



Universidad Nacional del Comahue

Centro Regional Universitario Bariloche

**ENSAMBLE DE PECES PEQUEÑOS DE LOS SUBMAREALES ROCOSOS
NORPATAGÓNICOS: COMPOSICIÓN, RELACIONES TRÓFICAS Y EFECTO DEL AMBIENTE
SOBRE SU ESTRUCTURA**

Trabajo de Tesis para optar al Título de Doctora en Biología

Licenciada María Florencia Ríos

Director: David Edgardo Galván

2023

Ensamble de peces pequeños de los submareales rocosos norpatagónicos: composición, relaciones tróficas y efecto del ambiente sobre su estructura

Resumen

En este trabajo se describe la composición y abundancia del ensamble de peces pequeños de los submareales rocosos que habitan en el golfo San José y los efectos de diversas variables ambientales sobre su estructura. Se analiza la dieta y caracteriza el nicho trófico de algunas de las especies de peces que componen el ensamble en los golfos Nuevo y San José y se realiza una evaluación de la incidencia en la dieta de la contaminación urbana por microplásticos en ambientes submareales cercanos a la ciudad de Puerto Madryn. La franja submareal de los golfos norpatagónicos ha sido estudiada desde diversas miradas pero se destaca la ausencia de información básica sobre los peces pequeños que la habitan. Este grupo comprende especies de reducida talla (<15 cm de largo total) y, en general, un comportamiento críptico y asociado al fondo. La estructura de un ensamble de organismos puede variar tanto en el espacio como en el tiempo, de acuerdo a características físicas del hábitat y cambios estacionales. Estudiar las relaciones tróficas entre los organismos de una comunidad es un componente importante de la ecología de los peces y puede ser un importante descriptor de la estructura de un ensamble de organismos. Además, existen factores ambientales de cambio global como el aumento de la temperatura producto del cambio climático, contaminación e introducción de especies invasoras que también son responsables de cambios en la estructura de los ensambles de especies. En particular, uno de los factores de cambio que ha cobrado relevancia en los últimos tiempos es el de la contaminación plástica. Sin embargo, su interacción con el ambiente y organismos aún ha sido poco estudiada.

En muestreos realizados en el Golfo San José, se registraron 6 especies pertenecientes a las Familias Tripterygiidae, Clinidae, Batrachoididae, Agonidae, Congiopodidae y Serranidae. Las especies numéricamente dominantes y más comunes fueron diablillo *Helcogrammoides cunninghami*, acorazadito *Agonopsis asperoculis* y clínido *Riberoclinus eigenmanni*. En los muestreos, también se registraron juveniles <15 cm de *Pseudopercis semifasciata*, *Sebastes oculatus* y *Acanthistius patachonicus*, que por encontrarse en menos del 10% de las estaciones muestreadas fueron descartados del análisis. La variable ambiental más importante en la determinación de la abundancia del ensamble de especies fue la profundidad. A su vez, el tipo de sustrato no fue una variable relevante en la abundancia del ensamble. Sin embargo, la profundidad, junto a los crustáceos y equinodermos fueron las variables que en más ocasiones resultaron relevantes para la mayoría de las especies, cuando se analizó a las especies de manera individual. En términos comunitarios, la biomasa, diversidad y abundancia total del ensamble aumentaron con la profundidad y los crustáceos. En cambio, el número de

especies no varió en función de las características ambientales aquí estudiadas. Sólo en el caso de la abundancia, aumentó además con sustratos cubiertos de algas por lo que los peces bentónicos pequeños pueden beneficiarse de la vegetación en términos de recursos alimentarios y oportunidades de refugio.

Para el análisis de la dieta y caracterización del nicho trófico se estudió al diablillo y al clínido en los golfos Nuevo y San José. Las dietas de las especies *Patagonotothen sima* y *P. cornucola* fueron descritas pero no incluidas en los análisis debido a que el número de individuos analizados no fue suficiente para proveer una buena descripción de la dieta. Ambos peces mostraron en general una dieta similar amplia y carnívora. Las inspecciones visuales mostraron mayor grado de eurifagia para el diablillo que para el clínido. Las dos especies de peces se encuentran dentro de un mismo nivel trófico y constituyen un gremio trófico. El análisis de isótopos estables reveló que integrando la nutrición anual, la mayor contribución a la dieta de ambas especies proviene de la cadena alimentaria del fitoplancton y la materia orgánica particulada. De esta manera, los peces se alimentan de manera oportunista consumiendo principalmente crustáceos (malacostracos, ostrácodos, copépodos). A nivel estacional, se encontró que la dieta de ambas especies cambian en el mismo sentido en invierno y verano, siendo que el mayor aporte proviene de la vía fitoplanctónica en verano y en partes iguales de la vía pelágica y fitoplanctónica en invierno. Sin embargo, encontramos que existen pequeñas diferencias entre las dietas de las especies a nivel de ítems presa y superposición del nicho isotópico.

En el tercer capítulo se evaluó la abundancia y el tipo de microplásticos en tres especies de peces (diablillo, clínido y juvenil de róbalo *Eleginops maclovinus*) y otras dos matrices como línea de base: cholgas (*Aulacomya atra*) y agua de fondo en tres sitios cercanos a la ciudad de Puerto Madryn (Golfo Nuevo). Los microplásticos estuvieron presentes en las tres matrices para todos los sitios muestreados. Las cantidades medias de ítems observados fueron 1,6 y 0,3 por peso húmedo total en peces y cholgas, respectivamente, y 10,5 por litro en agua de fondo. Las cholgas y los peces presentaron diferencias de tamaño de los microplásticos en comparación con el agua de fondo circundante; los peces también presentaron discriminación de color, sugiriendo la necesidad de más de un bioindicador para realizar el seguimiento de la contaminación por microplásticos. Además, los peces de menor talla tenían más microplásticos en el tracto gastrointestinal que los más grandes.

Estos resultados aportan información ecológica novedosa sobre un grupo poco estudiado que es importante tanto para evaluaciones de impacto ambiental o para el establecimiento de áreas marinas protegidas como para avanzar hacia una mejor comprensión del funcionamiento de los sistemas costeros.

Small-fish assemblages of the Northern Patagonian subtidal rocky areas: composition, trophic relationships and environmental effects on their structure

Abstract

This work describes the composition, abundance and the environmental effects on the structure of the small-fish assemblages that inhabit the subtidal rocky areas of the San José Gulf. The research analyzes the diet and trophic niche of some of the fish species that comprise the assemblage in the Nuevo and San José Gulfs, and assesses the incidence of urban pollution from microplastics on the diet of species that inhabit subtidal environments located nearby Puerto Madryn city. The subtidal strip of these marine environments has been studied from different perspectives, but there is a dearth of basic information on the small fish that inhabit it. This group comprises species of reduced size (<15 cm total length) and generally exhibit a cryptic behavior, associated with benthic habitats. The structure of organism assemblages can vary spatially and temporally, depending on the physical characteristics of the habitat and seasonal changes. Studying the trophic relationships among the organisms in a community is an important aspect of fish ecology and can provide key insights into the structure of an organism assemblage. Moreover, global environmental changes such as temperature increases due to climate change, pollution, and the introduction of invasive species are also responsible for changes in the structure of species assemblages. In particular, plastic pollution has become an increasingly relevant concern in recent times, and yet our understanding of the interaction between microplastics and aquatic organisms remains limited.

The sampling conducted in the San Jose Gulf recorded six fish species belonging to the Tripterygiidae, Clinidae, Batrachoididae, Agonidae, Congiopodidae, and Serranidae families. The numerically dominant and most common species were the triplefin (*Helcogrammoides cunninghami*), the sculpin (*Agonopsis asperoculis*), and the clinid (*Ribeiroclinus eigenmanni*). Juveniles of *Pseudoperca semifasciata*, *Sebastes oculatus*, and *Acanthistius patachonicus* were also registered, but as they were found in less than 10% of the sampled stations, they were excluded from the analysis. The most important environmental variable in determining the assemblage of species abundance was depth. Substrate type was not a relevant variable in the assemblage abundance. However, depth, along with crustaceans and echinoderms, were the variables that most often turned out to be relevant for the majority of the species when analyzed individually. In terms of community structure, the biomass, diversity, and total abundance of the assemblage increased with depth and the presence of crustaceans. However, species richness did not vary according to the environmental characteristics studied here. Only in the case of abundance, it increased with algae-covered substrates, indicating that

small benthic fish can benefit from vegetation in terms of food resources and shelter opportunities.

To analyze the diet and trophic niche characterization, the triplefin and clinid were studied in the Nuevo and San José Gulfs. The diets of *Patagonotothen sima* and *P. cornucola* were described but not included in the analyses because the number of individuals was not sufficient to provide a good description of the diet. In general, both fish species showed a similar broad and carnivorous diet. Visual inspections showed that the triplefin had a higher degree of euryphagy than the clinid. Both species are within the same trophic level and constitute a trophic guild. Stable isotope analysis revealed that integrating annual nutrition, the greatest contribution to the diet of both species comes from the phytoplankton and particulate organic matter food chain. Thus, the fishes feed opportunistically, consuming mainly crustaceans (malacostracans, ostracods, copepods). At seasonal level, the diet of both species changes in the same direction in winter and summer, with the greatest contribution coming from the phytoplankton pathway in summer and equally from the pelagic and phytoplankton pathways in winter. However, we found small differences between the diets of the species at the prey item level and isotope niche overlap.

In the third chapter, we assess the abundance and type of microplastics in three fish species (triplefin, clinid and juvenile of *Eleginops maclovinus*) and in two baseline matrices: mussels (*Aulacomya atra*) and bottom water in three sites nearby Puerto Madryn city (Golfo Nuevo). Microplastics were present in the three matrices for all sites sampled. The average amounts of items observed were 1,6 and 0,3 per total wet weight in fishes and mussels, respectively, and 10,5 per liter in bottom water. Mussels and fishes presented a difference of microplastics size compared with the surrounding bottoms waters; fishes also presented color discrimination, suggesting the necessity of more than one bioindicator to perform microplastic pollution monitoring. Moreover, small fishes had more MPs in their gastrointestinal tracts than bigger ones.

The present work provides new ecological information to a better understanding of the functioning of the coastal systems that serve as input for the management plan of the coastal marine protected areas in order to protect the whole assemblage.

Agradecimientos

En primer lugar quiero agradecerle a mi director David por su acompañamiento en todo este tiempo y por todo lo que aprendí a su lado durante todo este proceso.

Agradezco al jurado por sus comentarios y valiosos aportes a esta tesis.

También quiero agradecer a las instituciones que contribuyeron a mi formación académica y a la realización de la tesis: Universidad Nacional del Comahue (UNCo-CRUB), al Centro para el Estudio de Sistemas Marinos (CONICET-CESIMAR) y a ALUAR por los análisis de microscopía.

Al área de Náutica y Automotores del CENPAT, Néstor, Javi, Bebo, Bocha por su acompañamiento durante las campañas. A Norberto de Garin por su asistencia en la sala de óptica.

Agradezco profundamente a Leo Venerus, Luján Villanueva y Silvina Van der Molen por confiarme sus datos de arrastre del Golfo San José que me permitieron desarrollar el primer capítulo de esta tesis, y particularmente a Leo que además fue una gran ayuda y guía en este trabajo.

A Rodrigo Moresino por su invaluable colaboración en muestreos, análisis y procesamientos de muestras e información y colaboración en el artículo científico relacionado a esta tesis.

El trabajo de campo y equipamientos fue financiado gracias al apoyo de PADI Foundation.

A todos mis compañeros de oficina y en especial a Georgina y Leo G. por su enorme ayuda, charlas, mates y compañía durante estos años. A mis amigos de la vida: Merce, Gianni, Ale, Santia, Gisela, Gary, Ruth, Emi, Pan, Iña, Cande, Agus, Cami, Lu, Ati, Fede, Jano, y a toda mi banda Axesera!

Finalmente agradecerle a toda mi familia, especialmente a mis 4 pilares: papá, mamá, hermano y al amor de mi vida, amigo y compañero, Lucas.

Tabla de contenidos

Resumen	1
Abstract	3
Agradecimientos	5
Introducción general	8
Objetivo general	13
Capítulo 1: Estructura del ensamble de peces pequeños del golfo San José y su relación con el ambiente	14
1.1 Introducción	14
1.2 Materiales y Métodos	17
1.2.1 Muestreo.....	17
1.2.2 Preparación de los datos	27
1.2.3 Análisis estadísticos.....	29
1.3 Resultados	31
1.3.1 Efecto del ambiente sobre la abundancia de las especies que componen el ensamble de peces pequeños de los submareales del Golfo San José.	32
1.3.2 Efecto del ambiente sobre los índices comunitarios del ensamble de peces pequeños de los submareales del Golfo San José.....	39
1.4 Discusión	42
1.4.1 Efecto del ambiente sobre la abundancia de las especies que componen el ensamble de peces pequeños de los submareales del Golfo San José.	42
1.4.2 Efecto del ambiente sobre los índices comunitarios del ensamble de peces pequeños de los submareales del Golfo San José.....	44
Capítulo 2: Descripción de la dieta y superposición trófica de las especies más conspicuas del ensamble de peces pequeños de los submareales rocosos Norpatagónicos	46
2.1 Introducción	46
2.2 Materiales y Métodos	48
2.2.1 Muestreo.....	48
2.2.2 Inspección visual del contenido gastrointestinal.....	50
2.2.3 Análisis estadísticos de la descripción de la dieta	51

2.2.4	<i>Análisis de isótopos estables</i>	52
2.3	Resultados	54
2.3.1	<i>Descripción general de la dieta</i>	54
2.3.2	<i>Comparación de las dietas de diablillo y clínido</i>	62
2.4	Discusión	79
2.4.1	<i>Descripción general de la dieta</i>	80
2.4.2	<i>Comparación de las dietas de diablillo y clínido</i>	81
Capítulo 3: Evaluación de la contaminación urbana por microplásticos en ambientes submareales del Golfo Nuevo		84
3.1	Introducción	84
3.2	Materiales y Métodos	86
3.2.1	<i>Muestreo</i>	86
3.2.2	<i>Trabajo de laboratorio</i>	88
3.2.3	<i>Análisis SEM-EDS</i>	90
3.2.4	<i>Análisis de los datos</i>	92
3.3	Resultados	93
3.3.1	<i>Identificación de MPs</i>	93
3.3.2	<i>Abundancia de MPs</i>	95
3.3.3	<i>Tipos de MPs</i>	97
3.3.4	<i>Tamaños de MPs</i>	98
3.4	Discusión	99
3.4.1	<i>Identificación de MPs</i>	99
3.4.2	<i>Abundancia de MPs</i>	100
3.4.3	<i>Tipos de MPs</i>	103
3.4.4	<i>Tamaños de MPs</i>	104
Síntesis y Conclusiones		106
Bibliografía		110
Material suplementario		131
Trabajo de respaldo		138

Introducción general

Los golfos norpatagónicos constituyen una de las zonas más ricas del Mar Argentino, destacándose por su gran productividad y diversidad biológica la que incluye especies de alto valor comercial, tanto pesquero (ej.: mero, pejerrey, vieyra tehuelche, pulpo colorado) como turístico (aves y mamíferos marinos). Dado que la franja submareal de estos ambientes marinos se caracteriza por su complejidad, dinamismo y alto grado de interacción con las comunidades humanas, ha sido estudiada desde diversas miradas, incluyendo aspectos geológicos (Isla y Bujalesky 2008), oceanográficos (Pisoni et al. 2014), económico-culturales y biológicos. Desde la biología, en la actualidad existe un importante cuerpo de conocimiento sobre algas (ej. Irigoyen et al. 2011, Raffo et. 2013), invertebrados marinos (ej. Bertness et al. 2006, Bravo et al. 2020), peces de interés económico o recreativo (ej. Venerus et al. 2008, Galván et al. 2009a), mamíferos marinos y colonias de aves (ej. Bala et al. 2001, Degradi et al. 2020) que habitan en la zona costera; pero se destaca la ausencia de información básica sobre los peces pequeños que la habitan. Este grupo comprende principalmente a las familias Tripterygiidae, Clinidae, Nototheniidae y Batrachoididae, con especies de reducida talla (<15 cm de largo total) y en general un comportamiento críptico (Irigoyen et al. 2018) (Figuras 1 a 4). Galván et al. (2009a) describieron la composición del ensamble de peces de arrecifes de los golfos Nuevo y San José mediante censos visuales y se estimó la abundancia de peces de mediano y gran tamaño. Sin embargo, en el caso de las especies pequeñas y crípticas la estimación de su abundancia no fue posible dado su bajo nivel de detección durante los censos. La mayoría de estos peces representan una fuente principal de alimento para las aves marinas, por ejemplo, el cormorán imperial *Phalacrocorax atriceps* y el cormorán cuello negro *Phalacrocorax magellanicus* tienen como presas importantes al diablillo *Helcogrammoides Cunninghami* y clínido *Ribeiroclinus eigenmanni* (Bulgarella et al. 2008; Gosztanyi y Kuba 1998). Además, tanto el diablillo como el clínido son presas importantes de peces más grandes como el escrófalo *Sebastes oculatus* y el salmón de mar *Pseudoperca semifasciata* (Galván et al. 2009b).

La estructura de un ensamble de organismos puede variar tanto en el espacio como en el tiempo de acuerdo a características físicas del hábitat y cambios estacionales,

influyendo en la distribución y abundancia de las especies. Por ejemplo, la complejidad del hábitat puede modificar la composición de especies de una comunidad proporcionando refugio a las presas e influyendo en la disponibilidad de recursos, por lo que en general, una mayor complejidad del hábitat resulta en una mayor riqueza de especies (García-Charton y Pérez-Rufaza 2001; Griffiths et al. 2006).

Por otro lado, estudiar las relaciones tróficas entre los organismos de una comunidad es necesario para comprender los mecanismos subyacentes responsables de su organización y estructuración, así como también, para contribuir al conocimiento del rol del ensamble de peces pequeños en los ecosistemas costeros (Duffy y Stachowicz 2006). Estudiar las relaciones tróficas entre organismos implica no sólo conocer la composición de la dieta o el nicho de alimentación general de las especies, sino también la partición de los recursos alimentarios o las interacciones entre las especies dentro de una comunidad (Layman et al. 2015). La dieta, así como la reproducción y la morfología, es un componente importante de la ecología de los peces y puede ser un importante descriptor de la estructura de un ensamble de organismos (Goatley y Bellwood 2009, Goldstein et al. 2016). Hasta el momento, el conocimiento sobre aspectos de la ecología trófica como la dieta y amplitud de nicho para estos peces en ambientes templados de Patagonia es escaso y para aquellos que habitan la norpatagonia de la costa Atlántica aún no ha sido estudiada.

Además de factores a nivel local, la distribución, la abundancia y los atributos funcionales de los peces pueden verse afectados por factores ambientales de cambio global como el aumento de la temperatura producto del cambio climático, contaminación e introducción de especies invasoras que también son responsables de cambios en la estructura de los ensambles de especies (Gallardo et al. 2016; Mayer-Pinto et al. 2015; Vergés et al. 2014). En particular, uno de los factores de cambio que ha cobrado relevancia en los últimos tiempos es el de la contaminación plástica. Los microplásticos (MPs) son partículas de plástico de menos de 5 mm que llegan al medio marino por la mala gestión de actividades humanas y que directa o indirectamente, pueden introducir varios contaminantes xenobióticos en los ecosistemas acuáticos de todo el mundo (Alimba y Faggio 2019). Entre ellos, los plásticos y MPs parecen estar muy

extendidos en todos los niveles de los ecosistemas acuáticos y revelan serias amenazas para la biota. Los primeros reportes de la existencia de MPs en los ecosistemas marinos se produjeron en la década de 1970 (Cole et al. 2011) y desde entonces su distribución se ha ido reportado en todo el mundo, por lo que es considerado un problema global (Alimba y Faggio, 2019). Sin embargo, hasta la actualidad, su interacción con el ambiente y organismos aun ha sido poco estudiada (Ajith et al. 2020). Conocer el comportamiento de peces pequeños respecto a los MPs permitirá dilucidar si estos peces podrían emplearse como bioindicadores de este contaminante emergente, a fin de aportar a una mejor comprensión del funcionamiento de los sistemas costeros; conocimiento necesario en el establecimiento de áreas marinas protegidas o evaluaciones de impacto ambiental.



Figura 1. Familia Tripterygiidae. Diablillo *Helcogrammoides Cunninghami* (Smitt, 1898).
Crédito de la foto: Javier Crespi.



Figura 2. Familia Clinidae. Clínido *Ribeiroclinus eigenmanni* (Jordan, 1888). Crédito de la foto: Alejo Irigoyen.



Figura 3. Familia Nototheniidae. Nototenis *Patagonotothen* spp. Crédito de la foto: Alejo Irigoyen.



Figura 4. Familia Batrachoididae. Pez piedra *Triathalassothia argentina* (Berg, 1897). Crédito de la foto: Stephen Jhonson.

Objetivo general

Estudiar la diversidad, abundancia y ecología trófica (incluyendo la ingesta de basura antrópica) del ensamble de peces que habitan los ambientes rocosos costeros en la costa norpatagónica.

Objetivos particulares

1- Describir la composición y abundancia del ensamble y los efectos de diversas variables ambientales sobre su estructura (Capítulo 1).

2- Analizar la dieta y caracterizar el nicho trófico de las especies de peces que componen el ensamble (Capítulo 2).

3- Evaluar la contaminación urbana por microplásticos en peces que habitan los submareales del Golfo Nuevo (Capítulo 3 - publicado en Ríos et al. 2020)

Capítulo 1: Estructura del ensamble de peces pequeños del golfo San José y su relación con el ambiente

1.1 Introducción

Estudiar la estructura de un ensamble de organismos implica conocer su composición específica, sus abundancias relativas y las relaciones funcionales entre las especies que lo componen (Weiher y Keddy 1999); características que pueden variar tanto en el espacio como en el tiempo. A nivel espacial, las características físicas del hábitat cumplen un rol fundamental en modelar la estructura de los ensambles de peces de arrecife. Por ejemplo, numerosos estudios proponen que los refugios son un recurso físico limitante para los peces de mediano y gran tamaño de ambientes rocosos, por lo que al aumentar la oferta de los mismos aumentaría la abundancia de los peces (Holbrook et al. 2002, Galván 2008). La diversidad de los ensambles de estas especies también estaría relacionada con el ambiente, siendo la complejidad de la topografía y la profundidad los principales factores que la afectan (Galván 2008, Genzano et al. 2011, Merlo et al. 2023). Por otro lado, especies de pequeño tamaño encuentran refugio en casi cualquier estructura del fondo como algas, invertebrados sésiles, cáscaras de moluscos, además de en cuevas, grietas y rocas (Griffiths et al. 2006, Pérez Matus 2006) con lo cual podrían distribuirse de forma continua y ampliamente sobre fondos duros, praderas de algas y bancos de invertebrados (Irigoyen y Galván 2010). Sin embargo, es posible que exista una diferenciación en el uso de hábitats por parte de las especies que componen el ensamble. Por ejemplo, en estudios realizados en Australia y Mediterráneo, especies de las familias Clinidae, Singnathidae y Tripterygiidae, se encuentran asociadas fundamentalmente a praderas de algas donde su abundancia y productividad es mayor (Edgar y Shaw 1995, Griffiths et al. 2006, La Mesa et al. 2006). Estos resultados son similares para el tripterígido *Helcogrammoides cunninghami* en la costa Chilena en donde se muestra que exhibe una fuerte preferencia por hábitats biogénicos como algas foliáceas e incrustantes y evita el sustrato desnudo, dado que las algas proporcionan un hábitat para las especies de presa del pez (Pérez-Matus et al. 2016).

El golfo San José (GSJ), ubicado al norte de la plataforma continental patagónica (entre las latitudes 42°14' y 42°26'S) es el más pequeño de los tres golfos de las costas norpatagónicas. El GSJ forma parte del Área Protegida Península Valdés, una reserva natural designada por las Naciones Unidas como Patrimonio de la Humanidad por su importancia para la conservación marina. En este sitio las agendas de conservación contemplan los usos recreacionales y la pesca comercial. En el mismo, se hallan poblaciones de moluscos y peces sobre las que se ha desarrollado una pesca artesanal o deportiva. Uno de los recursos pesqueros más importantes del golfo es la metapoblación de vieira Tehuelche (*Aequipecten tehuelchus*, Orensanz et al. 2007, Elías et al. 2011) y la de salmón de mar (*Pseudoperca semifasciata*) (Venerus et al. 2008). El GSJ es poco profundo y semicerrado (profundidad media 30 m, máxima 80 m); conectado por una boca angosta (6.9 km de ancho) a otro golfo mucho más grande, el golfo San Matías. En el GSJ se identifican dos dominios al este y al oeste de un frente de térmico y de turbidez. La circulación hídrica del dominio oeste (DO) está dominada por turbulencias y remolinos y tiene menor productividad que el dominio este, mientras que el dominio este (DE) se caracteriza por la poca o baja turbulencia (Amoroso et al. 2011; Amoroso 2012) (Figura 1.1). En este sentido, el DO presenta una alta estratificación vertical a lo largo del año y el DE se encuentra más estancado y muestra una fuerte estratificación vertical durante la estación cálida, lo que promueve la formación de un frente térmico entre ellos durante la primavera-verano. (Amoroso et al. 2011; Amoroso y Gagliardini, 2010). Estos dos dominios se encuentran asociados a diferencias en los ensambles de mesozooplankton, siendo el DE el más productivo durante el verano (Hernández-Moresino et al. 2014, 2017). Además, dado que el fitoplancton se mezcla continuamente hacia arriba y hacia abajo, el tiempo de exposición a la luz suficiente para crecer es menor, por lo que la producción primaria en el DO es menor que en el DE (Hernández-Moresino et al. 2022). En contraparte, una distribución más homogénea de la comunidad mezooplanktónica se observó en ambos dominios durante el invierno cuando aún no se había formado el frente. Bajo esas condiciones, y considerando que los muestreos en este trabajo fueron realizados en invierno, se espera encontrar similar abundancia de peces e invertebrados en ambos dominios del golfo.

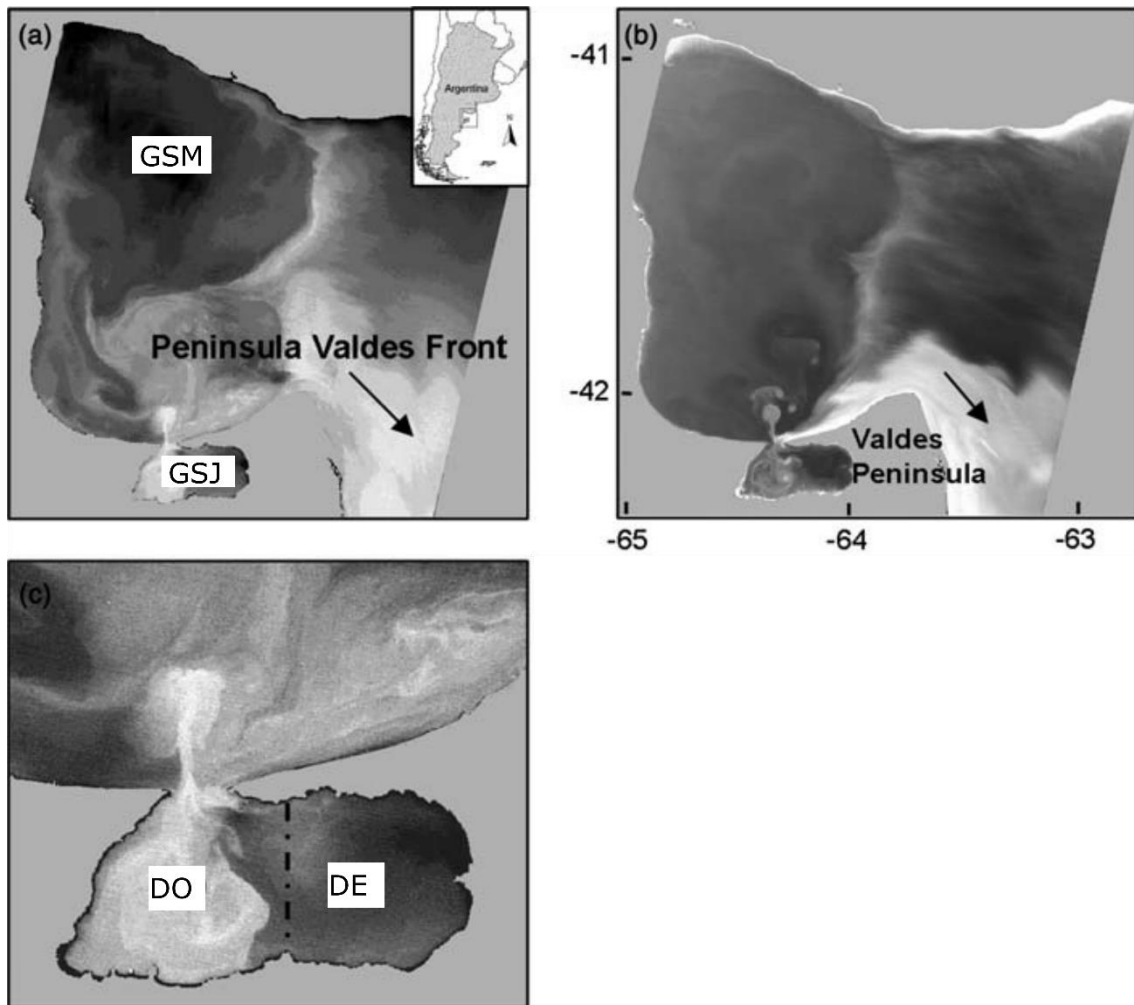


Figura 1.1. Imágenes Landsat de Golfo San José (GSJ) y San Matías (GSM) que ilustran: (a) distribución de la temperatura de la superficie del mar (los tonos oscuros corresponden a una temperatura más alta), y (b) distribución de sedimentos suspendidos (el tono claro indica una mayor concentración de sedimentos, indicada por la flecha); (c) detalles de SJG donde la línea punteada representa una aproximación del frente del golfo y sus dominios Este (DE) y Oeste (DO). Figura y epígrafe extraídos del trabajo de Amoroso et al. (2011).

La gran mayoría de los trabajos que estudian patrones de distribución, composición y abundancia en el GSJ se han realizado sobre ensambles de peces de arrecife de tallas comerciales de mediano y gran tamaño (Venerus et al. 2008), invertebrados bentónicos (Zaixso et al. 1998), fitoplancton (Hernández-Moresino et al. 2022). Sin embargo, a la fecha no existen estudios sobre el ensamble de peces pequeños del GSJ y su relación con el ambiente.

Las estimaciones de riqueza y diversidad de especies son centrales en ecología para determinar la estructura de una comunidad. Las medidas tradicionales de diversidad dan cuenta de especies no detectadas principalmente mediante el control del esfuerzo de muestreo. Sin embargo, la probabilidad de detectar a un individuo puede variar entre especies, observadores, métodos de estudio y sitios (Iknayan et al. 2014). Por esto, los índices de biodiversidad y riqueza tradicionalmente utilizados en ecología presentan limitaciones debido a su alta sensibilidad al número de individuos muestreados, al número de muestreos, y al tamaño del área muestreada (Chao et al. 2014). Para hacer frente a las limitaciones de los tradicionales índices de abundancia y diversidad utilizados en ecología, se utilizan las curvas de rarefacción (de interpolación) y curvas de extrapolación de la diversidad de especies para datos basados en individuos (abundancia) o para datos basados en muestras (incidencia). Los índices utilizados en este análisis son los números de Hill. La riqueza de especies, la diversidad de Shannon y diversidad de Simpson forman parte de la familia de números de Hill, siendo estos tres los principales índices (Chao et al. 2014).

El objetivo principal de este capítulo es investigar las relaciones entre la estructura del ensamble de peces dentro de una pequeña cuenca semicerrada (el GSJ) y el ambiente. Para ello se caracterizó al ensamble en base a su diversidad, abundancia y riqueza. Por ser todos peces bentónicos o fuertemente asociados al fondo, la hipótesis de este capítulo es que la composición del ensamble de peces pequeños de los submareales rocosos norpatagónicos varía en términos relativos o absolutos con la profundidad, el tipo de sustrato y la comunidad de organismos sésiles asociada (algas e invertebrados).

1.2 Materiales y Métodos

1.2.1 Muestreo

El muestreo se realizó en el GSJ en invierno del 2013, en el mes de junio y julio. Los muestreos fueron realizados a bordo de una lancha cubriendo una cuadrilla de 17 estaciones de muestreo donde se realizaron arrastres utilizando una rastra pequeña (abertura horizontal de 0,6 m, abertura vertical de 0.4 m, tamaño de malla de 1 cm y

1,5m de largo de red; Figura 1.2) y en el laboratorio se clasificaron las especies. Partiendo desde cada estación, el arrastre se realizó por única vez durante los primeros 5 a 7 minutos en dirección a la siguiente estación de muestreo a una velocidad promedio de 2 km/h (Figura 1.3). Este método de arrastre sumado al tipo de rastra utilizada se implementó debido a que no existen evidencias de evasión en peces pequeños del rango de tallas aquí estudiados, no solo por su tamaño pequeño sino también por su baja velocidad de escape.

Utilizando un equipo de ecosonda se midió la profundidad al inicio de cada arrastre y la profundidad al finalizar dicho arrastre desde una estación de muestreo a la siguiente, siguiendo el diseño de muestreo en cuadrilla. Luego, para cada estación se calculó la profundidad media, entre la inicial y la final del arrastre (Tabla 1.1).

Para cada estación de muestreo se definió un tipo de sustrato, los cuales resultaron ser en todos los casos fondos sin cambios abruptos en la profundidad o presencia de arrecifes rocosos. En total se definieron 4 tipos de sustrato según su predominancia en el contenido de la rastra; (i) algas (susA), (ii) concherío (susC), (iii) papa de mar (ascidias; susPM), y (iv) poliquetos (susP; poliquetos sésiles tubícolas del género *Phyllochaetopterus sp.*) (Tabla 1.1 y Figura 1.4).

Se recolectaron un total de 92 peces y 4596 invertebrados. Se identificaron 9 especies de peces: diablillo *Helcogrammoides cunninghami* (N=42, rango longitud total= 4,1-5,9 cm, rango masa corporal= 0,86-2,72 g), clínido *Ribeiroclinus eigenmanni* (N=15, rango longitud total= 4,9-7,2 cm, rango masa corporal= 0,97-3,66 g), pez piedra *Triathalassothia argentina* (N=4, rango longitud total= 4,7-8,4 cm, rango masa corporal= 7,12-12,89 g), acorazadito *Agonopsis asperoculis* (N=23, rango longitud total= 6,4-11,2 cm, rango masa corporal= 2-8,06 g), cacique *Congiopodus peruvianus* (N=5, rango longitud total= 7,6-9,7 cm, rango masa corporal= 7,55-13,87 g), cocherito *Dules auriga* (N=3, rango longitud total= 8,6-9,4 cm, rango masa corporal= 10,37-14,3 g), salmón de mar *Pseudopercis semifasciata* (N=1, longitud total= 7,8 cm, masa corporal= 5.72 g), escrófalo *Sebastes oculatus* (N=1, longitud total= 6,7 cm, masa corporal= 4,62 g) y mero *Acanthistius patachonicus* (N=2, rango longitud total= 6,8-7,7 cm, rango masa corporal= 6,33-9,85 g). Todos los peces se encontraron dentro del rango de tallas considerado en esta tesis (<15 cm). En el caso de los invertebrados, no todos los ejemplares colectados

podieron llegar a ser identificados hasta género y especie, llegando a ser identificadas especies pertenecientes a 8 filos o subfilos (Tabla 1.2).

Todos los mapas se construyeron utilizando el sistema de información geográfica de código abierto (QGIS Development Team 3.4).



Figura 1.2. Rastra de muestreo

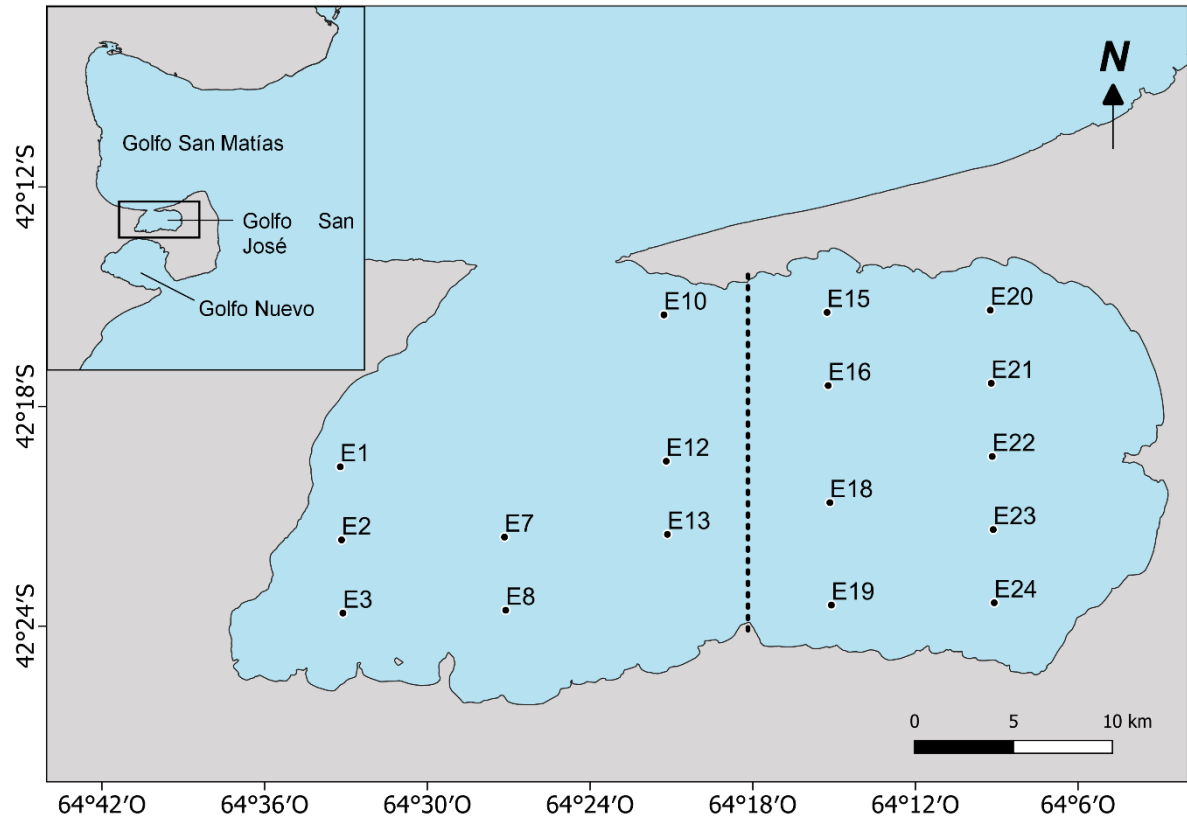


Figura 1.3. Estaciones de muestreo dentro del Golfo San José. La línea punteada representa una aproximación del frente del golfo (Amoroso 2012).

