# RELACIONES PIGMENTO:CLOROFILA *A* DETERMINADAS POR CHEMTAX A PARTIR DE MUESTRAS NATURALES DE FLORACIONES ALGALES DE LA REGIÓN NORTE DE LA PLATAFORMA CONTINENTAL ARGENTINA

Ruiz M.G.[1a], Silva R.[1], Martínez A. [2] , Montoya N.[1].

[1] Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero (INIDEP)
[2] Dirección Nacional de Recursos Acuáticos (DINARA)

**PIGMENT:CHLOROPHYL *A* RATES DETERMINED USING CHEMTAX FROM ALGAL BLOOM SAMPLES COLLECTED AT SEA IN THE NORTHERN REGION OF THE CONTINENTAL SHELF OFF ARGENTINA.**

**Summary:** Toxic algal blooms may affect fishery resources, marine environment and public health. An approach to study the composition of phytoplankton communities and determine whether a bloom is potentially toxic uses pigment based chemotaxonomy, supplementing high pressure liquid chromatography (HPLC) with a factor analysis program known as CHEMTAX. To this end, it is necessary to determine first, the phytoplankton pigment concentration (chemichal markers), and, at the same time have good estimates of the values of pigment concentration: chlorophyl *a* (Chl. *a*) rates, for the different groups of algae, known as Phytoplankton Pigment Types (PhPiTs), occurring in each region of interest. Ideally this rates should be determined using monospecific cell cultures of local species (that may be difficult to obtain) or as an alternative, from nature collected samples of monospecific algal blooms; as a last resource, data from the bibliography could be used. The main objective of this study was to obtain the best possible estimation of pigment concentration: Chl. *a* rates in several PPTs from samples collected in the northern region of the continental shelf off Argentina. We specifically tested the hypothesis that the factor analysis of the CHEMTAX program applied to a set of samples of monospecific algal bloom pigments, could be a useful tool to estimate values of pigment rates. The hypothesis was successfully verified. The program estimated the rates of 11 different PhPiTs. The application of the results of this study is discussed. They may become a valuable input for future algal bloom studies using chemotaxonomy and CHEMTAX in the region.

**Key words:** Phytoplankton Pigments, continental shelf off Buenos Aires, toxic algal blooms, haptophytes, dinoflagellates.

**Resumen**: Los florecimientos de algas nocivas pueden afectar a los recursos pesqueros, el ambiente y a la salud pública. Una forma de estudiar la composición de las comunidades del fitoplancton que las producen y determinar si una floración es potencialmente tóxica o no es a través de la quimiotaxonomía basada en pigmentos, complementando cromatografía de alta presión (HPLC) con un análisis de factorización denominado “CHEMTAX”. Para esto es necesario en primer lugar, determinar la concentración de pigmentos del fitoplancton (marcadores químicos) y a su vez, contar con una buena aproximación de los valores de las relaciones de concentración pigmento:clorofila *a* (Chl_a) en los distintos grupos de algas, denominados “tipos pigmentarios del fitoplancton (TPFs)” que ocurren en cada región de interés. Idealmente, estas relaciones se determinan a partir de cultivos celulares monoespecíficos de especies locales (los cuales son difíciles de obtener), o en su defecto, a partir de muestras naturales correspondientes a floraciones monoalgales, y en el peor de los casos, de la bibliografía. El objetivo principal de este trabajo fue obtener la mejor estimación posible de las relaciones pigmento:Chla_a en varios TPFs a partir de muestras naturales de la región norte de la plataforma continental argentina. En particular, se evaluó la hipótesis de que el análisis de factorización CHEMTAX sobre un conjunto de muestras de pigmentos de floraciones monoalgales sería una buena herramienta para estimar los valores de las relaciones pigmentarias. La hipótesis fue verificada, se estimaron las relaciones en 11 TPFs distintos. Se discute el alcance de los resultados obtenidos, los cuales constituyen un insumo de gran valor para futuros estudios de floraciones mediante quimiotaxonomía y CHEMTAX en la región.

**Palabras Clave:** Pigmentos del fitoplancton, plataforma bonaerense, florecimientos de algas nocivas, haptofitas, dinoflagelados.

## INTRODUCCIÓN

Los florecimientos de algas nocivas (FANs) pueden afectar a los recursos pesqueros, el ambiente y la salud pública. A lo largo de la región norte de la plataforma continental argentina y uruguaya en la Zona Común de Pesca Argentino-Uruguaya (ZCP), se han registrado en distintas oportunidades brotes de toxinas asociados a dinoflagelados tóxicos en muestras de agua de mar. En la Estación Permanente de Estudios Ambientales (EPEA) se registraron en el año 2000 una floración otoñal y otra primaveral de *A. tamarense*, ambas con altos niveles de toxina paralizante de molusco (Carreto et al. 2004). En años posteriores, en la zona

[a] mgruiz@inidep.edu.ar

norte de la costa bonaerense, esta toxina fue detectada nuevamente asociada a floraciones de los dinoflagelados *G. catenatum* (Montoya et al. 2006) y brotes de toxinas lipofílicas fueron asociados a *Dinophysis acuminata, D. tripos* y *D. caudata*, los cuales derivaron en el establecimiento de vedas para la extracción de moluscos bivalvos (Montoya et al. 2011; Sunesen et al. 2014; Sunesen et al. 2021). Recientemente se reportó en el área la presencia de especies del género *Dinophysis sp*. y un *bloom* del género *Azadinium sp*. (Negri 2019b, Lutz et al. 2020), género productor de toxinas lipófilicas conocidas como "azaspirácidos". Este género fue reportado por primera vez en el Atlántico Sudoccidental en la década de 1990 (Akselman & Negri 2012, Akselman et al. 2014). En 2019 se detectaron toxinas del grupo azaspirácido en el frente marítimo del Río de La Plata (Ruiz et al. 2022a), aunque aún sigue bajo identificación las especies que las produjeron. Asimismo, en Uruguay se aplican vedas periódicamente debido a los efectos de floraciones asociadas toxinas lipofílicas. En Uruguay ha habido un aumento en la intensidad y duración de la floraciones de dinoflagelados (Martínez et al. 2017) y los problemas causados por las FANs están creciendo mundialmente y se espera que las FANs aumenten en frecuencia a causa del cambio climático, por un incremento en la temperatura superficial del mar y mayor estratificación y eutrofización de las costas, entre otros factores.

Se conocen apenas unas 80 especies de fitoplancton tóxicas en todo el mundo de entre las más de 5000 que constituyen el fitoplancton. Si bien los métodos de identificación basados en microscopía han evolucionado conforme a los avances tecnológicos (FlowCam, citometría de flujo), estos siguen siendo laboriosos para analizar un gran número de muestras y dependientes de la experticia del ojo investigador. Un método que permite caracterizar la diversidad de las comunidades de fitoplancton e identificar la presencia de "tipos pigmentarios del fitoplancton" (TPFs) a los que pertenecen especies toxigénicas es la quimiotaxonomía basada en pigmentos determinados por HPLC. Para determinar la abundancia relativa de cada TPF en una muestra, Mackey et al. (1996) propusieron un método de análisis factorial denominado "CHEMTAX". Dada la alta reproducibilidad de los métodos de HPLC para determinar pigmentos, la quimiotaxonomía junto a CHEMTAX se han convertido en una aproximación cuantitativa al estudio de la composición taxonómica del fitoplancton muy utilizada, rápida, reproducible y que permite inter-comparaciones. El análisis de CHEMTAX consiste básicamente en factorizar una *matriz S* de concentraciones de pigmentos en un conjunto de muestras en una *matriz F* de relaciones pigmento:Chl_a en cada TPF y una *matriz C*, de abundancia relativa de cada TPFs en cada muestra, en unidades de contribución al total de la Chl_a en la muestra. Para ejecutar CHEMTAX, el investigador debe criteriosamente construir una *matriz F0* de valores semilla para las relaciones pigmento:Chl_a, pues la factorización tiene infinitas soluciones. Es decir, para ejecutar CHEMTAX se requiere presuponer qué TPFs están presentes en la muestra, así como las relaciones pigmento:Chl_a de sus pigmentos marcadores.

El fundamento teórico de CHEMTAX ha sido descrito extensamente (Mackey et al. 1996; Ruiz et al. 2022b). Su limitación principal es que es muy sensible a la matriz de relaciones iniciales: los resultados serán robustos en tanto no se incluyan TPFs que no están presentes en las muestras (por lo que es preferible contar con información de microscopía previa de muestras seleccionadas), y mejorarán si se indican valores "semilla" de relaciones lo más cercanos a los valores verdaderos posible. Los autores de CHEMTAX recomiendan construir la matriz inicial basándose en datos de pigmentos obtenidos de cultivos de especies aisladas de la zona de interés en primera instancia, y en su defecto, recurrir a datos de campo o a la bibliografía. Además, CHEMTAX trabaja asumiendo que las relaciones pigmento:Chl_a para un TPF se mantienen constantes dentro del conjunto de muestras analizado, por lo que es necesario dividir apropiadamente el conjunto de muestras según las propiedades del ambiente, ya que se conoce que las relaciones pigmento:Chl_a varían como consecuencia de procesos de fotoaclimatación, cambios estacionales en el ambiente lumínico o en la disponibilidad de nutrientes (Schlüter et al. 2000).

En estudios previos realizados en la región en los que se usó el abordaje quimiotaxonómico junto con CHEMTAX, las relaciones pigmentarias iniciales fueron tomadas de la bibliografía y en ocasiones obtenidas empíricamente (Carreto et al. 2003; Carreto et al. 2008; Carreto et al. 2016; Ruiz et al. 2022b). Actualmente en INIDEP disponemos de un número suficiente de muestras naturales de floraciones dominadas por una o unas pocas especies a partir de las cuales sería posible estimar las relaciones pigmentarias de varios TPFs. Por lo tanto, el objetivo principal de este trabajo fue estimar las relaciones pigmento:Chl_a en varios TPFs frecuentes en el norte de la plataforma continental argentina a partir de muestras naturales de floraciones algales. La hipótesis de trabajo fue: dada la conocida baja diversidad en cada una de las muestras incluidas en el análisis, CHEMTAX estimará altos valores de Chl_a aportada por cada grupo mayoritario y bajos valores en el error global al optimizar las relaciones pigmento:Chl_a de los pigmentos que se encuentren en menores proporciones. Por lo tanto, los objetivos particulares fueron: a) calcular las relaciones pigmento:Chl_a de todos los pigmentos característicos de los TPFs presentes en las muestras, con énfasis en los grupos potencialmente tóxicos y b) evaluar la *performance* de CHEMTAX para estimar las abundancias relativas de TPFs con perfiles pigmentarios semejantes (Haptofitas – Pelagofitas y Haptofitas-Diatomeas, Dinoflagelados - Cryptofitas) sobre un conjunto de muestras poco diversas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Muestras de floraciones algales

Las muestras reunidas fueron tomadas en distintas zonas de la región norte de la plataforma continental argentina (en la costa, plataforma continental o en el Río de La Plata) entre los años 2001 y 2019 (Tabla 1). Las muestras correspondieron a los meses de septiembre a marzo, abarcando el período primavera-verano. La identificación taxonómica a nivel de género o especie se relevó de artículos publicados (Negri 2005, Carreto et al. 2008, Carreto et al. 2016, Negri 2019b, a, Montoya 2020) y en otros casos se determinó por microscopía convencional o por FlowCam. En algunos casos el grupo dominante se infirió a partir de la presencia de pigmentos marcadores como divinil clorofila *a* (DV_Chla) o zeaxantina (Zea), marcadores químicos de los géneros *Prochlorococcus sp*. y *Synechococcus sp*. respectivamente. Se siguió la nomenclatura de pigmentos y

la clasificación de las clases de fitoplancton en tipos pigmentarios (TPFs) propuesta por Jeffrey et al. (1997), explicadas en Ruiz et al. (2022b).

