



- Baterías de filtración
- Bombas de vacío
- Bomba peristáltica
- Termo de nitrógeno líquido
- Botellas de vidrio borosilicato de 330 cm³ tipo BOD
- Botellas de vidrio borosilicato clase A de 500 cm³
- Material de laboratorio general (probetas, botellas, pinzas, etc.)

Observaciones y/o mediciones realizadas

Muestreo en navegación

a. Estación meteorológica automática a bordo

La estación meteorológica automática a bordo, consta de un data logger compacto modelo CR310; un anemómetro bi-dimensional modelo WindSonic4-L; un sensor digital de Temperatura y Humedad relativa modelo HygroVUE10 (con su respectiva coraza de protección modelo RAD10E); un sensor de presión barométrica modelo CS100 (coraza de protección modelo ENC100); todo esto marca Campbell Scientific; y un piranómetro modelo CMP3-1 (Clase C), marca Kipp & Zonen. La frecuencia de datación para todas las variables es de 1 minuto, exceptuando la presión barométrica, la cual es de 10 minutos.

b. Termosalinógrafo

Se realizaron mediciones de temperatura, salinidad y fluorescencia de superficie utilizando un equipo de registro continuo Termosalinómetro (TSG) de la marca Sea Bird, modelo SBE 45. Además, se empleó un sensor de fluorescencia WETLabs modelo WetStar-CHL SN 1502. Durante el muestreo, se registraron datos cada 30 segundos, y el flujo de agua se mantuvo constante en 6-8 l/min, con una presión de 0,5 Bar. Para la adquisición de datos, se utilizó el software TSX v1.9 (desarrollo propio), el cual permitió integrar las mediciones del sensor de fluorescencia *in vivo* con cada lectura del TSG. Cada dato adquirido por el instrumento se georeferenció con su correspondiente fecha y hora. Para la corrección de la salinidad se tomaron en total 2 muestras de agua del circuito del TSG para la corrección de la señal de salinidad.

c. Vessel Mounted Acoustic Doppler Current Profile (VM-ADCP)

Se realizaron mediciones de perfiles de corrientes marinas a lo largo de toda la derrota de la campaña mediante un ADCP de casco (VM-ADCP) marca Kongsberg Maritime Modelo ES150C EK80 de 150 KHz con una señal de CW. El sistema de colección de datos del ADCP, se encuentra instalado en la PC del Termosalinógrafo con GPS independiente mediante un puerto físico y una Unidad de Referencia de Movimiento (MRU).

Se colectaron datos con una frecuencia de 1 ensamble cada 5 segundos, la distancia de blanqueo en 3 m (sete de fábrica) y un máximo del tamaño de cada archivo de 100 Mb. Se registraron los datos crudos y archivos procesados de decimal cell size (2 m.) con salida estándar en formato NetCDF.

Además, el VMADCP tiene instalado un termistor que mide en forma continua la temperatura del mar a 3.5 metros aproximadamente, ya que la quilla estuvo desplegada a 0.5m de profundidad en esta campaña.



Muestreo en estación

Antes de llegar a la EPEA, a 1 milla del punto se iniciaron las actividades de muestreo con las redes Mini-bongo y Bongo a las 12:35 hs, con el fin de optimizar los tiempos y la escasa disponibilidad de personal científico técnico. Luego una vez en el punto de muestreo, a las 13.44 horas, se inició con las mediciones de luz con el radiómetro hiper-espectral. A continuación, a las 14:15 horas, se realizaron 2 castings de CTD y roseta. Una vez terminada la maniobra de cubierta se continuó trabajando con el procesamiento y desarrollo de análisis en laboratorio a bordo de las muestras colectadas en la estación.

Cabe destacar que las actividades por parte de la Comisión de Operaciones constituyen un imprescindible apoyo en todas las maniobras de alistamiento y uso de muestreadores (a cargo de Daniel Acevedo).