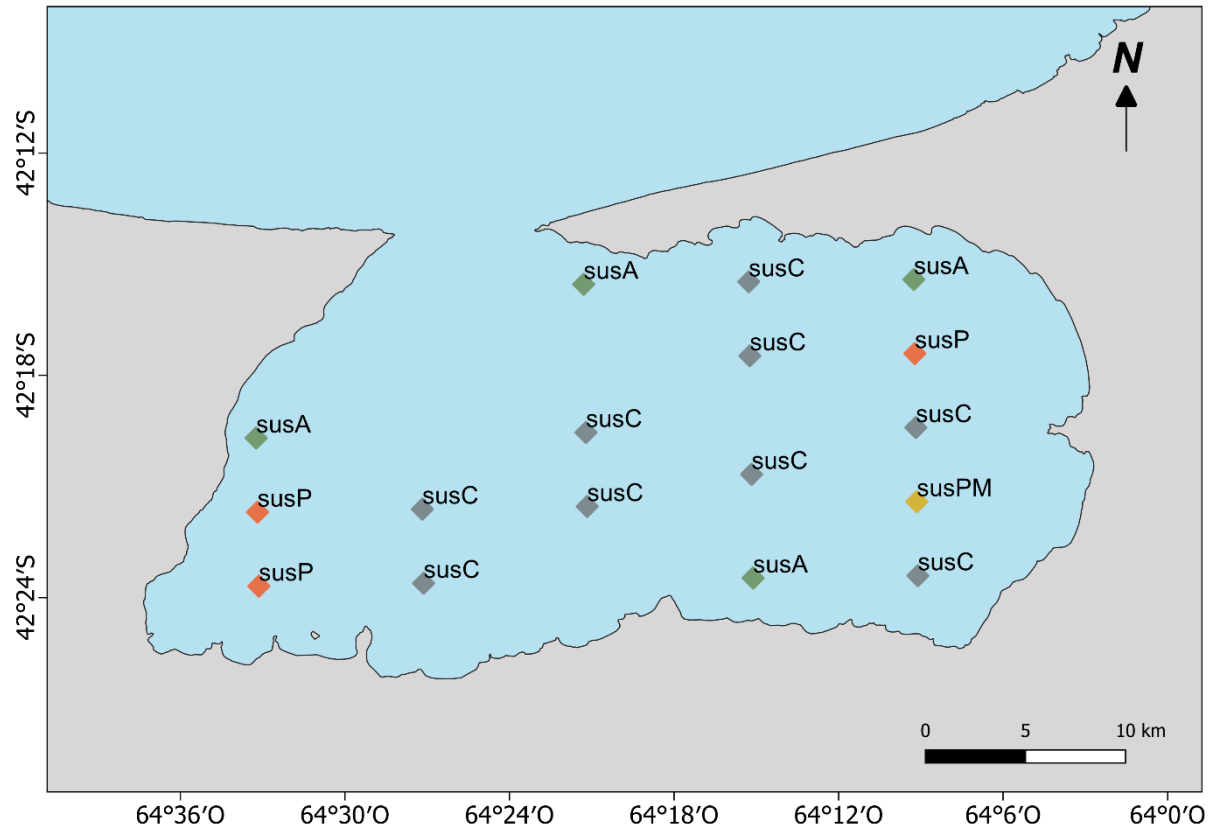


Figura 1.4. Estaciones de muestreo diferenciadas por tipo de sustrato. Verde= algas; Naranja= poliquetos; Gris= concherío; Amarillo= papa de mar

Tabla 1.1. Profundidades, clasificación y descripción en detalle de los tipos de sustrato para cada estación de muestreo. SusA= algas; SusP= poliquetos; SusC= concherío; SusPM= papa de mar (ascidias). *ND= no detectada

Estación	Profundidad promedio (m) (inicial-final)	Tipo de sustrato	Descripción del sustrato
E1	20,5 (21-20)	susA	Presencia de 4 especies de algas, pero dominado por <i>Dyctiota sp.</i>
E2	38 (40-36)	susP	Dominado por poliqueto sedentario <i>Phyllochaetopterus sp.</i> También se encontraron algunas valvas rotas de <i>Aequipecten tehuelchus</i> , <i>Zygochlamys patagonica</i> , <i>Bostrycapulus aculeatus</i> , y <i>Aulacomya atra</i> .
E3	31 (30-32)	susP	Dominado por <i>Phyllochaetopterus sp.</i>
E7	65 (65-65)	susC	Dominado por <i>Z. patagonica</i> y otros bivalvos no identificados. Además se encontró algo de bivalvos del género <i>Panopea</i> y crustáceos <i>Cirripedia</i> .
E8	34,5 (34-35)	susC	Dominado principalmente por valvas de <i>A. tehuelchus</i> , <i>Z. patagonica</i> , <i>Ostreidae</i> , <i>Pitar rostrata</i> , <i>Brachiopoda</i> y bivalvos no identificados.
E10	18,5 (20-17)	susA	Principalmente algas rojas.
E12	73,5 (71-76)	susC	Dominado por bivalvos no identificados y <i>Amiantis sp.</i> , pocas <i>Z. patagonica</i> , muy pocas <i>A. tehuelchus</i> y <i>Brachiopoda</i> .
E13	62 (63-61)	susC	Principalmente valvas de <i>Z. patagonica</i> , bivalvos no identificados, <i>P. rostrata</i> , <i>A. tehuelchus</i> y algunos <i>Phyllochaetopterus sp.</i>
E15	37 (37-ND*)	susC	Dominado por <i>A. tehuelchus</i> y <i>Phyllochaetopterus sp.</i> , muy poca <i>Ulva spp.</i> y algún <i>Cirripedia</i> .
E16	61,5 (65-58)	susC	Dominado por <i>P. rostrata</i>
E18	61 (61-61)	susC	Valvas de <i>P. rostrata</i> , semillas de <i>A. tehuelchus</i> y una semilla no identificada. Además presencia de <i>Grimothea gregaria</i> .
E19	24,5 (26-23)	susA	Presencia de 3 especies de algas; <i>Ulva spp.</i> <i>Dyctiota sp.</i> y <i>Anotrichium forcellatum</i> . Un poco de <i>A. tehuelchus</i> , <i>P. rostrata</i> , tubos de poliquetos, <i>G. gregaria</i> y <i>Nudibranchia</i> .
E20	29 (30-28)	susA	Principalmente <i>Ulva spp.</i> Un poco de <i>Phyllochaetopterus sp.</i>
E21	59 (60-58)	susP	Dominado por <i>Phyllochaetopterus sp.</i> Abundantes ascidias, alguna valva con ejemplares pequeños de <i>P. rostrata</i> y <i>A. tehuelchus</i>
E22	55,5 (61-50)	susC	Dominado por semillas de vieira. Además se encontraron 3 <i>Cirripedia</i> y <i>G. gregaria</i>
E23	65 (65-65)	susPM	Dominada por ascidias. Se encontró 1 tubo de <i>Eunicidae</i> y poquitas valvas de <i>P. rostrata</i> y semillas de <i>A. tehuelchus</i>
E24	29 (29-29)	susC	Valvas de <i>A. tehuelchus</i> , y algunos cantos rodados pequeños (+-5 mm diam)

Tabla 1.2. Agrupación de invertebrados a nivel de filo o subfilo, clasificados en sésiles o móviles. %O= porcentaje de ocurrencia del grupo invertebrado en las estaciones de muestreo.

Phylum / Subphylum	Clase	Orden	Familia	Especie	Sésil	Móvil	% O	Grupo invertebrado
Annelida	Polychaeta	Sabellida	Sabellidae	Poliqueto no ident.	X		6	Anélido sésil*
				<i>Eunice argentinensis</i>		X	6	Anélido móvil
		Phyllodocida	Polynoidae	<i>Eunice spp.</i>		X	23	
				Poliqueto no ident. 1		X	18	
		Poliqueto no ident. 2		X	41			
Crustacea	Thecostraca	Cirripedia indet.	Cirripedia indet.	Cirripedia no ident.	X		12	Crustáceo sésil**
	Malacostraca	Decapoda	Inachoididae	<i>Leurocyclus tuberculosus</i>		X	18	Crustáceo móvil
				<i>Grimothea subrugosa</i>		X	94	
				<i>Peltarion spinosulum</i>		X	18	
				<i>Platyxanthus patagonicus</i>		X	6	
	Decapoda Indet.	Camarón pinza no ident.		X	18			

Phylum / Subphylum	Clase	Orden	Familia	Especie	Sésil	Móvil	% O	Grupo invertebrado
				Langostino no ident.		X	76	
				Cangrejo no ident.		X	29	
Chelicerata	Pycnogonida	Pycnogonida Indet.	Pycnogonida Indet.	Pycnogonida no ident.		X	6	Quelicerado móvil*
Brachiopoda	Brachiopoda indet.	Brachiopoda Indet.	Brachiopoda Indet.	Brachiopoda no ident.	X		41	Braquiópoda sésil**
Urochordata	Ascidiacea	Ascidiacea Indet.	Ascidiacea Indet.	Ascidiacea no ident.	X		94	Urocordado sésil
Echinodermata	Echinoidea	Arbacioida	Arbaciidae	<i>Arbacia dufresnii</i>		X	59	Equinodermo móvil
		Camardonta	Temnopleuridae	<i>Pseudechinus magellanicus</i>		X	18	
	Ophiuroidea	Amphilepidida	Ophiactidae	<i>Ophiactis asperula</i>		X	12	
			Hemieuryalidae	<i>Ophioplocus januarii</i>		X	12	
		Asteroidea	Forcipulatida	Stichasteridae	<i>Allostichaster capensis</i>		X	
			Valvatida	Asterinidae	<i>Cycethra verrucosa</i>		X	
Mollusca	Bivalvia	Mytilida	Mytilidae	<i>Musculus viator</i>	X		18	Molusco sésil
				<i>Mytilus edulis</i>	X		23	

Phylum / Subphylum	Clase	Orden	Familia	Especie	Sésil	Móvil	% O	Grupo invertebrado
				<i>Lithophaga spp.</i>	X		6	
		Venerida	Veneridae	<i>Pitar rostrata</i>	X		23	
		Pectinida	Anomiidae	<i>Pododesmus spp.</i>	X		6	
			Pectinidae	<i>Aequipecten tehuelchus</i>	X		88	
				<i>Zygochlamys patagonica</i>	X		18	
		Ostreida	Ostreidae	Ostreidae no ident.	X		6	
	Gastropoda	Bivalvia Indet.	Bivalvia Indet.	Bivalvia no ident.	X		23	Molusco móvil
		Littorinimorpha	Calyptraeidae	<i>Bostrycapulus aculeatus</i>		X	23	
				<i>Calyptraea pileus</i>		X	6	
		Lepetellida	Fissurellidae	Fissurellidae no ident.		X	12	
		Trochida	Tegulidae	<i>Tegula patagonica</i>		X	29	
		Nudibranchia Indet.	Nudibranchia Indet.	Nudibranchia no ident.		X	82	
		Gastropoda Indet.	Gastropoda Indet.	Gastropoda Indet.		X	18	
	Cephalopoda	Sepiida	Sepiolidae	<i>Semirossia tenera</i>		X	6	
	Polyplacophora	Polyplacophora Indet.	Polyplacophora Indet.	Polyplacophora no ident.		X	18	

Phylum / Subphylum	Clase	Orden	Familia	Especie	Sésil	Móvil	% O	Grupo invertebrado
Nemertea	Nemertea Indet.	Nemertea Indet.	Nemertea Indet.	Nemertea no ident.		X	6	Nemertino móvil*

* Con asterisco (*) los grupos de invertebrados descartados del análisis (%O <15%). Con asterisco (**) los grupos Crustáceo sésil y Braquiópoda sésil agrupados junto a Molusco sésil en una categoría homónima.

1.2.2 Preparación de los datos

De las especies de peces capturadas, 3 (*P. semifasciata*, *S. oculatus* y *A. patachonicus*) se encontraron en menos del 10% de las estaciones muestreadas por lo que fueron descartadas del análisis siguiendo la recomendación de Legendre y Legendre (1998).

Los invertebrados, la profundidad y el tipo de sustrato fueron las variables ambientales elegidas para analizar su posible efecto en la estructura de los ensambles de peces.

Para obtener una mejor evaluación acerca del efecto de los invertebrados en la estructura del ensamble de peces, las especies se agruparon a nivel de filo o subfilo según su capacidad de desplazamiento, clasificándolos en móviles o sésiles. En total, la clasificación de los grupos de invertebrados fueron 11: Anélido sésil (AneS); Anélido móvil (AneM); Crustáceo sésil (CruS); Crustáceo móvil (CruM); Quelicerado móvil (QueM); Braquiópoda sésil (BraS); Urocordado sésil (UroS; ascidias); Equinodermo móvil (EquiM); Molusco sésil (MoIS); Molusco móvil (MoIM); y Nemertino móvil (NemM). En el caso particular de los grupos de MoIS, CruS (cirripedios) y BraS (braquiópodos), en lugar de separarlos en función del filo se los condensó en un solo grupo dada su semejanza morfológica en cuanto a la presencia de valvas o rol ecológico como formadores de hábitat. De esta manera, los 3 grupos quedan condensados en el análisis bajo el nombre de MoIS. Aquellos grupos en los que el porcentaje de ocurrencia (0%) en las estaciones fue menor al 15% fueron descartados del análisis (Tabla 1.2). Luego, para optimizar la selección de variables a analizar, se evaluó la correlación entre las variables explicatorias. Se encontraron correlaciones positivas significativas (> 0.5) entre la profundidad y los AneM y entre las UroS y los MoIM. Por lo tanto, se decidió también descartar de los análisis aquellos tipos de invertebrados que no son considerados como formadoras de hábitat, tales como AneM y MoIM (Figura 1.5). En total, quedaron 4 grupos de invertebrados utilizados para estos análisis: CrusM, UroS, EquiM, y MoIS. Estos cuatro grupos se mantuvieron en el análisis ya que la descripción o valoración cualitativa de los tipos de sustrato en función de la dominancia no coincidía con las abundancias totales de los invertebrados en las distintas estaciones de muestreo; por ejemplo, el sustrato concherío se caracteriza por ser un fondo de acumulación de valvas

sueltas y que no se correlaciona con la abundancia de MolS, y de manera similar sucede con el sustrato de papas de mar y los UroS.

Por último, todos los datos de abundancia de peces e invertebrados fueron corregidos por el tiempo de arrastre por minuto como $A' = A / \text{tiempo de arrastre (minutos)}$, siendo A la abundancia, teniendo en cuenta el esfuerzo de captura en los cálculos de abundancia y biomasa.

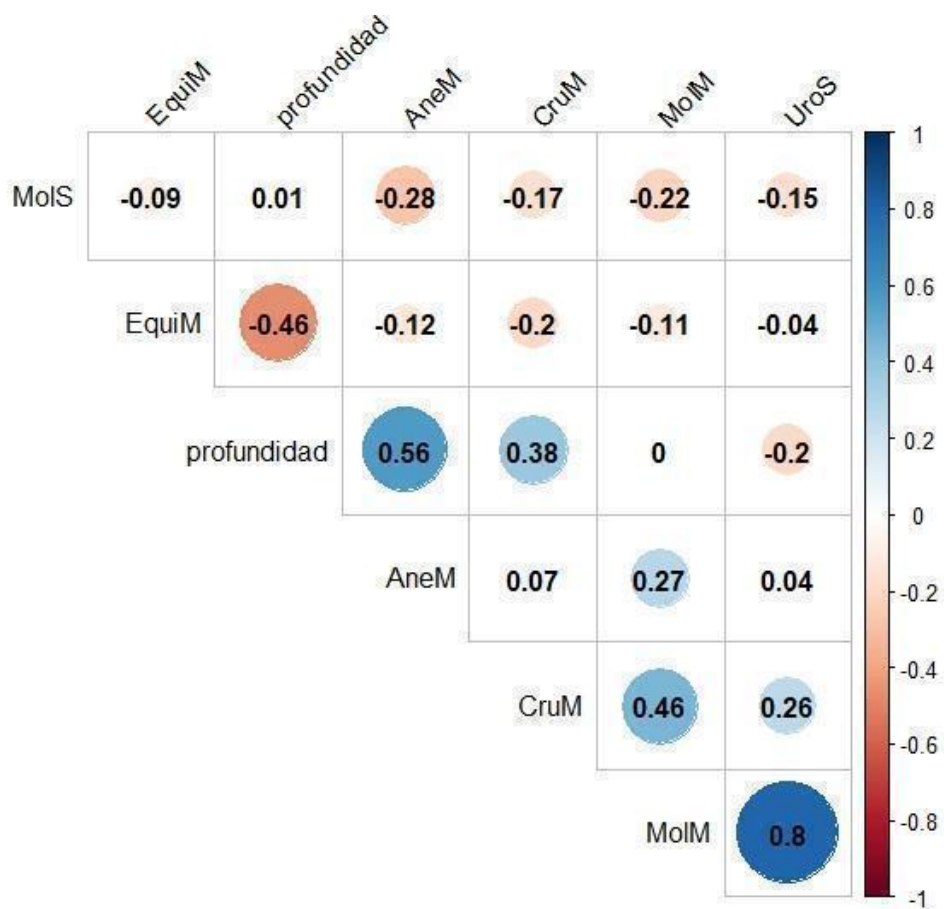


Figura 1.5. Gráfico de correlación de variables ambientales. En azul las correlaciones positivas, en rojo las negativas. Molusco sésil (MolS); Equinodermo móvil (EquiM); Anélido móvil (AneM); Crustáceo móvil (CruM); Molusco móvil (MolM) y Urocordado sésil (UroS).

1.2.3 Análisis estadísticos

En primer lugar, para entender las asociaciones entre los peces del GSJ y las características ambientales de profundidad, tipo de sustrato y comunidad de organismos sésiles asociada (algas e invertebrados), se realizó una exploración de los datos mediante un enfoque no paramétrico del análisis multivariado aplicando una técnica de ordenación de escalado multidimensional no métrico (nMDS) que permite presentar la información y así determinar el significado biológico de dichas asociaciones (Legendre y Legendre 1998). La selección de esta técnica no paramétrica se debe a que los datos son de conteo (abundancia numérica), por lo que el análisis multivariado paramétrico (que asume normalidad estadística del error) no era el adecuado. Algunas estaciones presentaron conteos con cero en los datos de abundancia de peces. Dado que la técnica de nMDS trabaja sobre una matriz de distancia y permite utilizar cualquier coeficiente de similitud, se optó por la distancia de Bray-Curtis que es para datos cuantitativos, basada en datos de abundancia relativa, ya que para datos con muchos ceros no es posible utilizar una medida de distancia Euclidiana (Legendre y Legendre 1998). Las estaciones de muestreo en las que no se contabilizaron peces, quedaron fuera del análisis. En este caso, tres estaciones no contuvieron peces; E8, E16 y E23; dado que la estación E23 era la única estación para la cual se describió como tipo de sustrato predominante a las ascidias (susPM), este tipo de sustrato quedó fuera del análisis (ver Tabla 1.1). De esta manera, se analizaron un total de 14 estaciones de muestreo y tres tipos de sustrato (susA; susC y susP). El análisis de nMDS se realizó usando el paquete de R “*vegan*” (Oksanen et al. 2022). Se usó la función “*envfit*” para obtener las coordenadas de las variables categóricas (tipo de sustrato) y continuas (profundidad e invertebrados) en la ordenación del nMDS. Los gráficos fueron construidos mediante el paquete “*ggplot*” (Wickham, 2016). Por último, para conocer si existen diferencias significativas entre los tipos de sustratos y las especies de peces se realizó una prueba no paramétrica de análisis de similitudes (ANOSIM).

Luego, se estudiaron las relaciones entre la estructura del ensamble de peces del GSJ y el ambiente, caracterizando al ensamble en base a su riqueza, abundancia y diversidad. Se construyeron modelos lineales generalizados (GLM, por sus siglas en inglés) para

analizar las relaciones entre (1) las especies de peces particulares presentes en respuesta a variables ambientales; y (2) los índices de riqueza, abundancia, diversidad y biomasa de las especies de peces como variables respuestas explicadas por variables ambientales. Se propusieron como variables explicatorias principales a la profundidad, tipo de sustrato y los grupos de invertebrados. Para este análisis se incluyeron todas las estaciones con y sin conteo de peces. Dado que la distribución de Poisson se usa normalmente para datos de conteo, fue utilizada para el análisis de riqueza. Para el resto de los modelos se usó una distribución gaussiana. Se calculó la abundancia (A) como el número de peces por minuto de arrastre; la biomasa total de peces por estación de muestreo por minuto de arrastre (B) como $B=A \times P$; siendo P el peso promedio de los peces por estación; la riqueza específica (S) como el número de especies; y la diversidad de Shannon (H') y Simpson (D), en donde H' contempla la riqueza y la abundancia relativa de las especies siendo un índice que busca medir la diversidad de especies considerando la uniformidad de las mismas, mientras que D es un índice con mayor peso en la dominancia (especies más abundantes en una muestra) que en la diversidad (la adición de especies raras a la muestra causa pequeños cambios en el valor de D) y representa la probabilidad de que dos individuos escogidos al azar pertenezcan a la misma especie. Se realizaron gráficos de validación de las regresiones para cada modelo (Material Suplementario).

Para cada variable respuesta se calculó el modelo "completo" (con todas las variables explicatorias) y luego se calculó un modelo "mínimo" mediante la función *step* de R (paquete MASS, Venables and Ripley 2002) y un modelo "nulo". A cada modelo se le calculó su valor de Criterio de Información de Akaike (AIC), el cual permite obtener una medida de cuanto explican los datos de un modelo, teniendo en cuenta su complejidad. El AIC es un método objetivo de selección de modelos; cuanto más bajo es el AIC de un determinado modelo mejor representa el patrón que se busca. Una vez obtenidos los resultados de los modelos (Tabla 1.3 y 1.4), el delta AIC completo se calculó como la diferencia entre el valor de AIC del modelo completo y el del modelo mínimo seleccionado, y el delta AIC nulo se calculó como la diferencia entre el valor de AIC nulo y el del modelo mínimo seleccionado. Finalmente, se seleccionó el modelo con menor AIC. El porcentaje explicado por los modelos se calculó como:

$$\% \text{ Explicado} = 100 - [(Devianza \text{ residual} \times 100) / Devianza \text{ nula}]$$

Además, se realizaron gráficos de torta representando la abundancia y proporción de peces e invertebrados para cada estación de muestreo, con el fin de obtener una mejor comprensión de su distribución a nivel espacial dentro del golfo.

Para hacer frente a las limitaciones de los tradicionales índices comunitarios de abundancia y diversidad utilizados en ecología, se realizaron curvas de rarefacción (interpolación) y curvas de extrapolación de la diversidad de especies (utilizando los números de Hill) para datos basados en individuos (abundancia). Los tres índices más utilizados de los números de Hill son la riqueza de especies ($q=0$), la diversidad de Shannon ($q=1$; que es la exponencial de la entropía de Shannon) y la diversidad de Simpson ($q=2$; que es la concentración inversa de Simpson) (Colwell et al. 2012, Chao et al. 2014). Se analizó la riqueza de especies y los índices de diversidad de los ensamblajes de peces en los distintos tipos de sustrato. Para este análisis se utilizó la abundancia total de cada especie de pez por sustrato (en lugar de la abundancia corregida por tiempo de arrastre) para obtener valores enteros, ya que al corregir las abundancias por el tiempo de arrastre por minuto, se obtiene bajo n de especies en los distintos sustratos, lo que genera estimaciones poco robustas en el análisis. Para esto se utilizó el paquete “*iNEXT*” (Chao et al. 2014, Hsieh et al. 2022). Cada curva de rarefacción (basada en el tamaño de la muestra) fue extrapolada al doble de la abundancia total (tamaño de la muestra) y se estimaron las bandas de confianza al 95% por un método de bootstrap de 100 repeticiones (Chao et al. 2014). La significancia de las diferencias entre la riqueza y diversidad entre los distintos tipos de sustrato evaluada en el análisis de GLM se contrastó con las curvas de rarefacción y de extrapolación de la diversidad de especies mediante la superposición de las bandas de confianza, que de no encontrarse superpuestas indicaría una diferencia significativa entre la riqueza y diversidad.

1.3 Resultados

1.3.1 Efecto del ambiente sobre la abundancia de las especies que componen el ensamble de peces pequeños de los submareales del Golfo San José.

A partir del análisis de ordenación nMDS se obtuvo una muy buena representación en dos dimensiones con un valor de estrés= 0.082 (valores de estrés < 0.1 proporcionan una representación *muy buena* en las dimensiones reducidas, Clarke 1993) (Figura 1.6). La ordenación mostró que la profundidad resultó ser la única variable significativa con un $p < 0.01$ al considerar el ensamble de peces. Se observó que tanto *R. eigenmanni* como *H. cunninghami* se encuentran asociados a profundidades menores, mientras que el resto de las especies (*T. argentina*, *A. asperoculis*, *C. peruvianus* y *D. auriga*) se encuentran asociadas a mayores profundidades; siendo el rango de profundidades cubierto 18 – 73 metros. En el caso de *D. auriga* se encuentra más asociada a una mayor abundancia de moluscos sésiles, y en el caso de *T. argentina*, *A. asperoculis*, *C. peruvianus* a crustáceos móviles. En cuanto a los tipos de sustrato, ninguno resultó ser significativamente relevante en el ordenamiento. El test de ANOSIM arrojó diferencias no significativas entre los tipos de sustratos y las especies de peces ($p > 0.1$). Sin embargo, pese a no ser significativo, se observa una asociación de *R. eigenmanni* y *H. cunninghami* a fondos de algas. En el caso de la especie *D. auriga* más asociada a fondos con poliquetos. El resultado indica que la riqueza media de los peces fue similar entre los distintos sustratos.

En la Figura 1.7, se observa que las estaciones en donde el tipo de sustrato predominante son las algas, se encuentran asociadas a mayor abundancia de equinodermos móviles, las estaciones con predominancia de poliquetos se asocian a mayor abundancia de moluscos sésiles y estaciones con predominancia de concherío se asocian principalmente a mayor abundancia de crustáceos móviles. En el caso de las ascidias no se observó una fuerte asociación con ninguno de los tipos de sustrato.

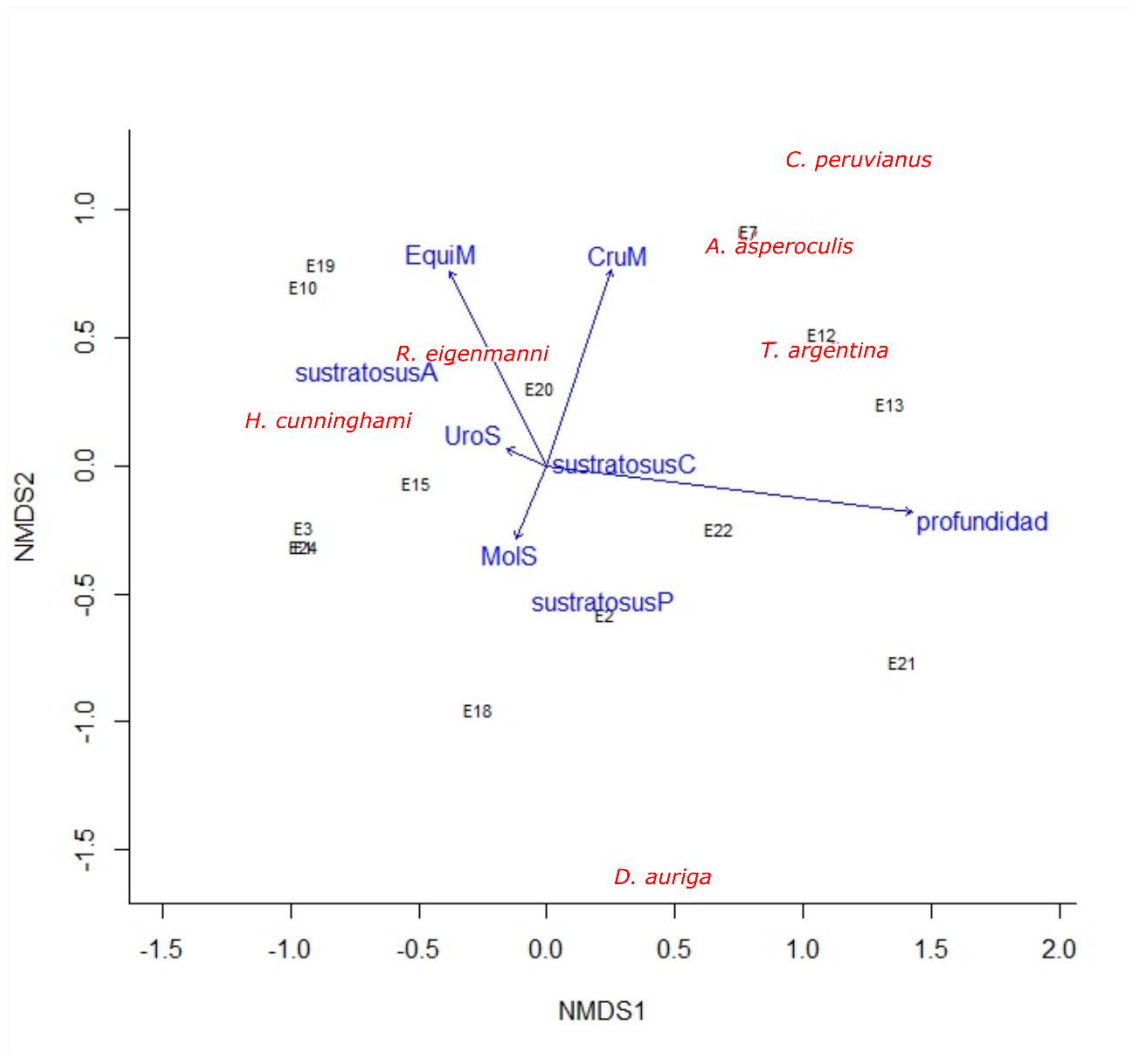


Figura 1.6. Análisis de ordenamiento bidimensional nMDS que muestra a las especies de peces (rojo) asociadas a las variables ambientales (azul) y a las estaciones de muestreo (negro; E1 y E24 se encuentran superpuestas). Las flechas muestran el grado de asociación entre las variables ambientales y los peces y estaciones de muestreo, de modo que los predictores "débiles" tienen flechas más cortas que los predictores "fuertes". Flechas más largas significan una asociación más fuerte. Molusco sésil (MolS); Equinodermo móvil (EquiM); Crustáceo móvil (CruM) y Urocordado sésil (UroS). Sustrato A= algas; C= concherío; P= poliquetos. Estrés= 0.082

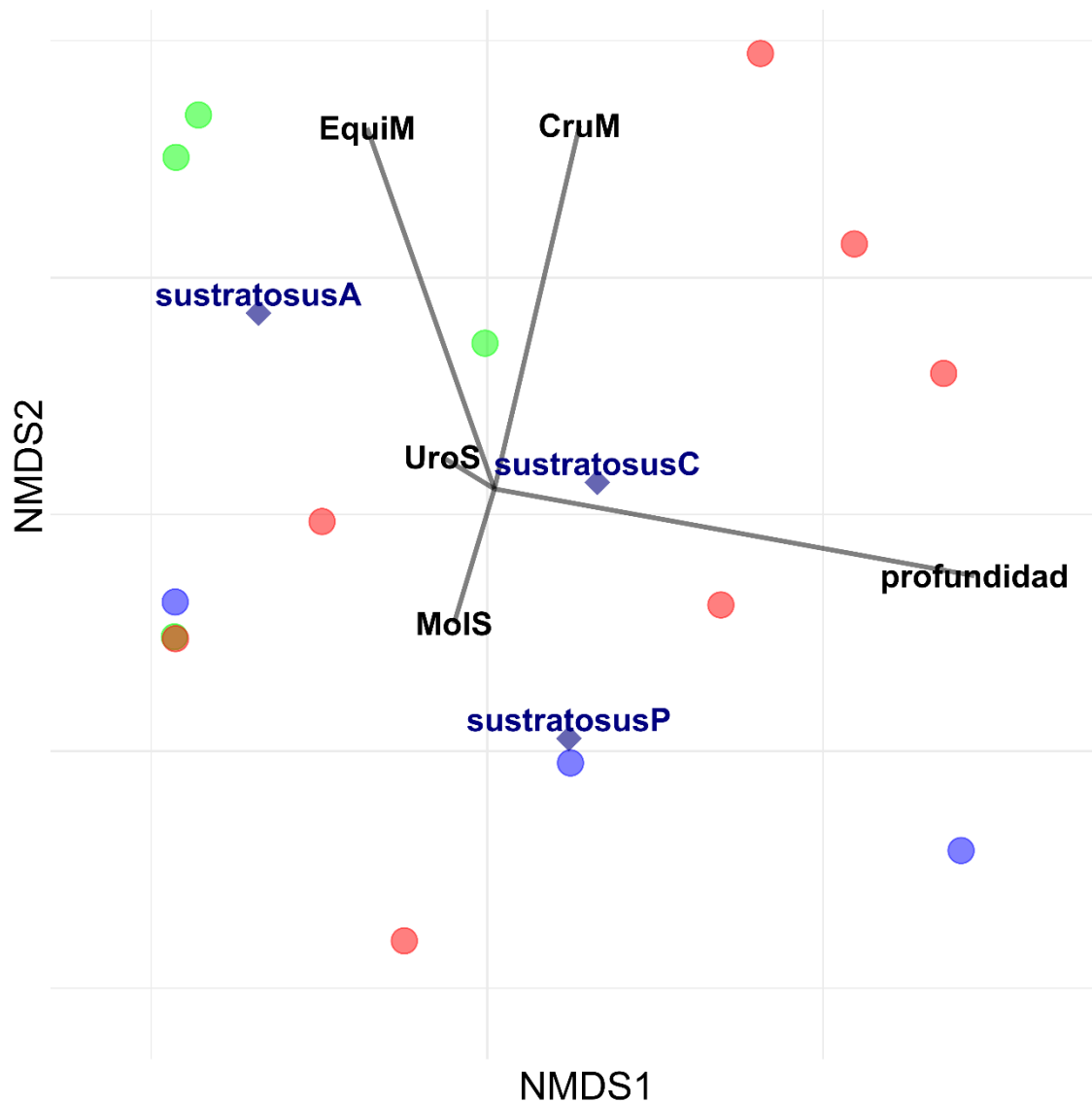


Figura 1.7. Análisis de ordenamiento bidimensional nMDS que muestra a las estaciones de muestreo diferenciadas por color según el tipo de sustrato (círculos) asociadas a las variables ambientales continuas (profundidad e invertebrados; en negro) y categóricas (tipos de sustrato; rombo azul). Los círculos verde= sustrato algas; rojo= sustrato concherío; azul= sustrato poliquetos. El círculo naranja corresponde a E1 y E24 que están superpuestas. El valor del centroide (ilustrado en forma de rombo) para todas las muestras que pertenecen a una determinada categoría (los tipos de sustrato) se traza mediante las coordenadas del factor, lo que permite ver qué tan bien se agrupan (o no) las muestras de categorías específicas. Molusco sésil (MoIS); Equinodermo móvil (EquiM); Crustáceo móvil (CruM) y Urocordado sésil (UroS). Sustrato A= algas; C= concherío; P= poliquetos.

Con respecto a los análisis de GLM, los modelos que relacionaron las especies de peces con variables ambientales (Tabla 1.3) mostraron que *H. cunninghami*, se relaciona negativamente con la profundidad, es decir, que se distribuiría mayormente a bajas profundidades (explicando el 47%).

Para el caso de *R. eigenmanni*, el modelo elegido fue aquel que contenía al sustrato, la profundidad y los grupos de invertebrados, explicando el 83,6%. La abundancia de *R. eigenmanni* aumentó en presencia de sustratos dominados por algas, lo que coincide también con el análisis de NMDS pero además aumentó con la profundidad, contrario a lo observado con el análisis de nMDS. Además se encontró un aumento de su abundancia relacionado a los moluscos y ascidias sésiles, equinodermos y crustáceos móviles. En este sentido, excepto por el aumento de su abundancia en presencia de equinodermos y fondos con algas, los resultados del análisis de GLM contrastan con lo observado en el análisis de nMDS.

Para *T. argentina*, por presentar un valor Δ AIC Nulo tan pequeño, no habría efecto de ninguna de las variables explicatorias, siendo el modelo seleccionado para esta especie el de menor porcentaje explicado (11.5%).

En el caso de *A. asperoculis* y *C. peruvianus* (con un 41% y 50% explicado por el modelo, respectivamente) sus abundancias se relacionaron positivamente con la profundidad, crustáceos y equinodermos móviles.

Por último, la abundancia de *D. Auriga* sería mayor con la profundidad y en presencia de moluscos sésiles y crustáceos móviles, pero disminuiría con ascidias sésiles, siendo este modelo explicado por el 41%.

Tabla 1.3. Modelos seleccionados de GLM. Especies de peces vs. Variables ambientales.