**Tabla 1.** Muestras incluidas en el análisis de CHEMTAX para la determinación de las relaciones pigmento:Chl_a. En "Referencia" se indica la procedencia de la identificación taxonómica del grupo o especie predominante (autor, publicación o la presencia de marcadores químicos como Zea o DV_Chla).

| Muestra Nro. | Fecha | Campaña | Estación | Profundidad | TPF | Especies | Referencia |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **1** | Diciembre 2019 | VA1219 | CT04 | 5 m | CYANO-1 | *Synechococcus sp.* | Zea |
| **2** | Diciembre 2018 | AH0718 | EPEA | 5 m | CYANO-1 | *Synechococcus sp.* | Ruiz et al. 2022b |
| **3 y 4** | Noviembre 2001 | EH0901 | EG 798 | 30 y 50m | CYANO-4 | *Prochlorococcus sp.* | Carreto et al. 2008 |
| **5** | Diciembre 2019 | VA1219 | UY06 | 130 m | CYANO-4 | *Prochlorococcus sp.* | DV_Chla |
| **6** | Diciembre 2019 | VA1219 | RP13 | 50 m | CYANO-4 | *Prochlorococcus sp.* | DV_Chla |
| **7** | Marzo 2014 | OB0214 | UY06 | 72 m | CYANO-4 | *Prochlorococcus sp.* | DV_Chla |
| **8** | Septiembre 2019 | EH0219 | EG 117 | 0 m | DINO-1, DINO-2 | *Azadinium sp., Karenia sp.* | Montoya 2020. |
| **9** | Septiembre 2019 | EH0219 | EG 118 | 0 m | DINO-2, DIATO-1 | *Karenia sp.* | Ricardo Silva |
| **10** | Octubre 2019 | AH0519 | EPEA | 27 m | DINO-1, DINO-2 | *Gimnodinium sp. y Ceratium sp.* | Negri 2019. |
| **11** | Enero 2019 | VA0119 | EPEA | 27 m | DINO-4 | *Dinophysis sp.* | Negri 2019. |
| **12-15** | Octubre 2005 | GEFPAT1 | Est. 7 | 0, 5, 10 y 30 m | DIATO-1, DIATO-2 | *Thalasiosira sp. y Pseudonizchia sp* | Carreto et al. 2016. |
| **16** | Diciembre 2019 | VA1219 | UY03 | 15 m | DIATO-1 | *Chetoceros sp.* | Ana Martínez |
| **17** | Diciembre 2019 | VA1219 | RP07 | 13 m | DIATO-1 | *Chetoceros sp.* | Ana Martínez |
| **18** | Diciembre 2019 | VA1219 | CT01 | 25 m | DIATO-2 | *Pseudonizchias sp.* | Ricardo Silva |
| **19** | Noviembre 2005 | CC1005 | EPEA | 0 m | HAPTO-4 | *Prymnesium sp.* | Negri. 2005. |
| **20** | Enero de 2019 | VA0119 | CT04 | 38 m | PELAGO-1 | Pelagofitas | Ricardo Silva |
| **21** | Enero de 2019 | VA0119 | CT05 | 0 m | HAPTO-6 | *Emiliania huxleyi* y dinoflagelados del nanoplancton | Ricardo Silva |

**Determinación de la concentración de pigmentos del fitoplancton**

Para el análisis de los pigmentos se utilizó el método de Garrido & Zapata (1997) hasta el 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 HPLC (cromatografía líquida de alta presión), 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 A 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 for14C 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 $c_3$ y las clorofilas *c* no polares fueron cuantificadas como equivalentes de clorofila $c_2$).

**Análisis de factorización utilizando CHEMTAX**

La composición del fitoplancton en cada muestra se determinó utilizando CHEMTAX (Mackey et al. 1996), un programa que aplica análisis factorial y un algoritmo descendente para determinar el mejor ajuste a los datos de concentraciones de pigmentos a partir de una determinada matriz inicial de relaciones pigmento:Chl_a. Mediante un proceso iterativo para una determinada matriz de entrada, el programa optimiza las relaciones pigmento:Chl_a para cada TPF y aplica la relación final al total de Chl_a en cada muestra para así determinar la proporción de Chl_a contribuida por cada TPFs. Los resultados son expresados tanto en cantidades de Chl_a ($mgm^{-3}$) como en cantidad relativa (porcentaje) del total de Chl_a en cada muestra por cada grupo algal. Se utilizó la versión 1.95 de CHEMTAX basado en Microsoft Excel provisto por el Australian Antarctic Data Centre (https://data.aad.gov.au). Este programa ha sido aplicado en varias regiones del océano global y del Mar Argentino (Carreto et al. 2008, Montoya et al. 2015, Carreto et al. 2016; Carreto et al. 2018, Ruiz et al. 2022b).

Para los cálculos, el programa CHEMTAX asume que las relaciones de pigmento:Chl_a son constantes dentro de cada tipo pigmentario en todo el conjunto de muestras. Cada ejecución del programa consta de sucesivos ciclos. Cada ciclo consiste en generar en forma aleatoria 60 matrices iniciales de acuerdo a los límites de variación permitidos para cada relación pigmento:Chl_a 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 ciclo es utilizada como la matriz inicial en el ciclo siguiente hasta completar un *N* suficiente de ciclos que permita alcanzar estabilidad en el RMS global y coherencia en los resultados.

Se construyó una matriz de TPFs y relaciones pigmento:Chl_a incluyendo todos los pigmentos diagnósticos de los que se tiene información. Los valores iniciales de las relaciones pigmento:Chl_a se estimaron cuidadosamente a partir de a) cultivos de muestras aisladas de la región, b) muestras naturales disponibles, c) resultados previos de CHEMTAX de estudios propios y en su defecto, d) de la bibliografía. Se generaron rangos acotados de valores para cada relación sobre los cuales se calculó el valor promedio, la media geométrica y un factor multiplicador que permite establecer los límites de variación requeridos por el programa. En este estudio se incluyeron muestras del norte de la plataforma argentina tanto para el análisis como para la estimación de las relaciones iniciales. Un ejemplo de cómo se calcularon las relaciones iniciales se muestra en el Apéndice A.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Primera ejecución de CHEMTAX

En la primera ejecución de CHEMTAX se exploró cuál fue la performance del programa sobre todo el conjunto de muestras (21 muestras) y se incluyó a la Chl_c2 como pigmento marcador en la matriz inicial de relaciones (Tabla 2). El TPF CHLORO-1 debió ser incluido pues varias muestras contenían concentraciones no despreciables de Chl_b. A grandes rasgos, los resultados estuvieron dentro de lo esperado pero algunos detalles merecen ser observados. CHEMTAX confundió HAPTO-4 con DIATO-2 (muestras 12-15), atribuyó a DIATO-2 lo que debería ser PELAGO-1LL (muestra 20), y repartió en partes iguales entre DIATO-1 y PELAGO-1LL la Chl_a aportada por HAPTO-6 (muestra 21). En esta ejecución CHEMTAX atribuyó un pequeño porcentaje de Chl_a a DIATO-1 y a DINO-1 en muestras en las que no se había detectado ni Chl_c1 ni Peri, pigmentos marcadores de estos TPFs, respectivamente (Tabla 3).

Por un lado, el hecho de que CHEMTAX no sea eficaz en separar grupos que poseen patrones de pigmentos semejantes solamente en base a las diferencias en las relaciones pigmentarias ya ha sido reportado en la literatura. El hecho de que se tratara de un conjunto de muestras poco diversas tampoco fue suficiente para que CHEMTAX resolviera apropiadamente el problema. Lo que se sugiere en estos casos es separar *a priori* las muestras en base a los pigmentos presentes y ausentes, y a su vez, mantener en mente que difícilmente CHEMTAX permitirá llegar a discriminar al nivel de especie (sólo en casos particulares como el caso de *Prochlorococcus sp.*).

Por otro lado, respecto al hecho de que CHEMTAX calculó valores positivos de abundancia de DINO-1 en muestras carentes de su pigmento marcador (Peri), fue consultado el Dr. Simon Wright, uno de los autores del programa. Wrigth explicó que CHEMTAX usa el conjunto completo de pigmentos marcadores para cada taxón (en el caso de DINO-1, Peri y Chl_c2) para calcular la contribución a la Chl_a minimizando el RMS de la diferencia entre la Chl_a observada y la Chl_a estimada, considerando la contribución de cada pigmento con igual importancia. La actual versión de CHEMTAX no reconoce el hecho de que Peri es un pigmento especial, un marcador inequívoco del grupo DINO-1, por lo que cualquier error en el cálculo del contenido de Chl_c2 influirá en el cálculo de la abundancia de DINO-1, incluso cuando no haya valores positivos de Peri. En base a lo explicado por S. Wright, se adoptará la recomendación de excluir Chl_c2 de los análisis de CHEMTAX.

### Segunda ejecución de CHEMTAX: sin diatomeas y sin Chl_c2

Se separaron las muestras en las que se esperaban altos porcentajes de los TPFs DIATO-1 y DIATO-2 (muestras 12 a 18). Se partió de la misma matriz original, excluyendo Chl_c2 y la ejecución constó de dos ciclos. De esta manera se intentó facilitar la tarea de CHEMTAX al separar uno de los grupos con Fuco. Esta vez, el programa falló en estimar la abundancia de DINO-2 en muestras con concentraciones no nulas de Gyro y a su vez, en la muestra # 20, no identificó como grupo mayoritario a PELAGO-1LL, sino que repartió la Chl_a en los 3 grupos con perfiles pigmentarios semejantes presentes en la matriz (PELAGO-1 LL, HAPTO-4 y DINO-2, Tablas 4, 5 y 6).