Las variables que se colectaron en orden cronológico fueron:

- 1) Recolección de muestras de zoo- e ictioplancton con redes Mini-bongo (67 y 200 μm) y Bongo (300 μm)
- 2) Perfil de la radiancia ascendente ($Lu(\lambda, z)$) y de la irradiancia descendente ($Ed(\lambda, z)$) en función de la profundidad en el rango de longitud de onda de 340-800 nm, para la determinación de la penetración luminosa (Radiación Fotosintéticamente Activa – PAR) e hiper-espectral, profundidad de la capa eufótica y reflectancia, entre otras.
- 3) Red de fitoplancton y balde para colectar muestra de agua de superficie.
- 4) Adicionalmente se conectó al sistema en continuo de agua de mar un sistema de filtración, denominado MicroFiltro (MF) para obtener finalmente las bacterias asociadas a los microplásticos (BMP). La colecta de muestra se realiza desde el inicio de la maniobra del CTD, hasta el final de ésta.
- 5) Perfiles de temperatura, salinidad, oxígeno disuelto y fluorescencia *in vivo* con CTD.
- 5) Recolección de muestras de agua con botellas Niskin a diferentes profundidades de interés (a demanda de las actividades planificadas a bordo), con el fin de analizar:
 - a. oxígeno disuelto
 - b. pH
 - c. alcalinidad Total
 - d. nutrientes
 - e. salinidad
 - f. clorofila a Total
 - g. clorofila a < 5 μm
 - h. CDOM
 - i. absorción del material particulado
 - j. abundancia, biomasa y diversidad de bacterias
 - k. microplásticos en agua
 - l. DMSP total
 - m. DMSP < 5 μm
 - n. comunidad del fitoplancton (cuali-cuantitativo)
 - o. pigmentos del fitoplancton
 - p. isótopos estables de C y N para determinar la posición trófica de las larvas de anchoíta.



Datos obtenidos

Métodos utilizados para las diversas actividades y responsables a bordo

a. *Perfil de temperatura, salinidad, fluorescencia y oxígeno disuelto in vivo* – [Agustín Maenza]

Para la descripción del perfil de temperatura, salinidad, fluorescencia y oxígeno disuelto se armó el sistema compuesto por una mini roseta marca Sea-Bird modelo SBE 55 N° de serie 5551964-0064 con capacidad para disparar de forma remota hasta seis (6) botellas Niskin de 4 litros cada una y el CTD marca Sea-Bird, modelo SBE 25 plus N° de serie 25-1219 dispuesto en forma vertical en la parte lateral de la roseta (Figura 1).

El CTD se configuró con sensores de temperatura y conductividad con su respectiva bomba para obtener un flujo de circulación constante de agua, registrando datos con una frecuencia de muestreo de 8 datos por segundo y visualización de datos en modo real time. Además, se instaló un sensor de oxígeno SBE 43 y un sensor auxiliar de fluorometría, Seapoint configurado en escala 15 µg/l.

A fin de garantizar la comunicación entre el software de adquisición y el disparo de las botellas a través de toda la longitud del cable conductor, se utilizó una unidad de cubierta marca Sea-Bird modelo 33.

Debido a la demanda de muestras de agua, se realizaron dos estaciones de CTD y se tomaron muestras con profundidades de cierre de la botella Niskin a 5, 15 y 45 metros, ésta última correspondiente a la máxima profundidad de muestreo del CTD en la EPEA. Las muestras para corrección de salinidad se almacenaron en botellas de vidrio de 250 cm³ con tapa y contratapa, previo a la recolección de la muestra, los envases y las contratapas se enjuagan con agua de mar de la muestra al menos tres veces antes de ser llenadas y las tapas de las botellas se sellan con cinta aisladora para minimizar la evaporación durante el transporte y almacenamiento. Los perfiles se procesaron con las rutinas SeaBird adecuadas para obtener registros discretos cada 0.5db y derivar el valor de salinidad y densidad.