Especies	Modelo Min seleccionado	Δ AIC Completo	Δ AIC Nulo	% Explicado
<i>Helcogrammoides cunninghami</i>	Profundidad (-0,029 ± 0,008)	7,5	8,7	47
<i>Ribeiroclinus eigenmanni</i>	SusA (0,17 ± 0,19)	0	14,8	83.6
	SusC (-0,92 ± 0,19)			
	SusP (-0,75 ± 0,16)			
	SusPM (-0,9 ± 0,2)			
	Profundidad (0,009 ± 0,004)			
	MolS (0,011 ± 0,004)			
	EquiM (0,0099 ± 0,0039)			
	CruM (0,003 ± 0,001)			
UroS (0,014 ± 0,005)				
<i>Triathalassothia argentina</i>	CruM (0,0011 ± 0,0008)	7,4	0,08	11,5
<i>Agonopsis asperoculis</i>	Profundidad (0,017 ± 0,007)	5,7	2,95	41
	EquiM (0,02 ± 0,01)			
	CruM (0,006 ± 0,003)			
<i>Congiopodus peruvianus</i>	Profundidad (0,005 ± 0,002)	7,1	5,7	50
	EquiM (0,004 ± 0,003)			
	CruM (0,0013 ± 0,0008)			
<i>Dules auriga</i>	Profundidad (0,0014 ± 0,0009)	5,7	0,95	41
	MolS (0,002 ± 0,001)			
	CruM (0,0007 ± 0,0005)			
	UroS (-0,0024 ± 0,0019)			

* En verde relaciones positivas y en rojo relaciones negativas entre las variables
(Estimado ± Error estándar)

En cuanto a la distribución de las abundancias de los peces e invertebrados en los distintos dominios del golfo, se observó una mayor abundancia de invertebrados en el dominio oeste del golfo, mientras que en el caso de los peces no hubo diferencias entre dominios (Figura 1.8a y b). La abundancia promedio corregida por el tiempo de arrastre del dominio oeste fue de 5,8 ind/min (invertebrados= 14,1 y peces= 0,2 ind/min) y para el dominio este fue de 4,6 ind/min (invertebrados= 11,3 y peces= 0,2 ind/min).

En general, las mayores abundancias tanto para *H. cunninghami* como para *R. eigenmanni* se encontraron en las zonas costeras al norte y sur del golfo. A su vez, la profundidad media en dichas estaciones fue la menor, lo que coincide con los resultados obtenidos en los análisis nMDS en donde se ve una relación negativa entre estas

especies y la profundidad. El resto de las especies de peces se distribuyeron principalmente hacia el centro del golfo, donde se realizaron los muestreos de mayor profundidad. Comparando la Figura 1.8a y b, la distribución de *C. peruvianus*, se concentró únicamente en tres estaciones del centro-oeste del golfo, en donde a su vez, las abundancias de moluscos sésiles fueron mínimas. Esto también se vio reflejado en los resultados del nMDS, en donde se encontró una asociación negativa entre ambos. La especie *A. asperoculis* se encuentra en mayor abundancia en estaciones dominadas principalmente por crustáceos móviles. En el caso de *D. auriga*, se distribuyó en estaciones en donde predominaba la abundancia de crustáceos, lo que se ve reflejado también en el análisis de GLM pero no en el ordenamiento de nMDS.

En el caso particular de los invertebrados (Figura 1.8b), las mayores abundancias de crustáceos y equinodermos móviles (34,8 y 10,4 ind/min, respectivamente) fueron dominantes en el DO. Particularmente, ambos se concentraron mayormente en las estaciones 7 y 8 cercanas a Punta Logaritmo, y también al norte del golfo (E10) en el caso de los equinodermos. Los crustáceos, las ascidias y los moluscos sésiles predominaron principalmente en el DE del golfo (23,6, 10,8 y 9 ind/min, respectivamente) en las estaciones costeras con las menores profundidades, mientras que la abundancia de equinodermos fue la menor para este dominio respecto de los demás grupos de invertebrados (1,6 ind/min), encontrándose únicamente presentes en las estaciones 15 y 20 al nordeste del golfo. Sin embargo, los moluscos sésiles se encontraron relativamente en cantidades similares en ambos golfos (oeste= 7,6 y este= 9 ind/min).

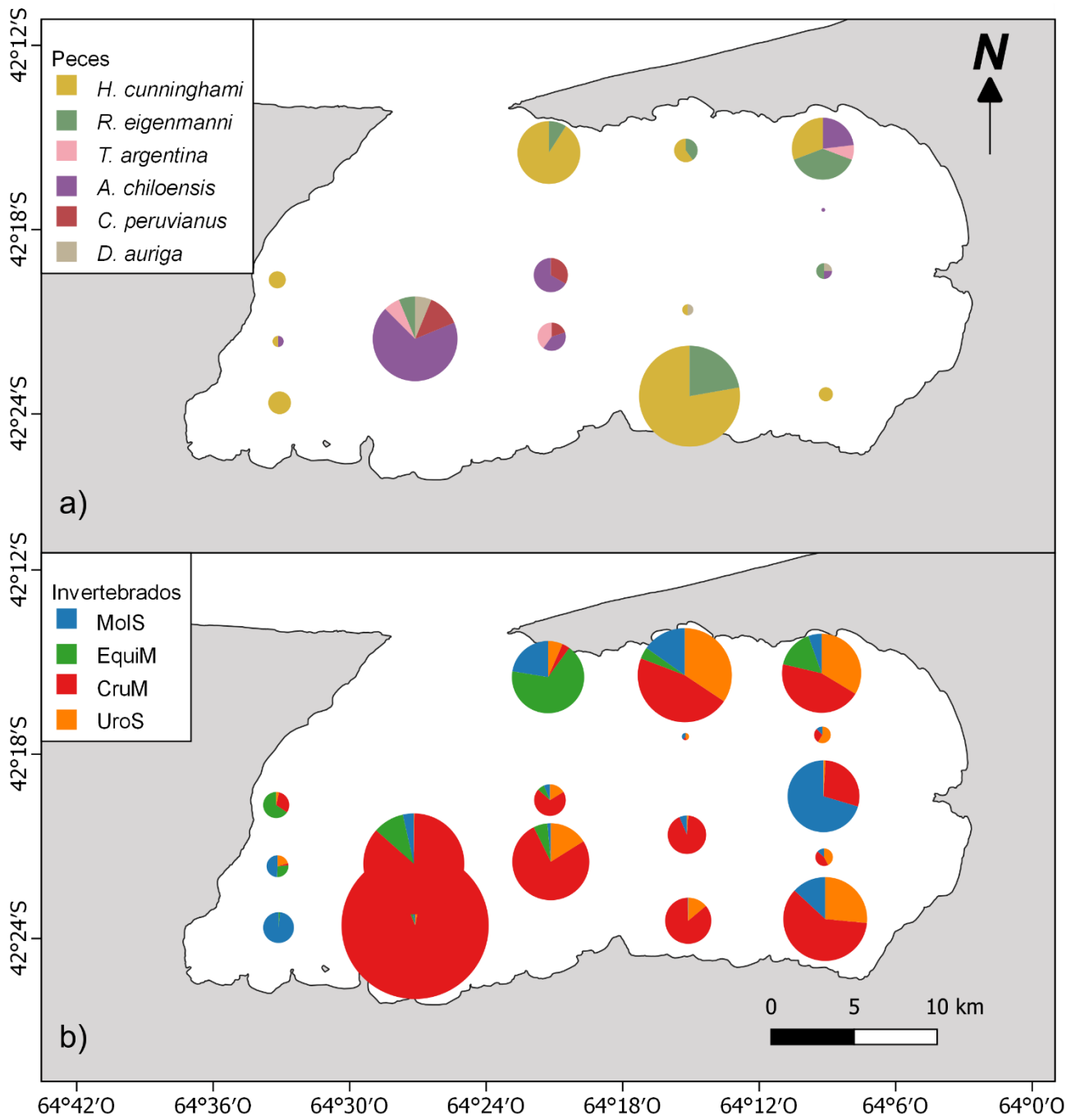


Figura 1.8. Gráficos de torta representando abundancia y proporción de peces (a) e invertebrados (b).

1.3.2 Efecto del ambiente sobre los índices comunitarios del ensamble de peces pequeños de los submareales del Golfo San José.

Para el análisis entre los índices comunitarios y variables ambientales (Tabla 1.4), la biomasa de los peces aumentó con la profundidad y los crustáceos móviles y se obtuvieron relaciones negativas para todos los tipos de sustrato, explicando este modelo un 50,1% de los datos. En general, tanto la profundidad como los crustáceos móviles fueron las variables de mayor relevancia en todos los modelos. El índice de abundancia, con un 51,5% explicado por el modelo, aumentó con la profundidad, los crustáceos móviles y con el sustrato de algas, y disminuyó con el resto de los sustratos (concherío, poliquetos y ascidias). En cuanto a la diversidad, el índice de Simpson aumentó con la profundidad y crustáceos móviles, explicando el 30% de los datos, y el índice de Shannon, explicado por el 61,7% de los datos, aumentó con la profundidad, crustáceos móviles, moluscos y ascidias sésiles, pero no lo hizo para ningún tipo de sustrato. Solo para el caso de la riqueza, ninguna de las variables fue significativa para el mejor modelo, es decir que no habría un efecto de ninguna de las variables consideradas, por lo que tanto la composición y estructura del ensamble cambian, pero no así el número de especies que lo componen.

Tabla 1.4. Modelos seleccionados de GLM. Índices de biomasa, abundancia, diversidad y riqueza de las especies de peces vs. Variables ambientales.

Variabes	Modelo Min seleccionado	Δ AIC Completo	Δ AIC Nulo	% Explicado
Biomasa	SusA (-2 ± 2,6)	3,3	1,8	50,1
	SusC (-6,7 ± 3,3)			
	SusP (-5,4 ± 2,9)			
	SusPM (-10,9 ± 4,8)			
	Profundidad (0,19 ± 0,07)			
	CruM (0,06 ± 0,03)			
Abundancia	SusA (1,3 ± 0,7)	4,6	2,3	51,5
	SusC (-2,36 ± 0,86)			
	SusP (-1,97 ± 0,77)			
	SusPM (-3,05 ± 1,26)			
	Profundidad (0,025 ± 0,019)			
	CruM (0,011 ± 0,009)			
Diversidad Simpson	Profundidad (0,008 ± 0,004)	7,13	2	30
	CruM (0,003 ± 0,002)			
Diversidad Shannon	SusA (-0,6 ± 0,4)	1,94	2,29	61,7
	SusC (-1,11 ± 0,43)			
	SusP (-1,57 ± 0,56)			
	SusPM (-3,05 ± 1,26)			
	Profundidad (0,03 ± 0,01)			
	MolS (0,02 ± 0,01)			
	CruM (0,007 ± 0,004)			
UroS (0,02 ± 0,01)				
Riqueza	Intercepto (0,6 ± 0,2)	3,24	1,07	0

Un aspecto a tener en cuenta es que las curvas de rarefacción y extrapolación revelaron que los muestreos son representativos para los sustratos de algas y concherío en el área de estudio, pero para el sustrato de poliquetos resultó no ser representativo dado que no se alcanzó la asíntota, lo que indica que el esfuerzo de muestreo en el número de individuos colectado en dicho sustrato fue insuficiente.

Las curvas de rarefacción (Figura 1.9) para la diversidad de Shannon mostraron una superposición en las bandas de confianza entre los sustratos de algas y poliquetos, por lo que no hay diferencias de diversidad entre ambos sustratos, pero si hay diferencias significativas entre estos dos y el sustrato de concherío. Estas diferencias entre los tipos de sustrato no se vieron reflejadas en el análisis de GLM, en donde todos los sustratos

se relacionaron de igual manera con la diversidad, disminuyendo su valor. En cambio, con respecto a la diversidad de Simpson, hubo una superposición entre los tres tipos de sustrato, por lo que no habría diferencias entre ellos. Esto coincide con el análisis de GLM, en donde la variable sustrato no obtuvo ninguna relevancia para el modelo. Similar a la diversidad de Shannon, con respecto a la riqueza se pueden ver diferencias entre el sustrato de algas y poliquetos con el de concherío, aunque en este caso las diferencias con el de concherío no fueron tan marcadas.

En general, los resultados de las curvas mostraron diferencias en la riqueza y diversidad entre algas e invertebrados formadores de hábitat blandos (poliquetos) y los formadores de hábitat duros (concherío).

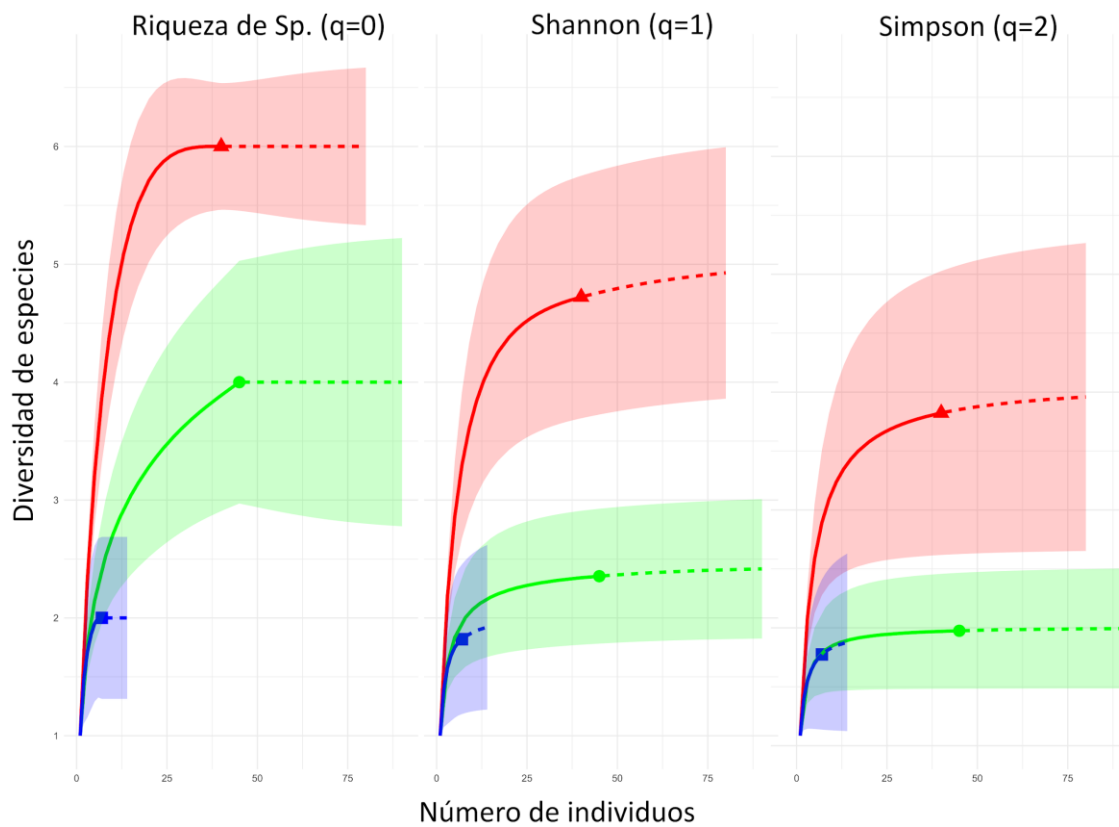


Figura 1.9. Curvas de rarefacción (línea continua) y extrapolación (línea punteada) basadas en el tamaño de la muestra. Números de Hill (q), donde Riqueza de especies ($q=0$); Diversidad de Shannon ($q=1$); Diversidad de Simpson ($q=2$). Sustrato algas (verde); Sustrato concherío (rojo); Sustrato poliquetos (azul).

1.4 Discusión

1.4.1 Efecto del ambiente sobre la abundancia de las especies que componen el ensamble de peces pequeños de los submareales del Golfo San José.

La variable ambiental más importante en la determinación de la abundancia del ensamble de especies fue la profundidad. A su vez, el tipo de sustrato no fue una variable relevante en la abundancia del ensamble. Sin embargo, la profundidad, junto a los crustáceos y equinodermos fueron las variables que en más ocasiones resultaron relevantes para la mayoría de las especies, cuando se analizó a las especies de manera individual. En general, se registraron 6 especies pertenecientes todas a familias diferentes: Tripterygiidae, Clinidae, Batrachoididae, Agonidae, Congiopodidae y Serranidae. Las especies numéricamente dominantes y más comunes fueron *H. cunninghami*, *A. asperoculis* y *R. eigenmanni*.

En un estudio en la costa Mediterránea, La Mesa et al. (2006) registraron especies criptobentónicas pertenecientes a Blenniidae, Gobiidae, Tripterygiidae, Scorpaenidae y Gobiesocidae, de las cuales tres especies de la familia Tripterygiidae fueron las especies numéricamente más comunes y dominantes. Este resultado coincide con la mayor abundancia de Tripterygiidae en relación al resto de las especies que conformaron el ensamble.

Numerosos estudios sobre los efectos de las variables ambientales en la estructura de las comunidades de peces de arrecifes rocosos submareales se han llevado a cabo con el fin de obtener una mejor comprensión del uso diferencial del hábitat en los ensambles de peces. Varias investigaciones han demostrado la importancia de la profundidad (Genzano et al. 2011, Merlo et al. 2023), las algas (Griffiths et al. 2006, Pérez-Matus 2006, 2007) y la complejidad de la topografía (García-Charton and Pérez-Rufaza 2001, Galván 2008) en la estructuración de las comunidades de peces residentes. Sin embargo, pocos estudios se han realizado específicamente para ensambles de peces criptobentónicos en áreas templadas. Por ejemplo, Prochazka (1998) estudió un

ensamble dominado por especies de las familias Clinidae, Tripterygiidae, Gobiesocidae, Bythitidae, Cheilodactylidae y Ariidae en Sudáfrica, para los cuales la cantidad de cobertura de algas presente era el factor más importante que influía en la estructura de la comunidad. A su vez, la abundancia de algas está relacionada con la profundidad, siendo estas especies componentes de las comunidades de aguas poco profundas (<20 metros). Similares resultados fueron encontrados por Pérez-Matus et al. (2016) en la costa de Chile para el tripterígido *H. cunninghami*, en donde exhibió una fuerte preferencia por hábitats de algas foliáceas e incrustantes, evitando el sustrato desnudo, teniendo en cuenta además que las algas proporcionan un hábitat para sus especies presa (Pérez-Matus et al. 2016). En este trabajo, *H. cunninghami*, se encontró principalmente asociada a sitios poco profundos, predominando en fondos dominados por algas, sin embargo también se lo encontró asociado a otros fondos blandos dominados por organismos sésiles de poliquetos y ascidias y en fondos duros dominados por concherío, por lo que encontraría ampliamente distribuido en diferentes tipos de sustrato. En cambio, *R. eigenmanni*, aunque también abundante en bajas profundidades sí se mostró fuertemente asociada a fondos dominados por algas y equinodermos, en tanto que el tipo de sustrato fue una variable determinante en su abundancia.

Las algas por su parte, albergan crustáceos anfípodos, siendo estos representantes de una de las presas más importantes de *H. cunninghami* y *R. eigenmanni*, lo que es consistente con lo observado en el Capítulo 2, y dado que a mayor profundidad la abundancia de algas disminuye, también lo hace la abundancia de anfípodos, por lo que no sorprende su amplia distribución en zonas someras. Por otra parte, las algas además sustentan otro tipo de invertebrados que se alimentan de ellas como los equinodermos. En el trabajo de Gratwicke y Speight (2005) en un ensamble de peces del Caribe, se encontró que los hábitats complejos o los animales como el erizo *D. antillarum* brindan refugio a los peces y que son esenciales para mantener la biodiversidad de peces a escala local. Por lo tanto, los equinodermos no solo ofrecen una fuente de alimentación para las especies (ver Capítulo 2) sino que también proveen refugio a estas pequeñas especies criptobentónicas.

En el planteo introductorio de este trabajo se esperaba encontrar similar abundancia de peces e invertebrados en ambos dominios del golfo, dado que los muestreos fueron realizados durante la temporada de invierno (junio-julio) cuando aún no se encuentra formado el frente térmico y de turbidez entre los dominios y la comunidad mezooplanctónica se distribuye de manera homogénea entre ambos dominios. En general, la abundancia de los peces se mantuvo similar en ambos dominios y la de los invertebrados fue levemente superior en el dominio oeste. Los crustáceos fueron el grupo de mayor dominancia en todo el golfo, sin embargo fueron superior en el dominio oeste. Este resultado coincide con lo encontrado en Hernández-Moresino et al. (2014), en donde la comunidad de mesozooplankton del GSJ estuvo dominada por branquiópodos, copépodos, decápodos y quetognatos.

1.4.2 Efecto del ambiente sobre los índices comunitarios del ensamble de peces pequeños de los submareales del Golfo San José.

Se encontró que la biomasa, la diversidad y la abundancia total del ensamble aumentan con la profundidad y la abundancia de crustáceos. En cambio, el número de especies no varió en función de las características ambientales aquí estudiadas. La abundancia aumenta además con sustratos cubiertos de algas por lo que los peces bentónicos pequeños pueden beneficiarse de la vegetación en términos de recursos alimentarios y oportunidades de refugio (Palma y Ojeda 2002). En concordancia con la literatura (La Mesa et al. 2006, Galván et al. 2009a, Pérez-Matus et al. 2016), *C. peruvianus* prefirió el estrato más profundo, mientras que *T. argentina*, *H. cunninghami* y *R. eigenmanni* se asociaron principalmente con el rango de profundidad intermedia y baja, probablemente sugiriendo un cierto nivel de partición del espacio.

Los otros tipos de sustrato (ascidias y moluscos sésiles y poliquetos) fueron los de menor relevancia en determinar la estructura del ensamble. En este trabajo se esperaba que los invertebrados sésiles formadores de hábitat blandos (ascidias y poliquetos) y duros (moluscos) fueran variables relevantes en modificar la composición y diversidad del ensamble, sin embargo esto solo sucedió entre fondos con y sin cobertura algal. Por otro

lado, cabe destacar que debido al diseño ligeramente desbalanceado en cuanto al número de estaciones representadas por un determinado sustrato, los patrones de riqueza y diversidad en relación a los diferentes sustratos fueron analizados mediante un análisis combinado de técnicas de rarefacción y extrapolación basadas en números de Hill. Las curvas mostraron que el sustrato de poliquetos no alcanzó a ser representativo durante el muestreo. Por otro lado, en la única estación descrita con sustrato dominado por ascidias sésiles los peces estuvieron ausentes. Sin embargo, la diversidad de Shannon además de aumentar en profundidad y con crustáceos móviles, aumentó en presencia de ascidias y moluscos sésiles, ya que como se dijo anteriormente los sustratos dominados por ascidias y concherío no se correlacionaron con la abundancia absoluta de ascidias y moluscos sésiles. Resultados similares se encontraron en un estudio en la costa Mediterránea, La Mesa et al. (2006), en general el tipo de fondo no fue una variable significativa sobre la riqueza, diversidad y uniformidad de las especies, la elección del hábitat de las especies investigadas se basó casi por completo en si el sustrato estaba compuesto de vegetación o de roca desnuda.

Los resultados actuales brindan una nueva perspectiva sobre el ensamble de peces criptobentónicos del golfo norpatagónico GSI, y las preferencias de hábitat de algunas especies, lo que brinda un punto de partida útil para futuras investigaciones. Aún, el patrón de dominancia de las diferentes especies es difícilmente predecible, debido a la variedad de factores bióticos y abióticos que regulan la estructura de estos ensambles de peces.

Capítulo 2: Descripción de la dieta y superposición trófica de las especies más conspicuas del ensamble de peces pequeños de los submareales rocosos Norpatagónicos

2.1 Introducción

El estudio de las relaciones tróficas entre los peces pequeños que componen el ensamble de los submareales rocosos es necesario para comprender los mecanismos subyacentes responsables de su organización y estructuración así como también el rol de este grupo en los ecosistemas costeros. Hasta el momento, el conocimiento sobre diversos aspectos de la ecología trófica, como la dieta, la amplitud de nicho y grado de solapamiento y posiciones en la cadena trófica para estos peces en ambientes templados de Patagonia es escaso. Algunos estudios de dieta y solapamiento trófico fueron realizados para el ensamble de peces de los intermareales rocosos en el centro de Chile (Muñoz y Ojeda 1997, Aldana et al. 2002, Palma y Ojeda 2002, Boyle y Horn 2006, Pérez-Matus et al. 2016, Winkler et al. 2017), pero para aquellos que habitan la norpatagonia de la costa Atlántica aún no ha sido estudiado. En estos trabajos se describió una dieta carnívora para dos especies de tripterygidos y una de clínidos, alimentándose principalmente de anfípodos y en menor medida de cangrejos, gasterópodos y poliquetos. Muñoz y Ojeda (1997) sugieren que las especies que se superponen mucho en el uso de los recursos alimentarios ocupan diferentes microhábitats, y muestran partición del nicho si los recursos son limitantes. En otro trabajo sobre un ensamble de peces de intermareales rocosos se encontró que la especialización de las especies en diferentes recursos alimenticios, permitía la coexistencia de las especies ante la limitación en el recurso alimentario (Carbia et al. 2020, Grossman 1986, Velasco et al. 2010). Para dos especies de peces de los intermareales rocosos en el norte y centro de Chile, Aldana et al. (2002) mostraron que las especies variaban su dieta de acuerdo a las variaciones en la disponibilidad de alimentos en el ambiente, evidenciando una dieta oportunista de ambas especies con variaciones espaciales en su composición. Sin embargo, Castellanos-Galindo y Giraldo (2008) sugieren que puede haber una partición del nicho trófico cuando el recurso en la

zona intermareal es abundante, en lugar de ser una consecuencia de la competencia interespecífica. Por ello, la partición de los recursos en los ensamblajes de peces se puede manifestar de varias maneras, incluido el consumo diferencial del tipo y/o tamaño de presas y la partición del hábitat, tanto a nivel temporal como espacial (Carbia et al. 2020, Galván et al. 2009b).

Actualmente, existen una gran variedad de métodos directos e indirectos para estudiar la composición dietaria de un organismo (Majdi et al. 2018, Nielsen et al. 2018). La observación directa del contenido gastrointestinal (CGi) es una técnica tradicional para identificar la composición de la dieta; pero no se recomienda que se utilice como única fuente de información. La digestibilidad de las presas puede afectar la detectabilidad e introducir sesgos hacia ciertos grupos de organismos con estructuras duras en las inspecciones visuales (Hyslop., 1980). Además, las identificaciones dependen fuertemente de las habilidades taxonómicas de los investigadores que se involucren en el reconocimiento de las presas (Buckland et al. 2017, Majdi et al. 2018). Sin embargo, la observación directa provee información indispensable de primera mano, permite cuantificar el material ingerido y, en algunos casos, distinguir depredación primaria de secundaria (Amundsen y Sánchez-Hernández 2019, Arnett and Whelan 2001, Hyslop 1980).

Además de los métodos directos, otras técnicas muy usadas y robustas para la descripción de la dieta de un organismo son los indicadores indirectos. El análisis de isótopos estables (SIA por sus siglas en inglés) es una herramienta muy poderosa y cada vez más utilizada para abordar estudios de las relaciones tróficas entre animales (Boecklen et al. 2011) y para determinar posiciones en la cadena trófica (Galván et al. 2010), siendo la proporción de los isótopos estables del N utilizada para estimar el nivel trófico de un consumidor mientras que la del C para conocer el origen de la materia orgánica consumida (Post 2002). Los métodos directos e indirectos son aproximaciones complementarias ya que los primeros permiten identificar las presas que son ingeridas y los últimos proveen información sobre qué presas son asimiladas.

Se abordó el estudio de la dieta de las especies de peces pequeños capturadas en los submareales someros rocosos norpatagónicos. Las especies consideradas son: el

diablillo *Helcogrammoides cunninghami*, el clínido *Ribeiroclinus eigenmanni*, las nototénias *Patagonotothen sima* y *P. cornucola*.

En este contexto, el objetivo principal de este capítulo es analizar la dieta y caracterizar el nicho trófico de las especies de peces que componen el ensamble. La primera hipótesis es que las especies que componen el ensamble de peces pequeños son especialistas tróficos que presentan diferencias en el uso de los recursos alimentarios que consumen y que por lo tanto, presentarían bajo solapamiento trófico en términos de ítems presa y nicho isotópico. Por otro lado, dado que son especies de tallas similares y que comparten el ambiente bentónico, la segunda hipótesis es que se encuentran dentro de un mismo NT con dietas similares, constituyendo así un mismo gremio trófico.

2.2 Materiales y Métodos

2.2.1 Muestreo

Los peces se colectaron en el Golfo Nuevo (GN) en tres localidades: Bahía Nueva, Punta Cuevas, Playa Kaiser y Golfo San José (GSJ) en la localidad de Playa Larralde (Figura 2.1). El muestreo se realizó en 2016 (verano), 2017 (verano e invierno) y 2018 (invierno). Los peces se recolectaron con una rastra de boca pequeña (abertura horizontal de 0,6 m, apertura vertical de 0.4 m, tamaño de malla de 1 cm y 1,5m de largo de red; Figura 1.2) a profundidades entre 5 y 8 m. Se mantuvieron en conservadora con hielo durante el muestreo y al llegar al laboratorio, los peces fueron congelados inmediatamente a -20°C para preservarlos. Para la inspección visual del contenido gastrointestinal (CGi) se analizaron cuatro especies: diablillo *Helcogrammoides cunninghami* n= 87, clínido *Ribeiroclinus eigenmanni* n= 49, nototenia cornucola *Patagonotothen cornucola* n=7 y nototenia sima *P. sima* n= 6 (Tabla 2.1). Los individuos se midieron y sexaron mediante la inspección de gónadas. Los individuos destinados a la inspección visual fueron diseccionados y su (CGi) conservado en alcohol 70%. Para el análisis de SIA se utilizaron individuos de diablillo y clínido del GN muestreados en invierno del 2018 y se adicionaron parte de las muestras de verano colectadas en 2019 utilizadas para los análisis del Capítulo 3. Se tomaron muestras de músculo de 20 diablillos y 20 clínicos. El músculo de los peces fue extraído y congelado a -20°C. Además, cinco individuos del mejillón *Mytilus edulis* y cinco individuos del caracol herbívoro *Tegula patagonica* fueron

colectados para establecer la línea de base isotópica. Esto se realizó asumiendo que ambos, el mejillón y el caracol, son consumidores primarios que se alimentan respectivamente de micro- y macroalgas. El mejillón es un organismo filtrador que se alimenta de la materia orgánica particulada que cae de la columna de agua, mientras que el caracol es un organismo raspador que se alimenta de biofilm además de las algas. Seleccionamos dos consumidores primarios como línea de base ya que este tipo de consumidores integran bien las variaciones ambientales en los valores isotópicos y sus tejidos tienen valores de recambio más largos que los productores primarios, macroalgas y fitoplancton (Layman et al. 2012). Debido a estas dos razones, los moluscos se convierten en la opción más adecuada para distinguir firmas isotópicas de distintos orígenes, bentónicas y pelágicas, en los ecosistemas acuáticos (Post 2002).

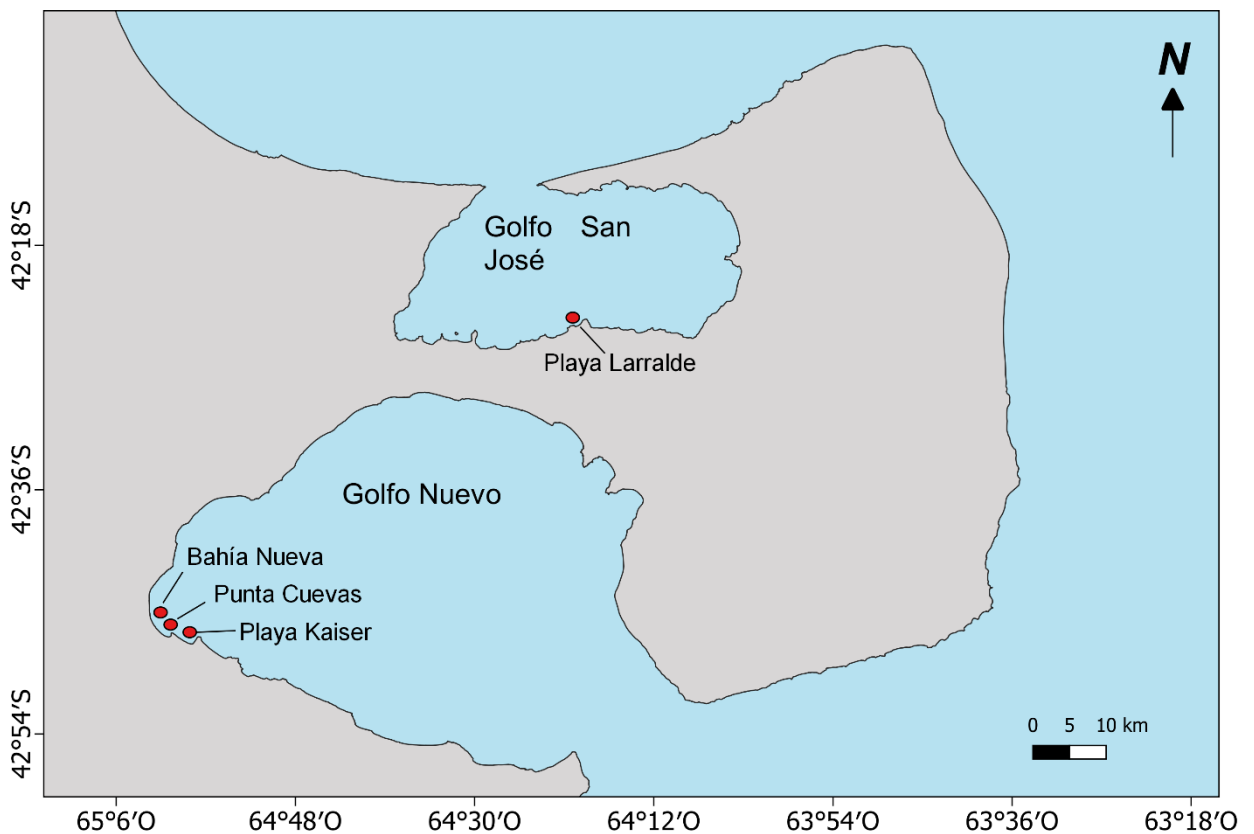


Figura 2.1. Sitios de muestreo dentro del Golfo Nuevo y San José

Tabla 2.1. Rango de tallas de las especies y número de contenidos gastrintestinales (CGi) analizados por inspección visual en cada golfo (Golfo Nuevo o San José) y temporada (Invierno o Verano).

Especie	Diablillo	Clínido	Cornucola	Sima
Contenido gastrointestinal (CGi)				
CGi	82	35	6	6
Vacío	1	2		
Digerido	4	12	1	
<i>n Total</i>	87	49	7	6
Rango de Talla (mm)	25 - 66	27 - 69	46 - 67	32 - 117
Golfo				
GN	30	33	6	6
GSJ	52	2		
Temporada				
Invierno	67	22		
Verano	15	13	6	6

2.2.2 Inspección visual del contenido gastrointestinal

La inspección visual del CGi se realizó usando una lupa binocular marca Zeiss Stemi modelo 2000c. Los ítems presa se fotografiaron con una cámara digital Canon Powershot G12 montada en el microscopio. La identificación de las presas se realizó a la mayor resolución taxonómica posible siguiendo claves y catálogos de la fauna local (Fauchald 1977, Boschi y Cousseau 2004 y Schwindt et al. 2018), consultando a expertos y comparando con material fresco. Se registró la presencia de los ítems presa en cada CGi y se calculó la frecuencia de ocurrencia (FO%) por ítem presa como el porcentaje de CGi no vacíos ni con avanzado estado de digestión, donde dicho ítem fue registrado. Dadas las limitaciones más arriba mencionadas en cuanto a la identificación de las presas debido a los procesos de digestión, el cálculo de FO% es la manera más precisa de interpretar los datos ya que los valores representan únicamente la proporción de individuos que contienen un cierto tipo de presa identificado positivamente. Además, el FO% provee información insesgada para los ítems presa inusuales, algo que si influye en otro tipo de medidas como los de volumen o peso (Baker et al. 2013). Para los análisis estadísticos se agruparon los ítem presa por grupos grandes a nivel de Clase (GG): Polychaeta (Pch), Copepoda (Cop), Malacostraca (Mal), Ostracoda (Ost), Echinoidea

(Ech), Ophiuroidea (Oph), Foraminifera (For), Bivalvia (Biv), Gastropoda (Gas), Polyplacophora (Pph), Actinopterygii (Act), Ascidiacea (Asc). También se agruparon de manera más detallada a nivel de Orden para las Clases Malacostraca y Gastropoda (GD): Polychaeta (Pch), Copepoda (Cop), Amphipoda (AMP), Cumacea (CUM), Decapoda (DEC), Isopoda (ISO), Leptostraca (LEP), Tanaidacea (TAN), Ostracoda (Ost), Echinoidea (Ech), Ophiuroidea (Oph), Foraminifera (For), Bivalvia (Biv), Caenogastropoda (CAE), Littorinimorpha (LIT), Lepetellida (LEP), Heterobranchia (HET), Neogastropoda (NEO), Trochida (TRO), Gastropoda indeterminados (GIN), Polyplacophora (Pph), Actinopterygii (Act), Ascidiacea (Asc).

Se utilizó una aproximación no-paramétrica (bootstrap) para estimar los intervalos de confianza de las FOs, usando el paquete de R “boot” (Canty y Ripley 2021). Los procedimientos de bootstrap son una aproximación útil para estimar la incertidumbre en las métricas que se usan habitualmente en estudios de ecología trófica (Tirasin y Jørgensen 1999). Este procedimiento consiste en muestrear con reemplazo la matriz original de datos y generar un nuevo conjunto de matrices simuladas. La matriz original posee los CGI de los peces en las filas y cada ítem presa está representado en una columna con 0 y 1 (ausencia o presencia). Las matrices simuladas se generaron eligiendo al azar filas de la matriz original. Este procedimiento se repitió hasta que cada matriz simulada alcanzó el mismo número de filas que la matriz original (el mismo n). Cada CGI de pez pudo ser elegido más de una vez por la misma matriz ya que el procedimiento se hizo con reemplazo. De esta manera, se simularon 100 matrices nuevas y se calcularon las FO para cada ítem presa (Canty y Ripley 2021). Este procedimiento se basó en la suposición de que la frecuencia de distribución de las FO simuladas es insesgada y que describe completamente la función de distribución del parámetro de interés (Efron y Tibshirani 1993, Mooney y Duval 1993).

2.2.3 Análisis estadísticos de la descripción de la dieta

Para evaluar si el tamaño muestral fue suficiente para obtener una descripción representativa de la dieta, se construyeron las curvas de diversidad trófica utilizando el método de cuadrantes para el conjunto de datos de la inspección visual. Se calculó la diversidad trófica con el índice de Brillouin (Hz) y se consideraron asintóticas las curvas

de diversidad si los dos valores previos ($n-1$ y $n-2$) se encontraban en el rango $H_z \pm 0,05$ para la clasificación de los agrupamientos de GG, GD y para las temporadas de invierno y verano (Pielou 1966, Koen Alonso et al. 2002).