### Tercera ejecución de CHEMTAX: excluyendo a los TPFs HAPTO-4 y HAPTO-6

Esta vez se excluyeron la de la matriz inicial de la Tabla 2 los grupos HAPTO-4 y HAPTO-6 y la Chl_c2, y también las muestras para las que se esperaban altos porcentajes de estos grupos (#19 y 21 respectivamente), aunque se conservó la muestra con PELAGO-1LL (#20, Tabla 7). Los resultados fueron aún más confusos (Tabla 8), pues se estimó CYANO-2 en muestras sin Zea, CYANO-4 en muestras sin DV_Chla, DINO-1 en muestras sin Peri y valores nulos de DINO-1 en muestras con Peri, valores no nulos de DINO-2 en casi todas las muestras y tampoco logró separar el grupo PELAGO-1LL correctamente de un TPF con perfil pigmentario similar, el grupo DIATO-2 (Tabla 9).

**Tabla 2.** Matriz de relaciones iniciales de la primera ejecución de CHEMTAX, incluyendo todos los TPFs y todos los pigmentos.

| Blooms-R1-01 | MVChl_c3 | Chl_c3 | Chl_c2 | Chl_c1 | Peri | But_fuco | Fuco | Viola | Hex_fuco | Allo | Zea | Lut | Gyro | Chl_b | MG_Emiliania | DV_Chla | Chl_a |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| CYANO-2 | | | | | | | | | | | 1.273 | | | | | | 1 |
| CYANO-4 | | | | | | | | | | | 0.537 | | | 1.206 | | 1 | 1 |
| DIATO-1 | | | 0.212 | 0.124 | | | 0.762 | | | | | | | | | | 1 |
| DIATO-2 | | 0.081 | 0.252 | | | | 0.992 | | | | | | | | | | 1 |
| PELAGO-1 LL | | 0.209 | 0.374 | | | 0.337 | 1.149 | | | | | | | | | | 1 |
| HAPTO-4 | 0.080 | 0.056 | 0.059 | 0.137 | | | 0.638 | | | | | | | | 0.022 | | 1 |
| HAPTO-6 | 0.011 | 0.169 | 0.197 | | | 0.046 | 0.200 | | 0.629 | | | | | | 0.066 | | 1 |
| DINO-1 | | | 0.410 | | 1.237 | | | | | | | | | | | | 1 |
| DINO-2 | | 0.114 | 0.077 | | | 0.156 | 0.268 | | 0.189 | | | | 0.038 | | | | 1 |
| DINO-4 | | | 0.287 | | | | | | | 0.369 | | | | | | | 1 |
| CHLORO-1 | | | | | | | | 0.0755 | | | 0.0485 | 0.279 | | 0.273 | | | 1 |

**Tabla 3.** Abundancia relativa de cada TPF por muestra estimada luego de la primera ejecución de CHEMTAX. Resultados expresados como porcentaje del total de Chl_a aportado por cada TPF. Se señala a modo de semáforo, en verde lo que se considera un resultado correcto y en rojo incorrecto. El número de muestra se corresponde con el de la Tabla 1.

| Nº | CYANO.2_por | CYANO.4_por | DIATO.1_por | DIATO.2_por | PELAGO.1LL_por | HAPTO.4_por | HAPTO.6_por | DINO.1_por | DINO.2_por | DINO.4_por | CHLORO.1_por |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 65.38 | 0 | 2.95 | 0.88 | 1.26 | 0 | 3.75 | 2.13 | 8.05 | 10.39 | 5.21 |
| 2 | 69.91 | 0.10 | 2.50 | 1.17 | 6.01 | 0.81 | 3.77 | 0.30 | 0 | 9.17 | 6.28 |
| 3 | 19.87 | 14.66 | 11.14 | 0.45 | 4.25 | 0 | 3.96 | 5.03 | 19.50 | 0.95 | 20.18 |
| 4 | 5.86 | 11.02 | 0.00 | 0 | 23.99 | 0 | 13.11 | 0 | 2.25 | 0 | 43.78 |
| 5 | 4.00 | 29.11 | 0.00 | 0 | 35.11 | 0 | 27.61 | 0 | 0 | 0 | 4.18 |
| 6 | 3.52 | 3.04 | 0.00 | 10.18 | 10.15 | 0 | 20.14 | 0 | 8.92 | 28.61 | 15.43 |
| 7 | 0.00 | 38.59 | 0.00 | 31.90 | 0 | 0 | 29.47 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 8 | 0.02 | 0 | 2.41 | 0 | 8.35 | 0 | 3.29 | 56.28 | 6.44 | 22.88 | 0.34 |
| 9 | 3.50 | 0 | 5.94 | 0 | 0.794 | 0.141 | 0.15 | 83.47 | 5.13 | 0.80 | 0.08 |
| 10 | 1.38 | 0.01 | 5.86 | 4.33 | 0 | 1.169 | 1.00 | 79.98 | 4.02 | 1.21 | 1.05 |
| 11 | 0 | 0.02 | 0 | 9.61 | 0 | 0.038 | 0.42 | 6.33 | 0.05 | 73.66 | 9.85 |
| 12 | 0.01 | 0 | 71.86 | 2.01 | 0.4 | 24.33 | 0 | 0.74 | 0.34 | 0.25 | 0.1 |
| 13 | 0.02 | 0 | 73.16 | 2.51 | 0.6 | 21.40 | 0 | 1.40 | 0.52 | 0.36 | 0.1 |
| 14 | 0.01 | 0 | 75.67 | 2.05 | 0.6 | 20.67 | 0 | 0.46 | 0.34 | 0.17 | 0.0 |
| 15 | 0.03 | 0 | 68.18 | 8.65 | 0 | 20.94 | 0 | 1.26 | 0.53 | 0.30 | 0.1 |
| 16 | 0.67 | 0 | 77.88 | 7.70 | 0 | 2.59 | 0.00 | 4.31 | 0.45 | 6.33 | 0.07 |
| 17 | 1.34 | 0.01 | 65.21 | 6.20 | 0.92 | 1.98 | 0.07 | 2.62 | 3.03 | 17.07 | 1.57 |
| 18 | 0.42 | 0.11 | 28.44 | 30.59 | 5.76 | 0.3 | 2.03 | 8.73 | 6.80 | 9.78 | 7.05 |
| 19 | 1.39 | 0 | 11.99 | 0 | 1.95 | 78.48 | 0.51 | 4.59 | 0 | 1.09 | 0 |
| 20 | 0.53 | 0.08 | 0 | 53.47 | 36.16 | 0 | 2.67 | 0 | 0 | 0 | 7.08 |
| 21 | 1.97 | 0 | 15.54 | 0 | 15.78 | 0 | 31.76 | 9.00 | 5.42 | 19.28 | 1.26 |

**Tabla 4.** Matriz de relaciones iniciales de la segunda ejecución de CHEMTAX, excluyendo los TPFs DIATO-1 y DIATO-2 y el pigmento Chl_c2.

| Blooms-R2-01 | MVChl_c3 | Chl_c3 | Chl_c1 | Peri | But_fuco | Fuco | Viola | Hex_fuco | Allo | Zea | Lut | Gyro | Chl_b | MG_Emiliania | DV_Chla | Chl_a |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| CYANO-2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1.256 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| CYANO-4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.438 | 0 | 0 | 1.128 | 0 | 1.000 | 1 |
| PELAGO-1 LL | 0 | 0.205 | 0 | 0 | 0.323 | 1.146 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| HAPTO-4 | 0.080 | 0.051 | 0.111 | 0 | 0 | 0.622 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.021 | 0 | 1 |
| HAPTO-6 | 0.011 | 0.161 | 0 | 0 | 0.019 | 0.187 | 0 | 0.584 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.060 | 0 | 1 |
| DINO-1 | 0 | 0 | 0 | 1.216 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| DINO-2 | 0 | 0.103 | 0 | 0 | 0.122 | 0.262 | 0 | 0.186 | 0 | 0 | 0 | 0.037 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| DINO-4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.140 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| CHLORO-1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.072 | 0 | 0 | 0.029 | 0.279 | 0 | 0.270 | 0 | 0 | 1 |

**Tabla 5.** Matriz final de relaciones de la segunda ejecución de CHEMTAX.

| R14_16AveRat01 | MVChl_c3 | Chl_c3 | Chl_c1 | Peri | But_fuco | Fuco | Viola | Hex_fuco | Allo | Zea | Lut | Gyro | Chl_b | G_Emilian | DV_Chla | Chl_a |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| CYANO-2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1.534402 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| CYANO-4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.34115 | 0 | 0 | 1.472404 | 0 | 1.898134 | 1 |
| PELAGO-1LL | 0 | 0.404249 | 0 | 0 | 1.113925 | 1.006761 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| HAPTO-4 | 0.106722 | 0.056627 | 0.042885 | 0 | 0 | 1.18775 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.023001 | 0 | 1 |
| HAPTO-6 | 0.015224 | 0.195255 | 0 | 0 | 0.028117 | 0.251271 | 0 | 1.679228 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.084404 | 0 | 1 |
| DINO-1 | 0 | 0 | 0 | 0.99663 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| DINO-2 | 0 | 0.134394 | 0 | 0 | 0.109945 | 0.307004 | 0 | 0.171309 | 0 | 0 | 0 | 0.032682 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| DINO-4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.16371 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| CHLORO-1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.071106 | 0 | 0 | 0.031832 | 0.057841 | 0 | 0.589815 | 0 | 0 | 1 |

**Tabla 6.** Abundancia relativa de cada TPF por muestra estimada luego de la segunda ejecución de CHEMTAX. Resultados expresados como concentración de Chl_a aportado por cada TPF. Se señala en la última columna el total de Chl_a en cada muestra. A modo de semáforo, en verde lo que se considera un resultado correcto y en rojo incorrecto. El número de muestra se corresponde con el de la Tabla 1.

| Index | Campania | Estacion | Profundidad | CYANO-2 | CYANO-4 | PELAGO-1LL | HAPTO-4 | HAPTO-6 | DINO-1 | DINO-2 | DINO-4 | CHLORO-1 | Chl_a |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | VA1219 | CT04 | 5 | 0.286 | 0.000 | 0.008 | 0.010 | 0.019 | 0.075 | 0.038 | 0.063 | 0.021 | 0.521 |
| 2 | AH0718 | EPEA | 5 | 0.395 | 0.000 | 0.037 | 0.077 | 0.025 | 0.000 | 0.000 | 0.062 | 0.042 | 0.636 |
| 3 | EH0901 | EG798 | 30 | 0.050 | 0.049 | 0.016 | 0.017 | 0.015 | 0.059 | 0.021 | 0.003 | 0.065 | 0.2953 |
| 4 | EH0901 | EG798 | 50 | 0.008 | 0.017 | 0.032 | 0.000 | 0.018 | 0.014 | 0.000 | 0.001 | 0.063 | 0.1514 |
| 5 | VA1219 | UY06 | 130 | 0.010 | 0.068 | 0.070 | 0.000 | 0.056 | 0.003 | 0.000 | 0.001 | 0.025 | 0.233 |
| 6 | VA1219 | RP13 | 50 | 0.024 | 0.025 | 0.064 | 0.009 | 0.131 | 0.009 | 0.243 | 0.252 | 0.119 | 0.875 |
| 7 | OB0214 | UY06 | 72 | 0.001 | 0.073 | 0.000 | 0.005 | 0.038 | 0.000 | 0.078 | 0.000 | 0.000 | 0.195 |
| 8 | EH0219 | EG117 | 0 | 0.000 | 0.000 | 1.155 | 0.000 | 0.563 | 11.644 | 0.000 | 3.544 | 0.009 | 16.915 |
| 9 | EH0219 | EG118 | 0 | 1.258 | 0.000 | 0.534 | 0.972 | 0.292 | 49.800 | 0.000 | 0.003 | 0.000 | 52.86 |
| 10 | AH0519 | EPEA | 27 | 0.032 | 0.000 | 0.000 | 0.077 | 0.023 | 3.129 | 0.155 | 0.002 | 0.024 | 3.442 |
| 11 | VA0119 | EPEA | 27 | 0.000 | 0.000 | 0.002 | 0.100 | 0.000 | 0.078 | 0.075 | 0.997 | 0.110 | 1.362 |
| 19 | CC1005 | EPEA | 0 | 0.085 | 0.000 | 0.076 | 4.511 | 0.038 | 0.998 | 0.000 | 0.051 | 0.004 | 5.763 |
| 20 | VA0119 | CT04 | 38 | 0.013 | 0.000 | 1.396 | 1.308 | 0.000 | 0.000 | 1.073 | 0.000 | 0.261 | 4.051 |
| 21 | VA0119 | CT05 | 0 | 0.021 | 0.000 | 0.213 | 0.082 | 0.417 | 0.374 | 0.019 | 0.275 | 0.011 | 1.413 |