COPIA ELECTRÓNICA

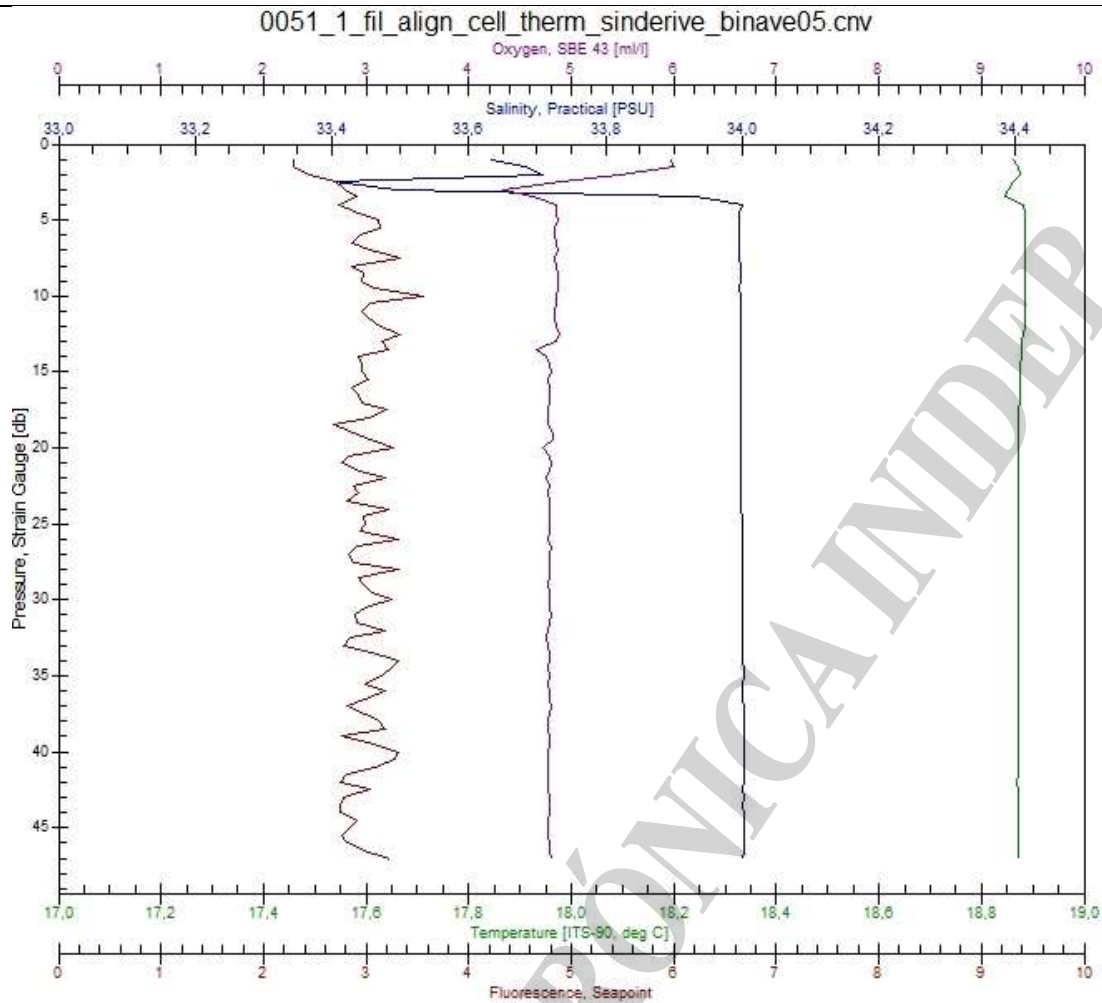


Figura 1. Perfil de temperatura ($^{\circ}\text{C}$), salinidad (PSU), fluorescencia y oxígeno disuelto en la estación EPEA ($38^{\circ} 27.93' \text{ S}$, $57^{\circ} 41.05' \text{ O}$).

b. Radiometría (Perfil de luz) – [Lucrecia Allega-Daniel Acevedo-Valeria Segura]

Para registrar los niveles de luz en la columna de agua y poder ubicar la profundidad de la capa eufótica (1% de la luz que llega a la superficie), se registraron los valores de irradiancia con un radiómetro hiper-espectral Satlantic HyperPro II (Figuras 2 y 3). El mismo permite obtener mediciones de la radiancia ascendente (L_u) y de la irradiancia descendente (E_d) de forma hiper-espectral, es decir, en todas las longitudes de onda entre el ultravioleta y el infrarrojo cercano en la columna de agua en coincidencia con la irradiancia incidente en la superficie (E_s). Esto permite estimar la radiancia integrada en la región visible del espectro electromagnético (PAR: radiación fotosintéticamente activa) (Figura 3).