Se realizó un análisis multivariado basado en distancias Welch t-test (Wd*-test) con los datos de la inspección visual para evaluar diferencias de la dieta entre las especies y entre las temporadas de invierno y verano de cada especie. La prueba de Welch es una alternativa robusta al PERMANOVA cuando existe heterocedasticidad o los datos se encuentran desbalanceados (Alekseyenko 2016, Hamidi et al. 2019). La prueba se realizó utilizando una matriz de similitud de Bray- Curtis implementada en “*vegan*” (Oksanen et al. 2022) y el paquete del software R “*MicEco*” (Russel 2022).

Para evaluar si existe un efecto del tamaño del cuerpo en la composición de la dieta del clínido y diablillo, se representó la distribución de tallas de las temporadas de invierno y verano para los peces utilizados en la descripción visual del contenido gastrointestinal y para aquellos utilizados en los análisis de isótopos estables. Los gráficos fueron construidos mediante el paquete “*ggplot*” (Wickham, 2016).

2.2.4 *Análisis de isótopos estables*

Las muestras para SIA se extrajeron del músculo dorsal blanco en los peces congelados y se mantuvieron congeladas durante todo el proceso de extracción. Las muestras de *M. edulis* y *T. patagonica* se obtuvieron de los músculos retractores del pie para *M. edulis* y *T. patagonica* y del músculo aductor de *M. edulis*. El tejido muscular se mantuvo congelado durante todo el proceso de extracción. Luego de la extracción de músculo, todas las muestras fueron secadas por 48 horas a 60 °C, molidas y enviadas al Centro de Isótopos Estables de la Universidad de Nuevo México (EEUU). Se enviaron en promedio 0.95 µg por muestra para determinación de carbono y nitrógeno. Los estándares internos del laboratorio fueron grama azul, castaña de indias, IAEA 1N, cacao en polvo, caseína, músculo de atún, grafito, suero de leche, proteína elemental, y serina. La desviación estándar (DS) de los materiales de referencia fue 0.05‰ para $\delta^{13}C$ y 0.07‰ para $\delta^{15}N$. Para evitar fuentes de variación no controladas se concentraron todos los análisis de isótopos en un solo golfo. En total se enviaron 44 muestras pertenecientes al GN, 22 correspondientes al diablillo (10 invierno, 10 verano y 2 duplicados), 22

correspondientes al clínido (10 invierno, 10 verano y 2 duplicados), 5 correspondientes a *M. edulis* y 5 correspondientes a *T. patagonica*. El error estimado a partir de los duplicados fue de 0.06‰ para los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y 0.09‰ para los valores de $\delta^{15}\text{N}$. El nivel trófico (NT) de las especies de peces fue estimado utilizando la aproximación bayesiana propuesta por Quezada-Romegialli et al. (2019) a partir de las dos líneas de base y considerando los isótopos estables de ambos elementos, $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$. Los factores de discriminación trófica (FDT) usados para las estimaciones de NT fueron los valores de la recopilación de Post (2002) ($\delta^{13}\text{C}$: media= 0.39, sd=1.3 y $\delta^{15}\text{N}$: media= 3.4, sd= 0.98), que son la opción sugerida como default por el paquete *TrophicPosition* (Quezada-Romegialli et al. 2019). Las estimaciones del NT se hicieron tomando en cuenta la especie y la temporada; es decir, se realizaron estimaciones independientes para los diablillos y clínidos en la temporada de verano e invierno. El cálculo de los valores de NT y el α se hizo utilizando el modelo "TwoBaselinesFull" del paquete de R "tRophicPosition" que permite calcular el modelo completo incluyendo ambas líneas de base y un FDT para nitrógeno y carbono. Luego, se compararon las posteriores del NT de ambas especies y para cada temporada. De la misma manera, se comparó la contribución proporcional de cada línea de base (α). La diferencia entre especies o temporadas se consideró significativa cuando $p > 0.95$, para esto se utilizó la función *pairwiseComparisons* del paquete de R: "tRophicPosition" (Quezada-Romegialli et al. 2019). El nicho trófico de los peces fue descrito a partir del nicho isotópico siguiendo la aproximación de elipses estándar de Jackson y colaboradores (2011). Se calculó el área de las elipses estándar para las temporadas para cada especie considerando el 40% de los datos corregido por el tamaño muestral (SEAc) y el área de las elipses estándar bayesianas (SEAb) usando los paquetes de R "SIBER" y "rjags" (Jackson et al. 2011). Luego, se calculó el porcentaje de superposición entre la SEA de invierno y verano como el área de la intersección dividida la SEA de invierno y verano. Para evaluar la diferencia entre las SEAb, se calcularon 100000 iteraciones posteriores y se estimó la probabilidad de que la SEAb más grande tenga mayor área que la SEAb más pequeña (es decir, se estimó la probabilidad de que la SEAb de invierno > SEAb de verano, ver resultados) (Jackson et al. 2011).

2.3 Resultados

2.3.1 Descripción general de la dieta

Tanto la curva de diversidad trófica para el diablillo y clínido a nivel de Clase (GG) como a nivel de Orden para las Clases Malacostraca y Gastropoda (GD) fueron asintóticas y las iteraciones (n-1) y (n-2) cayeron en el rango ($H_z \pm 0.05$) (Figuras 2.2 y 2.3). Por lo tanto, el número de contenidos gastrointestinales (CGi) analizados de diablillo (n=82) y clínido (n= 35) fue suficiente para proveer una buena descripción de la dieta. En el caso de nototenia sima (n=6) y nototenia cornúcola (n=6), el número de CGi analizados no fue suficiente para proveer una buena descripción de la dieta. Para el diablillo, el 1,1% de los CGi inspeccionados visualmente estaban vacíos y el 4,6% contenía material imposible de reconocer debido al alto grado de digestión. Para el clínido, el 4% de los CGi inspeccionados visualmente estuvo vacío y el 24.5% contuvo material con alto grado de digestión. En el caso de la nototenia cornucola el 14,3% contuvo material con alto grado de digestión (Tabla 2.1).

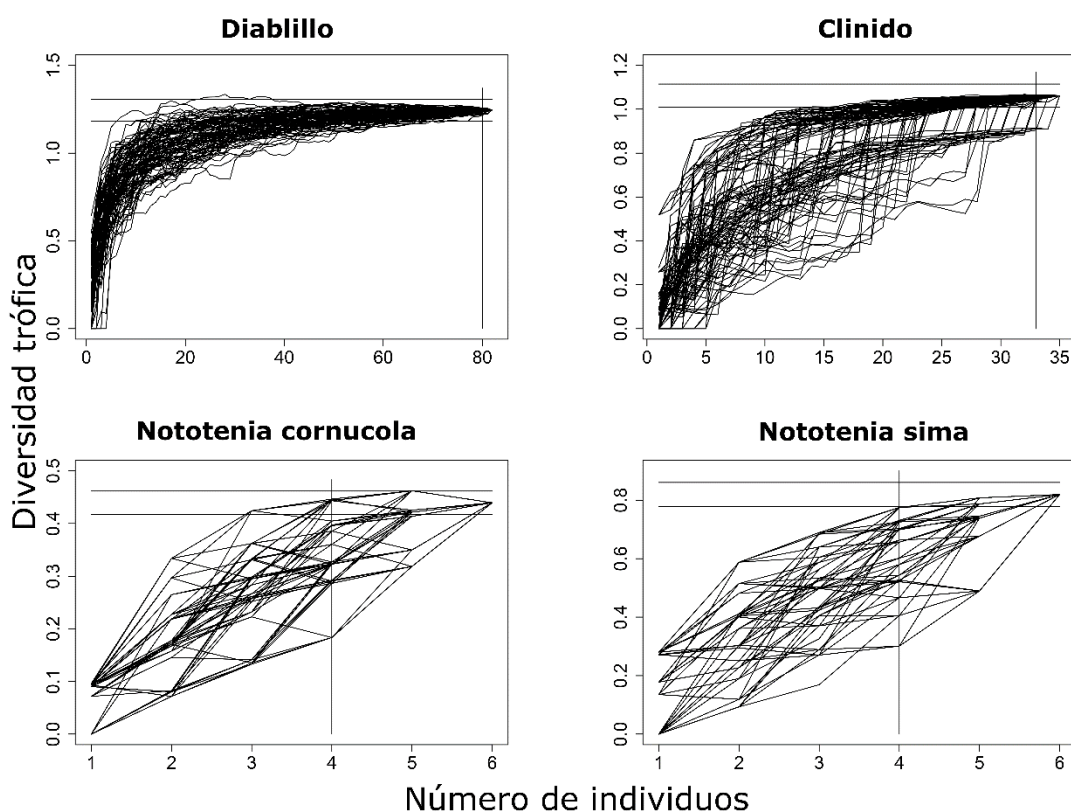


Figura 2.2. Curvas acumulativas de diversidad trófica de los ítems presa a nivel de Clase (GG) del diablillo, clínido, nototenia cornúcola y sima. Las líneas horizontales representan el índice de diversidad de Briollouin (Hz) ($Hz \pm 0,05 Hz$) y las líneas verticales muestra los valores (n-2) con n el número de CGi no vacíos.

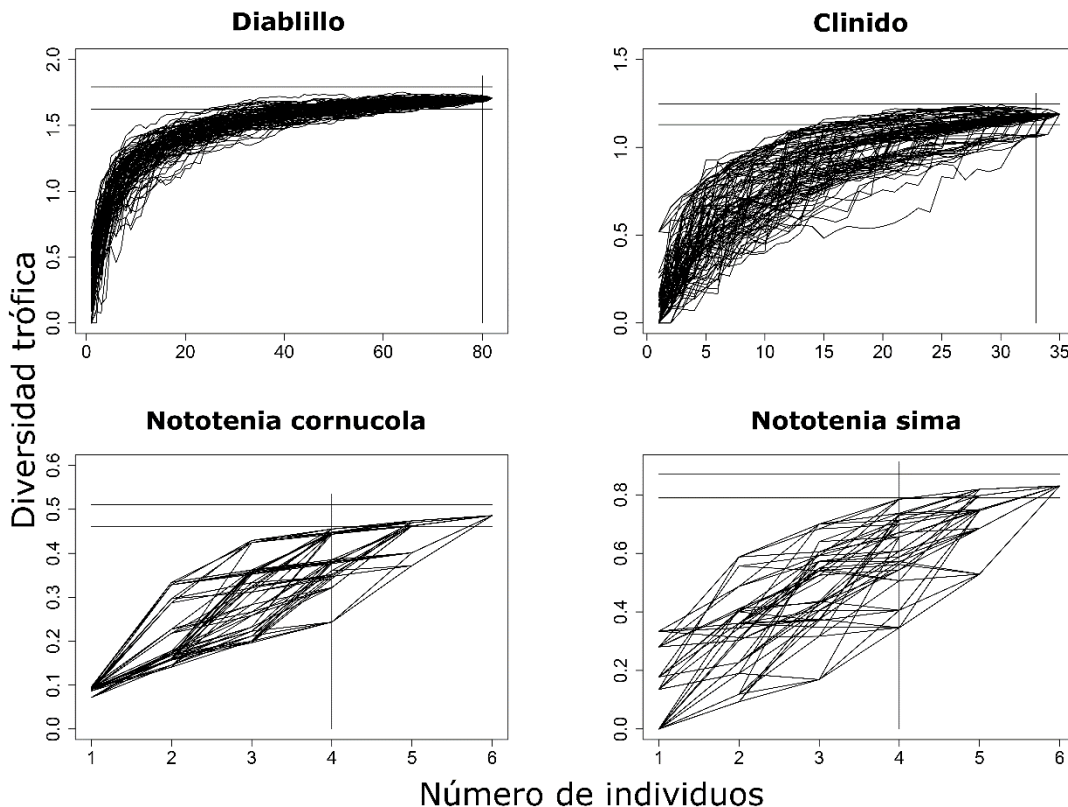


Figura 2.3. Curvas acumulativas de diversidad trófica de los ítems presa detalladas a nivel de Orden para las Clases Malacostraca y Gastropoda (GD) del diablillo, clínido, nototenia cornúcola y sima. Las líneas horizontales representan el índice de diversidad de Briollouin (Hz) ($Hz \pm 0,05 Hz$) y las líneas verticales muestra los valores (n-2) con n el número de CGi no vacíos.

En la inspección visual se detectó la presencia de distintos taxones presa como anélidos, crustáceos, equinodermos, foraminíferos, moluscos, peces y ascidias.

La inspección visual del CGi mostró que los diablillos y clínidos en el GN y GSJ poseen una dieta diversa; el diablillo con 34 ítems pertenecientes a 7 filos/subfilos distintos y el

clínido con 19 ítems pertenecientes a 5 filos/ subfilos distintos. La nototenia cornucola presentó 9 ítems de 3 filos/subfilos y la nototenia sima 9 ítems de 4 filos/subfilos (Tabla 2.2). Las identificaciones fueron posibles gracias a partes remanentes de las presas en los CGi, típicamente partes duras. Los poliquetos se identificaron por las mandíbulas y quetas, los moluscos, ostrácodos y foraminíferos por la conchilla, ofiuras por disco y brazos, erizos por las púas y en algunos casos el individuo completo sin las púas (Figura 2.4). También se encontraron algunas presas altamente conservadas como el caso de anfípodos, tanaidáceos, copépodos, cumáceos e isópodos, pero en general las presas se encontraban incompletas (Figura 2.5). En la Tabla 2.3 se muestra que, a nivel de Clase (GG), el ítem presa más común para el diablillo fueron los malacostracos con una FO de 82.9%, seguidos de ostrácodos 70.7%, copépodos 42.6%, gasterópodos 36.5% y erizos 20.7%. Para el clínido, el ítem presa más común fueron los malacostracos FO de 85.7%, seguidos de ostrácodos 25.7, copépodos 17.1% y poliquetos 17.1%. Para la nototenia cornucola predominaron los malacostracos 66.6%, seguido de los poliquetos 66.6% y los copépodos 33.3%. En la nototenia sima predominaron los poliquetos 66.6%, seguido de los malacostracos 50 %, bivalvos 33.3% y copépodos 33.3%. A un nivel más detallado de Orden (GD), para el diablillo, los malacostracos que predominaron son los anfípodos 64.6%, cumaceos 26.8% y tanaidaceos 24.3% y los gasterópodos predominaron las tegulas 21.9%. Para el clínido, los malacostracos que predominaron son los anfípodos 71.4% e isópodos 22.8%. Para la nototenia cornúcola y sima lo que más predominó fueron los anfípodos (66.6% y 50%, respectivamente).

Tabla 2.2. Composición de la dieta determinada por inspección visual para las diferentes especies.

Phylum / Subphylum	Clase	Orden	Familia	Especie	Diablillo	Clínido	Cornucola	Sima	
Annelida	Polychaeta	Phyllodocida	Nereididae	Nereididae no ident.	X	X	X	X	
			Polynoidae	Polynoidae no ident.	X	X	X	X	
		Polychaeta Indet.	Polychaeta Indet.	Polychaeta no ident.	X	X			
Crustacea	Copepoda	Harpacticoida	Harpacticoida Indet.	Harpacticoida no ident.	X	X	X		
			Copepoda Indet.	Copepoda no ident.	X	X	X	X	
	Malacostraca	Amphipoda	Amphipoda	Caprellidae	Caprellidae no ident.	X	X	X	X
				Corophiidae	<i>Monocorophium insidiosum</i>	X	X		
				Grammaridae	Grammaridae no ident.	X	X	X	X
				Amphipoda Indet.	Amphipoda no ident.	X		X	
			Cumacea	Cumacea Indet.	Cumacea no ident.	X			
		Decapoda	Hymenosomatidae	<i>Halicarcinus planatus</i>	<i>Halicarcinus planatus</i>	X	X		X
			Decapoda indet.	Decapoda no ident.	Decapoda no ident.		X	X	
			Munididae	<i>Grimothea spp.</i>	<i>Grimothea spp.</i>	X			
		Isopoda	Gnathiidae	<i>Gnathia sp.</i>	<i>Gnathia sp.</i>	X	X		
			Sphaeromatidae	Sphaeromatidae no ident.	Sphaeromatidae no ident.	X	X		
			Leptostraca	Leptostraca Indet.	Leptostraca no ident.	X			
	Tanaidacea	Tanaididae	<i>Tanais sp.</i>	X	X				
	Ostracoda	Ostracoda Indet.	Ostracoda Indet.	Ostracoda no ident.	X	X		X	
Echinodermata	Echinoidea	Camarodonta	Temnopleuridae	<i>Pseudechinus magellanicus</i>	X				

	Ophiuroidea	Echinoidea Indet. Amphilepidida	Echinoidea Indet. Amphiuridae Hemieuryalidae	Echinoidea no ident. Amphiuridae no ident. <i>Ophioplocus januarii</i>	X X X		
Foraminifera	Foraminifera	Foraminifera Indet.	Foraminifera Indet.	Foraminifera no ident.	X	X	
Mollusca	Bivalvia	Bivalvia Indet.	Bivalvia Indet.	Bivalvia no ident.	X	X	X
	Gastropoda	Caenogastropoda	Cerithiopsidae	<i>Cerithiopsis fusiformis</i>	X		
		Littorinimorpha	Eatoniellidae	<i>Eatoniella spp.</i>	X		
		Lepetellida	Fissurellidae	Fissurellidae no ident.	X		
		Heterobranchia	Mathildidae	<i>Mathilda spp.</i>	X		
			Omalogyridae	<i>Omalogyra spp.</i>	X		
			Pyramidellidae	<i>Eulimastoma franklini</i>		X	
		Neogastropoda	Nassariidae	<i>Buccinanops spp.</i>	X		
		Trochida	Tegulidae	<i>Tegula patagonica</i>	X	X	
		Gastropoda Indet.	Gastropoda Indet.	Gastropoda Indet.	X		
	Polyplacophora	Polyplacophora Indet.	Polyplacophora Indet.	Polyplacophora no ident.	X		
Chordata	Actinopterygii	Actinopterygii Indet.	Actinopterygii Indet.	Actinopterygii no ident.	X	X	X
Urochordata	Ascidiacea	Ascidiacea Indet.	Ascidiacea Indet.	Ascidiacea no ident.	X	X	

Tabla 2.3. Frecuencia de ocurrencia observada (FO%) y desvío estándar del *bootstrap* de ítems presa a nivel de Clase (GG) y detallado a nivel de Orden para las Clases Malacostraca y Gastropoda (GD) para las diferentes especies.

Clase	Orden	Diablillo		Clínido		Cornúcola		Sima	
		GG	GD	GG	GD	%FO		GG	GD
Polychaeta		15.8 (±3.2)	15.8 (±4.1)	17.1 (±6.3)	17.1 (±7.1)	66.6 (±17.8)	66.6 (±20.9)	66.6 (±19.1)	66.6 (±18)
Copepoda		42.6 (±5.5)	42.6 (±5.7)	17.1 (±6.6)	17.1 (±6.9)	33.3 (±19.8)	33.3 (±18.6)	33.3 (±17.9)	33.3 (±18.9)
Malacostraca		82.9 (±4)		85.7 (±5.1)		66.6 (±19.8)		50 (±19.8)	
	Amphipoda		64.6 (±5.5)		71.4 (±8.1)		66.6 (±18.6)		50 (±19.5)
	Cumacea		26.8 (±4.9)						
	Decapoda		3.6 (±1.9)		8.5 (±5.6)		16.6 (±18.3)		16.6 (±11.9)
	Isopoda		10.9 (±3.3)		22.8 (±7.5)				
	Leptostraca		8.5 (±3)						
	Tanaidacea		24.3 (±4.6)		2.8 (±1.9)				
Ostracoda		70.7 (±3.2)	70.7 (±4.8)	25.7 (±7.5)	25.7 (±6.7)			16.6 (±13.3)	16.6 (±13.3)
Echinoidea		20.7 (±4.4)	20.7 (±4.3)						
Ophiuroidea		9.7 (±3.2)	9.7 (±3.4)						
Foraminifera		3.6 (±1.9)	3.6 (±2)	2.8 (±2.7)	2.8 (±2.8)				
Bivalvia		12.1 (±4.1)	12.1 (±3.3)	5.7 (±3.9)	5.7 (±3.7)			33.3 (±20.2)	33.3 (±20.4)
Gastropoda		36.5 (±5)		8.5 (±4.2)					
	Caenogastropoda		1.2 (±1.3)						
	Littorinimorpha		4.8 (±2.4)						
	Lepetellida		1.2 (±1.2)						
	Heterobranchia		3.6 (±2.1)		2.8 (±1.7)				
	Neogastropoda		3.6 (±2.4)						
	Trochida		21.9 (±5.4)		5.7 (±4.2)				

	Gastropoda Indet.		4.8 (±2.3)				
Polyplacophora		2.4 (±1.8)	2.4 (±2)				
Actinopterygii		2.4 (±1.7)	2.4 (±1.7)		16.6 (±13.2)	16.6 (±13.2)	16.6 (±14.8) 16.6 (±15)
Ascidiacea		1.2 (±1.4)	1.2 (±1.2)	5.7 (±4.1)	5.7 (±4.2)		

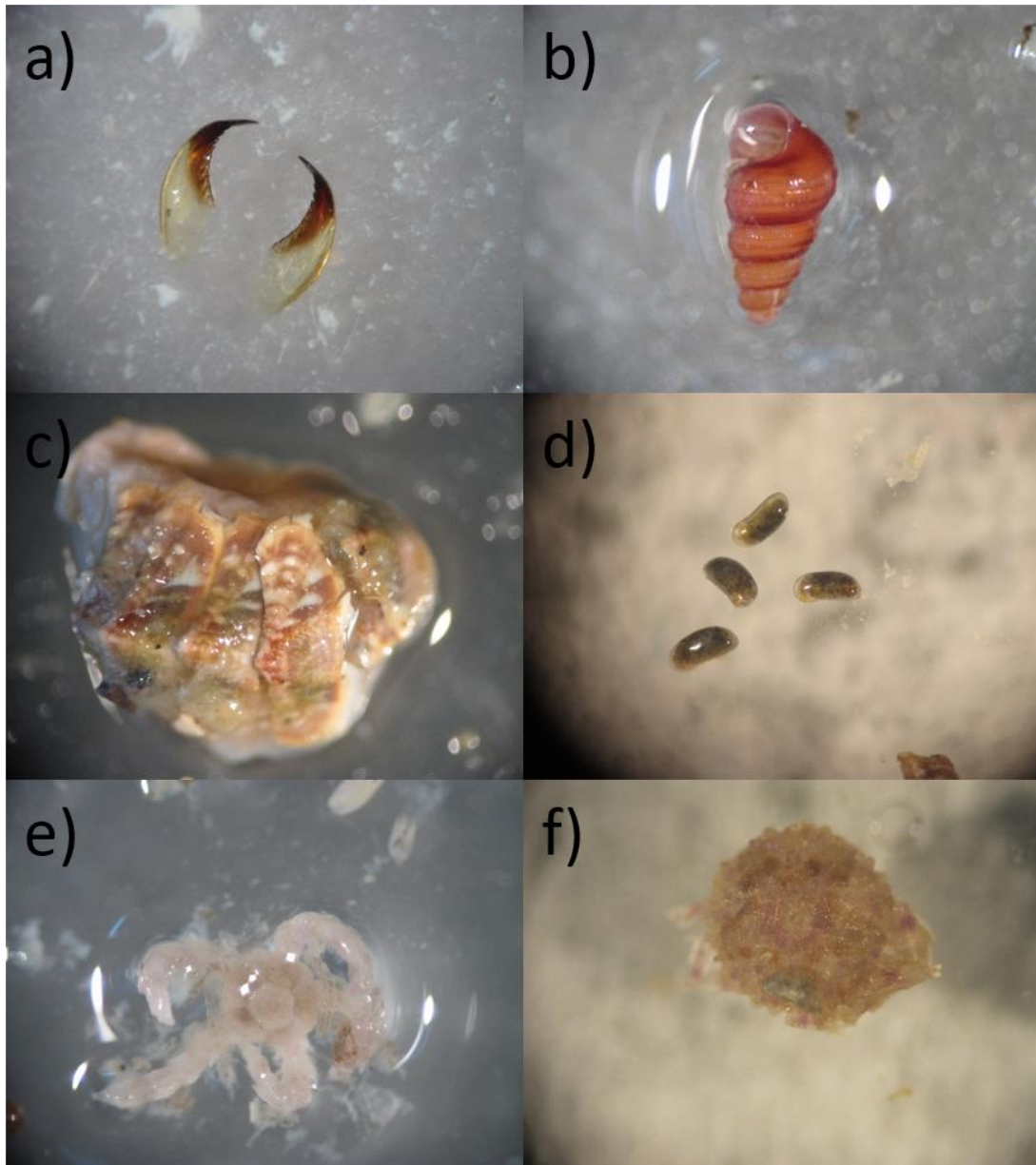


Figura 2.4. Partes duras de ítems presa encontrados en los CGi de diablillo y clívido. a) mandíbulas de poliqueto (Familia Nereidae), b) gasterópodo *Mathilda* spp., c) quitón, d) ostrácodos, e) ofiúrido *Ophioplocus januarii*, f) erizo *Pseudechinus magellanicus*. Crédito de las fotos: M. Florencia Ríos.

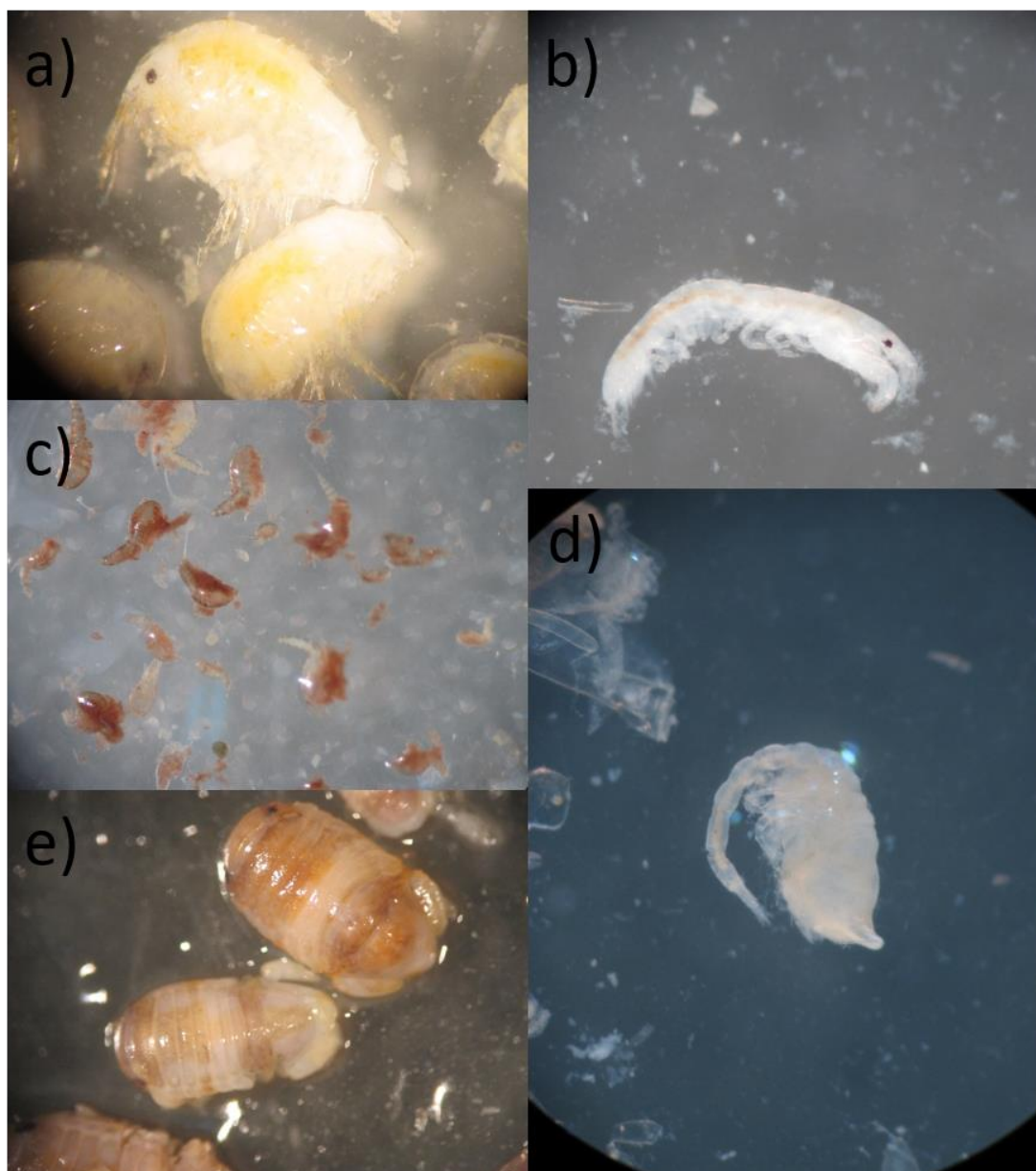


Figura 2.5. Ítems presa encontrados en los CGi de diablillo y clínido. a) restos de anfípodos (Familia Grammaridae), b) tanaidáceo (*Tanais sp.*), c) copépodos (Orden Harpacticoida), d) cumáceo (Orden Cumacea), e) isópodo (Orden Isópoda). Crédito de las fotos: M. Florencia Ríos

2.3.2 Comparación de las dietas de diablillo y clínido

Entre especies

Las FOs simuladas para GG y sus intervalos de confianza mostraron superposición entre las dietas de diablillos y clínicos. Aunque pudieron observarse pequeñas diferencias, las mismas no fueron significativas ($Wd= 1.55$ y $p\text{-valor}= 0.151$). La diferencia principal fue

que los diablillos mostraron una mayor frecuencia de copépodos, ostrácodos, gasterópodos y equinodermos en sus ítems presa y una menor cantidad de ascidias comparada con los clínidos (Figura 2.6a). Las FOs simuladas para GD y sus intervalos de confianza también mostraron superposición entre diablillos y clínidos aunque pudieron observarse algunas diferencias que tampoco resultaron significativas como mayor cantidad de tegulas por parte del diablillo.

Para el caso del clínido, en cuanto a su riqueza de ítems presa a nivel de Clase (GG), se encontraron ausentes cuatro grupos, entre ellos los erizos, ofiuros, quitones y peces y a nivel de Orden (GD) no se encontraron cumáceos ni leptostracos dentro de los malacostracos, ni caenogastropoda, littorinimorpha, lepetellida, neogastropoda y gasterópodos indeterminados dentro de los moluscos (Figura 2.6a y b).

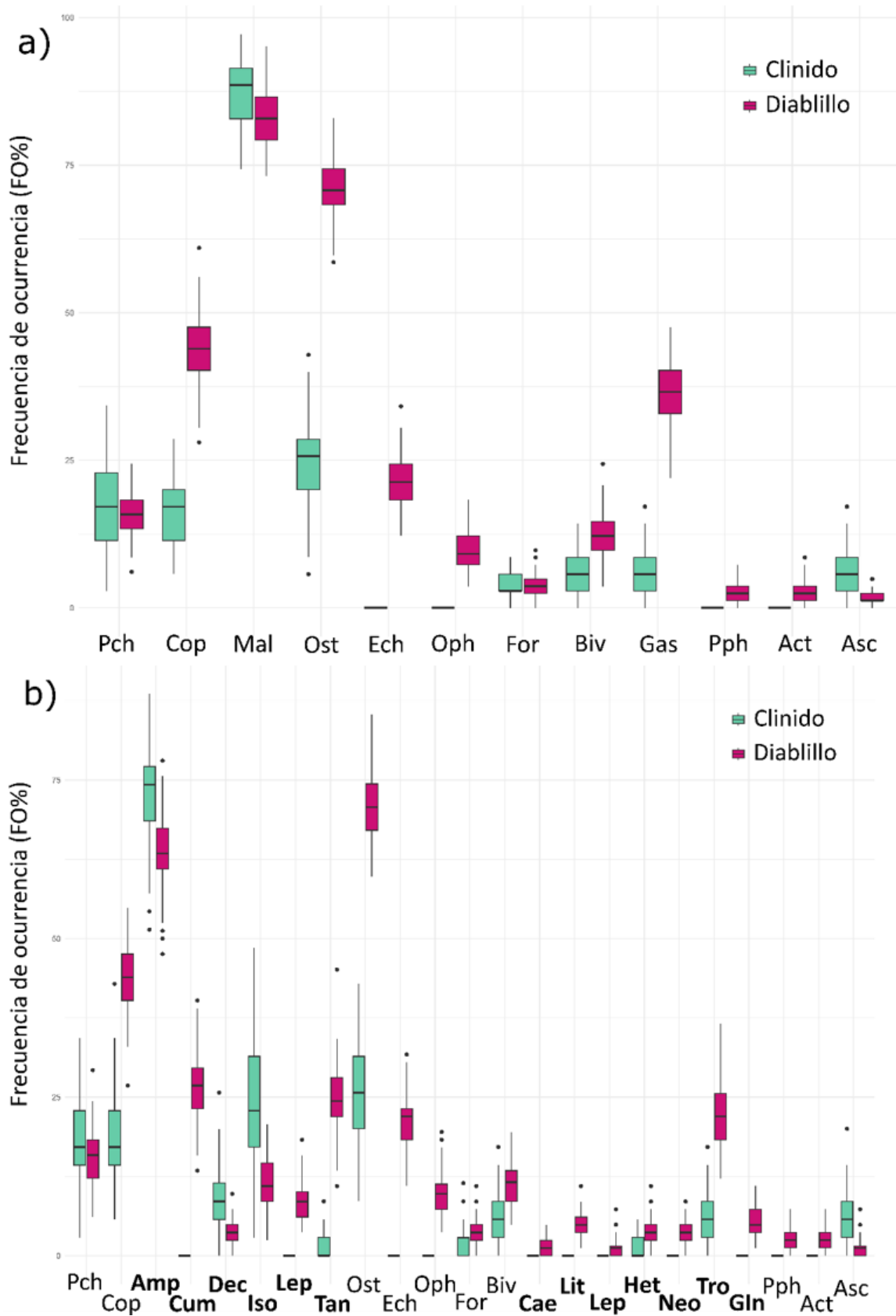


Figura 2.6. Boxplots de frecuencia de ocurrencia (FO) de los principales grupos presas en la dieta del diablillo y clínido agrupados por a) Clase (GG) y b) Clase y Orden en el caso

de Malacostraca y Gastropoda (en negrita) (GD). Los límites de las cajas representan al primer y tercer cuartil (percentil 25 y 75 respectivamente), los bigotes representan máximos y mínimos. Los puntos corresponden a *outliers* (datos $> 1.5 \cdot IQR$) y las líneas horizontales en negrita son las medianas. Pch= Polychaeta, Cop= Copepoda, **Amp**= Amphipoda, **Cum**= Cumacea, **Dec**= Decapoda, **Iso**= Isopoda, **Lep**= Leptostraca, **Tan**= Tanaidacea, Ost= Ostracoda, Ech= Echinoidea, Oph= Ophiuroidea, For= Foraminifera, Biv= Bivalvia, **Cae**= Caenogastropoda, **Lit**= Littorinimorpha, **Lep**= Lepetellida, **Het**= Heterobranchia, **Neo**= Neogastropoda, **Tro**= Trochida, **Gln**= Gastropoda indeterminados, Pph= Polyplacophora, Act= Actinopterygii, Asc= Ascidiacea.

A diferencia de los análisis visuales, los análisis de isótopos estables (SIA) no detectaron diferencias en la diversidad trófica entre clínicos y diablillos. Aunque los diablillos mostraron un nicho isotópico mayor al de los clínicos con SEAc mayores ($SEAc_{diablillo} = 1.102$ y $SEAc_{clínido} = 0.994$, Figura 2.7a), la reconstrucción bayesiana de la SEA mostró que la probabilidad de que las SEAs de diablillo y clínico difieran es de $p > 0.05$ (Figura 2.7b). Coincidentemente con los análisis visuales, los análisis de isótopos estables (SIA) mostraron un cierto grado de solapamiento entre las elipses estándar de diablillos y clínicos del 37% (Figura 2.7a). Con respecto al nivel trófico (NT), los diablillos mostraron unas posteriores estimadas más altas que los clínicos ($NT_{diablillo} = 3.4$ con IC del 95% [3.2-3.6] y $NT_{clínicos} = 3.2$ con IC del 95% [3-3.4]) (Figura 2.8a). Sin embargo, las comparaciones no resultaron significativas para el NT ni alfa (Tabla 2.4). Las posteriores estimadas de la contribución de cada línea de base (α) mostraron que el camino de energía predominante en la dieta de los peces proviene del fitoplancton más que de las macroalgas ($\alpha_{diablillo} = 0.32$ con IC [0.1-0.5] y $\alpha_{clínido} = 0.4$ con IC [0.2-0.6]) (Figura 2.8b), sin embargo, teniendo en cuenta los intervalos de credibilidad (que contienen al 50% de los α) vemos que la diferencia del aporte de ambas líneas de base no es tan grande. Este resultado es consistente con los crustáceos (filtradores) que resultó el ítem presa más común en ambas especies, y en el caso particular del diablillo más aún ya que el consumo de bivalvos fue mayor que en el clínico.

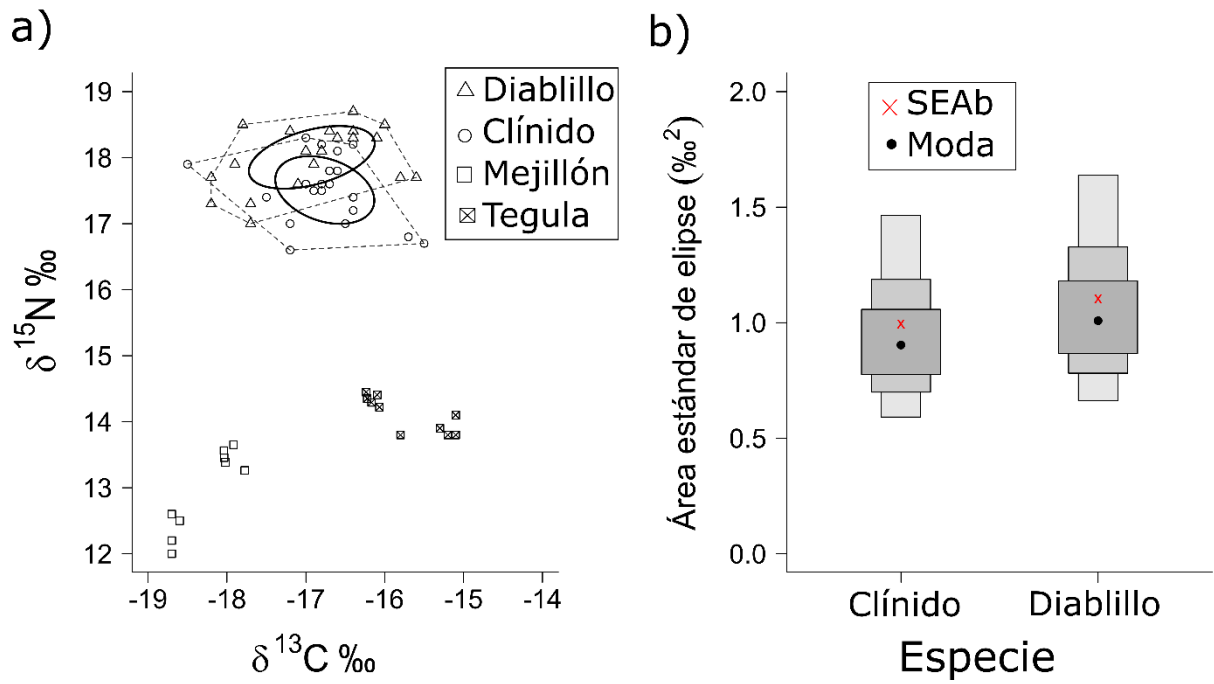


Figura 2.7. Análisis de isótopos estables de diablillo y clínido de golfos norpatagónicos, Argentina. a) Valores de $\delta^{15}\text{N} \text{‰}$ y $\delta^{13}\text{C} \text{‰}$ para diablillos, clínidos y las líneas de base pelágicas (mejillón) y bentónicas (tegula). Las elipses representan las elipses estándar para cada especie corregidas para el tamaño de la muestra (SEAc). b) Área de elipse estándar (‰^2) estimada por métodos bayesianos (SEAb) para diablillo y clínido.

