *Chromatographia* 44(1):43-49.
- HIRATA T, AIKEN J, HARDMAN-MOUNTFORD, SMYTH TJ, BARLOW RG. 2008. An absorption model to determine phytoplankton size classes from satellite ocean colour. *Remote sensing of environmental* 112:3153-3159.
- IRIGOIEN X, MEYER B, HARRIS R, Harbour D. 2004. Using HPLC pigment analysis to investigate phytoplankton taxonomy: the importance of knowing your species. *Helgol Mar Res* 58, 77–82. <https://doi.org/10.1007/s10152-004-0171-9>
- JEFFREY SW, MANTOURA RF, WRIGHT SW. 1997. *Phytoplankton pigments in oceanography: guidelines to modern methods*. Paris.: UNESCO. 661 p. p.
- LLEWELLYN CA, EGELAND ES, JOHNSEN G, ROY S. 2011. Abbreviations and symbols. In: ROY S, LLEWELLYN CA, EGELAND ES, JOHNSEN G, editors. *Phytoplankton Pigments: Characterization, Chemotaxonomy and Applications in Oceanography*. Cambridge: Cambridge University Press. p xxv-xxviii.
- LUTZ VA, SUBRAMANIAM A, NEGRI MR, SILVA RI, CARRETO JI. 2006. Annual variations in bio-optical properties at the "Estación Permanente de Estudios Ambientales (EPEA)" coastal station, Argentina. *Continental Shelf Research* 26:1093-1112.
- MACKAY MD, MACKAY DJ, HIGGINS HW, WRIGHT SW. 1996. CHEMTAX: a program for estimating class abundances from chemical markers: application to HPLC measurements of phytoplankton. *Marine Ecology Progress Series* 144(1/3):265-283.
- MONTOYA NG, MATTERA COY MB, CARIGNAN MO. 2015. Caracterización pigmentaria de cultivos de fitoplancton. Informe de Investigación INIDEP n°57/2015, 14 pp.
- MONTOYA N. 2020. Marea roja no tóxica durante la campaña de anchoíta bonaerense "EH0219". Inf. Inv. INIDEP N°48/2012, 12 pp.
- NEGRI RM. 2005. Campaña: CC-10/05 "Marea Roja – Dinámica del Plancton, EPEA VII/05". Informe de Campaña INIDEP N°20/2005, 4 pp.



- NEGRIRM. 2019. Serie de tiempo ecológica EPEA V/2019 (Octubre 2019). Informe de Campaña INIDEP n°30/2019, 6 pp.
- RIAL P, GARRIDO JL, JAÉN D, RODRÍGUEZ F. 2013. Pigment composition in three Dinophysis species (Dinophyceae) and the associated cultures of *Mesodinium rubrum* and *Teleaulax amphioxeia*. *Journal of Plankton Research* 35(2):433-437.
- RUIZ MG. 2018. Variabilidad de las propiedades bio-ópticas en la serie de tiempo Estación permanente de estudios Ambientales (EPEA) complementando mediciones *in situ* y satelitales [Tesis doctoral]. Mar del Plata: Universidad Nacional de Mar del Plata. 128 p.
- RUIZ MG, LUTZ VA, SEGURA V, BERGHOFF CF, NEGRI RM. 2020. The color of EPEA: variability in the *in situ* bio-optical properties in the period 2000-2017. *Marine and Fishery Sciences (MAFIS)* 33(2):205-225.
- SCHLÜTER L, MOHLENBERG F, HAVSKUM H y LARSEN S. 2000. The use of phytoplankton pigments for identifying and quantifying phytoplankton groups in coastal areas: testing the influence of light and nutrients on pigment/chlorophyll a ratios. *Marine Ecology Progress Series* 192:49-63.
- SIEBURTH JM, SMETACEK V, LENZ JR. 1978. Pelagic ecosystem structure: Heterotrophic compartments of the plankton and their relationship to plankton size fractions 1. *Limnology and Oceanography* 23(6):1256-1263.
- SILVA R, NEGRI R, LUTZ V. 2009. Summer succession of ultraphytoplankton at the EPEA coastal station (Northern Argentina). *Journal of Plankton Research* 31(4):447-458.
- SILVA R. 2011. Dinámica del ultra fitoplancton en el Mar Argentino. Mar del Plata: Universidad Nacional de Mar del Plata. 60 p.
- SUNESSEN I, LAVIGNE AS, GOYA A, SAR E. . 2004. Episodios de toxicidad en moluscos de aguas marinas costeras de la Provincia de Buenos Aires (Argentina) asociados a algas tóxicas (marzo de 2008-marzo de 2013). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 49 (3): 327-339.
- UITZ J, CLAUSTRE H, MOREL A, HOOKER S. 2006. Vertical distribution of phytoplankton communities in open ocean: An assessment based on surface chlorophyll. *Journal of Geophysical Research III(C08005):doi:10.1029/2005JC003207.*
- VIDUSSI F, CLAUSTRE H, MANCA BB, LUCHETTA A, MARTY J-C. 2001. Phytoplankton pigment distribution in relation to upper thermocline circulation in the eastern Mediterranean Sea during winter. *Journal of Geophysical Research: Oceans* 106(C9):19939-19956.
- VIÑAS MD, NEGRI RM, CEPEDA GD, HERNÁNDEZ D, SILVA R, DAPONTE MC, CAPITANIO FL. 2013. Seasonal succession of zooplankton in coastal waters of the Argentine Sea (Southwest Atlantic Ocean): prevalence of classical or microbial food webs. *Marine Biology Research* 9(4):371-382.
- ZAPATA M, JEFFREY SW, WRIGHT SW, RODRÍGUEZ F, GARRIDO JL, CLEMENTSON L. 2004. Photosynthetic pigments in 37 species (65 strains) of Haptophyta: implications for oceanography and chemotaxonomy. *Marine Ecology Progress Series* 270:83-102.
- ZAPATA M, RODRÍGUEZ F, GARRIDO JL. 2000. Separation of chlorophylls and carotenoids from marine phytoplankton: a new HPLC method using a reversed phase C8 column and pyridine-containing mobile phases. *Marine Ecology Progress Series* 195:29-45.