**Tabla 7.** Matriz de relaciones iniciales de la segunda ejecución de CHEMTAX, excluyendo los TPFs HATO-4 y HAPTO-6 y el pigmento Chl_c2.

| Blooms-R2-01 | Chl_c3 | Chl_c1 | Peri | But_fuco | Fuco | Viola | Hex_fuco | Allo | Zea | Lut | Gyro | Chl_b | DV_Chla | Chl_a |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| CYANO-2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1.256 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| CYANO-4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.438 | 0 | 0 | 1.128 | 1 | 1 |
| DIATO-1 | 0 | 0.077 | 0 | 0 | 0.759 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| DIATO-2 | 0.081 | 0 | 0 | 0 | 0.992 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| PELAGO-1 LL | 0.205 | 0 | 0 | 0.323 | 1.146 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| DINO-1 | 0 | 0 | 1.216 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| DINO-2 | 0.103 | 0 | 0 | 0.122 | 0.262 | 0 | 0.186 | 0 | 0 | 0 | 0.037 | 0 | 0 | 1 |
| DINO-4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.140 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| CHLORO-1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.072 | 0 | 0 | 0.029 | 0.279 | 0 | 0.270 | 0 | 1 |

**Tabla 8.** Matriz final de relaciones de la tercera ejecución de CHEMTAX, excluyendo HATO-4, HAPTO-6 y Chl_c2.

| R11_13AveRat01 | Chl_c3 | Chl_c1 | Peri | But_fuco | Fuco | Viola | Hex_fuco | Allo | Zea | Lut | Gyro | Chl_b | DV_Chla | Chl_a |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| CYANO-2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1.422299 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| CYANO-4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.739736 | 0 | 0 | 2.710969 | 3.040636 | 1 |
| DIATO-1 | 0 | 0.063248 | 0 | 0 | 0.790864 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| DIATO-2 | 0.090 | 0 | 0 | 0 | 1.106613 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| PELAGO-1LL | 0.287 | 0 | 0 | 0.831306 | 0.881916 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| DINO-1 | 0 | 0 | 1.267482 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| DINO-2 | 0.110 | 0 | 0 | 0.109488 | 0.203346 | 0 | 0.26593 | 0 | 0 | 0 | 0.0323 | 0 | 0 | 1 |
| DINO-4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.146719 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| CHLORO-1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.075659 | 0 | 0 | 0.026409 | 0.203925 | 0 | 0.419811 | 0 | 1 |

**Tabla 9.** Resultados de la abundancia de los distintos TPFs, expresados en $mgm^{-3}$ de Chl_a por muestra, de la tercera ejecución de CHEMTAX, en la que se excluyeron los TPFs HAPTO-4 y HAPT-6 y Chl_c2. A modo de semáforo, el verde indica resultados considerados correctos y rojo incorrectos.

| Index | Campania | Estacion | Profundidad | CYANO-2 | CYANO-4 | DIATO-1 | DIATO-2 | PELAGO-1L | DINO-1 | DINO-2 | DINO-4 | CHLORO-1 | Chl_a |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | VA1219 | CT04 | 5 | 0.282 | 0 | 0.007 | 0 | 0 | 0.011 | 0.125 | 0.061 | 0.035 | 0.521 |
| 2 | AH0718 | EPEA | 5 | 0.383 | 0.001 | 0.005 | 0 | 0.029 | 0 | 0.127 | 0.055 | 0.036 | 0.636 |
| 3 | EH0901 | EG798 | 30 | 0.048 | 0.030 | 0.029 | 0.002 | 0.010 | 0.023 | 0.103 | 0.005 | 0.046 | 0.295 |
| 4 | EH0901 | EG798 | 50 | 0.004 | 0.011 | 0 | 0 | 0.024 | 0 | 0.074 | 0 | 0.038 | 0.151 |
| 5 | VA1219 | UY06 | 130 | 0.001 | 0.030 | 0 | 0 | 0.034 | 0 | 0.169 | 0 | 0 | 0.233 |
| 6 | VA1219 | RP13 | 50 | 0.015 | 0.018 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.762 | 0.019 | 0.060 | 0.875 |
| 7 | OB0214 | UY06 | 72 | 0 | 0.037 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.158 | 0 | 0 | 0.195 |
| 8 | EH0219 | EG117 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1.227 | 8.632 | 3.202 | 3.821 | 0.033 | 16.915 |
| 9 | EH0219 | EG118 | 0 | 1.503 | 0 | 1.812 | 0.004 | 0.578 | 46.617 | 2.020 | 0.293 | 0.033 | 52.860 |
| 10 | AH0519 | EPEA | 27 | 0.038 | 0.001 | 0.093 | 0.134 | 0 | 2.870 | 0.244 | 0.034 | 0.030 | 3.442 |
| 11 | VA0119 | EPEA | 27 | 0 | 0.002 | 0 | 0.100 | 0.000 | 0.062 | 0.028 | 1.053 | 0.117 | 1.362 |
| 12 | GEF1 | Est7 | 0 | 0.003 | 0 | 15.323 | 2.988 | 0.116 | 0.814 | 0.052 | 0.228 | 0.027 | 19.550 |
| 13 | GEF1 | Est7 | 3 | 0.004 | 0 | 15.105 | 2.960 | 0.155 | 1.036 | 0.048 | 0.286 | 0.034 | 19.628 |
| 14 | GEF1 | Est7 | 10 | 0.003 | 0 | 14.819 | 2.633 | 0.150 | 0.698 | 0.037 | 0.192 | 0.023 | 18.554 |
| 15 | GEF1 | Est7 | 30 | 0.003 | 0 | 11.083 | 3.437 | 0.002 | 0.812 | 0.083 | 0.239 | 0.027 | 15.687 |
| 16 | VA1219 | UY03 | 15 | 0.021 | 0 | 2.533 | 0.471 | 0.000 | 0.235 | 0.017 | 0.285 | 0.006 | 3.569 |
| 17 | VA1219 | RP07 | 13 | 0.037 | 0.001 | 1.853 | 0.371 | 0.041 | 0.154 | 0.072 | 0.666 | 0.050 | 3.244 |
| 18 | VA1219 | CT01 | 28 | 0.004 | 0.003 | 0.208 | 0.513 | 0.085 | 0.118 | 0.225 | 0.157 | 0.089 | 1.401 |
| 20 | VA0119 | CT04 | 38 | 0.015 | 0.007 | 0 | 1.399 | 1.779 | 0 | 0.600 | 0.000 | 0.252 | 4.051 |

**Cuarta ejecución de CHEMTAX: diseño de la matriz a partir de pigmentos ausentes**

Teniendo en cuenta el objetivo general planteado que fue obtener mediante CHEMTAX la mejor estimación posible de las relaciones pigmento:Chl_a, y con el fin de facilitar la discriminación de los TPFs y minimizar el error, se separó el conjunto de muestras en base a los pigmentos ausentes en estas y en base a ello se armaron las matrices iniciales. El razonamiento fue el de no incluir en la matriz grupos fitoplanctónicos ausentes en las muestras y de esta manera, reducir a cero la probabilidad de que CHEMTAX atribuyera Chl_a a TPFs ausentes en las muestras. Se corrieron las muestras #1-7,10 y 11 carentes de MVChl_c3, Chl_c1 y Gyro, en una matriz en la que se excluyeron estos pigmentos (Tabla 10). También se excluyó la Lut por estar ausente en 7 de las 9 muestras. De acuerdo a lo observado por microscopía y a lo que indican los pigmentos presentes, los grupos incluidos fueron CYANO-2, CYANO-4, DIATO-2, HAPTO-8, DINO-1, DINO-4 y CHLORO-1. HAPTO-8 se incluyó en la matriz debido a la presencia de But_fuco y a la ausencia de MG_Emiliania y MVChl_c3, a pesar de que en ninguna muestra en particular se observó la presencia de haptofitas tipo *Phaeocystis sp*. Cabe señalar que el grupo DINO-4 es indistinguible en términos de relaciones pigmentarias de CRYPTO-1. Se corrieron dos ciclos con esta configuración, el segundo utilizando como matriz de entrada la matriz de salida del primero, a partir de la cual se crearon 60 matrices aleatorias con un 40% de variabilidad. Esta vez los resultados observados (Tabla 11 y 12) fueron coherentes con lo observado por microscopía y resumido en la Tabla 1.