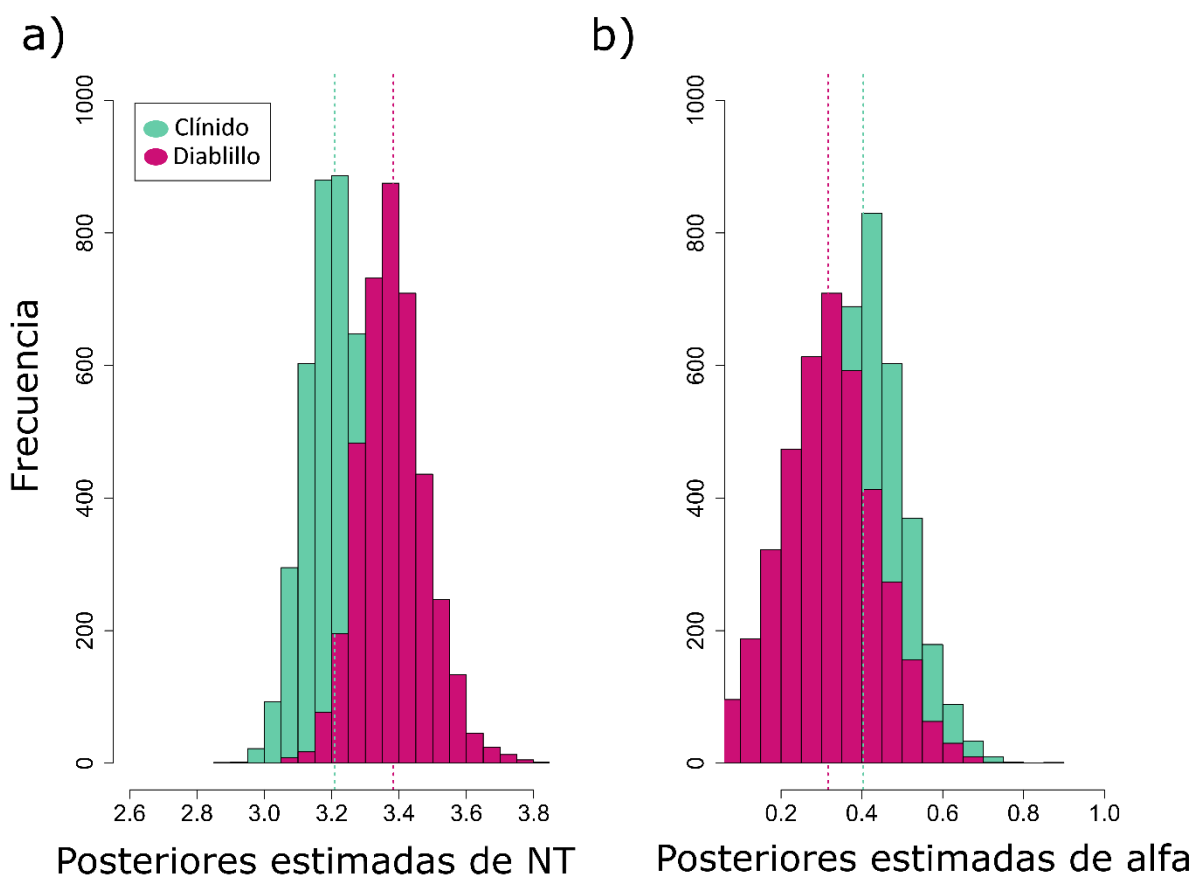


Figura 2.8. Posteriores estimadas del análisis de isótopos estables para el diablillo y clínido del Golfo Nuevo, Patagonia, Argentina. a) Nivel trófico (NT) para clínicos y diablillos. b) Alfa (α) para clínicos y diablillo. Las medias se indican con líneas punteadas (clínicos= turquesa, diablillos= fucsia).

Tabla 2.4. Comparaciones de las posteriores estimadas de nivel trófico (NT) y alfa (α) para clínicos y diablillos del Golfo Nuevo, Patagonia, Argentina.

	NT clínicos	NT diablillos	α clínicos	α diablillos
NT clínicos	-	0.917		
NT diablillos	-	-		
α clínicos	-	-	-	0.703
α diablillos	-	-	-	-

Ninguna de las probabilidades es superior a 0,95 (significativa).

Entre temporadas

Las curva de diversidad trófica para el diablillo en las temporadas de invierno y fueron asintóticas y las iteraciones (n-1) y (n-2) cayeron en el rango ($H_z \pm 0.05$) (Figuras 2.8).

Para el clnido, ni en la temporada de invierno ni verano se alcanzó la asíntota (Figura 2.9). Si bien el n no fue suficiente para describir la diversidad trfca, se realizaron igualmente los análisis. Esta decisión se tomó porque no alcanzar la asíntota indica que hay especies raras que pueden no haber sido incluidas; pero estas especies influyen más en la dispersión que en la posición del centroide, y el test de Welch es más robusto que el PERMANOVA para evaluar diferencias en el centroide ante la presencia de heterocedasticidad.

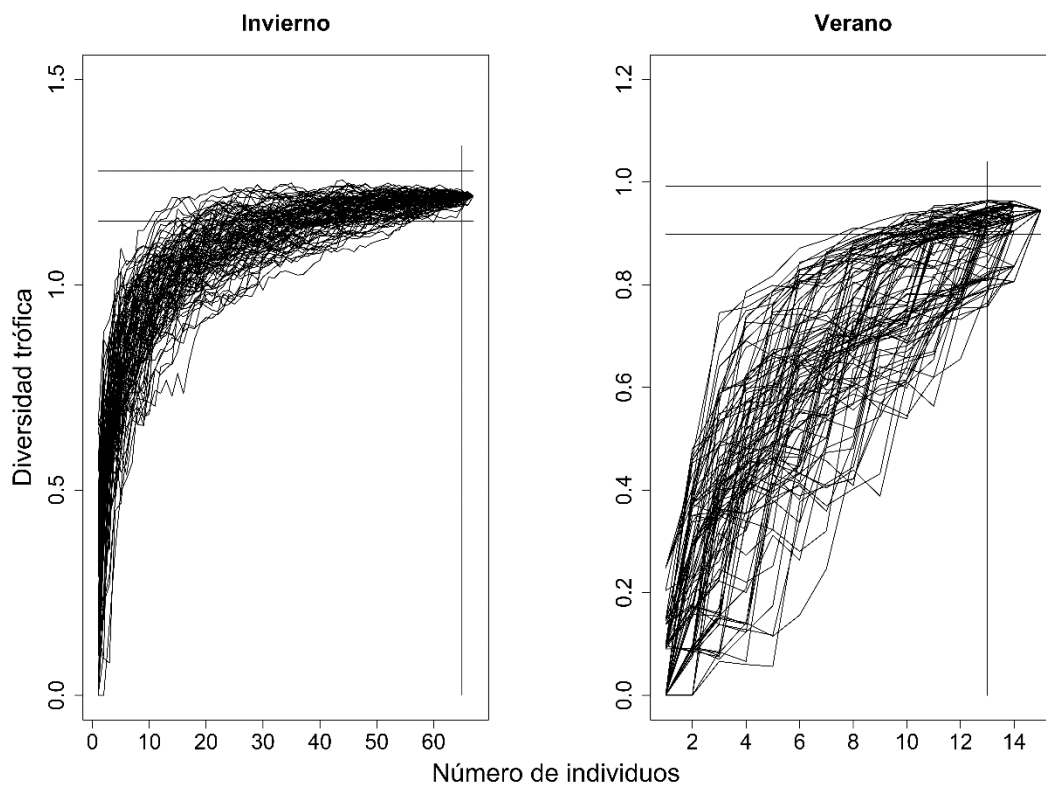


Figura 2.8. Curvas acumulativas de diversidad trfca de los ítems presa del Diablillo entre temporadas de invierno y verano. Las líneas horizontales representan el índice de diversidad de Briollouin (Hz) ($Hz \pm 0,05 Hz$) y las líneas verticales muestra los valores ($n-2$) con n el número de CGi no vacíos.

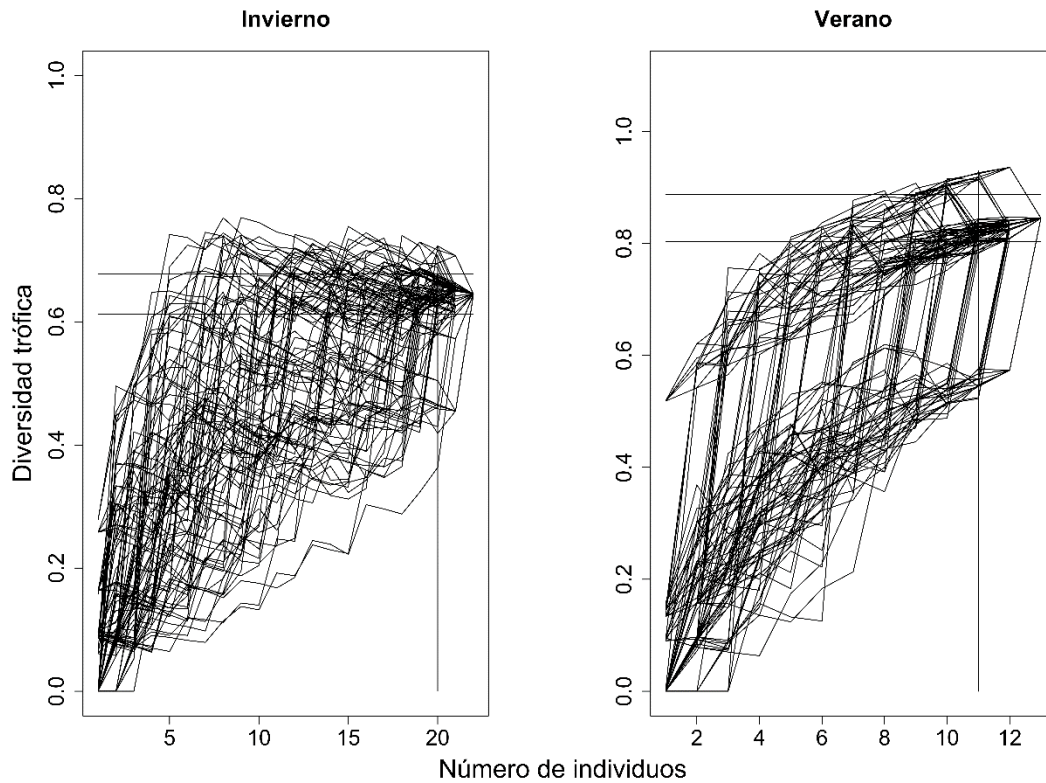


Figura 2.9. Curvas acumulativas de diversidad trófica de los ítems presa del Clírido entre temporadas de invierno y verano. Las líneas horizontales representan el índice de diversidad de Briollouin (Hz) ($H \pm 0,05 \text{ Hz}$) y las líneas verticales muestra los valores $(n-2)$ con n el número de CGi no vacíos.

La Figura 2.10a muestra que la distribución de tallas de diablillo utilizadas en los análisis de CGi no está concentrada, aunque la mayor cantidad de muestras son de invierno. La Figura 2.11a para las muestras usadas en los SIA, muestra que los diablillos en la temporada de invierno fueron de mayor talla que los de verano. En el caso del clírido, la Figura 2.10a muestra que no hay individuos de las tallas más pequeñas, sin embargo la Figura 2.11b muestra una muy buena representatividad de las tallas. En general, para ambas especies no pareciera que hubiera efectos confundidos ni problemas de la talla (en cuanto a representatividad), considerando las distintas situaciones respecto a los muestreos para CGi, SIA y para cada especie, en donde los de CGi muestran que hay diferencias y los de SIA cambian en el mismo sentido en ambas especies.

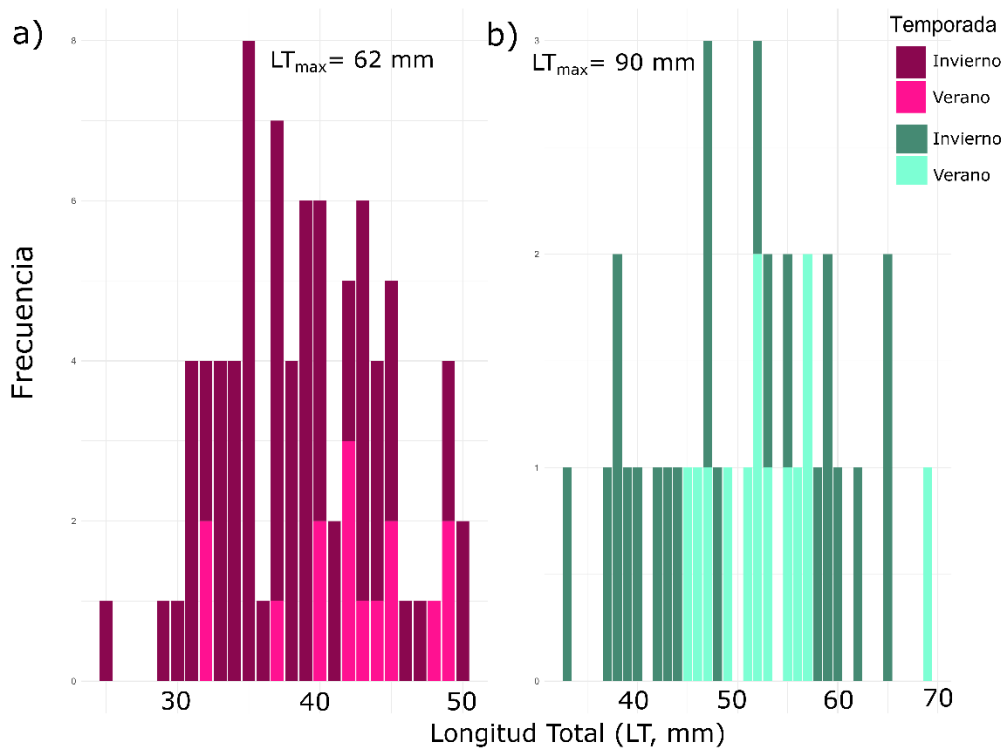


Figura 2.10. Distribución de tallas entre temporadas para a) Diablillo y b) Clínido para muestras de análisis de contenido gastrointestinal (CGi). Los datos de LT_{max} (talla máxima) se tomaron de FishBase.

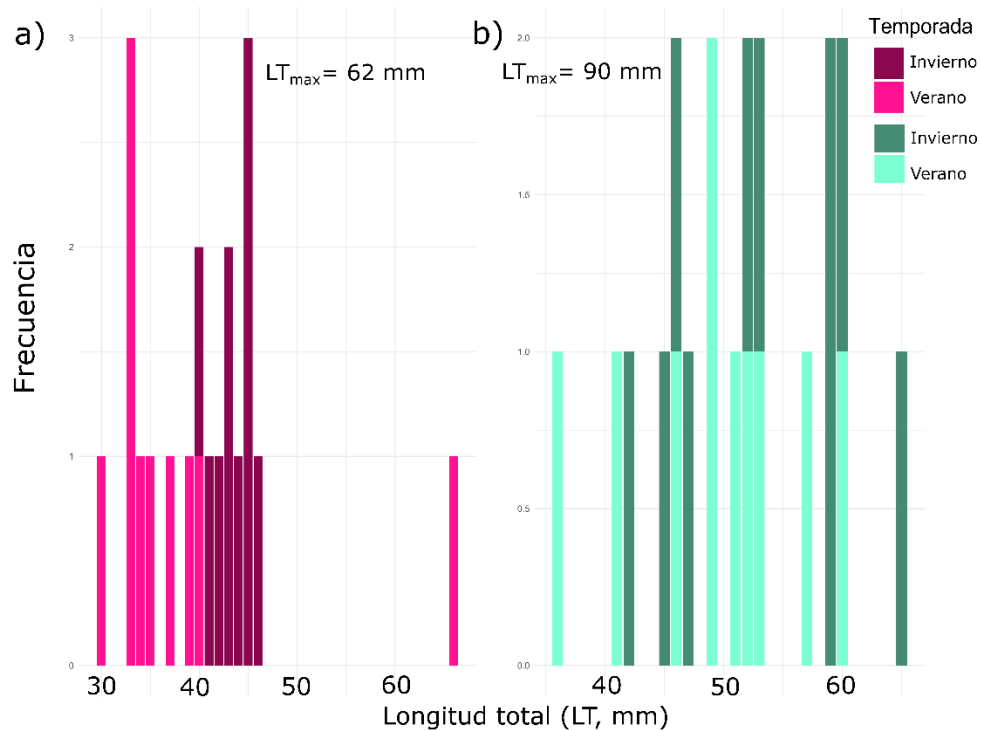


Figura 2.11. Distribución de tallas entre temporadas para a) Diablillo y b) Clínido para muestras de análisis de isótopos estables (SIA). Los datos de LT_{max} (talla máxima) se tomaron de FishBase.

En cuanto a las comparaciones entre temporadas de invierno y verano dentro de cada especie, en el caso de los diablillos las FOs simuladas para GG y sus intervalos de confianza mostraron diferencias entre las dietas de invierno y verano ($Wd=10.82$ y $p\text{-valor}=0.001$). La diferencia principal fue que en invierno mostraron una mayor frecuencia de poliquetos, crustáceos, erizos y ofiuras (Figura 2.12a). Las FOs simuladas para GD y sus intervalos de confianza también mostraron diferencias entre temporadas. En el caso particular de los gasterópodos se encontraron principalmente tegulas, heterobranquia y neogasterópodos en invierno (Figura 2.12b). En cuanto a la diversidad se registró una dieta más restringida en verano con menos ítems presa que en invierno, pero esto puede deberse al menor tamaño de muestras y que no se registraron los ítems raros (ver Tabla 2.1). A nivel de Clase (GG), se encontraron ausentes en verano cuatro grupos, entre ellos los poliquetos, ofiuros, foraminíferos y ascidias y a nivel de Orden (GD) solo se encontraron anfípodos dentro de los malacostracos, littorinimorpha y lepetellida dentro de los moluscos (Figura 2.12a y b).

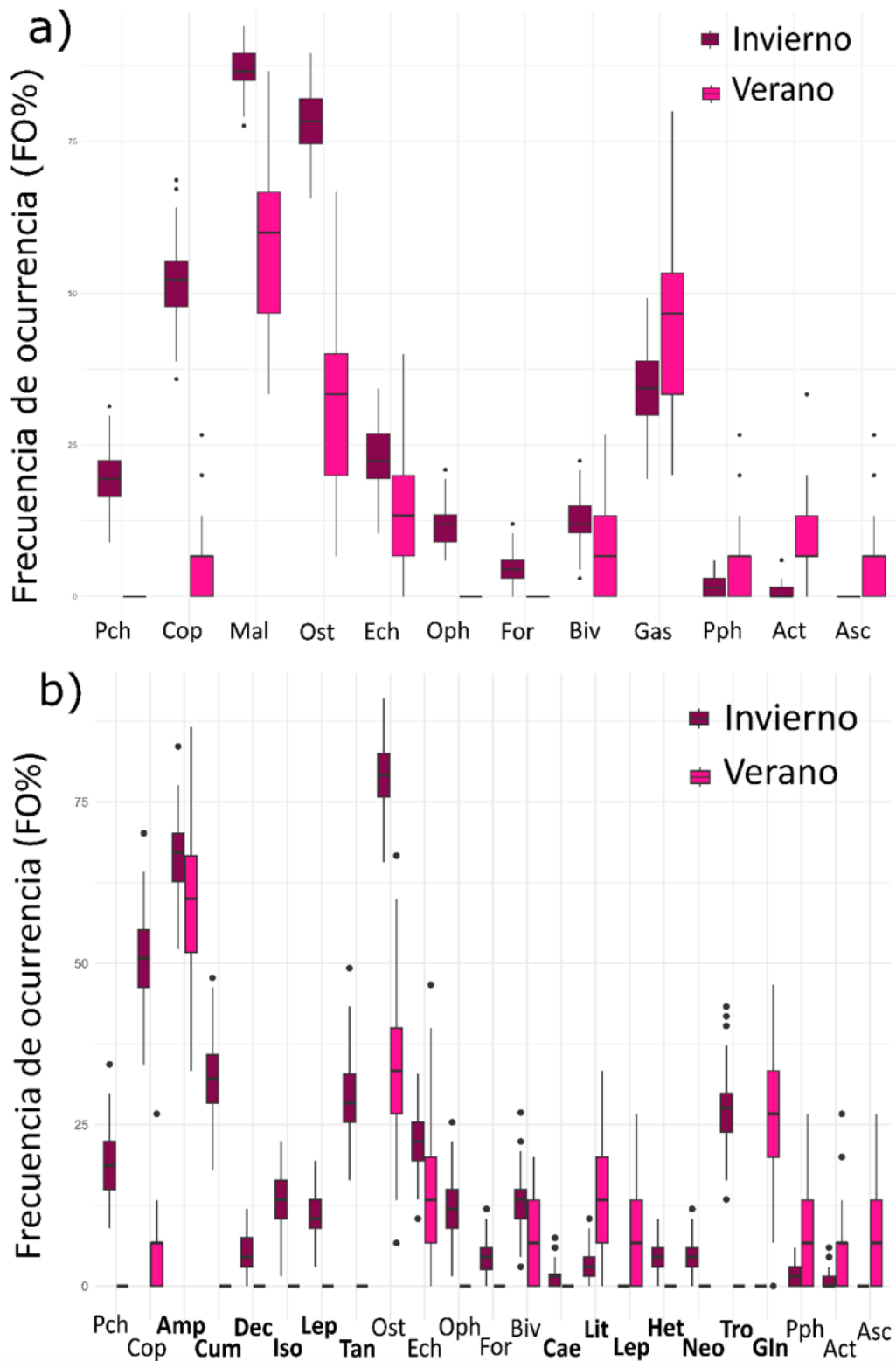


Figura 2.12. Boxplots de frecuencia de ocurrencia (FO) de los principales grupos presas en la dieta de invierno y verano del diablillo agrupados por a) Clase (GG) y b) Clase y Orden en el caso de Malacostraca y Gastropoda (en negrita) (GD). Los límites de las cajas

representan al primer y tercer cuartil (percentil 25 y 75 respectivamente), los bigotes representan máximos y mínimos. Los puntos corresponden a *outliers* (datos > 1.5*IQR) y las líneas horizontales en negrita son las medianas. Pch= Polychaeta, Cop= Copepoda, **Amp**= Amphipoda, **Cum**= Cumacea, **Dec**= Decapoda, **Iso**= Isopoda, **Lep**= Leptostraca, **Tan**= Tanaidacea, Ost= Ostracoda, Ech= Echinoidea, Oph= Ophiuroidea, For= Foraminifera, Biv= Bivalvia, **Cae**= Caenogastropoda, **Lit**= Littorinimorpha, **Lep**= Lepetellida, **Het**= Heterobranchia, **Neo**= Neogastropoda, **Tro**= Trochida, **Gln**= Gastropoda indeterminados, Pph= Polyplacophora, Act= Actinopterygii, Asc= Ascidiacea.

En el caso de los clínidos, las FOs simuladas para GG y sus intervalos de confianza mostraron un cierto solapamiento entre las dietas de invierno y verano ($Wd=1.48$ y $p\text{-valor}=0.18$). La diferencia principal fue que en invierno mostraron mayor cantidad de poliquetos, malacostracos y gasterópodos mientras que en verano mayor cantidad de copépodos, bivalvos y ascidias (Figura 2.13a). Las FOs simuladas para GD y sus intervalos de confianza también mostraron cierto solapamiento entre temporadas. En el caso particular de los malacostracos se encontraron en invierno decápodos, isópodos y tanaidaceos y dentro de los gasterópodos tegulas (Figura 2.13b). En cuanto a la diversidad se registró una dieta bastante equilibrada en invierno y verano. A nivel de Clase (GG), se encontraron ausentes en invierno los bivalvos que sí se encontraron en verano, y de manera inversa los foraminíferos. A nivel de Orden (GD) tres ítems presa en verano se encontraron ausentes respecto del invierno (Figura 2.13a y b).

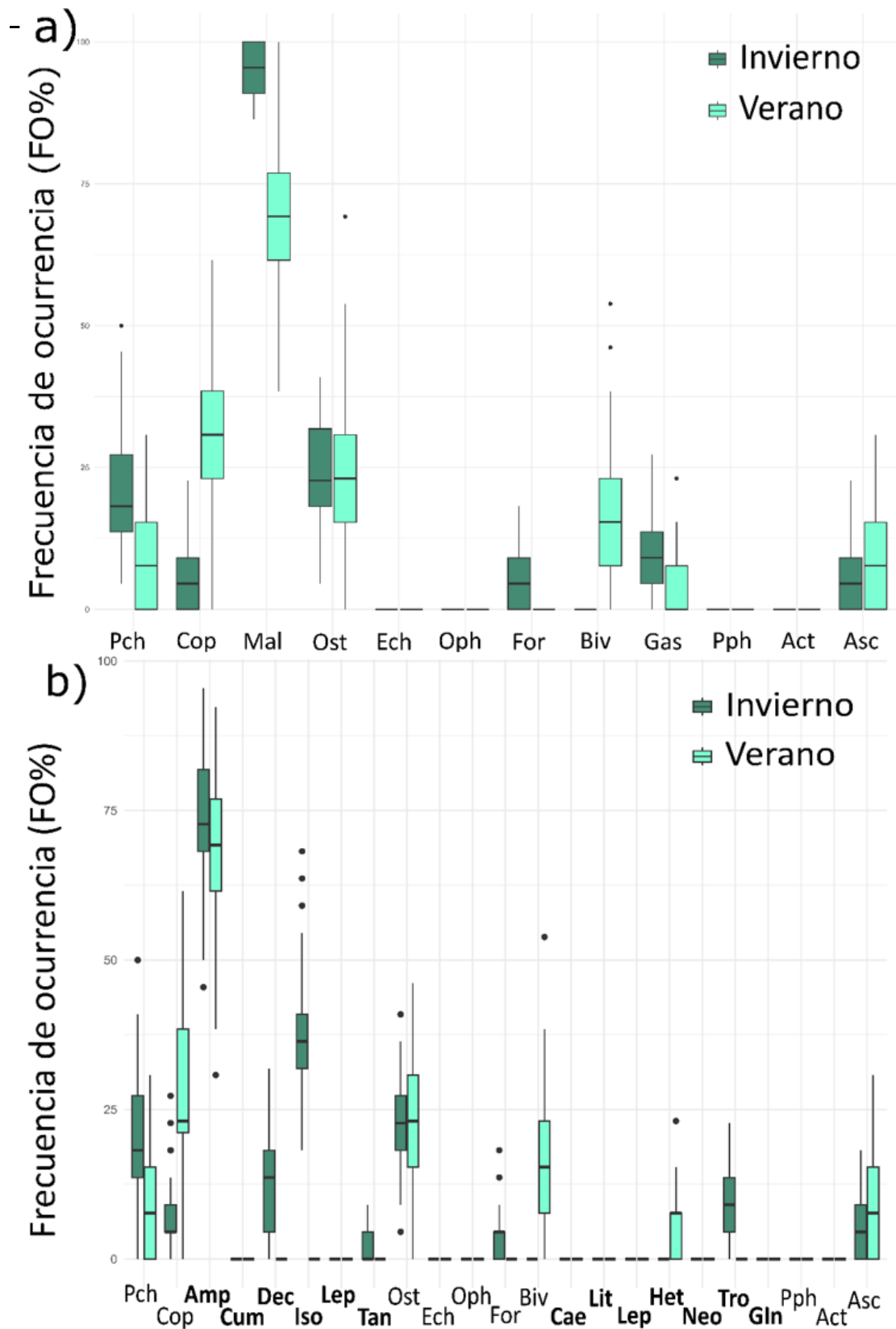


Figura 2.13. Boxplots de frecuencia de ocurrencia (FO) de los principales grupos presas en la dieta de invierno y verano del clínido agrupados por a) Clase (GG) y b) Clase y Orden

en el caso de Malacostraca y Gastropoda (en negrita) (GD). Los límites de las cajas representan al primer y tercer cuartil (percentil 25 y 75 respectivamente), los bigotes representan máximos y mínimos. Los puntos corresponden a *outliers* (datos > 1.5*IQR) y las líneas horizontales en negrita son las medianas. Pch= Polychaeta, Cop= Copepoda, **Amp**= Amphipoda, **Cum**= Cumacea, **Dec**= Decapoda, **Iso**= Isopoda, **Lep**= Leptostraca, **Tan**= Tanaidacea, Ost= Ostracoda, Ech= Echinoidea, Oph= Ophiuroidea, For= Foraminifera, Biv= Bivalvia, **Cae**= Caenogastropoda, **Lit**= Littorinimorpha, **Lep**= Lepetellida, **Het**= Heterobranchia, **Neo**= Neogastropoda, **Tro**= Trochida, **Gln**= Gastropoda indeterminados, Pph= Polyplacophora, Act= Actinopterygii, Asc= Ascidiacea.

Los análisis de isótopos estables (SIA) fueron consistentes con los de inspección visual para el diablillo mostrando diferencias entre las dietas de invierno y verano, pero en el caso del clínido en donde se mostró cierto solapamiento según los análisis de contenido gastrointestinal, los SIA sí reflejaron diferencias entre las temporadas. Los diablillos y clínidos mostraron un nicho trófico más amplio para la temporada de verano que para la de invierno con SEAc mayores (para el diablillo $SEAc_{\text{verano}} = 0.81$ y $SEAc_{\text{invierno}} = 0.45$ y para el clínido ($SEAc_{\text{verano}} = 0.87$ y $SEAc_{\text{invierno}} = 0.56$, Figura 2.14a). La reconstrucción bayesiana de la SEA mostró que la probabilidad de que las SEAs de invierno difieran de las de verano en ambas especies es de $p < 0.05$ (Figura 2.14b). Además, el solapamiento de las elipses estándar entre temporadas para el diablillo es nulo al igual que entre los clínidos (2% por lo que se considera despreciable).

A nivel interespecífico, el solapamiento de las elipses estándar de invierno entre especies de diablillo y clínido también es nulo (0.3%) y en donde sí existe cierto solapamiento es entre las elipses de verano entre el diablillo y clínido con 24% (Figura 2.14a). Con respecto al nivel trófico (NT), los diablillos de invierno mostraron unas posteriores estimadas más altas que los clínidos de invierno ($NT_{\text{diablillo}} = 3.49$ con IC del 95% [3.3-3.7] y $NT_{\text{clínidos}} = 3.28$ con IC del 95% [3.06-3.53]) (Figura 2.15a). Las posteriores estimadas de la contribución de cada línea de base (α) en invierno mostraron que el camino de energía predominante en la dieta del diablillo y clínido proviene casi en partes

iguales de macroalgas y de fitoplancton ($\alpha_{\text{diablillo}}=0.54$ con IC [0.36-0.72] y $\alpha_{\text{clínido}}=0.54$ con IC [0.37-0.71]), aunque sea levemente superior el aporte de las macroalgas (Figura 2.15b). Además, las comparaciones resultaron no significativas tanto para el NT como para los alfas entre diablillos y clínidos de invierno (Tabla 2.5). Este resultado es consistente con el mayor consumo de organismos raspadores como poliquetos, equinodermos y gasterópodos de tegula en el caso de los diablillos y de poliquetos y gasterópodos tegula en los clínidos.

Con respecto al nivel trófico (NT) durante el verano, los diablillos mostraron unas posteriores estimadas más altas que los clínidos de verano ($NT_{\text{diablillo}}=3.23$ con IC del 95% [3.06-3.41] y $NT_{\text{clínidos}}=3.13$ con IC del 95% [2.97-3.31]) (Figura 2.15c). Las posteriores estimadas de la contribución de cada línea de base (α) en verano mostraron que el camino de energía predominante en la dieta de los peces proviene del fitoplancton y no de las macroalgas ($\alpha_{\text{diablillo}}=0.1$ con IC [0.004-0.3] y $\alpha_{\text{clínido}}=0.2$ con IC [0.01-0.49]) (Figura 2.15d). Sin embargo, las comparaciones no resultaron significativas para el NT ni alfa (Tabla 2.5). Este resultado es consistente con el consumo de crustáceos, bivalvos y ascidias (filtradores), siendo los crustáceos el ítem presa más común en ambas especies.

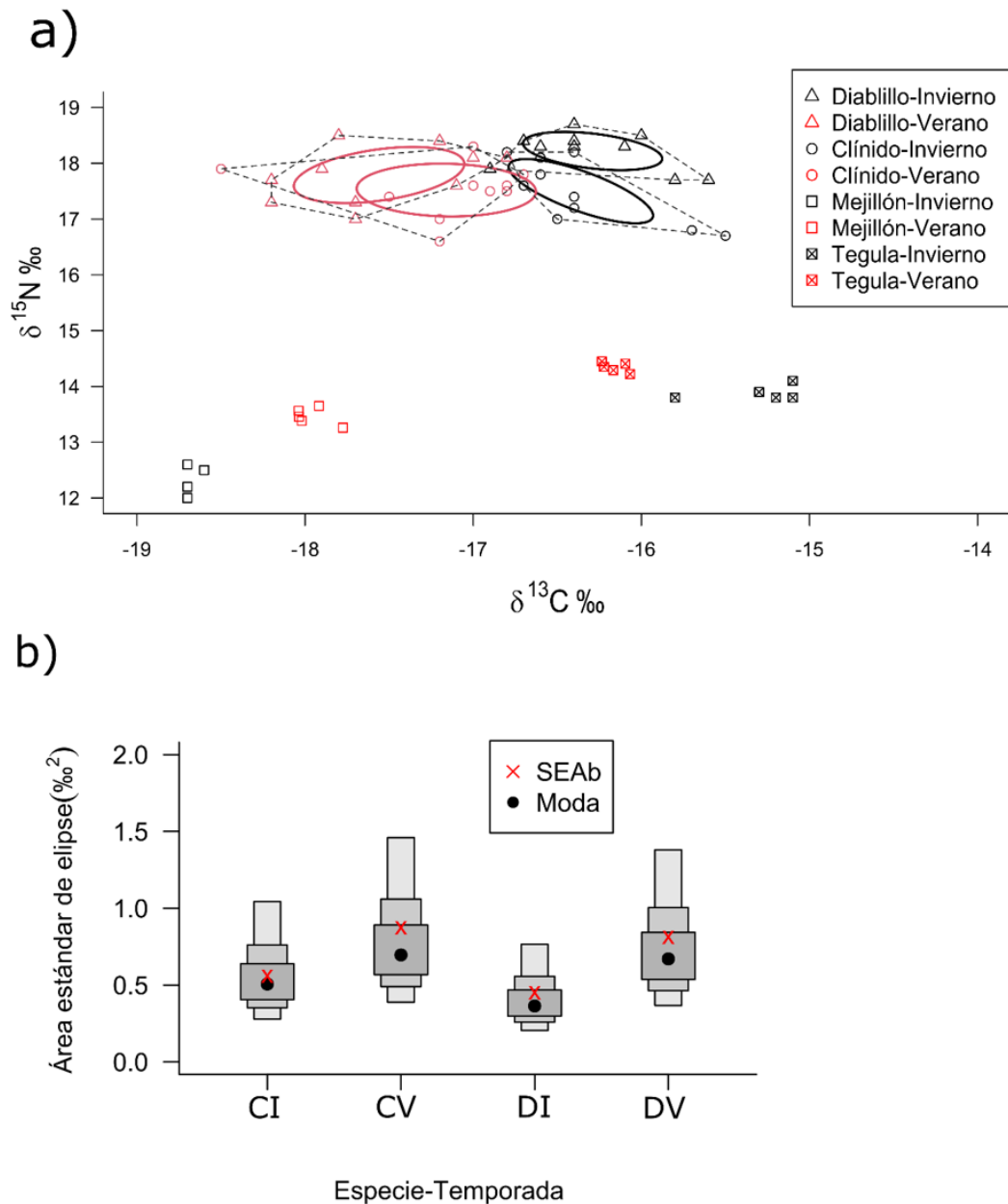


Figura 2.14. Análisis de isótopos estables de diablillo y clínido de golfos norpatagónicos, Argentina. a) Valores de $\delta^{15}\text{N} \text{ ‰}$ y $\delta^{13}\text{C} \text{ ‰}$ para diablillos, clínidos y las líneas de base pelágicas (mejillón) y bentónicas (tegula) cada temporada. Las elipses representan las elipses estándar para cada especie y temporada corregidas para el tamaño de la muestra (SEAc). b) Área de elipse estándar (‰^2) estimada por métodos bayesianos (SEAb) para diablillo y clínido para cada temporada. CI= clínido en invierno, CV= clínido en verano, DI= diablillo en invierno, DV= diablillo en verano.