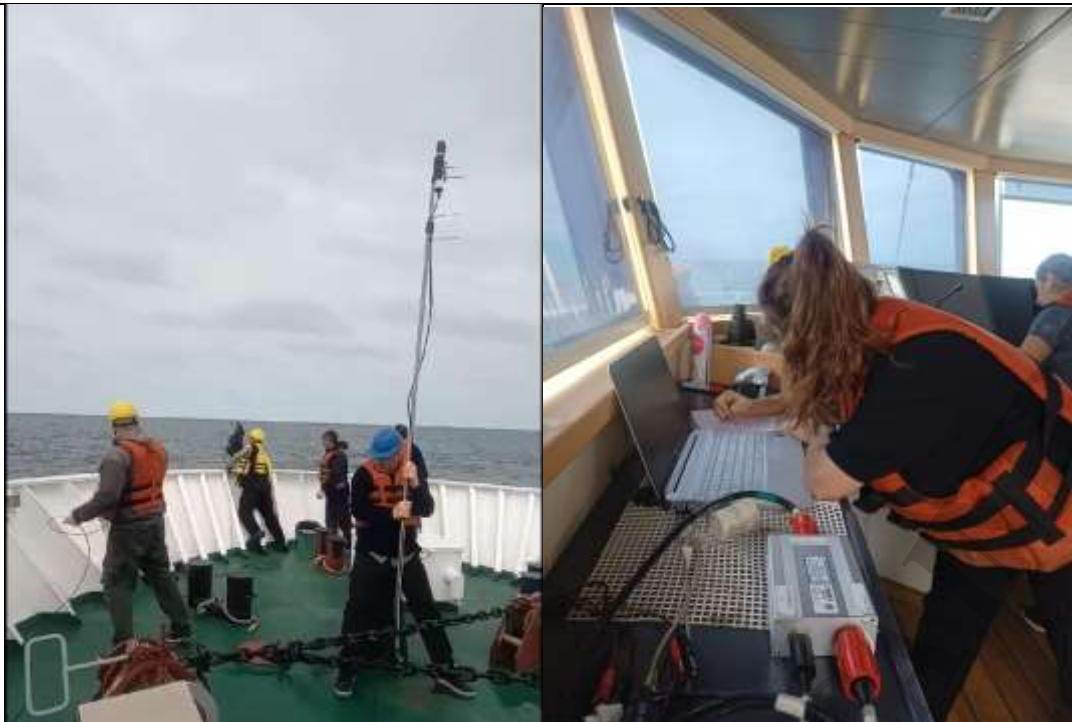


Figura 2. Imágenes de la maniobra del despliegue del radiómetro hiper-espectral.



Figura 3: Imágenes del estado del mar (a) y el cielo (b) al momento de utilizar el HyperPro II durante el descenso (c).

Material obtenido

Obtención de muestras de plancton con redes.

Zooplancton e Ictioplancton – [Ezequiel Leonarduzzi - Daniel Acevedo].



Mini-bongo

Se realizaron dos muestreos con la red Mini-bongo (Mini-bongo 1, Mini-bongo 2).

- Las muestras obtenidas de las redes Mini-bongo 1 (equipada con mallas de 67 y 200 μm de tamaño de poro) μm fueron conservadas en formol al 5% para la determinación de composición y abundancia del zooplancton.
- Las muestras obtenidas de las redes Mini-bongo 2 (equipada con mallas de 67 y 200 μm de tamaño de poro) fueron conservadas juntas (ambos colectores) en alcohol al 96% para el posterior estudio de tramas tróficas mediante la determinación de isótopos estables de C y N.

Bongo

Se realizó un muestreo con red Bongo (Figura 4).

- La muestra obtenida del colector Bongo A fue conservada en formol 5% para el análisis de la abundancia de huevos y larvas de anchoíta. Previo a esto se separaron algunas larvas de anchoíta presentes en la muestra.. Estas larvas fueron conservadas en nitrógeno líquido en un criovial hasta el arribo al laboratorio en tierra.
- La muestra obtenida del colector Bongo B fue conservada en alcohol para el posterior estudio de isótopos estables.