**Tabla 10.** Matriz inicial de la quinta ejecución de CHEMTAX. Notar la ausencia de MVChl_c3, Chl_c1, Gyro y Lut y por ende de DIATO-1, HAPTO-6 y DINO-2. Se incluyó el TPF HAPTO-8 como aportante de But_fuco.

| Blooms-R4-01 | Chl_c3 | Peri | But_fuco | Fuco | Viola | Hex_fuco | Allo | Zea | Chl_b | DV_Chla | Chl_a |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| CYANO-2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1.256 | 0 | 0 | 1 |
| CYANO-4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.438 | 1.128 | 1 | 1 |
| DIATO-2 | 0.081 | 0 | 0 | 0.992 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| HAPTO-8 | 0.546 | 0 | 0.397 | 0.380 | 0 | 0.397 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| DINO-1 | 0 | 1.216 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| DINO-4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.140 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| CHLORO-1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.072 | 0 | 0 | 0.029 | 0.270 | 0 | 1 |

**Tabla 11**. Matriz final de relaciones de la quinta ejecución de CHEMTAX.

| Run4_R2-4AveRat01 | Chl_c3 | Peri | But_fuco | Fuco | Viola | Hex_fuco | Allo | Zea | Chl_b | DV_Chla | Chl_a |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| CYANO-2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1.424 | 0 | 0 | 1 |
| CYANO-4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.369 | 0.930 | 1.157 | 1 |
| DIATO-2 | 0.076 | 0 | 0 | 1.045 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| HAPTO-8 | 0.400 | 0 | 0.490 | 0.398 | 0 | 0.448 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| DINO-1 | 0 | 1.083 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| DINO-4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.196 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| CHLORO-1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.059 | 0 | 0 | 0.033 | 0.329 | 0 | 1 |

**Tabla 12.** Abundancia relativa de cada TPF por muestra estimada luego de la cuarta ejecución de CHEMTAX. Resultados expresados como concentración de Chl_a ($mgm^{-3}$) aportado por cada TPF. Se señala en la última columna el total de Chl_a en cada muestra. A modo de semáforo, en verde lo que se considera un resultado correcto y en rojo incorrecto. El número de muestra se corresponde con el de la Tabla 1.

| Index | Campania | Estacion | Profundid | CYANO-2 | CYANO-4 | DIATO-2 | HAPTO-8 | DINO-1 | DINO-4 | CHLORO-1 | Chl_a |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | VA1219 | CT04 | 5 | 0.283 | 0.000 | 0.029 | 0.037 | 0.090 | 0.043 | 0.039 | 0.521 |
| 2 | AH0718 | EPEA | 5 | 0.351 | 0.000 | 0.120 | 0.068 | 0.000 | 0.046 | 0.052 | 0.636 |
| 3 | EH0901 | EG798 | 30 | 0.040 | 0.065 | 0.030 | 0.036 | 0.033 | 0.001 | 0.090 | 0.295 |
| 4 | EH0901 | EG798 | 50 | 0.003 | 0.021 | 0.000 | 0.053 | 0.000 | 0.000 | 0.075 | 0.151 |
| 5 | VA1219 | UY06 | 130 | 0.001 | 0.083 | 0.000 | 0.125 | 0.001 | 0.000 | 0.023 | 0.233 |
| 6 | VA1219 | RP13 | 50 | 0.025 | 0.037 | 0.087 | 0.253 | 0.123 | 0.167 | 0.183 | 0.875 |
| 7 | OB0214 | UY06 | 72 | 0.000 | 0.103 | 0.046 | 0.036 | 0.009 | 0.000 | 0.000 | 0.195 |
| 10 | AH0519 | EPEA | 27 | 0.028 | 0.000 | 0.145 | 0.047 | 3.190 | 0.002 | 0.030 | 3.442 |
| 11 | VA0119 | EPEA | 27 | 0.000 | 0.000 | 0.185 | 0.013 | 0.276 | 0.719 | 0.169 | 1.362 |

El TPFs DINO-2 es de particular interés pues a este pertenecen especies tóxicas del género *Karenia sp*. En el año 2019 en una campaña de evaluación de *Engraulis anchoita* se observó una importante discoloración, a la cual corresponden las muestras #8 y #9. En dichas muestras se detectaron significativas concentraciones de un pigmento marcador de este género, Gyro, el cual está presente en estos grupos en muy bajas proporciones. Por lo tanto, se intentó mediante CHEMTAX optimizar las relaciones pigmentarias del TPF DINO-2. Para esto, se incluyeron nuevamente las muestras con valores positivos de Gyro (#8 y #9) y se agregó el TPF DINO-2 en la matriz y las relaciones correspondientes partiendo de la matriz de salida de la última ejecución (Tabla 12). Sin embargo, no se logró estimar DINO-2 en las muestras #8 y #9, y, por el contrario, la abundancia estimada fue nula (Tabla 13). Se presume que la Chl_a aportada por este grupo fue atribuida a los grupos DIATO-2 y HAPTO-8 en gran medida, grupos que poseen también Chl_c3, But_fuco, Fuco y Hex_fuco.

En consiguiente, se redefinió el perfil pigmentario de DINO-2, dejando solamente a Gyro como único pigmento marcador (a pesar de que esto no es del todo correcto, Tabla 14). Esta vez, CHEMTAX sí logró separar DINO-2 en las muestras #8 y #9 (Tabla 15).

**Tabla 12.** Matriz inicial de la sexta ejecución de CHEMTAX. Se incluyó DINO-2 y Gyro. Notar que el perfil pigmentario de DINO-2 se caracterizó con Chl_c3, But_fuco, Fuco, Hex_fuco y Gyro.

| R5_7AveRat01 | Chl_c3 | Peri | But_fuco | Fuco | Viola | Hex_fuco | Allo | Zea | Gyro | Chl_b | DV_Chla | Chl_a |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| CYANO-2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1.644971 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| CYANO-4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.325041 | 0 | 1.004564 | 1.285418 | 1 |
| DIATO-2 | 0.086307755 | 0 | 0 | 1.029413 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| HAPTO-8 | 0.341058108 | 0 | 0.506749 | 0.396144 | 0 | 0.502889 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| DINO-1 | 0 | 0.990283 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| DINO-2 | 0.103 | 0 | 0.122 | 0.262 | 0 | 0.186 | 0 | 0 | 0.036 | 0 | 0 | 1 |
| DINO-4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.260611 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| CHLORO-1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.056679 | 0 | 0 | 0.034991 | 0 | 0.403258 | 0 | 1 |

**Tabla 13.** Resultados de la estimación de la abundancia de DINO-2 en base a la matriz de la Tabla 12.

| Index | Campania | Estacion | Profundidad | CYANO-2 | CYANO-4 | DIATO-2 | HAPTO-8 | DINO-1 | DINO-2 | DINO-4 | CHLORO-1 | Chl_a |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | VA1219 | CT04 | 5 | 0.245 | 0.000 | 0.010 | 0.017 | 0.116 | 0.061 | 0.046 | 0.027 | 0.521 |
| 2 | AH0718 | EPEA | 5 | 0.322 | 0.000 | 0.128 | 0.075 | 0.000 | 0.005 | 0.047 | 0.060 | 0.636 |
| 3 | EH0901 | EG798 | 30 | 0.037 | 0.034 | 0.025 | 0.034 | 0.054 | 0.019 | 0.001 | 0.090 | 0.295 |
| 4 | EH0901 | EG798 | 50 | 0.004 | 0.010 | 0.000 | 0.056 | 0.003 | 0.000 | 0.000 | 0.077 | 0.151 |
| 5 | VA1219 | UY06 | 130 | 0.006 | 0.044 | 0.000 | 0.137 | 0.003 | 0.011 | 0.000 | 0.031 | 0.233 |
| 6 | VA1219 | RP13 | 50 | 0.017 | 0.018 | 0.000 | 0.125 | 0.024 | 0.349 | 0.169 | 0.173 | 0.875 |
| 7 | OB0214 | UY06 | 72 | 0.000 | 0.057 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.138 | 0.000 | 0.000 | 0.195 |
| 8 | EH0219 | EG117 | 0 | 0.000 | 0.000 | 0.511 | 2.225 | 11.755 | 0.000 | 2.423 | 0.001 | 16.915 |
| 9 | EH0219 | EG118 | 0 | 0.980 | 0.000 | 1.592 | 1.010 | 49.278 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 52.860 |
| 10 | AH0519 | EPEA | 27 | 0.025 | 0.000 | 0.103 | 0.008 | 3.164 | 0.107 | 0.001 | 0.034 | 3.442 |
| 11 | VA0119 | EPEA | 27 | 0.000 | 0.000 | 0.163 | 0.005 | 0.248 | 0.016 | 0.759 | 0.172 | 1.362 |

**Tabla 14.** Matriz inicial de relaciones caracterizando a DINO-2 únicamente con Gyro.

| R8_10AveRat01 | Chl_c3 | Peri | But_fuco | Fuco | Viola | Hex_fuco | Allo | Zea | Gyro | Chl_b | DV_Chla | Chl_a |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| CYANO-2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1.965716 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| CYANO-4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.516618 | 0 | 2.092166 | 2.705705 | 1 |
| DIATO-2 | 0.083624 | 0 | 0 | 1.129024 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| HAPTO-8 | 0.297605 | 0 | 0.528797 | 0.408588 | 0 | 0.51554 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| DINO-1 | 0 | 0.999204 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| DINO-2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.040449 | 0 | 0 | 1 |
| DINO-4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.246842 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| CHLORO-1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.053765 | 0 | 0 | 0.035199 | 0 | 0.422223 | 0 | 1 |

**Quinta ejecución de CHEMTAX: muestras con Chl_c1**

El grupo restante de muestras (#12-19 y #21, caracterizadas por tener Chl_c1) se corrió en la quinta ejecución del programa, aplicando la matriz inicial de la Tabla 17. Se incluyó la muestra #21, a pesar de no tener Chl_c1, por ser la única con un alto porcentaje de haptofitas tipo *Emiliania huxleyi* (HAPTO-6). Las abundancias estimadas para cada grupo fueron coherentes con lo observado por microscopía, excepto para la muestra #20. Nuevamente, CHEMTAX repartió la Chl_a del grupo PELAGO-1LL entre ese y otro de perfil pigmentario similar, DIATO-2 (Tabla 18).

**Tabla 15.** Resultados de la estimación de la abundancia de DINO-2 en base a la matriz de la Tabla 14.

| Index | Campania | Estacion | Profundidad | CYANO-2 | CYANO-4 | DIATO-2 | HAPTO-8 | DINO-1 | DINO-2 | DINO-4 | CHLORO-1 | Chla |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | VA1219 | CT04 | 5 | 0.240 | 0.000 | 0.015 | 0.054 | 0.085 | 0.055 | 0.046 | 0.026 | 0.521 |
| 2 | AH0718 | EPEA | 5 | 0.330 | 0.000 | 0.105 | 0.080 | 0.000 | 0.000 | 0.056 | 0.064 | 0.636 |
| 3 | EH0901 | EG798 | 30 | 0.037 | 0.030 | 0.023 | 0.045 | 0.041 | 0.028 | 0.001 | 0.091 | 0.295 |
| 4 | EH0901 | EG798 | 50 | 0.005 | 0.009 | 0.001 | 0.054 | 0.004 | 0.001 | 0.000 | 0.078 | 0.151 |
| 5 | VA1219 | UY06 | 130 | 0.008 | 0.040 | 0.000 | 0.142 | 0.002 | 0.006 | 0.000 | 0.036 | 0.233 |
| 6 | VA1219 | RP13 | 50 | 0.019 | 0.017 | 0.038 | 0.363 | 0.043 | 0.028 | 0.187 | 0.181 | 0.875 |
| 7 | OB0214 | UY06 | 72 | 0.001 | 0.055 | 0.020 | 0.093 | 0.009 | 0.011 | 0.000 | 0.005 | 0.195 |
| 8 | EH0219 | EG117 | 0 | 0.000 | 0.000 | 0.486 | 2.014 | 9.463 | 2.587 | 2.366 | 0.000 | 16.915 |
| 9 | EH0219 | EG118 | 0 | 1.021 | 0.000 | 1.326 | 1.022 | 48.298 | 1.194 | 0.000 | 0.000 | 52.860 |
| 10 | AH0519 | EPEA | 27 | 0.026 | 0.000 | 0.097 | 0.082 | 3.143 | 0.057 | 0.002 | 0.037 | 3.442 |
| 11 | VA0119 | EPEA | 27 | 0.000 | 0.000 | 0.128 | 0.018 | 0.245 | 0.000 | 0.797 | 0.174 | 1.362 |