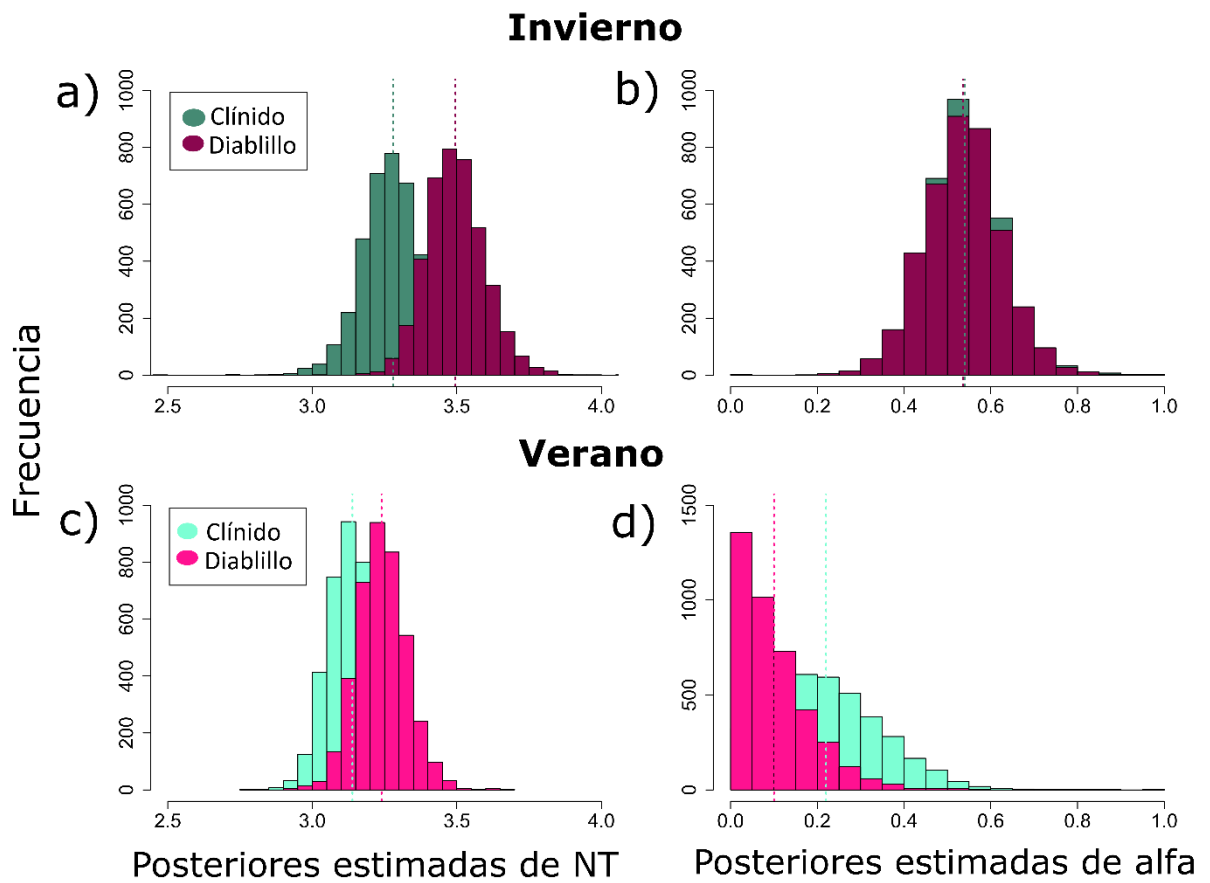


Figura 2.15. Posteriores estimadas del análisis de isótopos estables para clínidos y diablillos diferenciadas por temporada del Golfo Nuevo, Patagonia, Argentina. a) y c) Nivel trófico (NT) para clínidos y diablillos en invierno y verano, respectivamente. b) y d) Alfa (α) para clínidos y diablillo en invierno y verano, respectivamente. Las medias se indican con líneas punteadas.

Tabla 2.5. Comparaciones de las posteriores estimadas de nivel trófico (NT) y alfa (α) para clínicos y diablillos en invierno y verano del Golfo Nuevo, Patagonia, Argentina.

	NT diablillos -invierno	NT clínicos- invierno	NT diablillos -verano	NT clínicos- verano	α diablillos -invierno	α clínicos- invierno	α diablillos -verano	α clínicos- verano
NT diablillos-invierno	-	0.925	0.979*	0.997**				
NT clínicos-invierno	-	-	0.642**	0.867				
NT diablillos-verano	-	-	-	0.797				
NT clínicos-verano	-	-	-	-				
α diablillos-invierno	-	-	-	-	-	0.489	0.998*	0.971**
α clínicos-invierno	-	-	-	-	-	-	0.999**	0.976*
α diablillos-verano	-	-	-	-	-	-	-	0.795
α clínicos-verano	-	-	-	-	-	-	-	-

*Probabilidades superior a 0,95 (significativa).

**Probabilidades con comparaciones sin sentido entre invierno y verano

2.4 Discusión

Los peces del ensamble submareal de los Golfos Nuevo (GN) y San José (GSJ) muestran en general una dieta similar, amplia y carnívora. Las inspecciones visuales mostraron mayor grado de eurifagia para el diablillo *H. cunninghami* que para el clínico *R. eigenmanni*. En general, los resultados confirman la suposición inicial de que las dos especies de peces se encuentran dentro de un mismo nivel trófico y constituyen un gremio trófico. El análisis de isótopos estables reveló que integrando la nutrición anual, la mayor contribución a la dieta de ambas especies de peces proviene de la cadena alimentaria del fitoplancton y la materia orgánica particulada. De esta manera, dado que se alimentan principalmente de crustáceos (malacostracos, ostrácodos, copépodos), que son el recurso más abundante de la zona submareal podría considerarse que los peces se alimentan de manera oportunista. A nivel estacional, se encontró que la dieta de ambas especies cambian en el mismo sentido en invierno y verano, siendo que el mayor aporte proviene de la vía fitoplanctónica en verano y en partes iguales de la vía pelágica y fitoplanctónica en invierno. Sin embargo, encontramos que existen pequeñas diferencias entre las dietas de las especies a nivel de ítems presa, y que estas diferencias podrían explicar el moderado grado de superposición de sus nichos isotópicos.

Finalmente, la utilización de ambas técnicas complementarias permitió entender mejor la biología trófica de los peces. Fue posible describir la dieta, estimar la posición trófica de los peces y también observar diferencias entre invierno y verano a nivel intra e interespecífico.

2.4.1 Descripción general de la dieta

Ambas especies consumieron la mayoría de los filos presentes en el área de estudio. Los filos más reportados para la zona (moluscos, artrópodos, anélidos y equinodermos, Rechimont et al. 2013) son también los ítems presa con las frecuencias de ocurrencias más altas en la dieta de los peces. Los resultados de los análisis de contenido gastrointestinal (CGi) fueron consistentes con trabajos previos en donde los anfípodos, copépodos, poliquetos y gasterópodos constituyen la mayor parte de la dieta de los peces intermareales rocosos (Velasco et al. 2010, Compaire et al. 2016).

Para el diablillo el orden de preferencia de las presas fueron los malacostracos (anfípodos > cumáceos > tanaidaceos) > ostrácodos > copépodos > gasterópodos (tegulas) > erizos. Nuestros datos son similares a estudios previos de composición de dieta para especies de la Familia Tripterygiidae en Australia (Silberschneider y Booth 2001, Feary et al. 2009). En particular para esta especie de diablillo, se encontraron muchas similitudes con lo reportado en un estudio en los submareales de la costa de Chile donde se encontró que *H. cunninghami* se alimenta principalmente de invertebrados bentónicos como bivalvos seguido de cumacea, amphipoda, cirripedia, copepoda, decapoda, gasterpoda, tanaideacea y ostracoda (Winkler et al. 2017). Para el clínido el orden de preferencia de las presas fueron los malacostracos (anfípodos > isópodos) > ostrácodos > copépodos > poliquetos. Al momento, no se encuentra literatura sobre dieta para la especie *R. eigenmanni* pero se encontraron dos estudios para especies de la Familia Clinidae al sureste de Europa (Ozen et al. 2010) y en Chile (Muñoz y Ojeda 1997) que coinciden en gran medida con nuestros datos, en donde encontraron que los copépodos, anfípodos, isópodos, braquiuros, poliquetos y cangrejos fueron las presas más importantes. Estos resultados coinciden con el trabajo de Muñoz y Ojeda (1997) donde las especies de la Familia Tripterygiidae y Clinidae pertenecieron a un mismo gremio de microcarnívoros.

En cuanto a la diversidad de presas, el diablillo *H. cunninghami* mostró mayor grado de eurifagia que el clínido *R. eigenmanni*. Sin embargo, esto puede deberse al menor tamaño de muestras de clínidos que podría limitar el registro de ítems raros. Otro dato a tener en cuenta, es que la menor diversidad y abundancia de ítems presa detectada en el clínido puede deberse a que la mayoría de las muestras fueron tomadas en el GN, mientras que en el caso del diablillo existió una mayor paridad de muestras en el GN y GSJ, en donde la diversidad registrada en la dieta fue bastante equilibrada entre los golfos (en el GN se encontraron ausentes los ofiuros y foraminíferos, mientras que en el GSJ se encontraron ausentes los peces y ascidias). Sin embargo se esperaría que entre golfos pueden existir diferencias a nivel de las especies presentes, pero no a nivel de grupos como Clase u Orden; niveles a las que las diferencias en la amplitud de dieta se mantienen.

2.4.2 Comparación de las dietas de diablillo y clínido

En la introducción del presente capítulo se hipotetizó que las especies que componen el ensamble de peces pequeños son especialistas tróficos que presentan diferencias en el uso de los recursos alimentarios que consumen y que por lo tanto, presentarían bajo solapamiento trófico en términos de ítems presa y nicho isotópico. Los resultados obtenidos respaldan parcialmente la hipótesis original, siendo que las especies serían generalistas tróficos que comparten una gran parte de ítems presa y se nutren en la misma trama trófica, con cambios similares en la base de los recursos alimentarios que consumen durante la temporada de invierno y verano. Si bien existen métodos gráficos para determinar si ambas especies podrían ser especialistas o generalistas (Amusden et al. 1996), se debe tener en cuenta que en este trabajo no fue posible realizarlos dado que la frecuencia numérica de los ítems presa no pudo ser calculada por el grado de descomposición de muchas presas por lo que la estrategia alimentaria no fue evaluada con mayor exactitud.

En términos generales, los análisis de isótopos estables mostraron que los diablillos presentaron un nivel trófico (NT) similar a los clínidos y ambas especies tienen una diversidad trófica similar. Además, se observó que existe un grado de solapamiento medio de la dieta entre ambas especies en el verano, sugiriendo así que las especies más

conspicuas del ensamble de peces pequeños de los submareales rocosos Norpatagónicos son equivalentes desde el punto de vista trófico tal como se pensaba previamente (Muñoz y Ojeda 1997). Sin embargo, el grado de solapamiento trófico en el invierno es nulo a pesar de que se mantiene la similitud en el nivel trófico y amplitud de nicho isotópico. Esto podría deberse a que la partición de los recursos depende de la estación del año y si los recursos son o no limitantes en el ambiente en el que se encuentran. En este sentido se observa que la diversidad trófica en la época de verano fue mayor para ambas especies que durante el invierno. Esto puede deberse a que durante el verano aumenta la abundancia de algas, las cuales albergan crustáceos como anfípodos (Palma y Ojeda 2002) proporcionando así un hábitat para las especies de presa de los peces aquí estudiados (Pérez-Matus et al. 2016). Dado que los crustáceos son la principal fuente de alimentación de los peces, es de esperarse que la oferta alimentaria durante la época de verano sea mayor (Palma y Ojeda 2002). Otro punto de similitud entre las especies es que ambas modifican sus dietas en forma similar respecto a la base de la trama trófica que las nutre (Fig. 2.11a). Esta plasticidad en la dieta es lo que las calificaría como oportunistas (Cybulski et al. 2022). La fuente de nutrición predominante en invierno en la dieta de ambas especies fue similar y provino en partes iguales de los consumidores primarios pelágicos y los raspadores de macroalgas, aunque esta última fue levemente mayor. Esto es consistente con un mayor consumo de organismos como poliquetos, equinodermos y el gasterópodo tegula en el caso de los diablillos, y de poliquetos y tegula en los clínidos. Con respecto a la temporada de verano, la vía de energía predominante en verano en la dieta de ambas especies fue similar y provino del fitoplancton y de la materia orgánica particulada, lo que fue consistente con el mayor consumo de ostracodos, copepodos, anfipodos, bivalvos y ascidias, siendo los crustáceos el ítem presa más común en ambas especies.

A nivel intraespecífico y teniendo en cuenta las temporadas de invierno y verano, tanto las inspecciones visuales como los análisis de isótopos sugirieron para el diablillo una variación estacional en el uso de los recursos. En el caso de los clínidos, las inspecciones visuales mostraron que no existían diferencias entre las temporadas mientras que los análisis de isótopos mostraron que sí existen diferencias en las dietas de invierno y verano. Esto pudo deberse a que si bien las curvas de acumulación mostraron ser

suficientes para llevar a cabo los análisis, como se dijo anteriormente, el número de individuos muestreados en ambos golfos fue desbalanceado y bajo en comparación al número y mejor balance entre golfos que se obtuvieron para los diablillos. Por otro lado, el NT del diablillo en invierno es significativamente mayor que durante el verano, mientras que en el caso del clínido, el NT en invierno y verano resultó similar.

Recientemente se ha observado una drástica disminución de las poblaciones de mejillines *Perumytilus purpuratus* y *Brachidontes rodriguezii* en las costas del GN (Mendez et al. 2021), sin embargo, las causas de la mortalidad masiva aún se desconocen y no es posible establecer si se relaciona con la invasión del cangrejo verde *Carcinus maenas* o con factores climáticos. Estos mejillines formaban parte de las principales presas del cangrejo, pero desde su ausencia, las posibles actuales preferencias en la dieta de los cangrejos son los anfípodos, los poliquetos y los bivalvos (Cordone et al. 2022) que a su vez son las mismas que la de los diablillos y clínidos. En el estudio de Cordone et al. (2023) se sugiere que esta superposición dietaria puede resultar en un aumento de la competencia por parte del cangrejo, lo que puede resultar en un impacto negativo en ambas especies de peces.

Capítulo 3: Evaluación de la contaminación urbana por microplásticos en ambientes submareales del Golfo Nuevo

- La información contenida en este capítulo fue publicada en Ríos et al. (2020).
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111491>

3.1 Introducción

La contaminación plástica en los océanos se ha convertido en un problema a nivel global. Ha aumentado exponencialmente desde principios de la década de 1950, alcanzando los 322 millones de toneladas en 2015, y se espera que la producción de plásticos continúe aumentando en el futuro previsible y es probable que los niveles de producción se dupliquen para 2025 (Lusher et al. 2017). Numerosas actividades humanas, realizadas tanto cerca como lejos de las zonas costeras, tienen un impacto negativo en el medio marino y en los organismos que lo habitan (Avio et al. 2017, Rezania et al. 2018). La contaminación plástica causa daños a la vida silvestre a través del enredo y la ingestión (Gregory, 2009). Los microplásticos (MPs) son principalmente el resultado de la descomposición de productos plásticos más grandes cuando se exponen a la luz ultravioleta y la abrasión física, pero también incluyen fibras sintéticas de lavado y microesferas añadidas a limpiadores y pastas dentales, con tamaños inferiores a 5 mm (Arthur et al. 2009). Este tipo de material está muy extendido en el medio marino, ya sea en la columna de agua, como depositadas en las playas y en los sedimentos submareales (Andrady 2011, Ling et al. 2017), por lo que está disponible para ser ingerido por una amplia gama de organismos marinos.

El Océano Atlántico Sur reportó tener las densidades más bajas de contaminación plástica (0–1.5 ítems/ha, Barnes et al. 2009), sin embargo, la cantidad de estudios realizados en América del Sur son escasos en comparación con los países desarrollados (Eriksen et al. 2014). Afortunadamente, hay un número creciente de estudios sobre MPs en América del Sur (ver Barletta et al. 2019 para una revisión reciente) centrados principalmente en los estuarios y que evidencian el impacto ecológico y económico

potencial de este contaminante (por ejemplo, Ivar do Sul et al. 2009, Lozoya et al. 2016). Particularmente, en Argentina se han documentado desechos plásticos en la plataforma continental (Ronda et al. 2019) y también en ambientes costeros, ya sea en estuarios del Río de la Plata (Acha et al. 2003, Pazos et al. 2018, 2021) y Bahía Blanca (Fernández Severini et al. 2019, Villagran et al. 2020), como en playas urbanas (Denuncio y Bastida 2014, Truchet et al. 2021, Ronda et al. 2023). En cuanto a la presencia de MPs y su ingestión por organismos acuáticos, Pazos et al. (2017) encontraron que las 11 especies de peces costeros de agua dulce del estuario del Río de la Plata exhibían MPs en su contenido intestinal y que las fibras representaban el 96 % del plástico ingerido. Del mismo modo, Arias et al. (2019), Fernández Severini et al. (2019) y Villagrán et al. (2020) reportaron la presencia de MPs en especies de peces comerciales marinos, bivalvos y cangrejos del estuario de Bahía Blanca, respectivamente.

Al momento, son muy pocos los estudios sobre la contaminación por MPs a lo largo de los casi 3000 km de la costa patagónica argentina. Entre ellos, se encuentran estudios en agua y sedimentos en el estuario del Río Chubut (Giarratano et al. 2022), en contenido intestinal de juveniles del pejerrey patagónico *Odontesthes sp.* en el Golfo San Matías (Mendoza et al. 2022) y en tejido blando de mejillón *Mytilus chilensis* (Pérez et al. 2020) y de lapa *Nacella magellanica* (Ojeda et al. 2021) en el Canal de Beagle, Tierra del Fuego. El Golfo Nuevo (GN) constituye uno de los tres golfos del norte de la Patagonia. Estos golfos son una de las zonas más ricas del Mar Argentino por su alta productividad y diversidad biológica. El GN tiene una cuenca profunda con un amplio giro ciclónico durante todo el año (Tonini et al. 2013). La principal área urbana del GN es la ciudad de Puerto Madryn, con una población de más de 100.000 habitantes y una actividad industrial intensa.

La ciudad tiene dos puertos con alto tráfico marítimo, tanto para la industria (es decir, el transporte de materiales para las industrias pesqueras y la producción de aluminio) como para el turismo con grandes cruceros y embarcaciones deportivas. El GN es una cuenca semicerrada con intercambio de agua restringido con la plataforma marina, por lo que tiene el potencial de acumular y concentrar emisiones contaminantes y magnificar sus efectos en el ambiente. Se han documentado diferentes contaminantes antropogénicos, como contaminantes persistentes (HAP) o metales traza en organismos

y ambientes cercanos a las zonas portuarias de Puerto Madryn (Giarratano et al. 2013, Primost et al. 2018). Sin embargo, aún no se han publicado estudios de MPs en organismos o en el medio acuático cercano a la ciudad.

Las especies de bivalvos, como filtradores, se utilizan como especies bioindicadoras en la mayoría de los estudios que evalúan la contaminación por MPs (de Sá et al. 2018, Li et al. 2016a). En este estudio, también se incluyeron peces microcarnívoros con un tamaño corporal pequeño (es decir, menos de 15 cm de longitud total). Los peces pequeños pueden ser particularmente susceptibles a los impactos negativos de la exposición a MP, con una posible biomagnificación en toda la cadena alimentaria (Ferreira et al. 2019, Lehtiniemi et al. 2018). Las especies de tamaño pequeño son probablemente más propensas a confundir a los MP con presas (Ory et al. 2017) o a sufrir interferencias mecánicas en el proceso de alimentación y digestión que los peces de tamaño comercial (Jovanović 2017); entonces, los peces pequeños son posiblemente indicadores precisos de la contaminación por MP.

El presente estudio evalúa los tipos de MP y sus abundancias en peces de ambientes bentónicos cercano a la zona urbana de Puerto Madryn. Por ser los peces depredadores visuales activos, tendrían una composición de tamaño y color de los MPs diferente respecto a lo encontrado en el agua de fondo circundante y en filtradores como bivalvos. En este contexto, el muestreo incluye tres pequeños peces bentónicos (Diablillo, Clínido y juvenil de Róbalo *Eleginops maclovinus*) y, utilizados como línea de base, el agua de fondo y organismos representativos como la cholga (*Aulacomya atra*). La hipótesis de este capítulo es que los peces están más contaminados con MPs en el sitio cercano a la ciudad que en los sitios alejados del foco de contaminación. Este es el primer estudio sobre la interacción entre MPs y organismos acuáticos en un ambiente marino norpatagónico.

3.2 Materiales y Métodos

3.2.1 Muestreo

Se tomaron muestras de cholgas, peces y agua de fondo en tres sitios cercanos a la ciudad de Puerto Madryn: Playa Paraná, Náutico y Punta Arco (Figura 3.1). El sitio Náutico está ubicado frente a la ciudad, en una zona portuaria entre dos puertos. El

tráfico marítimo y la proximidad a zonas urbanas e industriales hacen de este sitio un foco de contaminación. Los dos sitios restantes están ubicados a 7 u 8 km del sitio Náutico, uno a cada lado. Estos dos sitios no se encuentran frente a ningún asentamiento urbano, ni tienen tráfico de embarcaciones comerciales ni actividades industriales. El muestreo se realizó en abril de 2019 en aguas con profundidades entre 5 y 8 m. Los peces se recolectaron con una red de arrastre de boca pequeña (abertura horizontal de ~0,6 m, malla de 1 cm) y se clasificaron en el laboratorio. Se recolectaron tres especies de peces en todos los sitios: *H. cunninghami* (N=39, rango de longitud total=27–44 mm y rango de masa corporal=0,19–1,02 g), *R. eigenmanni* (N=9, rango de longitud total=25– 60 mm y rango de masa corporal = 0,15 a 1,78 g) y *E. maclovinus* juvenil (N = 30, rango de longitud total = 35 a 65 mm y rango de masa corporal = 0,43 a 3,13 g). Las cholgas (*A. atra*) se recolectaron mediante buceo (N = 94, rango de longitud de la concha = 30 - 83 mm y rango de masa corporal de 0,6 a 15,8 g). El agua se recolectó 1 m sobre el fondo usando una botella Niskin. Se eligió el muestreo de agua de fondo porque representa el medio bentónico circundante donde habitan los organismos seleccionados. Las cholgas y los peces se almacenaron en bolsas de plástico nuevas. Las bolsas se etiquetaron, transportaron a las instalaciones del laboratorio y se almacenaron a -20 °C antes del análisis de MP. El agua de fondo se almacenó en botellas de plástico nuevas, se etiquetó y se transportó al laboratorio, donde se procesó el mismo día. Todas las bolsas y botellas fueron previamente enjuagadas con agua filtrada con malla de 30 µm de tamaño.

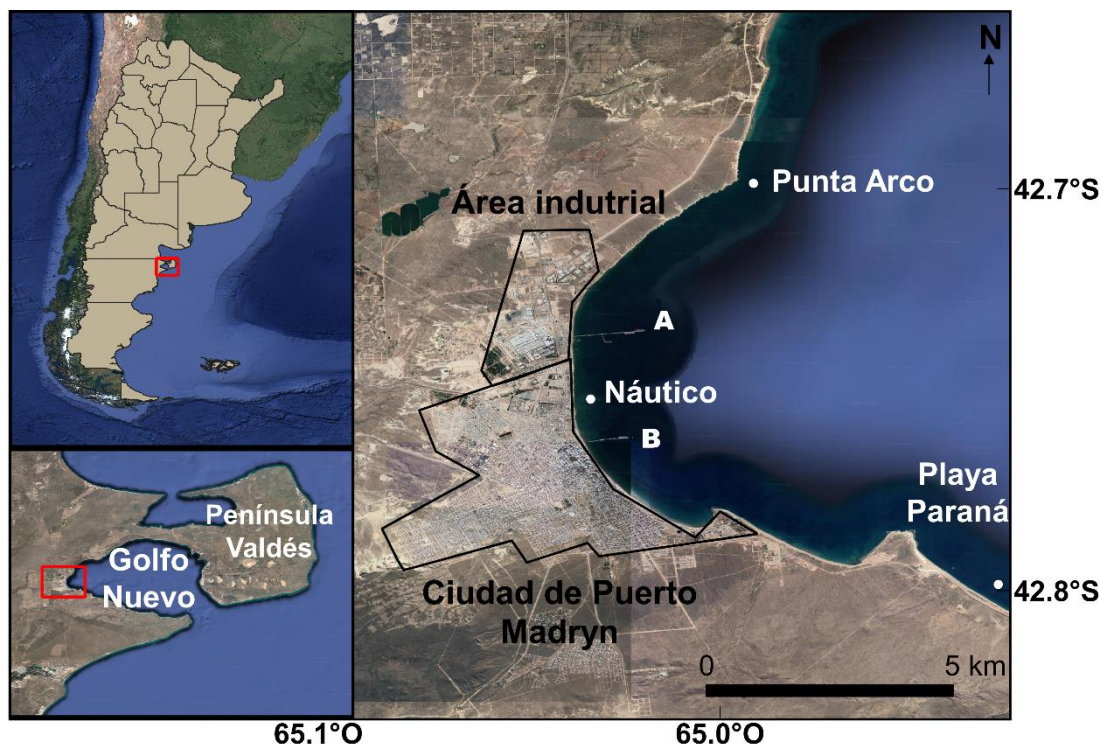


Figura 3.1. Área de muestreo en Golfo Nuevo y ubicación de los sitios de muestreo (Map data ©2015 Google). El área portuaria incluye los puertos Storni (A) y Luis Piedrabuena (B).

3.2.2 Trabajo de laboratorio

Se seleccionaron los tejidos blandos totales de cholgas y el tracto gastrointestinal completo en peces para el análisis de MP. Previamente, se registró el peso húmedo total del tejido blando en cholgas y el peso húmedo total del cuerpo entero en peces. Los tejidos seleccionados se sometieron a una solución de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) al 30 % a 60 °C en una placa caliente, durante 24 a 48 h, hasta casi digerir por completo la materia orgánica (Avio et al. 2015, Digka et al. 2018). Para ello, los tractos gastrointestinales de cada pez fueron tratados individualmente con 5 ml de la solución de H_2O_2 . En el caso de las cholgas, se prepararon cinco repeticiones en cada sitio con tejidos blandos de 5 a 10 individuos (alrededor de 20 g cada muestra) y se colocaron en botellas de vidrio agregando 100 ml de la solución digestiva. En el caso de las muestras de peces, los mismos platos utilizados en el proceso de digestión se utilizaron posteriormente para la inspección de los MP. Las muestras de cholga, al contener más tejidos, habían sido previamente filtradas con una malla de 30 μm de tamaño y enjuagadas con agua destilada prefiltrada para eliminar la espuma orgánica generada

por el proceso de digestión. Posteriormente, se colocaron en placas de Petri nuevas y limpias y se secaron en la placa caliente para su posterior inspección.

Las muestras de agua de fondo se filtraron utilizando filtros de microfibra de vidrio Munktell® de 0,7 µm de tamaño de poro y una bomba de vacío. Se filtró un total de 4.5 l de agua de mar por cada sitio. Dichos filtros se colocaron en cajas Petri con la solución digestiva a 60 °C, por 24hs. Para eliminar todas las partículas retenidas en los filtros, se retiraron cada una de ellas y enjuagadas con agua filtrada de 30 µm en las mismas placas donde se había realizado la digestión. Finalmente, las placas se colocaron nuevamente en la plancha caliente hasta que se evaporó toda el agua.

Después del proceso de digestión, las muestras fueron examinadas bajo un microscopio óptico Zeiss Stemi 2000c con un aumento de 50x. Los elementos con aspecto de MP se fotografiaron con una cámara digital Canon Powershot G12 montada en el microscopio, se contaron y clasificaron según la longitud, color y tipo (fibras o fragmentos) (Figura 3.2). Se aplicaron tres reglas en un primer paso para discriminar entre plástico y no plástico como lo describe Hidalgo-Ruz et al. (2012): (1) el objeto no debe tener estructuras celulares u orgánicas, (2) las fibras deben tener el mismo grosor en toda su longitud, (3) el color de las partículas debe ser claro y homogéneo, y si son transparentes o blancas, deben examinarse con gran aumento y un microscopio de fluorescencia. Siguiendo estas reglas, se empleó luz ultravioleta para detectar MP potenciales blancos o transparentes, que no son detectables con luz visible (Figura 3.2C). La mayoría de las partículas y caparazones orgánicos se distinguieron fácilmente como elementos no plásticos a través del microscopio debido a su textura y color, por lo que se excluyeron de análisis posteriores.

Para evitar cualquier contaminación cruzada con MP, se consideraron varias precauciones durante los procedimientos de campo y laboratorio. El agua destilada utilizada fue siempre prefiltrada con malla de 30 µm de tamaño. Todos los filtros, placas, bolsas y botellas utilizados fueron previamente enjuagados con el agua destilada prefiltrada. De igual forma, la solución de H₂O₂ se realizó utilizando agua destilada prefiltrada. Todas las superficies de trabajo se limpiaron con etanol y papel tisú, y durante todo el proceso se vistieron guardapolvos de algodón blanco, evitando corrientes de aire manteniendo la sala cerrada. Siempre que fue posible se utilizaron

recipientes e instrumentos de vidrio y metal. Los filtros de muestreo se guardaron en sobres de aluminio hasta el momento del análisis, y todos los instrumentos y recipientes se cubrieron con papel de aluminio durante la digestión y cuando no se usaban. Además, para probar la contaminación ambiental, colocamos placas limpias al azar como blancos durante la inspección óptica. No se detectaron eventos de contaminación cruzada durante el procedimiento.

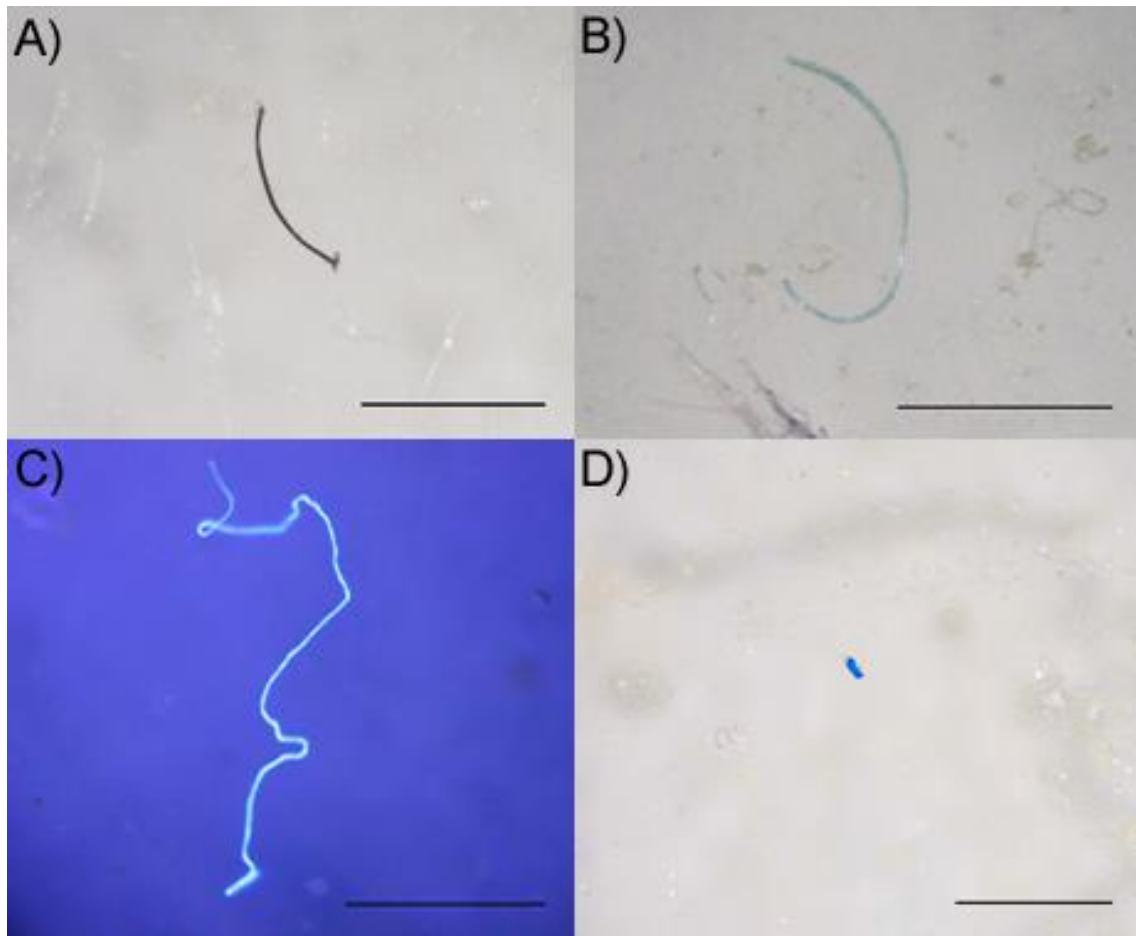


Figura 3.2. Microscopía óptica para inspección de plásticos de todas las muestras. Fibras (A, B y C) y fragmento (D). La fibra transparente (C) se detectó usando luz ultravioleta. Las barras negras indican una escala de 1 mm.

3.2.3 Análisis SEM-EDS

La microscopía óptica sirve como el primer paso en la detección de MP, sin embargo, algunas partículas pueden identificarse de manera errónea fácilmente. Por lo tanto, existen análisis complementarios que deben utilizarse para distinguir fácilmente los

materiales plásticos de otros compuestos. En este estudio se utilizó microscopía electrónica de barrido/espectrometría de rayos X de dispersión de energía (SEM/EDS) para una mayor diferenciación de las partículas. Este análisis fue más útil para proporcionar firmas de composición elemental, siguiendo los criterios empleados en trabajos anteriores (Eriksen et al. 2013, Fries et al. 2013, Wang et al. 2017).

Para este análisis, los ítems se extendieron sobre una cinta de carbón adhesiva y conductora de doble faz (Figura 3.3). Para este procedimiento primero frotamos una aguja de metal sobre la cinta adhesiva y luego pegamos la partícula a la aguja y la colocamos con cuidado sobre la cinta. Las cintas se montaron en un portamuestras SEM de aluminio y luego se analizaron en un SEM/EDS (Jeol JSM-6460LV). La morfología de las muestras se examinó bajo un SEM y las imágenes se tomaron a x400 con un voltaje de aceleración de 25 kV. Además de la inspección SEM, la composición elemental cualitativa de cada elemento se proporcionó mediante un EDS. El análisis EDS se realizó a un alto vacío de 20 Pa, una distancia de trabajo de 13 mm y un tamaño de punto de 55.

Inicialmente, se analizaron 16 piezas de materiales de referencia con SEM/EDS: se inspeccionaron materiales plásticos (PET, PVC, PE) y no plásticos (hueso, exoesqueleto de crustáceo, algodón) que se podían encontrar en muestras naturales. Posteriormente, se seleccionaron 12 partículas aisladas de cholgas, peces y muestras de agua del fondo a través de inspecciones con microscopio óptico, que abarcan todos los diferentes tipos de partículas MP potenciales (Figura 3.3). Esta información se utilizó para incluir o descartar partículas en la categoría de MP.

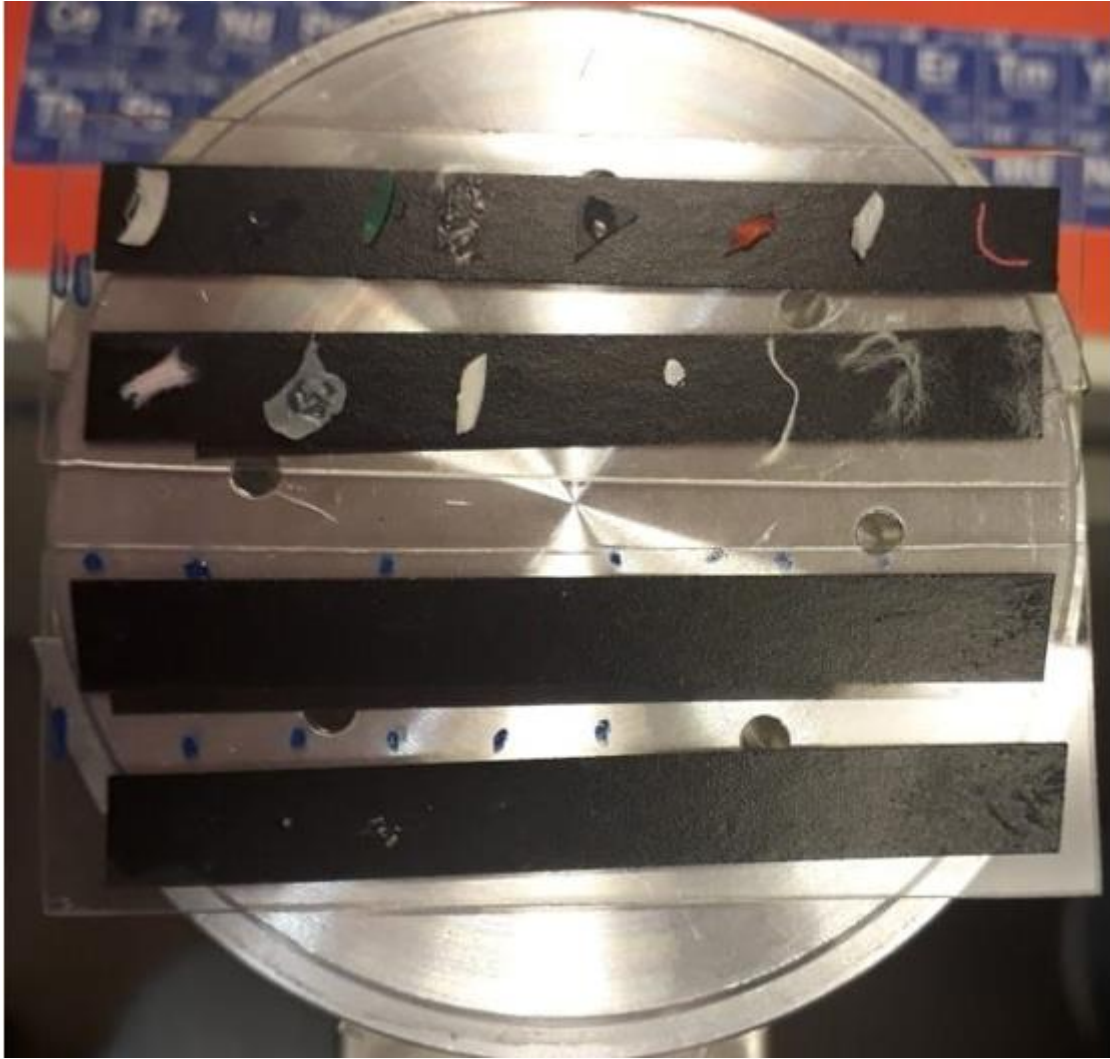


Figura 3.3 Preparación de las muestras para análisis de SEM-EDS. Las dos cintas negras superiores tienen plásticos de origen conocido (control) y las dos inferiores partículas de plástico sospechosas provenientes de las muestras de peces, cholgas y agua de fondo.