Figura 4. Fotos de maniobra del uso de las redes : Mini bongo y Bongo (panel izquierdo) y red de fitoplancton (panel derecho).

Obtención de muestras de agua de diferentes profundidades

Para coleccionar las muestras de agua a las profundidades seleccionadas se utilizaron botellas tipo “Niskin” de 4 litros de capacidad, colocadas en una mini roseta (Figura 5).



Figura 5. Roseta de botellas Niskin utilizada en la recolección de agua de mar a distintas profundidades.

El agua colectada se utilizó para las determinaciones detalladas a continuación:

a) *Obtención de muestras de agua de diferentes profundidades para análisis del sistema de los carbonatos (pH y alcalinidad total) y oxígeno disuelto* [Lucia Epherra]

El muestreo para determinación de pH se realizó en el primer casting del CTD, colectando muestras en 3 profundidades diferentes (5, 15 y 45 m). Las muestras de agua de mar fueron colectadas por triplicado directamente de botellas Niskin, en celdas de cuarzo de longitud óptica de 10 cm.

La determinación del pH del agua de mar, en la escala de pH de la concentración total de iones hidrógeno, fue realizada a bordo bajo el procedimiento desarrollado por Clayton y Byrne (1993), tal como lo descrito en el procedimiento estándar de operación 6b (SOP6b, por sus siglas en inglés) de la “Guía de Buenas Prácticas en Mediciones Oceánicas de CO₂” (Dickson et al., 2007) y como fue descrito en el Informe de Ases. y Transf. INIDEP 86/2020 (Berghoff, 2020). El equipamiento fue montado en laboratorio seco multipropósito y se utilizó un baño termorregulador, para que las determinaciones fueran realizadas a 25.0 ± 0.1 °C (Figura 6). La concentración total de iones hidrógeno en micromoles por kilogramo de agua de mar, será calculada a partir de la información registrada de absorbancias (con y sin el indicador), la temperatura de la celda y los valores de temperatura, presión



y salinidad del registro CTD, una vez que estos últimos se encuentren procesados y con control de calidad.

Las muestras de agua de mar para determinación de la alcalinidad total fueron colectadas en 3 profundidades diferentes (5, 15 y 45 m), directamente de las botellas Niskin en botellas de borosilicato de 0,5 l, según las indicaciones del procedimiento SOP1 (Dickson et al., 2007). Las muestras fueron inmediatamente fijadas con 100 μ l de cloruro de mercurio saturado y preservadas en cajones plásticos con espuma de poliestireno y almacenadas en cámara fría hasta su posterior análisis en laboratorio en tierra bajo el método potenciométrico en celda abierta según las indicaciones del procedimiento SOP3b (Dickson et al., 2007), tal como lo descrito en el Informe de Procedimientos Operacionales INIDEP 01/2021 (Berghoff et al., 2021).

Las muestras de agua de mar para la determinación de la concentración de oxígeno disuelto fueron colectadas en 3 profundidades diferentes (5, 15 y 45 m), directamente de las botellas Niskin en botellas “BOD” de borosilicato de 330 ml y fueron inmediatamente fijadas con 1 ml de sulfato de manganeso y 1 ml de solución alcalina de iodo. Hasta el momento de la determinación, las muestras se preservaran en oscuridad en un cajón de poliestireno expandido a temperatura ambiente de laboratorio. La determinación será realizada en tierra, empleando el método de Winkler tal como lo descrito por Strickland y Parsons (1972).



Figura 6. Espectrofotómetro de campo montado en laboratorio multipropósito para la determinación a bordo de pH .

b) *Absorción del material particulado* (fitoplancton y detrito) – [Daniela del Valle - Valeria Segura]

Muestras de agua de mar fueron inmediatamente filtradas a bordo (aprox. 500 ml), a baja presión y a baja intensidad de luz, sobre filtros GF/F (tamaño de poro $\sim 0,7 \mu$ m). Solo se tomó duplicado a 5 m de profundidad. Los filtros fueron guardados en cápsulas plásticas (extendidos) y almacenados en



nitrógeno líquido a bordo (-195.8 °C). En tierra las muestras serán conservadas en un ultra-freezer (-86 °C) en el laboratorio del INIDEP hasta su análisis. Para la determinación de la absorción particulada total se utilizará la técnica cuantitativa en filtro de Mitchell (1990) y el principio descrito por Kishino et al. (1985) para obtener el espectro del material no algal; por diferencia se estimará la absorción del fitoplancton.