**Tabla 16.** Matriz final de relaciones caracterizando a DINO-2 únicamente con Gyro.

| R11_13AveRat01 | Chl_c3 | Peri | But_fuco | Fuco | Viola | Hex_fuco | Allo | Zea | Gyro | Chl_b | DV_Chla | Chl_a |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| CYANO-2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1.940 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| CYANO-4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.500 | 0 | 2.217 | 2.924 | 1 |
| DIATO-2 | 0.063 | 0 | 0 | 1.468 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| HAPTO-8 | 0.299 | 0 | 0.471 | 0.374 | 0 | 0.585 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| DINO-1 | 0 | 1.080 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| DINO-2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.042 | 0 | 0 | 1 |
| DINO-4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.236 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| CHLORO-1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.055 | 0 | 0 | 0.036 | 0 | 0.421 | 0 | 1 |

**Tabla 17.** Relaciones iniciales de la quinta ejecución de CHEMTAX, para el conjunto de muestras caracterizados por tener Chl_c1. Notar que las relaciones iniciales son iguales a las de la Tabla 2.

| Blooms-R5-01 | MVChl_c3 | Chl_c3 | Chl_c1 | Peri | But_fuco | Fuco | Hex_fuco | Allo | Zea | MG_Emiliania | Chl_a |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| CYANO-2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1.256 | 0 | 1 |
| DIATO-1 | 0 | 0 | 0.077 | 0 | 0 | 0.759 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| DIATO-2 | 0 | 0.081 | 0 | 0 | 0 | 0.992 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| PELAGO-1 LL | 0 | 0.205 | 0 | 0 | 0.323 | 1.146 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| HAPTO-4 | 0.080 | 0.051 | 0.111 | 0 | 0 | 0.622 | 0 | 0 | 0 | 0.021 | 1 |
| HAPTO-6 | | 0.161 | 0 | 0 | 0.019 | 0.187 | 0.584 | 0 | 0 | 0.060 | 1 |
| DINO-1 | 0 | 0 | 0 | 1.216 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| DINO-4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.140 | 0 | 0 | 1 |

**Tabla 18.** Estimación de la abundancia de los distintos TPFs en base a la matriz de la Tabla 17. Resultados expresados en $mgm^{-3}$ de Chl_a.

| Index | Campania | Estacion | rofundida | CYANO-2 | DIATO-1 | DIATO-2 | ELAGO-1L | HAPTO-4 | HAPTO-6 | DINO-1 | DINO-4 | Chl_a |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 12 | GEF1 | Est7 | 5 | 0.000 | 13.028 | 3.017 | 0.088 | 3.417 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 19.550 |
| 13 | GEF1 | Est7 | 3 | 0.001 | 13.094 | 3.361 | 0.106 | 2.952 | 0.000 | 0.002 | 0.111 | 19.628 |
| 14 | GEF1 | Est7 | 10 | 0.000 | 13.029 | 2.719 | 0.107 | 2.697 | 0.000 | 0.000 | 0.002 | 18.554 |
| 15 | GEF1 | Est7 | 30 | 0.000 | 9.142 | 4.538 | 0.016 | 1.992 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 15.687 |
| 16 | VA1219 | UY03 | 15 | 0.019 | 2.370 | 0.786 | 0.001 | 0.031 | 0.000 | 0.057 | 0.305 | 3.569 |
| 17 | VA1219 | RP07 | 13 | 0.036 | 1.731 | 0.517 | 0.033 | 0.021 | 0.023 | 0.042 | 0.841 | 3.244 |
| 18 | VA1219 | CT01 | 28 | 0.007 | 0.138 | 0.803 | 0.077 | 0.009 | 0.075 | 0.095 | 0.196 | 1.401 |
| 19 | CC1005 | EPEA | 5 | 0.083 | 0.306 | 0.404 | 0.132 | 4.696 | 0.082 | 0.059 | 0.001 | 5.763 |
| 20 | VA0119 | CT04 | 38 | 0.040 | 0.000 | 1.902 | 1.589 | 0.224 | 0.250 | 0.000 | 0.046 | 4.051 |
| 21 | VA0119 | CT05 | 5 | 0.020 | 0.000 | 0.005 | 0.173 | 0.000 | 0.789 | 0.062 | 0.363 | 1.413 |

**Tabla 19.** Relaciones finales de la quinta ejecución de CHEMTAX, para el conjunto de muestras caracterizados por tener Chl_c1.

| R3_5AveRat01 | MVChl_c3 | Chl_c3 | Chl_c1 | Peri | But_fuco | Fuco | Hex_fuco | Allo | Zea | MG_Emiliania | Chl_a |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| CYANO-2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1.250 | 0 | 1 |
| DIATO-1 | 0 | 0 | 0.057 | 0 | 0 | 0.668 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| DIATO-2 | 0 | 0.048 | 0 | 0 | 0 | 0.659 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| PELAGO-1LL | 0 | 0.467 | 0 | 0 | 0.913 | 1.508 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| HAPTO-4 | 0.110 | 0.017 | 0.032 | 0 | 0 | 0.815 | 0 | 0 | 0 | 0.018 | 1 |
| HAPTO-6 | 0.000 | 0.059 | 0 | 0 | 0.027 | 0.119 | 0.832 | 0 | 0 | 0.060 | 1 |
| DINO-1 | 0 | 0 | 0 | 1.089 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| DINO-4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.093 | 0 | 0 | 1 |

Finalmente, se eliminó la muestra #20 y al grupo PELAGO-1LL y se volvió a ejecutar CHEMTAX partiendo de las relaciones pigmentarias de la tabla 19 con el fin de reajustar los valores de las relaciones. Los resultados esta vez fueron los esperados.

**Tabla 20.** Relaciones finales de la quinta ejecución de CHEMTAX excluyendo la muestra # 20, correspondiente al florecimiento de PELAGO-1LL.

| R9_11AveRat01 | MVChl_c3 | Chl_c3 | Chl_c1 | Peri | But_fuco | Fuco | Hex_fuco | Allo | Zea | G_Emilian | Chl_a |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| CYANO-2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1.121 | 0 | 1 |
| DIATO-1 | 0 | 0 | 0.055 | 0 | 0 | 0.654 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| DIATO-2 | 0 | 0.071 | 0 | 0 | 0 | 0.731 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| HAPTO-4 | 0.123 | 0.018 | 0.033 | 0 | 0 | 0.861 | 0 | 0 | 0 | 0.020 | 1 |
| HAPTO-6 | 0 | 0.140 | 0 | 0 | 0.238 | 0.282 | 0.619 | 0 | 0 | 0.047 | 1 |
| DINO-1 | 0 | 0 | 0 | 0.830 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| DINO-4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.091 | 0 | 0 | 1 |

**Tabla 21.** Estimación de la abundancia de los distintos TPFs en base a la matriz de la Tabla 20, excluyendo a la muestra #20. Resultados expresados en $mgm^{-3}$ de Chl_a.

| Index | Campania | Estacion | Profundidad | CYANO-2 | DIATO-1 | DIATO-2 | HAPTO-4 | HAPTO-6 | DINO-1 | DINO-4 | Chl_a |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 12 | GEF1 | Est7 | 5 | 5.09E-05 | 13.754 | 2.705 | 3.036 | 0.045 | 0.000 | 0.010 | 19.550 |
| 13 | GEF1 | Est7 | 3 | 0.0015 | 13.917 | 2.888 | 2.616 | 0.062 | 0.003 | 0.141 | 19.628 |
| 14 | GEF1 | Est7 | 10 | 4.44E-05 | 13.635 | 2.479 | 2.381 | 0.059 | 4.19E-05 | 0 | 18.554 |
| 15 | GEF1 | Est7 | 30 | 2.31E-05 | 10.221 | 3.617 | 1.817 | 0.000 | 0.000 | 0.0317 | 15.687 |
| 16 | VA1219 | UY03 | 15 | 0.0232 | 2.561 | 0.553 | 0.030 | 0.000 | 0.060 | 0.3425 | 3.569 |
| 17 | VA1219 | RP07 | 13 | 0.0421 | 1.740 | 0.476 | 0.014 | 0.044 | 0.043 | 0.8845 | 3.244 |
| 18 | VA1219 | CT01 | 28 | 0.0079 | 0.086 | 0.884 | 0.003 | 0.125 | 0.096 | 0.1983 | 1.401 |
| 19 | CC1005 | EPEA | 5 | 0.0993 | 0.143 | 1.140 | 4.148 | 0.168 | 0.062 | 0.0021 | 5.763 |
| 21 | VA0119 | CT05 | 5 | 0.0232 | 0.002 | 0.063 | 0.000 | 0.904 | 0.062 | 0.3596 | 1.413 |

**Relaciones pigmento:Chl_a optimizadas**

En base a los resultados expuestos, los valores de las relaciones pigmento:Chl_a de las Tablas 16 y 20 son considerados los valores optimizados, que podrán utilizarse como valores semillas en futuros estudios quimiotaxonómicos de la región norte de la plataforma continental argentina. Los mismos se reúnen en la Tabla 22.

**Tabla 22**. Relaciones pigmento:clorofila a optimizadas mediante CHEMTAX.

| Tabla 22 | MVChl_c3 | Chl_c3 | Chl_c1 | Peri | But_fuco | Fuco | Viola | Hex_fuco | Allo | Zea | Gyro | Chl_b | G_Emilian | DV_Chla |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| CYANO-2 | | | | | | | | | | 1.121 - 1.940 | | | | |
| CYANO-4 | | | | | | | | | | 0.500 | | | | 2.924 |
| DIATO-1 | | | 0.055 | | | 0.654 | | | | | | | | |
| DIATO-2 | | 0.063 - 0.071 | | | | 0.731 - 1.468 | | | | | | | | |
| HAPTO-4 | 0.123 | 0.018 | 0.033 | | | 0.861 | | | | | | | | |
| HAPTO-6 | | 0.140 | | | 0.238 | 0.282 | | 0.619 | | | | | 0.047 | |
| HAPTO-8 | | 0.299 | | | 0.471 | 0.374 | | 0.585 | | | | | | |
| DINO-1 | | | | 0.830 - 1.080 | | | | | | | | | | |
| DINO-2 | | | | | | | | | | | 0.042 | | | |
| DINO-4 | | | | | | | | | 0.090 - 0.236 | | | | | |
| CHLORO-1 | | | | | | | 0.055 | | | 0.036 | | 0.421 | | |

## CONCLUSIONES

Usualmente CHEMTAX se utiliza para determinar la abundancia relativa de los distintos tipos pigmentarios del fitoplancton (TPFs) en muestras cuya composición taxonómica es desconocida, sobre el supuesto de ciertas relaciones pigmento:Chl_a que los caracterizan. Incluso es útil para inferir la presencia y abundancia relativa de algunos TPFs que no pueden identificarse por microscopía en base a la detección de pigmentos marcadores. En este trabajo nos valimos del conocimiento previo de la abundancia y composición fitoplanctónica en cada muestra analizada para estimar mediante CHEMTAX los valores de las relaciones pigmento:Chl_a deseados, con el fin de obtener valores semilla para futuros estudios mediante CHETMAX. Estas relaciones a su vez nos brindan valiosa información sobre las especies locales. A pesar de haber obtenido resultados robustos en términos de RMS, el hecho de partir de muestras con baja diversidad de especies/TPFs no fue suficiente para que este programa resolviera diferencias sutiles entre las relaciones pigmento:Chl_a de grupos cuyas relaciones son muy semejantes, como por ejemplo entre haptofitas y diatomeas o entre haptofitas y pelagofitas. Esto evidencia una vez más que CHEMTAX es una herramienta que puede brindar una muy buena aproximación a la estimación de la abundancia relativa, pero no es exacta y que su performance mejora cuanto más se conozcan tanto los grupos presentes en las muestras como los ausentes.