3.2.4 Análisis de los datos

Los recuentos de MP se transformaron como ítems de MP por gramo (g) del peso húmedo total (ph) (items/g de peso húmedo) de los organismos (el cuerpo entero en peces y el tejido blando completo en cholgas) e ítems de MPs por litro de agua. Las muestras en peces están representadas por individuo, mientras que las muestras en cholgas consisten en grupos de 3 a 11 tejidos blandos que alcanzaron los 14 a 35 g cada uno. Los datos de abundancia no cumplieron con los supuestos de las pruebas paramétricas, probablemente porque están truncados a cero y contienen algunos ceros. Luego, se realizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis (Zar, 1999) para examinar

las diferencias entre sitios estratificados por matrices (peces y cholgas). Se realizó una regresión por cuantiles (RQ) para detectar una posible relación entre la masa corporal de peces o cholgas y el número de MPs ingeridos. Por la misma razón que los datos de abundancia no cumplieron con los supuestos de normalidad, una RQ realizada en el cuantil 0,90 es un enfoque sólido para identificar tales posibles tendencias (Scharf et al. 1998). La hipótesis nula de pendiente $b=0$ (es decir, ausencia de relación) se evaluó probando si el IC del 95% del parámetro b incluye al cero. Las diferencias en el tamaño de MPs entre matrices y sitios de muestreo se probaron mediante un ANOVA multifactorial y una comparación de pares a posteriori usando la prueba Tukey HSD (Zar, 1999). Los datos de tamaño se transformaron logarítmicamente para lograr los supuestos de las pruebas paramétricas. Todos los análisis de datos se realizaron con el software R versión 3.5 (R Core Team, 2018).

3.3 Resultados

3.3.1 Identificación de MPs

Los espectros químicos obtenidos de los materiales de referencia analizados por SEM/EDS mostraron que los ítems de plástico presentaban un pico fuerte de carbono (C), seguido en algunos casos por un pico débil de oxígeno (O) (Figura 3.4, A-C). La excepción fueron los casos de materiales de cloruro de polivinilo (PVC), cuyo espectro denotaba un pico fuerte de cloruro (Cl) en lugar de C (Figura 3.4D). Por otro lado, las partículas no plásticas podrían ser reconocidas por fuertes picos de otros elementos como es el caso de huesos (calcio, fósforo), pelos (azufre), valvas (con alto contenido en calcio), o fibras de algodón (pico mediano de O) (Figura 3.4, E-H).

Como resultado de los análisis SEM/EDS de los diferentes tipos de partículas encontradas en muestras de agua, bivalvos y peces, el 41,6 % de los elementos del muestreo de campo se identificaron como no plásticos y fueron desechados en análisis posteriores. Las partículas similares al plástico tienen un pico de C fuerte y, por lo general, otro pico de O débil (Figura 3.5 A y B). Sin embargo, hay partículas sintéticas como el PVC que también presentan picos de Cl (Figura 3.5 E), o picos fuertes de silicio (Si) como las fibras de vidrio y que podrían confundirse con frústulas de diatomeas al realizar únicamente un análisis EDS (Figura 3.5 C y D).

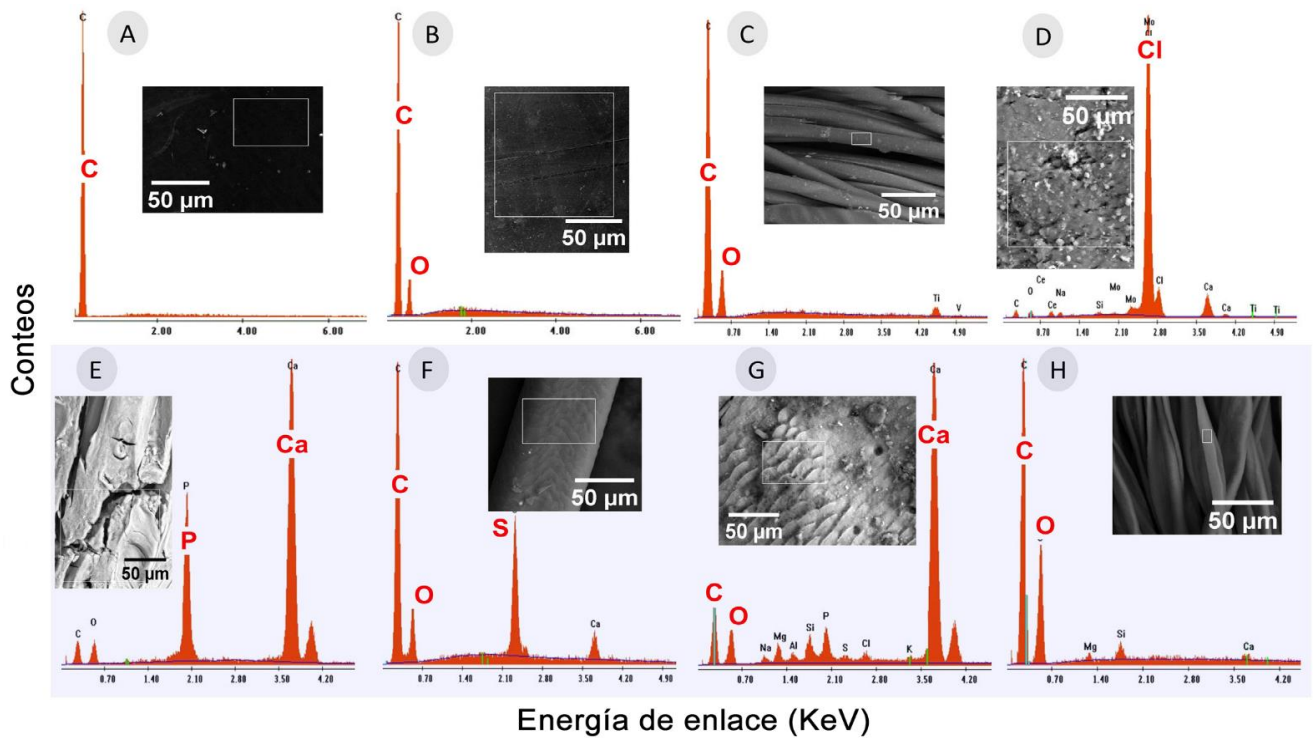


Figura 3.4. Caracterización de muestras patrón con SEM (fotos) y EDS (gráficos). Los paneles superior e inferior muestran partículas de plástico y no plástico, respectivamente. A) polietileno (PE); B) tereftalato de polietileno (PET); C) poliéster; D) cloruro de polivinilo (PVC); E) hueso; f) pelo; G) CaCO_2 ; H) fibra de algodón. Las letras rojas muestran fuertes picos de elementos químicos. Las barras en las fotos indican una escala de $50 \mu\text{m}$.

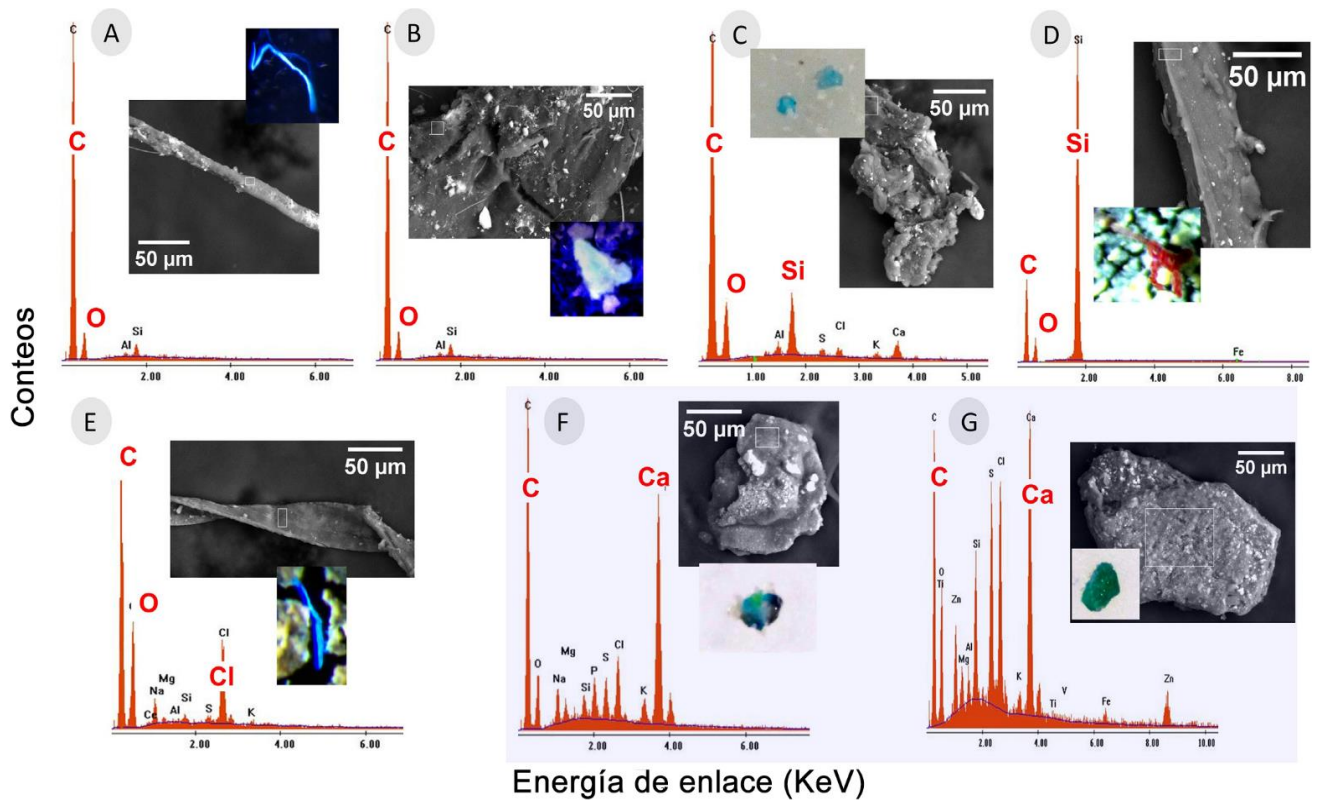


Figura 3.5. Identificación de MPs con SEM (fotos grises) y EDS (gráficos). También se muestran las partículas identificadas por primera vez con microscopio óptico usando luz visible o ultravioleta (fotos a color). De la A a la E, partículas clasificadas como MPs. Paneles F y G, partículas clasificadas como no MP. Las letras rojas muestran fuertes picos de elementos químicos. Las barras en las fotos indican una escala de 50 µm.

3.3.2 Abundancia de MPs

No hubo diferencias significativas en la abundancia de MPs entre los tres sitios de muestreo, ni en peces ni en cholgas (prueba de Kruskal-Wallis, $H_{(5,94)}=2,6$, $P=0,27$). Aunque sin significancia estadística, la mayor abundancia promedio de MPs se encontró en Punta Arco para ambos organismos (peces y cholgas) (Figura 3.6). En contraste, la mayor abundancia en agua de fondo se encontró en Playa Paraná (Figura 3.6), sin embargo, debemos tomar este resultado con cautela debido a la falta de repeticiones. Los peces presentaron la mayor abundancia: se identificaron un total de 55 partículas de MPs, con un promedio general de 1,6 MPs ítems/g ph (0,6 ítem/ind.), y una ocurrencia de 38,5%. También se encontró una relación significativa ($P < 0,05$) y negativa entre la masa corporal de los peces y el número de MP (Figura 3.7); en donde la pendiente del RQ para el cuantil 0,90 fue negativa y diferente de cero ($b=-1,03$; IC

95%=-1,18 -0,13). En el caso de los tejidos blandos de cholga se identificaron un total de 103 MPs, con una media general de 0,3 ítems/g ph. No se encontró relación (análisis de la regresión $F_{(1,14)}=0,19$ y $P=0,85$) entre la masa corporal de las cholgas y el número de MPs. En cuanto al agua de fondo, se identificaron un total de 124 partículas MPs, con una concentración media para los tres sitios de 10,5 unidades/l (Figura 3.6).

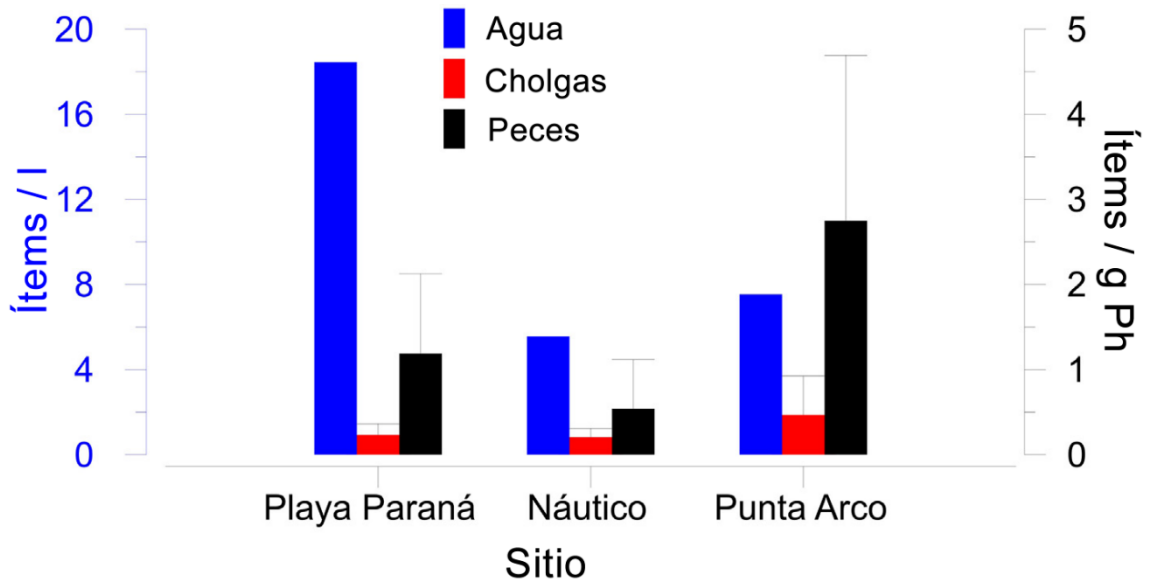


Figura 3.6. Abundancia de MPs en tres matrices del hábitat bentónico: tejido blando de cholgas, tracto gastrointestinal de tres peces bentónicos y agua de fondo. Las barras y los bigotes indican la media y el IC del 95 %, respectivamente.

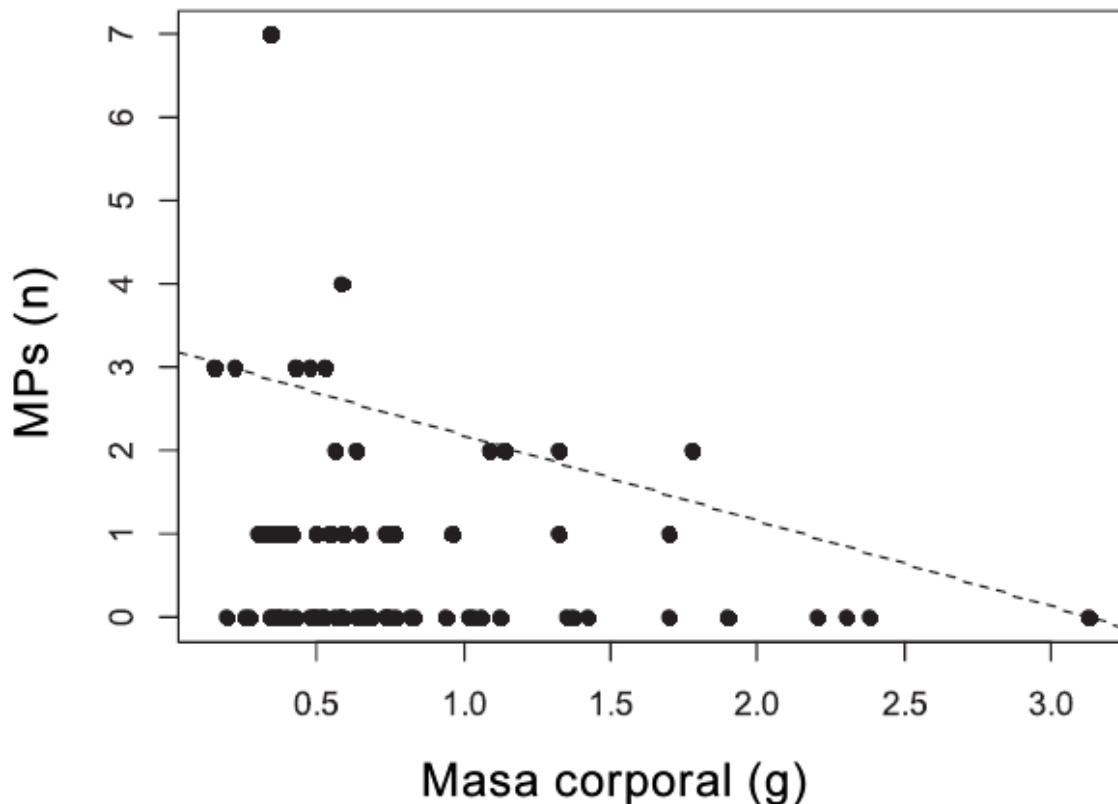


Figura 3.7. Relación entre el tamaño corporal de los peces (expresado en gramos) y el número de MPs que se encuentran en sus tractos gastrointestinales. La línea discontinua muestra los valores esperados de la regresión cuantil (QR) para los cuantiles 0,90.

3.3.3 Tipos de MPs

En cuanto a la caracterización de los MPs, los de color blanco/transparente fueron los más abundantes en todas las matrices: 79 % en agua, 67,9 % en cholgas y 41,1 % en peces (Figura 3.8). En el agua de fondo, el color amarillo es el siguiente más abundante. En el caso de las cholgas, el color negro es el siguiente en abundancia seguido del amarillo. En el caso de los peces, presentaron una singular elevada cantidad de partículas de color azul, solo superadas por las blancas/transparentes. En resumen, la proporción de color de los MPs que se encuentran en las cholgas se parece a la que se observa en las aguas del fondo, siendo diferente al comparar los patrones de color de los MPs que ingieren los peces, principalmente debido a la gran cantidad de partículas azules que se encuentran en estos últimos. Con respecto a las formas de los MPs (fibras y fragmentos), las microfibras fueron la clase de MPs más abundante en todas las muestras, representando en promedio el 90,3 % de los MPs encontrados. Respecto a los

fragmentos, su abundancia en cholgas fue ligeramente mayor (12,7 %) que en los peces (10 %) y el agua de fondo (9,7 %).

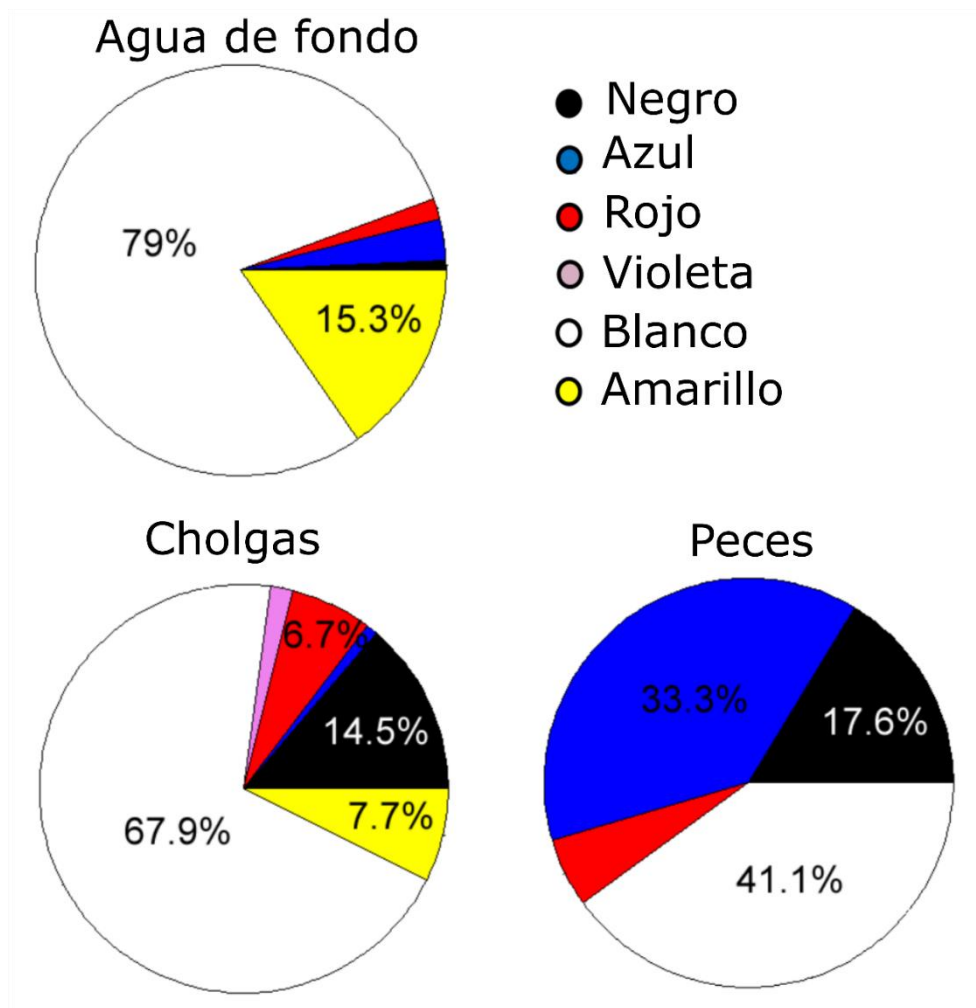


Figura 3.8. Los gráficos de torta muestran el porcentaje de cada color de los MPs que se encuentran en las tres matrices.

3.3.4 Tamaños de MPs

En cuanto al tamaño de los MPs, no hubo relación significativa entre sitios y matrices ($F_{(4,263)}=0,98$, $P=0,41$), variando desde un mínimo de 0,05 hasta un máximo de 4,97 mm. Además, no existen diferencias significativas entre sitios ($F_{(2,263)}=1,50$, $P=0,23$). Sin embargo, el tamaño de MPs tuvo diferencias significativas entre matrices ($F_{(2,263)}=8,56$, $P < 0,01$). Los contrastes mostraron que en el agua de fondo el tamaño de los ítems eran más pequeños que en las cholgas ($P = 0,05$) y en los peces ($P < 0,01$), pero los cholgas no

se diferenciaron de los peces ($P = 0,11$), con valores promedio de 0,81, 1,25 y 1,59, respectivamente (Figura 3.9).

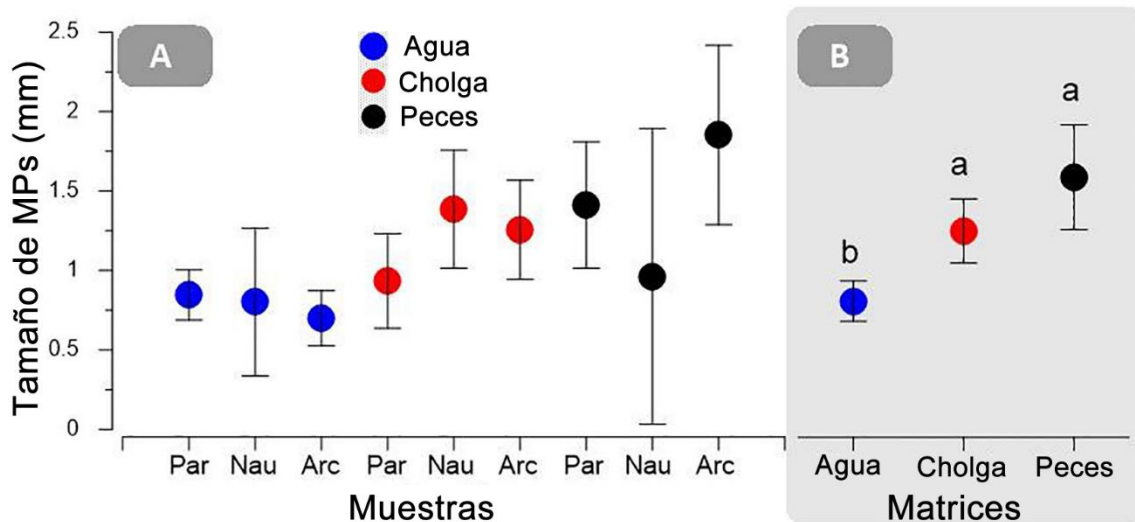


Figura 3.9. Tamaño de los MPs. Los paneles A y B muestran arreglos diferentes de los mismos datos. Los círculos y los bigotes representan la media y el IC del 95 %, respectivamente. Las letras minúsculas en el panel B indican grupos homogéneos usando la prueba Tukey HSD. Par=Playa Paraná; Nau=Náutico; Arco=Punta Arco.

3.4 Discusión

Los resultados aquí presentados fueron al momento de su publicación (Ríos et al. 2020) el primer monitoreo de contaminación por MPs en la costa patagónica argentina. La evaluación abarcó matrices bióticas y abióticas; lo cual es crucial para evaluar el riesgo de contaminación por MPs a escala de ecosistema. Nos enfocamos en el ecosistema bentónico cercano a un área urbana e industrial para probar su impacto directo en la costa y presentar una línea de base para el futuro monitoreo y política ambiental local.

3.4.1 Identificación de MPs

Las partículas fueron identificadas por microscopía óptica y posteriormente incluidas/descartadas en la categoría MP por análisis SEM/EDS. Estas técnicas combinadas pueden ofrecer una precisión rápida y aceptable para detectar partículas MPs en entornos marinos (Wang et al. 2017). Sin embargo, existen otras técnicas más favorables para identificar MPs, como la espectroscopia Raman y FTIR, pero su proceso

de análisis es más costoso y requiere más tiempo. La espectroscopia Raman y FTIR puede identificar el tipo de polímero de las muestras, lo cual es importante para especular sobre la fuente. En el presente estudio, los autores fueron conservadores y mediante análisis SEM/EDS se descartó un total del 41,6% de las partículas plásticas previamente seleccionadas por microscopía óptica. Esas partículas eran principalmente partes de valvas. Sin embargo, debemos reconocer que algunas partículas que creemos que son MPs pueden ser microfibras no sintéticas (Carr, 2017). Los materiales no plásticos, como el algodón, fueron descubiertos en muestras del océano por Barrows et al. (2018). El tiempo de degradación y las amenazas de esas microfibras no sintéticas para los ecosistemas acuáticos merecen más investigaciones debido a las tinturas y otros aditivos utilizados en la producción textil. Por otro lado, encontramos fibras con un pico alto de Si correspondientes a materiales de fibra de vidrio roja. Las partículas pequeñas de fibra de vidrio no se identificaron ni informaron en estudios anteriores, ya que no son plásticos. Sin embargo, al igual que otras fibras pequeñas, podrían haber adsorbido contaminantes orgánicos o metálicos, o adherido microorganismos peligrosos (Oberbeckmann et al. 2015, Wang et al. 2016). Por lo tanto, consideramos que estas fibras deben tenerse en cuenta en futuras investigaciones para evaluar la contaminación por micropartículas producidas por humanos.

3.4.2 Abundancia de MPs

En los estudios de MPs se utilizan una gran variedad de métodos de muestreo en donde se recolectan MPs con rangos de tamaño diferentes. Por ejemplo, varios estudios subestiman la abundancia de MPs en la superficie del mar, como las investigaciones pelágicas mediante el despliegue de redes neuston y bongo con mallas de alrededor de 0,33 mm (Hidalgo-Ruz et al. 2012) que pierden las partículas más pequeñas. Las partículas de MPs pequeñas de menos de 0,33 mm demostraron representar una alta proporción del total de partículas plásticas en estudios que combinaron redes y botellas de muestreo (Di Mauro et al. 2017), o bomba de agua de mar a bordo (Lusher et al. 2015). De hecho, los estudios de redes de arrastre podrían estar submuestreando la densidad de partículas en aproximadamente tres órdenes de magnitud (Barrows et al. 2017). En el presente estudio, combinamos muestras de agua de fondo con organismos

vivos. Así, la presencia de MPs retenidos cerca de la ciudad de Puerto Madryn fueron recolectados en una matriz abiótica y matrices bióticas representadas por la cholga filtradora y tres especies de peces bentónicos pequeños. Como los sitios muestreados tenían profundidades de entre 5 y 8 m y las mareas oscilan hasta los 5 m, el agua del fondo podría considerarse representativa de la columna de agua y es comparable con aquellas investigaciones que utilizan botellas, baldes/frascos o dispositivos de bombas bajo la superficie. Encontramos una concentración de MPs de 5 a 18 ítems/l (18000 ítems/m³), similar a las encontradas en aguas costeras del Atlántico obtenidas en el estudio global de aguas de Barrows et al. (2018), con una media de 6 ítems/l. Nuestros hallazgos también pueden considerarse cercanos a los de las aguas costeras del Reino Unido (Li et al. 2018, 1,5–6,7 ítems/l) o China (Qu et al. 2018, 0,68–6,44 ítems/l) , pero mucho más bajas que las reportadas en el Golfo de México (Di Mauro et al. 2017, 60–157 ítems/l), o la costa del Mar del Norte (Karlsson et al. 2017, 27 ítems/l). Nuestros resultados sugieren que las aguas costeras de Puerto Madryn presentan valores similares a la mayoría de las zonas costeras, contrario a las expectativas iniciales (Barrows et al. 2018). Sin embargo, los valores informados aquí fueron menores que los de las regiones polares, donde la contaminación es mucho mayor; áreas donde los MPs estarían fuertemente concentrados por las corrientes (Eriksen et al. 2014), o son el resultado de malas prácticas de gestión de residuos en áreas cercanas con intensa actividad antrópica. Al comparar los niveles con regiones de Sudamérica, las concentraciones de microplásticos fueron casi la mitad de las informadas en Brasil (~ 0,3 ítems/m³) (Garcia et al. 2020).

La retención de MPs en cholgas está estrechamente relacionada con la actividad humana (Li et al. 2016b). Las cholgas del presente estudio presentaron valores de 0,22 a 0,59 ítems/g ph, comparables con valores bajos observados en varias costas europeas (De Witte et al. 2014, Van Cauwenberghe y Janssen 2014, Van Cauwenberghe et al. 2015, Vandermeersch et al. 2015). Por otro lado, se reportaron valores medios o altos de contaminación (de 1 a 10 ítems/g ph) en cholgas de costas de Canadá (Mathalon y Hill, 2014), Reino Unido (Li et al. 2018), China (Li et al. 2016a, Qu et al. 2018), Noruega (Lusher et al. 2017) y Sudáfrica (Sparks, 2020). Se ha informado ampliamente sobre el consumo de microplásticos por tamaño de peces comerciales, incluidas las poblaciones

pelágicas y demersales en ambientes marinos y de agua dulce (p. ej., Neves et al. 2015, Romeo et al. 2015). Hasta donde sabemos, actualmente no hay datos sustanciales publicados sobre la ingestión de MPs por especies de peces marinos en condiciones naturales dentro del rango de tamaño que muestreamos. Hay varias evaluaciones sobre larvas de peces silvestres (por ejemplo, Lima et al. 2015, Steer et al. 2017), que son mucho más pequeñas que los juveniles y adultos que muestreamos, algunos estudios sobre peces juveniles en ambientes de agua dulce y estuarios (por ejemplo, Ferreira et al. 2018, Silva et al. 2018), así como un gran número de investigaciones sobre peces de más de 5 g. En este contexto, nuestra contribución pretende llenar este vacío de conocimiento. Los peces muestreados en el presente estudio oscilaron entre 0,15 g y 3 g de masa corporal. El número promedio de MPs por individuo disminuyó con el tamaño corporal (Figura 3.7). Este resultado respalda nuestra expectativa inicial de que los peces pequeños pueden ser particularmente más susceptibles a los impactos negativos de la exposición a la contaminación por MPs. La mayoría de los estudios de peces juveniles y adultos que pesan más de 5 g no informan ninguna relación entre el tamaño de los peces y la abundancia de MPs detectados (p. ej., Foekema et al. 2013, Güven et al. 2017), o incluso encontraron tendencias positivas (Pegado et al. 2018), contrario a nuestro hallazgo. La falta de relación se interpretó como una baja acumulación de MPs en el tracto gastrointestinal de los peces (Güven et al. 2017, Jovanović, 2017). Sin embargo, se sabe que los MPs pueden causar obstrucción intestinal e inducir la inanición en las larvas de peces (Lima et al. 2015). Entonces, nuestras muestras pueden estar reflejando el punto de inflexión en el tamaño corporal de los peces entre la acumulación y el tránsito efímero de MPs. En el presente estudio, nos enfocamos en la presencia de MPs en el tracto gastrointestinal de los peces, como lo hacen la mayoría de las investigaciones que toman muestras de peces (Ferreira et al. 2018, Jovanović, 2017). Sin embargo, otros tejidos además del gastrointestinal también podrían tener MPs. Por ejemplo, Abbasi et al. (2018) informaron MP en piel, branquias, músculo e hígado; siendo el tamaño de las MPs en branquias y tracto gastrointestinal mayor que en los demás tejidos. Aunque los resultados informados por Abbasi et al. (2018) mostró que la aparición de MPs fuera del sistema digestivo sugiere que la translocación es significativa,

otras revisiones sugieren que este proceso es poco frecuente y es más probable que ocurra con nanoplásticos que con MPs (p. ej., Jovanović 2017, Lu et al. 2016).

La mayoría de los estudios que evaluaron los contenidos de MPs en organismos acuáticos no cuantificaron la concentración de MPs en las aguas circundantes; por lo que no se puede discutir la relación entre matrices bióticas y abióticas, ni su relación con la actividad humana. En nuestro trabajo, no hubo una tendencia clara entre sitios y matrices. El sitio sur (Playa Paraná) tuvo el agua más contaminada; en contraste, el sitio norte (Punta Arco) exhibió los valores más altos para cholga y peces (Figura 3.6). Como la circulación de corriente residual en GN es en el sentido de las agujas del reloj (es decir, de sur a norte en la costa este, ver (Figura 3.1) (Tonini et al. 2013) los valores más altos deberían observarse hacia el norte de la ciudad. Sin embargo, el análisis estadístico mostró que las diferencias entre las matrices y los sitios no fueron significativas, por lo que la tendencia esperada no pudo ser corroborada. Más aún, en el caso del agua de fondo, las muestras fueron tomadas sin réplicas, en un único muestreo, por lo que inferir patrones espaciales es arriesgado y sería necesario un mayor esfuerzo de muestreo.

3.4.3 Tipos de MPs

Las microfibras fueron la forma dominante en todas las matrices investigadas (88–96 %), con el blanco/transparente como los colores más predominantes (41–68 %). La prevalencia de partículas blancas/transparentes coincide con lo observado previamente por Barrows et al. (2018) en aguas de los ecosistemas marinos globales, siendo azul, negro y rojo los colores restantes más abundantes. En el presente estudio, este patrón se encontró en el tracto gastrointestinal de los peces, mientras que en cholgas fue negro y amarillo y en agua solo amarillo, seguido de una menor proporción de otros colores. Con respecto al color de los MPs en peces, nuestros hallazgos (blanco/transparente= 41,1%, azul=33,3% y negro=17,6%) son similares a los de Mizraji et al. (2017) para peces carnívoros, donde las microfibras blancas/transparentes (63%), negras (19%) y azules (13%) fueron los colores más abundantes. Por otro lado, los peces tienen menos partículas blancas/transparentes y nada de color amarillo en comparación con las cholgas y el agua, y una alta proporción de elementos azules, lo que sugiere que los peces podrían seleccionar activamente MPs azules que se parezcan a sus presas. Por

otro lado, las cholgas filtrarían y retendrían las partículas de MPs sin importar su color, y esto podría explicarse debido a que la proporción de colores se parece a la que se encuentra en las aguas del fondo. De acuerdo con nuestros resultados, la mayoría de los trabajos muestran que los peces tienen más MPs coloreados en su tracto gastrointestinal que blancos/transparentes (Ory et al. 2017, Peters y Bratton 2016, Pozo et al. 2019), contrario a las muestras de agua que en su mayoría presentan MPs blanco/transparente. De hecho, la mayoría de esos trabajos identificaron el color azul como el ítem más consumido (Ory et al. 2017, Peters y Bratton 2016). Por lo tanto, la evidencia sugiere que los peces ingieren MPs que se asemejan a su presa natural y que la ingestión de MPs es, hasta cierto punto, activa. Las proporciones de color de los MPs ingeridos por los peces también difieren de la disponible en el agua, lo que refuerza la hipótesis de la ingestión activa de MPs por parte de estos peces.

3.4.4 Tamaños de MPs

El tamaño de los MPs en las muestras de agua de fondo osciló entre 0,07 y 4,45 mm de longitud, con una media de 0,81 mm ($\pm 0,13$, IC del 95 %). Los MPs fueron predominantemente $< 0,5$ mm (44 %), aumentando al 87 % cuando incluimos todas las partículas $< 1,5$ mm. Estos resultados son consistentes con Barrows et al. (2018), quienes encontraron un predominio global de MPs de menos de 1,5 mm (77 %) en todas las aguas oceánicas. La distribución de frecuencias de tallas de los MPs obtenidos en cholgas difiere de la de las aguas ambientales, con medias superiores y valores de dispersión amplios (media de 1,25mm y 0,2 de 95% IC, explicada con un 66% de partículas $< 1,5$ mm). Las cholgas, así como todos los organismos que se alimentan por filtración, incorporan MPs directamente del agua circundante; por lo tanto, deben reflejar las características de los MPs del entorno. De hecho, las cholgas fueron propuestas recientemente como un bioindicador global de la contaminación por MPs en términos de morfotipo y tipos de polímeros (Li et al. 2019). En particular, el trabajo de Qu et al. (2018) evidencia una estrecha similitud en la distribución de frecuencia de tallas entre las cholgas y el agua ambiental; pero la distribución de tamaños observada en las muestras de agua depende en gran medida del dispositivo de toma de muestras. Por otro lado, es ampliamente conocido que estos organismos han desarrollado complejos

mecanismos asociados a la captación y selección de partículas, con procesos específicos de la especie basados tanto en las características físicas como químicas de las partículas (Rosa et al. 2018). Además, se descubrió que el 50 % de los MPs que se encuentran en las cholgas se adhieren a órganos que no están involucrados en el proceso de ingestión (Kolandhasamy et al. 2018). Esto sugiere que las cholgas pueden servir "parcialmente" como bioindicadores de contaminación ambiental hasta que se realicen más investigaciones en términos de selectividad e incorporación/adherencia de MPs.