c) *Nutrientes* – [Lucia Epherra]

Las muestras para análisis de nutrientes fueron colectadas usando tres crioviales de 10 ml por profundidad y luego almacenadas en nitrógeno líquido hasta su posterior análisis en el laboratorio del INIDEP utilizando un autoanalizador.

d) *Clorofila total y correspondiente a la fracción menor a 5 µm* – [Daniela del Valle - Lucrecia Allega - Valeria Segura]

Las muestras de agua tomadas para el análisis de la concentración de clorofila a (CLAT) fueron filtradas a través de filtros de fibra de vidrio GF/F con tamaño de poro ~ 0,7 µm a baja luminosidad y utilizando baja presión (< 35 kPa) inmediatamente después de ser colectadas. Para el análisis de la concentración de clorofila a en la fracción de tamaño celular <5 µm (CLA5) la muestra de agua fue primero filtrada a través de un filtro de membrana Nuclepore de 5 µm de poro y el agua recogida en el Kitasato fue filtrada nuevamente a través de un filtro de fibra de vidrio GF/F. Todas las muestras fueron secadas y conservadas en nitrógeno líquido. La determinación de clorofila a se realizará en el laboratorio con un espectrofluorómetro utilizando el método fluorométrico de Holm-Hansen et al. (1965) modificado según Lutz et al. (2010).

e) *Absorción del material orgánico disuelto coloreado ,CDOM* [Daniela del Valle - Valeria Segura]

Se tomaron muestras de agua de mar de superficie, 5 y 15 m de profundidad en botellas de vidrio conteniendo agua ultrapura hasta el momento del muestreo. Luego de la colecta, las muestras fueron refrigeradas (4°C) hasta su procesamiento, el cual se llevó a cabo el día posterior a la campaña.

f) *Pigmentos por HPLC* – [Valeria Segura - Daniela del Valle – Lucrecia Allega]

Se tomó una muestra a 5 m de profundidad y se filtró un volumen variable aproximadamente de 2 L a través de un filtro de fibra de vidrio de 47 mm de diámetro y tamaño de poro 0,7 µm (Whatman GF/F). El filtro fue secado y conservado en nitrógeno líquido hasta su posterior análisis en el laboratorio por cromatografía líquida de alta performance (HPLC).

g) *Abundancia, biomasa (BBIO) y diversidad (BDIV) del bacterioplancton* – [Daniela del Valle - Valeria Segura]

Para la estimación de la abundancia y biomasa del bacterioplancton se tomaron 50 ml de agua de distintas profundidades y se preservaron con formaldehído (2% V/V concentración final) en heladera. Las muestras serán analizadas en tierra en el Gabinete Genética Molecular y Microbiología.

h) *Muestras de microplásticos* [Daniela del Valle - Valeria Segura - Ricardo Silva]



Se tomaron muestras de agua (1 l) a dos profundidades: 5 m de la superficie y 45 m. El agua fue almacenada en botellas de vidrio, previamente enjuagadas, y se agregaron 2 ml de formol para su conservación a temperatura ambiente.

i) Isótopos Estables en muestras de agua [Ezequiel Leonarduzzi]

Se tomó una muestra de agua superficial, con un balde, y se almacenó en un bidón de 5 l, que fue conservado en la heladera para su posterior filtrado en tierra.

j) Fitoplancton cuali-cuantitativo [Ricardo Silva]