CHETMAX debe ser considerado como “un peine grueso”, aplicable sí a estudios sobre distribución y biogeografía, pero no aplicable para discriminar especies.

Las relaciones pigmento:Chl_a obtenidas, en particular para los grupos DINO-1, DINO-2, DINO-4 y DIATO-2 son resultados valiosos para futuros estudios en la zona, en la que es necesario continuar estudiando la dinámica de floraciones potencialmente nocivas. Algunos de estos grupos son difíciles de cultivar debido a la fisiología de estos organismos, como los dinoflagelados heterótrofos. Estos valores podrán ser utilizados con confianza ya que el error residual calculado por CHEMTAX fue muy bajo.

Al realizar este estudio hemos relevado la presencia de dinoflagelados del TPF DINO-1 en la región con distintas relaciones Peri:Chl_a, lo cual será motivo de futuros análisis. Observaciones como esta ratifican la importancia de contar con la identificación taxonómica al momento de utilizar CHEMTAX para estimar abundancias relativas.

La muestra #15 CC1005 corresponde a una floración de *Prymensium sp*. caracterizada por una “...ausencia total de diatomeas...” (Negri 2005), pero llamativamente, se determinó la presencia de MV_Chlc3, un pigmento que es marcador del TPF HAPTO-6 (Zapata et al. 2004). En un estudio anterior, esta muestra fue incluida por CHEMTAX en el grupo DIATO-1 y no al grupo HAPTO-4 (Ruiz et al. 2022b), pero aquí pudo ser atribuida a HAPTO-4 solo luego de incluir en su perfil pigmentario al pigmento MV_Chlc3. Evidentemente, se trata de un tipo de primnesiofita que posee MV_Chlc3, pues la presencia en dicha muestra de HAPTO-6 (haptofitas tipo *Emiliania huxleyi*) se descartó en base a la determinación taxonómica y también por la relación Hex_fuco:Chl_a observada, la cual fue mucho menor a la esperada (0.010 < 0.629) para el grupo.

- CHEMTAX no distingue a las haptofitas (HAPTO-4 y HAPTO-6) de las diatomeas (DIATO-1 y DIATO-2) en base a las diferencias de las relaciones pigmentos:Chl_a.
- PELAGO-1 en la plataforma bonaerense puede foto aclimatarse a ambientes lumínicos de baja intensidad de luz aumentando la proporción de Fuco en relación a Chl_a.
- La identificación taxonómica de las especies presentes es tan valiosa como la identificación de las especies ausentes, a la hora de diseñar las matrices de CHEMTAX.
- Desafortunadamente, CHEMTAX no es robusto en estimar la abundancia de grupos cuyas relaciones pigmentarias son semejantes, por lo que siempre es necesario contrastar la coherencia de los resultados con la composición pigmentaria y lo observado por microscopía.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKSELMAN R, NEGRI RM. 2012. Blooms of Azadinium cf. spinosum Elbrächter et Tillmann (Dinophyceae) in northern shelf waters of Argentina, Southwestern Atlantic. Harmful Algae 19:30-38.

AKSELMAN R, NEGRI RM, COZZOLINO E. 2014. Azadinium (Amphidomataceae, Dinophyceae) in the Southwest Atlantic: In situ and satellite observations Revista de biología marina y oceanografía 49:511-526.

CARRETO J, MONTOYA N, AKSELMAN R, NEGRI R, CARIGNAN M, CUCCHI COLLEONI A. Differences in the PSP toxin profiles of *Mytilus edulis* during spring and autumn blooms of Alexandrium tamarense off Mar del Plata coast, Argentina. In: STEIDINGER K, LANDSBERG J, TOMAS C, VARGO G, editors; 2004; St. Petersburg Florida, USA. Florida Fish and Wildlife Conservation Commission, Florida Institute of Oceanography, and Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO. p 100-102.

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.

LUTZ V, ACEVEDO D, BERGHOFF C, CADAVEIRA G, DIAZ MV, DO SOUTO M, FENCO H, HOZBOR C, IZZO S, MARTINEZ A 2020. Salud ambiental y plancton en la Zona Común de Pesca Argentino-Uruguaya en un escenario de Cambio Global. Informe de Campaña INIDEP nº15/2020, 17 pp.

MACKEY MD, MACKEY 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.

MARTÍNEZ A, MÉNDEZ S, FABRE A, ORTEGA L. 2017. Intensificación de floraciones de dinoflagelados marinos en Uruguay. INNOTEC(13 ene-jun):19-25.

MONTOYA N. 2020. Marea roja no tóxica durante la campaña de anhoíta bonaerense "EH0219". Informe de Investigación INIDEP nº48 /2020, 12 pp.

MONTOYA NG, AKSELMAN R, CARIGNAN MO, CARRETO JI. 2006. Pigment profile and toxin composition during a red tide of *Gymnodinium catenatum* Graham and Myrionecta rubra (Lohman) Jankowski in coastal waters off Mar del Plata, Argentina. African Journal of Marine Science 28(2):199-202.

MONTOYA NG, BENAVIDES H, CARIGNAN MO. 2011. Determinación de de ácido okadaico y primera detección de pectenotoxinas asociada a la presencia de Dinophysis sp. en el litoral argentino. Inf. de Inv. INIDEP nº01/2011, 15 pp.

MONTOYA NG, MATTERA COY MB, CARIGNAN MO. 2015. Caracterización pigmentaria de cultivos de fitoplancton. Inf. de Inv. INIDEP nº57/2019, 14 pp.

NEGRI RM. 2005. Campaña: CC-10/05 “Marea Roja – Dinámica del Plancton, EPEA VII/05”. Informe de Campaña INIDEP nº /2005, 4 pp.

NEGRI RM. 2019a. Campaña: VA-01/19 Series de tiempo ecológicas COSTAL I - EPEA I / 2019. Informe de Campaña INIDEP nº16/2019, 22 pp.

NEGRI RM. 2019b. Serie de tiempo ecológica EPEA V/2019 (Octubre 2019). Informe de Campaña INIDEP nº30/2019, 6 pp.

RUIZ MG, MATTERA COY MB, CARIGNAN MO, ALBORNOZ M, MONTOYA NG. 2022a. Floraciones algales nocivas en la campaña VA1219 en la Zona Común de Pesca Argentina-Uruguaya (verano 2019). Informe de Investigación INIDEP N° 080/2022, 16 pp.

RUIZ MG, MATTERA COY MB, CARIGNAN MO, ALBORNOZ M, MONTOYA NG. 2022b. Tipos pigmentarios en la estación de serie temporal EPEA: un abordaje quimiotaxonómico al estudio de la comunidad del fitoplancton y de especies potencialmente nocivas. Informe de Investigación INIDEP N° 038 /22, 22 pp.

SCHLÜTER L, MØHLENBERG F, HAVSKUM H, 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 - MAR ECOL-PROGR SER 192:49-63.

SUNESEN I, LAVIGNE AS, GOYA A, SAR E. 2014. Episodios de toxicidad en moluscos de aguas marinas costeras de la Provincia de Buenos Aires (Argentina) asociados a algas toxígenas (marzo de 2008-marzo de 2013). Bol. Soc. Argent. Bot. 49(3).

SUNESEN I, MÉNDEZ SM, MANCERA-PINEDA JE, DECHRAOUI BOTTEIN M-Y, ENEVOLDSEN H. 2021. The Latin America and Caribbean HAB status report based on OBIS and HAEDAT maps and databases. Harmful Algae 102:101920.

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.

Este trabajo debe citarse como:

Ruiz M.G., Silva R., Martínez A., Montoya N. (2025). Relaciones pigmento:clorofila *a* determinadas por CHEMTAX a partir de muestras naturales de floraciones algales de la región norte de la plataforma continental argentina. Contr. XIX Simposio Científico de la CTMFM – Colonia, Uruguay. Noviembre 2022. Frente Marítimo 27: 32 – 46.

**Anexo A.**

**A-1. Cálculo de las relaciones iniciales pigmento:Chl_a. Ejemplo: DIATO-1.**

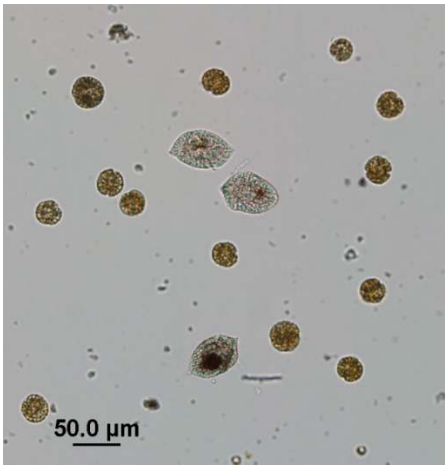
| **DIATO-1:** | | | |
|---|---|---|---|
| | **Chl_c1** | **Chl_c2** | **Fuco** |
| GEF SUR Est 7 30 m Carreto et al 2016 inicial | 0.0495 | | |
| Summary (Bibliografía) | **0.087** | **0.179** | **0.779** |
| CHEMTAX - Carreto et al. 2003 out: | 0.178 | 0.208 | 0.863 |
| *Cultivo Pseudonizchia multiseries INIDEP* | 0.0118 | 0.1471 | 0.7353 |
| CHEMTAX OB0313 Est 150 0 m_ out 100% | 0.2929 | 0.3143 | 0.6714 |
| Mean: | 0.124 | 0.212 | 0.762 |
| GeomMean: | 0.077 | 0.204 | 0.759 |
| Multiplier: | 498.927 | 146.190 | 113.372 |

**A-2. Concentraciones de pigmentos determinados por HPLC de las muestras incluidas en el análisis. Valores expresados en mgm$^{-3}$.**