Para el análisis cualitativo se tomó una muestra con una red de fitoplancton de 25 μm de tamaño de malla (Figura 4) y se fijó con formaldehído. Un total de 250 ml de cada profundidad seleccionada fueron preservados con formaldehído para análisis cuali-cuantitativo de fitoplancton por el método de sedimentación con microscopio invertido; y 2 ml para citometría de flujo (prefiltrados por malla de 25 μm) preservados con paraformaldehído y almacenados en heladera hasta su posterior estudio en el laboratorio. Para la caracterización de la comunidad del fitoplancton por FlowCAM se tomaron muestras de agua de la superficie y en diferentes profundidades de la columna de agua. Un litro se concentró mediante una bomba peristáltica y estas muestras se fijaron con una solución de formaldehído neutralizado y se almacenaron en heladera y luego se analizaron con el FlowCAM con el aumento de 10x (celda de flujo de 100 μm). Además, un volumen de 50 ml se concentró mediante filtros de policarbonato de 3 μm , se fijó con formaldehído y se almacenó en microtubos de 2 ml a temperatura heladera para analizar luego con el FlowCAM con el aumento de 20x (celda de flujo de 50 μm).

k) Salinidad [Agustín Maenza]

Con el fin de corregir la señal de salinidad del CTD, se tomaron muestras de agua correspondientes a la mayor y menor profundidad de muestreo en botellas de vidrio de 250 cm^3 . Estas muestras serán analizadas posteriormente en el Gabinete de Oceanografía para la determinación de la salinidad utilizando un salinómetro (Autosal Guidline 8400B).

l) Bacterias asociadas a los microplásticos (BMP) [Daniel Acevedo]

Las muestras de agua se tomaron mediante un sistema de filtración, MF, cuidadosamente sobre un recipiente de vidrio con agua ultrapura de manera tal de ir arrastrando todo material retenido. El contenido se trasvazó a una probeta para medir el volumen. Luego, el material retenido en el tamiz se arrastró nuevamente con agua ultrapura para finalmente, volver a concentrar utilizando un filtro 0,22 μm (PVDF), mediante filtración al vacío. El filtro se colocó, sin plegar, en una caja de Petri, y se guardó en ultrafreezer hasta la posterior extracción de ADN de bacterias asociadas a los microplásticos en el Laboratorio del INIDEP.

Agradecimientos

Queremos expresar nuestro mayor agradecimiento, en nombre de todos los participantes de la campaña MA2024-03, hacia el capitán Prefecto Guido Sebastián Benítez y a su tripulación por su buena predisposición y por su trabajo tan profesional para realizar la campaña EPEA III. Además, agradecemos, al Gabinete de Oceanografía Física por el alistamiento previo de la mini roseta. A la



comisión de Operaciones por la puesta en el mar de los distintos y sofisticados instrumentos utilizados (radiómetro hiper-espectral, CTD, Redes, etc.). Todo lo mencionado previamente fue crucial para lograr llevar a cabo con éxito todas las mediciones y actividades previstas.

Bibliografía

- Berghoff, C.F. (2020). Procedimiento de determinación espectrofotométrica del pH de agua de mar con púrpura de meta-cresol. Informe de Asesoramiento y Transferencia INIDEP 86/2020.
- Berghoff C. F., et al., (2021). Determinación potenciométrica de alcalinidad total de agua de mar en celda abierta. Informe de Procedimientos Operacionales INIDEP 01/2021.
- Clayton, T.D. & Byrne, H. (1993). Spectrophotometric seawater pH measurements: total hydrogen ion concentration scale calibration of m-cresol purple and at-sea results. *Deep-Sea Research* 40, 2115-2129.
- Dickson A.G., et al., 2007, Guide to best practices for ocean CO₂ measurements. PICES Special Pubs. 1-191.
- Kishino, M., Takahashi, M., Okami, N., Ichimura, S., 1985. Estimation of the spectral absorption coefficients of phytoplankton in the sea. *Bulletin of Marine Science* 37, 634-642.
- Lutz V.A., Subramaniam A., Negri M.R., Silva R.I., Carreto J.I. 2006. Annual variations in biooptical properties at the "Estación Permanente de Estudios Ambientales (EPEA)" coastal station, Argentina. *Cont. Shelf Res.* 26:1093-1112.
- Mitchell, B. G., 1990. Algorithms for Determining the Absorption Coefficient of Aquatic Particulates Using the Quantitative Filter Technique (QFT). *Ocean Optics X*, Orlando, Florida, SPIE.
- Strickland, J.D. & Parsons, T.R. (1972). A practical handbook of seawater analysis.

Mar del Plata, 18 de abril de 2024



Valeria Segura
Jefa Científica