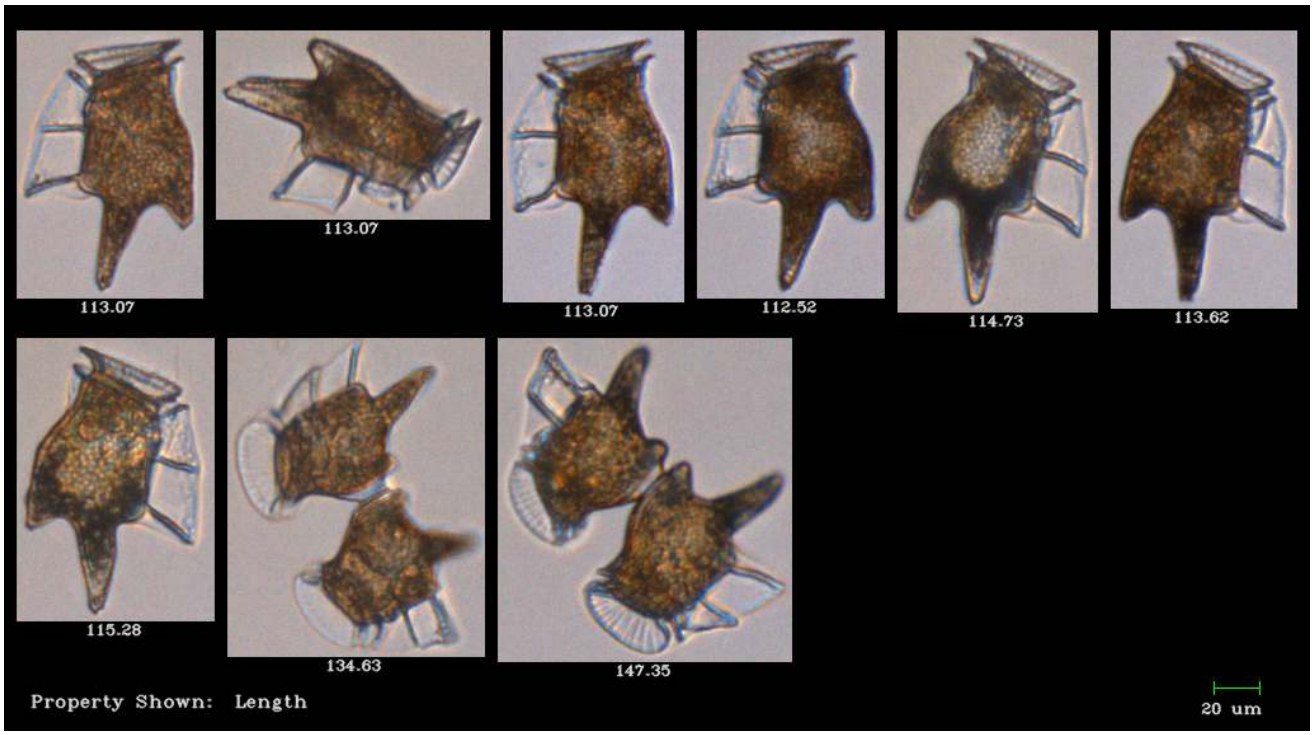
| Nro. | Campania | Estacion | Profundidad | MVChl_c3 | Chl_c3 | Chl_c2 | Chl_c1 | Peri | But_fuco | Fuco | Viola | Hex_fuco | Allo | Zea | Lut | Gyro | Chl_b | MG_Emiliani | DV_Chla | Chl_a |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | VA1219 | CT04 | 5 | 0 | 0.011 | 0.022 | 0 | 0.014 | 0.013 | 0.037 | 0.004 | 0.036 | 0.009 | **0.405** | 0.019 | 0 | 0.009 | 0 | 0 | 0.521 |
| 2 | AH0718 | EPEA | 5 | 0.003 | 0.025 | 0.088 | 0.004 | 0.065 | 0.053 | 0.209 | 0.008 | 0.05 | 0.017 | **0.720** | 0 | 0 | 0.031 | 0.005 | 0 | 0.636 |
| 3 | EH0901 | EG798 | 30 | 0 | 0.010 | 0.019 | 0 | 0.005 | 0.018 | 0.044 | 0.005 | 0.025 | 0 | 0.080 | 0 | 0 | 0.092 | 0 | **0.077** | 0.295 |
| 4 | EH0901 | EG798 | 50 | 0 | 0.012 | 0.013 | 0 | 0.004 | 0.034 | 0.023 | 0.004 | 0.027 | 0 | 0.017 | 0 | 0 | 0.053 | 0 | **0.027** | 0.151 |
| 5 | VA1219 | UY06 | 130 | 0 | 0.03 | 0.032 | 0 | 0.008 | 0.07 | 0.016 | 0 | 0.076 | 0 | 0.032 | 0 | 0 | 0.092 | 0 | **0.103** | 0.233 |
| 6 | VA1219 | RP13 | 50 | 0 | 0.088 | 0.131 | 0 | 0.018 | 0.097 | 0.182 | 0.006 | 0.258 | 0.041 | 0.048 | 0 | 0 | 0.107 | 0.016 | **0.046** | 0.875 |
| 7 | OB0214 | UY06 | 72 | 0 | 0.027 | 0.028 | 0 | 0 | 0 | 0.058 | 0 | 0.08 | 0 | 0.027 | 0 | 0 | 0.112 | 0 | **0.145** | 0.195 |
| 8 | EH0219 | EG 117 | 0 | 0 | 0.331 | 3.813 | 0 | **12.684** | 1.599 | 1.653 | 0 | 1.025 | **0.615** | 0 | 0.069 | 0.165 | 0 | 0 | 0 | 16.915 |
| 9 | EH0219 | EG118 | 0 | 0 | 0.221 | 15.135 | 0 | **56.686** | 0.725 | 2.447 | 0 | 0.543 | 0 | 2.072 | 0 | 0.123 | 0 | 0 | 0 | 52.860 |
| 10 | AH0519 | EPEA | 27 | 0 | 0.033 | 0.903 | 0 | **3.236** | 0.012 | 0.166 | 0 | 0.065 | 0 | 0.05 | 0 | 0 | 0.015 | 0.007 | 0 | 3.442 |
| 11 | VA0119 | EPEA | 27 | 0 | 0.032 | 0.213 | 0 | **0.385** | 0 | 0.204 | 0.009 | 0.01 | **0.201** | 0 | 0.017 | 0 | 0.079 | 0 | 0 | 1.362 |
| 12 | GEF 1 | Est 7 | 0 | 0.382 | **0.252** | **2.51** | **0.856** | 0 | 0.096 | **13.684** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 19.550 |
| 13 | GEF 1 | Est 7 | 3 | 0.323 | **0.237** | **2.418** | **0.807** | 0 | 0.127 | **13.309** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 19.628 |
| 14 | GEF 1 | Est 7 | 10 | 0.303 | **0.223** | **2.364** | **0.831** | 0 | 0.125 | **13.429** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 18.554 |
| 15 | GEF 1 | Est 7 | 30 | 0.224 | **0.293** | **1.658** | **0.621** | 0 | 0 | **10.012** | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 15.687 |
| 16 | VA1219 | UY03 | 15 | 0.004 | **0.04** | **0.649** | **0.14** | 0.046 | 0 | **2.004** | 0 | 0 | 0.029 | 0.025 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3.569 |
| 17 | VA1219 | RP07 | 13 | 0 | **0.042** | **0.53** | **0.101** | 0.036 | 0.04 | **1.739** | 0.007 | 0.017 | 0.085 | 0.049 | 0 | 0 | 0.024 | 0.011 | 0 | 3.244 |
| 18 | VA1219 | CT01 | 28 | 0 | 0.084 | 0.257 | 0.007 | 0.079 | 0.088 | 0.776 | 0 | 0.056 | 0.019 | 0.009 | 0 | 0 | 0.05 | 0.009 | 0 | 1.401 |
| 19 | CC1005 | EPEA | 0 | 0.51 | 0.182 | 1.253 | 0.145 | 0.049 | 0.148 | 4.498 | 0 | 0.06 | 0 | 0.11 | 0 | 0 | 0 | **0.102** | 0 | 5.763 |
| 20 | VA0119 | CT04 | 38 | 0.022 | 0.999 | 1.462 | 0 | 0 | **1.758** | 4.284 | 0.021 | **0.184** | 0.005 | 0.054 | 0.036 | 0 | 0.196 | **0.043** | 0 | 4.051 |
| 21 | VA0119 | CT05 | 0 | 0 | 0.138 | 0.282 | 0 | 0.051 | 0.21 | **0.373** | 0 | 0.58 | 0.035 | 0.027 | 0.008 | 0 | 0.004 | **0.041** | 0 | 1.413 |

**A-3. Identificción taxonómica de algunas muestras incluidas en el presente estudio.**

**Muestra # 9 - Campaña AH0519, Estación EPEA, 27m: DINO-1**

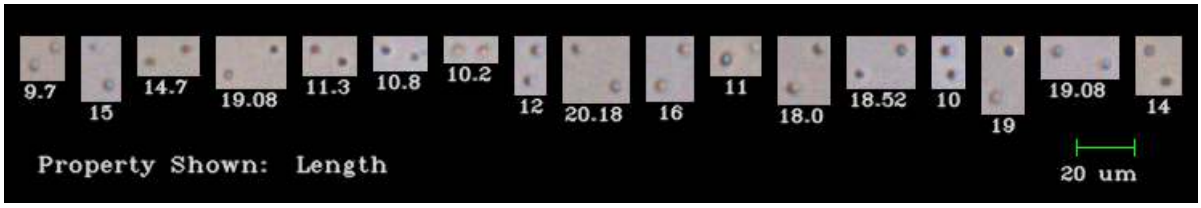


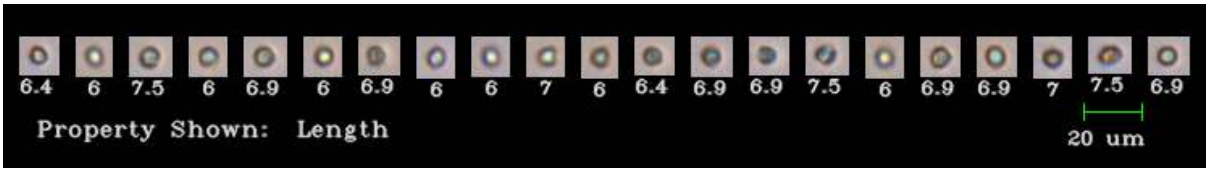
**Muestra #10 - Campaña VA0119, Estación EPEA, 27m: DINO-4**




**Muestra #13 – Campaña VA1219, Estación RP07, 5 m: DIATO-1**

**Muestra #16 – Campaña VA0119, Estación CT04, 38 m: PELAGO-1**




**Muestra #17 - Campaña VA0119, Estación CT05, 0 m: HAPTO-6**