Al igual que las cholgas, los peces mostraron valores promedio más altos de tamaño de MPs que las muestras de agua. Esta diferencia puede ser causada por la ingestión activa de las partículas más grandes o por la retención diferencial de las partículas de mayor tamaño en el tracto gastrointestinal. Estos resultados coinciden con los reportados por Ronda et al. (2023) en donde se analizan los mecanismos de ingestión de MPs en una especie de pez costero, y en el que encontraron que los ítems de MPS más grandes serían capturados activamente, mientras que los MPs más pequeños serían ingeridos mediante filtración. Por lo tanto, los MPs pequeños podrían ser ingeridas pasivamente durante la alimentación, tomando en la misma proporción que su abundancia ambiental, mientras que los más grandes activamente capturados.

Síntesis y Conclusiones

El presente trabajo tuvo como objetivo general estudiar la diversidad, abundancia y ecología trófica del ensamble de peces que habitan los ambientes rocosos costeros en la costa norpatagónica. Los objetivos particulares que se plantearon fueron (i) Describir la composición y abundancia del ensamble y los efectos de diversas variables ambientales sobre su estructura, (ii) Analizar la dieta y caracterizar el nicho trófico de las especies de peces que componen el ensamble y (iii) Evaluar la contaminación urbana por microplásticos en peces submareales del Golfo Nuevo. Las hipótesis planteadas para estos objetivos fueron: (i) que la composición del ensamble de peces pequeños de los submareales rocosos norpatagónicos varía en términos relativos o absolutos con la profundidad, el tipo de sustrato y la comunidad de organismos sésiles asociada (algas e invertebrados), (iia) son especialistas tróficos que presentan diferencias en el uso de los recursos alimentarios que consumen, (iib) se encuentran dentro de un mismo NT con dietas similares, constituyendo así un mismo gremio trófico y (iii) los peces están más contaminados con MPs en el sitio cercano a la ciudad que en los sitios alejados del foco de contaminación.

En los ensambles de peces pequeños de los submareales rocosos del Golfo Nuevo (GN) y San José (GSJ) se registraron 6 especies pertenecientes a las Familias Tripterygiidae, Clinidae, Batrachoididae, Agonidae, Congiopodidae y Serranidae (Capítulo 1). Los peces más conspicuos pertenecieron a tres especies: *Helcogrammoides cunninghami*, *Agonopsis asperoculis* y *Ribeiroclinus eigenmanni*. Las especies *H. cunninghami* y *R. eigenmanni* de hábito bentónico y comportamiento críptico asociados a fondos con algas y de bajas profundidades y *A. asperoculis* de hábito bentónico y asociado a invertebrados móviles como crustáceos (Capítulo 1). Un dato llamativo en este trabajo fue que las dos especies pertenecientes a la Familia Nototheniidae (*Patagonotothen cornucola* y *P. sima*) fueron registradas en un solo golfo y con muy baja abundancia; se encontraron ausentes en el GSJ en todos los muestreos de arrastre realizados para el Capítulo 1 y 2, y sólo se las registró en los muestreos del GN (Capítulo 2). Esto coincide con los resultados obtenidos en Galván (2008) en donde se describió la composición y

estimó la abundancia del ensamble de peces de arrecifes y en el que las nototénias fueron registradas en el GN y en muy baja abundancia, pero no en el GSJ. Por otro lado, tampoco se han encontrado larvas de nototénias en el GSJ (Villanueva et al. 2020). Similar a lo encontrado en este trabajo, en Galván et al. (2009a) otras especies también fueron detectadas en muy baja abundancia como *Congiopodus peruvianus*, *Dules Auriga* y *Triathalassothia argentina*.

En cuanto a los índices comunitarios, en general, se vieron principalmente influenciados por la profundidad y los crustáceos móviles; y no, como se esperaba para estos peces bentónicos o fuertemente asociados al fondo que la composición del ensamble varíe en términos relativos o absolutos al tipo de sustrato y la comunidad de organismos sésiles asociada (algas e invertebrados). En particular, solo dos especies *H. cunninghami* y *R. eigenmanni* predominaron en sustratos dominados por algas. Aunque no son consumidos directamente por los peces, los invertebrados sésiles, las algas y las plantas proporcionan hábitat y alimentos para una amplia variedad de invertebrados móviles, incluidos los anfípodos, cumáceos, tanaidáceos, ostrácodos, copépodos, gasterópodos, erizos y poliquetos que son los principales componentes de la dieta de los peces submareales rocosos (Capítulo 2). Por lo tanto las algas no solo proveen refugio a estas pequeñas especies criptobentónicas sino también sitios de alimentación.

En relación al alimento, *H. cunninghami* y *R. eigenmanni* presentaron un nivel trófico (NT) y tienen una diversidad trófica similar. Existe un cierto grado de solapamiento de sus dietas en verano, aunque el diablillo se diferenció del clínido en términos de “tipos de organismos” consumidos durante el invierno (Capítulo 2). De esta manera, los resultados indican que las especies son generalistas tróficos, y no especialistas como se hipotetizó, pero que sí tienen una cierta división de recursos entre especies en una determinada estación del año. Esto podría deberse a que la variación en el uso de los recursos depende de la estación del año y si los recursos son o no limitantes en el ambiente en el que se encuentran. Además, ambas especies modifican sus dietas en forma similar respecto a la base de la trama trófica que las nutre; tanto *H. cunninghami* y *R. eigenmanni* presentaron nichos isotópicos grandes y de un tamaño similar entre sí. Esto no es sorprendente ya que las poblaciones generalistas son más variables y

heterogéneas en sus nichos y probablemente se alimentan de manera oportunista de una variedad de presas disponibles (Cybulski et al. 2022).

En el estudio de Cordone et al. (2023) se sugiere que existe una superposición dietaria entre *H. cunninghami* y *R. eigenmanni* con el cangrejo verde invasor *Carcinus maenas* debido al cambio de las preferencias en la dieta de los cangrejos hacia los anfípodos, los poliquetos y los bivalvos, lo que puede resultar en un aumento de la competencia por parte del cangrejo, y resultar en un impacto negativo en ambas especies de peces. Estudios previos han sugerido que una mayor plasticidad del nicho de la dieta es beneficiosa en un entorno dinámico como la zona intermareal (Compaire et al. 2016, Carbia et al. 2020), por lo que quizás, la elevada plasticidad en la dieta de estos peces podría hacer frente al impacto de la competencia por parte del cangrejo.

Por último, en el Capítulo 3 de este trabajo se encontró que especies de peces de reducida talla pueden ser particularmente susceptibles a los impactos negativos de la exposición a contaminantes como los microplásticos (MPs) ya que son más propensas a confundir a los MPs con presas (Ory et al. 2017). Los peces aquí estudiados presentaron una alta concentración de partículas de MPs de color azul, siendo que el color predominante de las partículas en el ambiente circundante fue el blanco/transparente. Esto sugiere que los peces podrían seleccionar activamente MPs azules confundiéndolos con presas como los copépodos (Ory et al. 2017), por lo que teniendo en cuenta que se alimentan en general de organismos como malacostracos, ostrácodos y copépodos (Capítulo 2), los peces pequeños se encuentran más vulnerables a la ingesta de MPs, pudiendo generar impactos a largo plazo en la estructura del ensamble. En este trabajo se encontró que los peces pequeños son posiblemente indicadores precisos de la contaminación por MPs.

Estos resultados aportan información ecológica de calidad sobre un grupo poco estudiado que es importante tanto para evaluaciones de impacto ambiental o para el establecimiento de áreas marinas protegidas como para avanzar hacia una mejor comprensión del funcionamiento de los sistemas costeros. Además, el estudio de las interacciones entre el ambiente y los pequeños organismos en ambientes muy poco

estudiados para la Patagonia presenta una línea de base para el futuro monitoreo y política ambiental local.

Bibliografía

Abbasi S, Soltani N, Keshavarzi B, Moore F, Turner A, Hassanaghahi M (2018) Microplastics in different tissues of fish and prawn from the Musa Estuary, Persian Gulf. *Chemosphere* 205:80–87.

Acha EM, Mianzan HW, Iribarne O, Gagliardini DA, Lasta C, Daleo P (2003) The role of the Río de la Plata bottom salinity front in accumulating debris. *Mar Pollut Bull* 46:197–202.

Ajith N, Arumugam S, Parthasarathy S, Manupoori S, Janakiraman S (2020) Global distribution of microplastics and its impact on marine environment — a review. *Environ Sci Pollut Res* 27:25970–25986.

Aldana M, Pulgar JM, Ogalde F, Ojeda FP (2002) Morphometric and parasitological evidence for ontogenetic and geographical dietary shifts in intertidal fishes. *Bull Mar Sci* 70:55–74.

Alekseyenko A V. (2016) Multivariate Welch t-test on distances. *Bioinformatics* 32:3552–3558.

Alimba CG, Faggio C (2019) Microplastics in the marine environment: Current trends in environmental pollution and mechanisms of toxicological profile. *Environ Toxicol Pharmacol* 68:61–74.

Amoroso RO (2012) Dinámica poblacional de una metapoblación explotada y sus implicancias para el desarrollo de estrategias robustas de manejo: el caso de la vieira tehuelche (*Aequipecten tehuelchus*) del golfo San José (Chubut, Argentina). Universidad Nacional del Comahue Centro Regional Universitario Bariloche

Amoroso RO, Parma AM, Orensanz JML, Gagliardini DA (2011) Zooming the microscope:

medium-resolution remote sensing as a framework for the assessment of a small-scale fishery. *ICES* 68:696–706.

Amundsen PA, Sánchez-Hernández J (2019) Feeding studies take guts – critical review and recommendations of methods for stomach contents analysis in fish. *J Fish Biol* 95:1364–1373.

Amusden P, Gabler H, Stalsvik F (1996) A new approach to graphical analysis of feeding strategy from stomach contents data — modification of the Costello (1990) method. *J Fish Biol* 48:607–614.

Andrady AL (2011) Microplastics in the marine environment. *Mar Pollut Bull* 62:1596–1605.

Arias AH, Ronda AC, Oliva AL, Marcovecchio JE (2019) Evidence of microplastic ingestion by fish from the Bahía Blanca estuary in Argentina, South America. *Bull Environ Contam Toxicol*:750–756.

Arnett RTP, Whelan J (2001) Comparing the diet of cod (*Gadus morhua*) and grey seals (*Halichoerus grypus*): An investigation of secondary ingestion. *J Mar Biol Assoc United Kingdom* 81:365–366.

Arthur C, Baker J, Bamford H (2009) Proceedings of the international research workshop on the occurrence, effects, and fate of microplastic marine debris, NOAA Techn. Arthur C, Baker J, Bamford H (eds).

Avio CG, Gorbi S, Regoli F (2015) Experimental development of a new protocol for extraction and characterization of microplastics in fish tissues: First observations in commercial species from Adriatic Sea. *Mar Environ Res* 111:18–26.

Avio CG, Gorbi S, Regoli F (2017) Plastics and microplastics in the oceans: From emerging

pollutants to emerged threat. *Mar Environ Res* 128:2–11.

Baker R, Buckland A, Sheaves M (2013) Fish gut content analysis: Robust measures of diet composition. *Fish Fish* 15:170–177.

Bala LO, Hernández M de LA, D'Amico VL (2001) Shorebirds present on Fracasso Beach (San Jos Gull Valds Peninsula, Argentina): Report of the 1999 migrating season. *Wader Study Gr Bull* 94:27–30.

Barletta M, Lima ARA, Costa MF (2019) Distribution, sources and consequences of nutrients, persistent organic pollutants, metals and microplastics in South American estuaries. *Sci Total Environ* 651:1199–1218.

Barnes DKA, Galgani F, Thompson RC, Barlaz M (2009) Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. *Philos Trans R Soc B Biol Sci* 364:1985–1998.

Barrows APW, Cathey SE, Petersen CW (2018) Marine environment microfiber contamination: Global patterns and the diversity of microparticle origins. *Environ Pollut* 237:275–284.

Barrows APW, Neumann CA, Berger ML, Shaw SD (2017) Grab vs. neuston tow net: A microplastic sampling performance comparison and possible advances in the field. *Anal Methods* 9:1446–1453.

Bertness MD, Crain CM, Silliman BR, Bazterrica MC, Reyna M V., Hildago F, Farina JK (2006) The community structure of western Atlantic Patagonian rocky shores. *Ecol Monogr* 76:439–460.

Boecklen W, Yarnes C, Cook B, James A (2011) On the Use of Stable Isotopes in Trophic Ecology. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 42:411–440.

Boschi E, Cousseau M (2004) La vida entre mareas: vegetales y animales de las costas de

Mar del Plata, Argentina. INIDEP.

Boyle KS, Horn MH (2006) Comparison of feeding guild structure and ecomorphology of intertidal fish assemblages from central California and central Chile. *Mar Ecol Prog Ser* 319:65–84.

Bravo G, Livore JP, Bigatti G (2020) The Importance of Surface Orientation in Biodiversity Monitoring Protocols: The Case of Patagonian Rocky Reefs. *Front Mar Sci* 7:1–12.

Buckland A, Baker R, Loneragan N, Sheaves M (2017) Standardising fish stomach content analysis: The importance of prey condition. *Fish Res* 196:126–140.

Bulgarella M, Pizarro LC, Quintana F, Sapoznikow A, Gosztanyi A, Kuba L (2008) Diet of Imperial Cormorants (*Phalacrocorax atriceps*) and Rock Shags (*P . magellanicus*) breeding sympatrically in Patagonia, Argentina. *Ornitol Neotrop* 19:553–563.

Canty A, Ripley B (2021) Boot: Bootstrap R (S-Plus) Functions. R package version 1.3-28.

Carbia PS, Raoult V, Park JM, Gaston TF, Williamson JE (2020) Seasonal and developmental diet shifts in sympatric and allopatric intertidal gobies determined by stomach content and stable isotope analysis. *J Fish Biol* 97:1051–1062.

Carr SA (2017) Sources and dispersive modes of micro-fibers in the environment. *Integr Environ Assess Manag* 13:466–469.

Castellanos-Galindo G, Giraldo A (2008) Food resource use in a tropical eastern Pacific tidepool fish assemblage. *Mar Biol* 153:1023–1035.

Van Cauwenberghe L, Claessens M, Vandegehuchte MB, Janssen CR (2015) Microplastics are taken up by mussels (*Mytilus edulis*) and lugworms (*Arenicola marina*) living in natural habitats. *Environ Pollut* 199:10–17.

Van Cauwenberghe L, Janssen CR (2014) Microplastics in bivalves cultured for human

consumption. *Environ Pollut* 193:65–70.

Chao A, Gotelli NJ, Hsieh TC, Sander EL, Ma KH, Colwell RK, Ellison AM (2014) Rarefaction and extrapolation with Hill numbers: a framework for sampling and estimation in species diversity studies. *Ecol Monogr* 84:45–67.

Clarke K (1993) Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. *Aust J Ecol* 18:117–143.

Colwell RK, Chao A, Gotelli NJ, Lin SY, Mao CX, Chazdon RL, Longino JT (2012) Models and estimators linking individual-based and sample-based rarefaction, extrapolation and comparison of assemblages. *J Plant Ecol* 5:3–21.

Compaire JC, Cabrera R, Gómez-Cama C, Soriguer MC (2016) Trophic relationships, feeding habits and seasonal dietary changes in an intertidal rockpool fish assemblage in the Gulf of Cadiz (NE Atlantic). *J Mar Syst* 158:165–172.

Cordone G, Galván DE, Momo FR (2023) Impacts of an invasion by green crab *Carcinus maenas* on the intertidal food web of a Patagonian rocky shore , Argentina. *Mar Ecol Prog Ser* 713:97–115.

Cordone GF, Momo FR, Galván D (2022) Respuesta de redes tróficas marinas costeras a estresores en las regiones antártica y subantártica : incremento de la temperatura y especies invasoras

Cybulski JD, Skinner C, Wan Z, Wong CKM, Toonen RJ, Gaither MR, Soong K, Wyatt ASJ, Baker DM (2022) Improving stable isotope assessments of inter- and intra-species variation in coral reef fish trophic strategies. *Ecol Evol* 12:1–16.

Degrati M, Loizaga R, Coscarella MA, Sueyro N, Crespo EA, Dans SL (2020) Integrating Multiple Techniques to Estimate Population Size of an Impacted Dusky Dolphin's

Population in Patagonia, Argentina. *Front Mar Sci* 7:1–9.

Denuncio P, Bastida R (2014) Composition, distribution and waste management of Playa Grande, the most important touristic beach of Mar del Plata city, Argentina. *Waste Manag* 34:837–841.

Digka N, Tsangaris C, Torre M, Anastasopoulou A, Zeri C (2018) Microplastics in mussels and fish from the Northern Ionian Sea. *Mar Pollut Bull* 135:30–40.

Duffy JE, Stachowicz JJ (2006) Why biodiversity is important to oceanography: Potential roles of genetic, species, and trophic diversity in pelagic ecosystem processes. *Mar Ecol Prog Ser* 311:179–189.

Edgar GJ, Shaw C (1995) The production and trophic ecology of shallow-water fish assemblages in southern Australia II. Diets of fish and trophic relationships between fishes and benthos at Western Port, Victoria. *J Exp Mar Bio Ecol* 194:83–106.

Efron B, Tibshirani RJ (1993) *An introduction to Bootstrap*. Chapman & Hall.

Elías I, Carozza CR, Giacomo E Di, Isla M., Orensanz JM, Parma A., Pereiro R., Perier M., Perrota R., Ré M., Ruarte C (2011) Coastal fisheries of Argentina. In: *Coastal fisheries of Latin America and the Caribbean Coastal fisheries of Latin America and the Caribbean*. Salas S, Chuenpagdee R, Charles A, Seijo J. (eds) Food and Agriculture Organization (FAO), Rome, p 13–47

Eriksen M, Lebreton LCM, Carson HS, Thiel M, Moore CJ, Borerro JC, Galgani F, Ryan PG, Reisser J (2014) Plastic pollution in the world's oceans: more than 5 trillion plastic pieces weighing over 250,000 tons afloat at sea. *PLoS One* 12:1–15.

Eriksen M, Mason S, Wilson S, Box C, Zellers A, Edwards W, Farley H, Amato S (2013) Microplastic pollution in the surface waters of the Laurentian Great Lakes. *Mar Pollut*

Bull 77:177–182.

Fauchald K (1977) The Polychaete Worms. Definitions and keys to the Orders, Families and Genera. *Sci Ser* 28:188.

Feary DA, Wellenreuther M, Clements KD (2009) Trophic ecology of New Zealand triplefin fishes (Family Tripterygiidae). *Mar Biol* 156:1703–1714.

Fernández Severini MD, Villagran DM, Buzzi NS, Sartor GC (2019) Microplastics in oysters (*Crassostrea gigas*) and water at the Bahía Blanca Estuary (Southwestern Atlantic): An emerging issue of global concern. *Reg Stud Mar Sci* 32:100829.

Ferreira GVB, Barletta M, Lima ARA (2019) Use of estuarine resources by top predator fishes. How do ecological patterns affect rates of contamination by microplastics? *Sci Total Environ* 655:292–304.

Ferreira GVB, Barletta M, Lima ARA, Morley SA, Justino AKS, Costa MF (2018) High intake rates of microplastics in a Western Atlantic predatory fish, and insights of a direct fishery effect. *Environ Pollut* 236:706–717.

Foekema EM, De Gruijter C, Mergia MT, Van Franeker JA, Murk AJ, Koelmans AA (2013) Plastic in North Sea fish. *Environ Sci Technol* 47:8818–8824.

Fries E, Deki H, Willmeyer J, Nuelle M, Remy D (2013) Identification of polymer types and additives in marine microplastic particles using pyrolysis-GC/MS and scanning electron microscopy. *Environ Sci Process Impacts* 15:1949–1956.

Gallardo B, Clavero M, Sánchez M, Vila M (2016) Global ecological impacts of invasive species in aquatic ecosystems. *Glob Chang Biol* 22:151–163.

Galván D (2008) Ensamblajes de peces en los arrecifes norpatagónicos: diversidad,

abundancia y relaciones tróficas y con el hábitat. Universidad Nacional del Comahue.
Centro Regional Universitario Bariloche

Galván D, Botto F, Parma AM, Bandieri L, Mohamed N, Iribarne OO (2009a) Food partitioning and spatial subsidy in shelter-limited fishes inhabiting patchy reefs of Patagonia. *J Fish Biol* 75:2585–2605.

Galván D, Sweeting C, Reid W (2010) Power of stable isotope techniques to detect size-based feeding in marine fishes. *Mar Ecol Prog Ser* 407:271–278.

Galván D, Venerus L, Irigoyen A (2009b) The Reef-fish Fauna of the Northern Patagonian Gulfs, Argentina, Southwestern Atlantic. *Open Fish Sci J* 2:90–98.

Garcia TM, Campos CC, Mota EMT, Santos NMO, Campelo RP de S, Prado LCG, Melo Junior M, Soares M de O (2020) Microplastics in subsurface waters of the western equatorial Atlantic (Brazil). *Mar Pollut Bull* 150:110705.

Genzano G, Giberto D, Bremec C (2011) Benthic survey of natural and artificial reefs off Mar del Plata, Argentina, southwestern Atlantic. *Lat Am J Aquat Res* 39:553–566.

Giarratano E, Di R, Silva LI, Tomba JP, Hern RD (2022) The Chubut River estuary as a source of microplastics and other anthropogenic particles into the Southwestern Atlantic Ocean. 185.

Giarratano E, Gil MN, Malanga G (2013) Assessment of antioxidant responses and trace metal accumulation by digestive gland of ribbed mussel *Aulacomya atra atra* from Northern Patagonia. *Ecotoxicol Environ Saf* 92:39–50.

Goatley C, Bellwood D (2009) Morphological structure in a reef fish assemblage. *Coral Reefs*:449–457.

Goldstein ED, Alessandro EKD, Sponaugle S (2016) Demographic and reproductive plasticity across the depth distribution of a coral reef fish. *Sci Rep* 6:1–12.

Gosztonyi AE, Kuba L (1998) Fishes in the diet of the Imperial Cormorant *Phalacrocorax atriceps* at Punta Loberia Chubut, Argentina. *Mar Ornithol* 26:59–61.

Gratwicke B, Speight M (2005) The relationship between fish species richness, abundance and habitat complexity in a range of shallow tropical marine habitats. *J Fish Biol* 66:650–667.

Gregory MR (2009) Environmental implications of plastic debris in marine settings-entanglement, ingestion, smothering, hangers-on, hitch-hiking and alien invasions. *Philos Trans R Soc B Biol Sci* 364:2013–2025.

Griffiths SP, Davis AR, West RJ (2006) Role of habitat complexity in structuring temperate rockpool ichthyofaunas. *Mar Ecol Prog Ser* 313:227–239.

Grossman D (1986) Food resource partitioning in a rocky intertidal fish assemblage. *Zool Soc London* 1:317–355.

Güven O, Gökdağ K, Jovanović B, Kıdeyş AE (2017) Microplastic litter composition of the Turkish territorial waters of the Mediterranean Sea, and its occurrence in the gastrointestinal tract of fish. *Environ Pollut* 223:286–294.

Hamidi B, Wallace K, Vasu C, Alekseyenko A (2019) Welch-test: Robust distance-based multivariate analysis of variance. *Microbiome* 7:51.

Hernández-Moresino R, Villanueva Gomila L, Di Mauro R, Barón P (2014) Structural differentiation of the mesozooplankton community in two hydrographic domains of a small basin: the frontal system of San José Gulf (Patagonia, Argentina) as a study case. *J Plankton Res* 36:578–584.

Hernández-Moresino R, Williams GN, Martelli A, Barbieri ES (2022) Phytoplankton dynamics based on satellite inherent optical properties and oceanographic conditions in a patagonian gulf frontal system in relation to the adjacent continental shelf waters. *Mar Environ Res* 173.

Hernández-moresino RD, Di Mauro R, Crespi-Abril AC, Villanueva-Gomila GL, Compaire JC, Barón PJ (2017) Contrasting structural patterns of the mesozooplankton community result from the development of a frontal system in San José Gulf, Patagonia. *Estuar Coast Shelf Sci* 193:1–11.

Hidalgo-Ruz V, Gutow L, Thompson RC, Thiel M (2012) Microplastics in the marine environment: A review of the methods used for identification and quantification. *Environ Sci Technol* 46:3060–3075.

Holbrook SJ, Brooks AJ, Schmitt RJ (2002) Predictability of fish assemblages on coral patch reefs. *Mar Freshw Res* 53:181–188.

Hsieh T, Ma K, Chao A (2022) INEXT: iNterpolation and EXTrapolation for species diversity. R package version 3.0.0 URL: <http://chao.stat.nthu.edu.tw/wordpress/software-download/>.

Hyslop EJ (1980) Stomach contents analysis—a review of methods and their application. *J Fish Biol* 17:411–429.

Iknayan KJ, Tingley MW, Furnas BJ, Beissinger SR (2014) Detecting diversity: Emerging methods to estimate species diversity. *Trends Ecol Evol* 29:97–106.

Irigoyen A, Galván D (2010) Peces de Arrecife Argentinos. *Proyectoarrecife* (ed).

Irigoyen A, Trobbiani G, Galván D (2018) Peces de arrecife y ambientes de buceo

argentinos, 2da ed. Remitente Patagonia, Chubut, Argentina.

Irigoyen AJ, Trobbiani G, Sgarlatta MP, Raffo MP (2011) Effects of the alien algae *Undaria pinnatifida* (Phaeophyceae, Laminariales) on the diversity and abundance of benthic macrofauna in Golfo Nuevo (Patagonia, Argentina): Potential implications for local food webs. *Biol Invasions* 13:1521–1532.

Isla FI, Bujalesky GG (2008) Coastal geology and morphology of Patagonia and the Fuegian Archipelago. *Dev Quat Sci* 11:227–239.

Jackson AL, Parnell AC, Inger R, Bearhop S (2011) Comparing isotopic niche widths among and within communities: SIBER - Stable Isotope Bayesian Ellipses in R *Journal of Animal Ecology*, 80, 595-602. URL <https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2011.01806.x>.

Jovanović B (2017) Ingestion of microplastics by fish and its potential consequences from a physical perspective. *Integr Environ Assess Manag* 13:510–515.

Karlsson TM, Vethaak AD, Almroth BC, Ariese F, van Velzen M, Hassellöv M, Leslie HA (2017) Screening for microplastics in sediment, water, marine invertebrates and fish: Method development and microplastic accumulation. *Mar Pollut Bull* 122:403–408.

Koen Alonso M, Crespo EA, García NA, Pedraza SN, Mariotti PA, Mora NJ (2002) Fishery and ontogenetic driven changes in the diet of the spiny dogfish, *Squalus acanthias*, in Patagonian waters, Argentina. *Environ Biol Fishes* 63:193–202.

Kolandhasamy P, Su L, Li J, Qu X, Jabeen K, Shi H (2018) Adherence of microplastics to soft tissue of mussels: A novel way to uptake microplastics beyond ingestion. *Sci Total Environ* 610–611:635–640.

Layman CA, Araujo MS, Boucek R, Hammerschlag-Peyer CM, Harrison E, Jud ZR, Matich P, Rosenblatt AE, Vaudo JJ, Yeager LA, Post DM, Bearhop S (2012) Applying stable

isotopes to examine food-web structure: An overview of analytical tools. *Biol Rev* 87:545–562.

Layman CA, Giery ST, Buhler S, Rossi R, Penland T, Henson MN, Bogdanoff AK, Cove M V., Irizarry AD, Schalk CM, Archer SK (2015) A primer on the history of food web ecology: Fundamental contributions of fourteen researchers. *Food Webs* 4:14–24.

Legendre P, Legendre L (1998) *Numerical Ecology*. Elsevier Science BV, Amsterdam.

Lehtiniemi M, Hartikainen S, Näkki P, Engström-Öst J, Koistinen A, Setälä O (2018) Size matters more than shape: Ingestion of primary and secondary microplastics by small predators. *Food Webs* 17:e00097.

Li J, Green C, Reynolds A, Shi H, Rotchell JM (2018) Microplastics in mussels sampled from coastal waters and supermarkets in the United Kingdom. *Environ Pollut* 241:35–44.

Li J, Lusher AL, Rotchell JM, Deudero S, Turra A, Bråte ILN, Sun C, Shahadat Hossain M, Li Q, Kolandhasamy P, Shi H (2019) Using mussel as a global bioindicator of coastal microplastic pollution. *Environ Pollut* 244:522–533.

Li J, Qu X, Su L, Zhang W, Yang D, Kolandhasamy P, Li D, Shi H (2016a) Microplastics in mussels along the coastal waters of China. *Environ Pollut* 214:177–184.

Li WC, Tse HF, Fok L (2016b) Plastic waste in the marine environment: A review of sources, occurrence and effects. *Sci Total Environ* 566–567:333–349.

Lima ARA, Barletta M, Costa MF (2015) Seasonal distribution and interactions between plankton and microplastics in a tropical estuary. *Estuar Coast Shelf Sci* 165:213–225.

Ling SD, Sinclair M, Levi CJ, Reeves SE, Edgar GJ (2017) Ubiquity of microplastics in coastal sea floor sediments. *Mar Pollut Bull*:104–110.

Lozoya J, Teixeira de Mello F, Carrizo D, Weinstein F, Olivera Y, Cedrés F, Pereira M, Fossati M (2016) Plastics and microplastics on recreational beaches in Punta del Este (Uruguay): Unseen critical residents? *Environ Pollut* 218:931–941.

Lu Y, Zhang Y, Deng Y, Jiang W, Zhao Y, Geng J, Ding L, Ren H (2016) Uptake and accumulation of polystyrene microplastics in zebrafish (*Danio rerio*) and toxic effects in liver. *Environ Sci Technol* 50:4054–4060.

Lusher A., Hollman PC., Mendoza-Hill J. (2017) Microplastics in fisheries and aquaculture: status of knowledge on their occurrence and implications for aquatic organisms and food safety, *FAO Fisher*.

Lusher AL, Tirelli V, O'Connor I, Officer R (2015) Microplastics in Arctic polar waters: The first reported values of particles in surface and sub-surface samples. *Sci Rep* 5:1–9.

Majdi N, Hette-Tronquart N, Auclair E, Bec A, Chouvelon T, Cognie B, Danger M, Decottignies P, Dessier A, Desvillettes C, Dubois S, Dupuy C, Fritsch C, Gaucherel C, Hedde M, Jabot F, Lefebvre S, Marzloff MP, Pey B, Peyrard N, Powolny T, Sabbadin R, Thébault E, Perga ME (2018) There's no harm in having too much: A comprehensive toolbox of methods in trophic ecology. *Food Webs* 17:e00100.

Mathalon A, Hill P (2014) Microplastic fibers in the intertidal ecosystem surrounding Halifax Harbor, Nova Scotia. *Mar Pollut Bull* 81:69–79.

Di Mauro R, Kupchik MJ, Benfield MC (2017) Abundant plankton-sized microplastic particles in shelf waters of the northern Gulf of Mexico. *Environ Pollut* 230:798–809.

Mayer-Pinto M, Johnston E, Hutchings P, Marzinelli E, Ahyong S, Birch G, Booth D, Creese R, Doblin M, Figueira W, Gribben P, Pritchard T, Roughan M, Steinberg P, Hedge L (2015) Sydney Harbour: a review of anthropogenic impacts on the biodiversity and ecosystem function of one of the world's largest natural harbours. *Mar Freshw Res* 66:1088–1105.

Mendez MM, Livore JP, Márquez F, Bigatti G, Devlin MJ (2021) Mass mortality of foundation species on rocky shores: testing a methodology for a continental monitoring program. *Front Mar Sci* 8:1–7.

Mendoza SM, Fernandez VH, Barrios M, Mena R, Miriuka S, Cledon M (2022) Microplastics in gut content of juveniles of the patagonic silverside fish *Odontesthes* sp. *Mar Pollut Bull* 182:113876.

Merlo PJ, Venerus LA, Irigoyen AJ (2023) Fine-scale variation in the proximity of baited remote underwater video stations (BRUVS) to rocky reefs reveals changes in the structure of temperate fish assemblages. *Mar Environ Res* 185:105902.

La Mesa G, Di Muccio S, Vacchi M (2006) Structure of a Mediterranean cryptobenthic fish community and its relationships with habitat characteristics. *Mar Biol* 149:149–167.

Mizraji R, Ahrendt C, Perez-Venegas D, Vargas J, Pulgar J, Aldana M, Patricio Ojeda F, Duarte C, Galbán-Malagón C (2017) Is the feeding type related with the content of microplastics in intertidal fish gut? *Mar Pollut Bull* 116:498–500.

Mooney C, Duval R (1993) Bootstrapping: A nonparametric approach to statistical inference (No. 95).

Muñoz A, Ojeda F (1997) Feeding guild structure of a rocky intertidal fish assemblage in central Chile. *Environ Biol Fishes* 49:471–479.

Neves D, Sobral P, Ferreira JL, Pereira T (2015) Ingestion of microplastics by commercial fish off the Portuguese coast. *Mar Pollut Bull* 101:119–126.

Nielsen JM, Clare EL, Hayden B, Brett MT, Kratina P (2018) Diet tracing in ecology: Method comparison and selection. *Methods Ecol Evol* 9:278–291.

Oberbeckmann S, Löder MG, Labrenz M (2015) Marine microplastic-associated biofilms—a review. *Environ Chem* 12:551–562.

Ojeda M, Cossi PF, Rimondino GN, Chiesa IL, Boy CC, Pérez AF (2021) Microplastics pollution in the intertidal limpet, *Nacella magellanica*, from Beagle Channel (Argentina). *Sci Total Environ* 795.

Oksanen J, Simpson G, Blanchet F, Kindt R, Legendre P, Minchin P, O’Hara R, Solymos P, Stevens M, Szoecs E, Wagner H, Barbour M, Bedward M, Bolker B, Borcard D, Carvalho G, Chirico M, De Caceres M, Durand S, Evangelista H, FitzJohn R, Friendly M, Furneaux B, Hannigan G, Hill M, Lahti L, McGlinn D, Ouellette M, Ribeiro Cunha E, Smith T, Stier A, Ter Braak C, Weedon J (2022) *Vegan: Community Ecology Package*. R package version 2.6-2, <<https://CRAN.R-project.org/package=vegan>.

Orensanz JM, Parma AM, Ciocco N, Cinti A (2007) Achievements and Setbacks in the Commercial Diving Fishery of San José Gulf, Argentine Patagonia. In: *Fisheries Management: Progress Towards Sustainability*. McClanahan T., Castilla J. (eds) p 68–87

Ory NC, Sobral P, Ferreira JL, Thiel M (2017) Amberstripe scad *Decapterus muroadsi* (Carangidae) fish ingest blue microplastics resembling their copepod prey along the coast of Rapa Nui (Easter Island) in the South Pacific subtropical gyre. *Sci Total Environ* 586:430–437.

Ozen O, Altin A, Ayyildiz H (2010) The diet of *Clinitrachus argentatus* (Blennioidei: Clinidae) in the northern Aegean and Marmara Seas. *J Fish Biol* 76:1516–1519.

Palma ÁT, Ojeda FP (2002) Abundance, distribution and feeding patterns of a temperate reef fish in subtidal environments of the Chilean coast: the importance of understory algal turf. *Rev Chil Hist Nat* 75:189–200.

Pazos RS, Amalvy J, Cocherro J, Pecile A, Gómez N (2021) Temporal patterns in the

abundance, type and composition of microplastics on the coast of the Río de la Plata estuary. *Mar Pollut Bull* 168.

Pazos RS, Bauer DE, Gómez N (2018) Microplastics integrating the coastal planktonic community in the inner zone of the Río de la Plata estuary (South America). *Environ Pollut* 243:134–142.

Pazos RS, Maiztegui T, Colautti DC, Paracampo AH, Gómez N (2017) Microplastics in gut contents of coastal freshwater fish from Río de la Plata estuary. *Mar Pollut Bull*:85–90.

Pegado T de S e S, Schmid K, Winemiller KO, Chelazzi D, Cincinelli A, Dei L, Giarrizzo T (2018) First evidence of microplastic ingestion by fishes from the Amazon River estuary. *Mar Pollut Bull* 133:814–821.

Pérez-Matus A, Ferry-Graham LA, Cea A, Vásquez JA (2007) Community structure of temperate reef fishes in kelp-dominated subtidal habitats of northern Chile. *Mar Freshw Res* 58:1069–1085.

Pérez-Matus A, Sánchez F, González-But JC, Lamb RW (2016) Understory algae associations and predation risk influence broad-scale kelp habitat use in a temperate reef fish. *Mar Ecol Prog Ser* 559:147–158.

Pérez AF, Ojeda M, Rimondino GN, Chiesa IL, Di Mauro R, Boy CC, Calcagno JA (2020) First report of microplastics presence in the mussel *Mytilus chilensis* from Ushuaia Bay (Beagle Channel, Tierra del Fuego, Argentina). *Mar Pollut Bull* 161.

Pérez Matus A (2006) Dinámica trófica y ensamblajes de peces submareales asociados a macroalgas de la costa norte de Chile. Universidad Católica del Norte

Peters CA, Bratton SP (2016) Urbanization is a major influence on microplastic ingestion by sunfish in the Brazos River Basin, Central Texas, USA. *Environ Pollut* 210:380–387.

Pielou EC (1966) The measurement of diversity in different types of biological collections. *J Theor Biol* 13:131–144.

Pisoni JP, Rivas AL, Piola AR (2014) On the variability of tidal fronts on a macrotidal continental shelf, Northern Patagonia, Argentina. *Deep Sea Res Part II Top Stud Oceanogr.*

Post DM (2002) Using Stable Isotopes to Estimate Trophic Position: Models, Methods, and Assumptions. *Ecology* 83:703–718.

Primost MA, Commendatore M, Torres PJ, Bigatti G (2018) PAHs contamination in edible gastropods from north Patagonian harbor areas. *Mar Pollut Bull* 135:828–831.

Prochazka K (1998) Spatial and trophic partitioning in cryptic fish communities of shallow subtidal reefs in False Bay, South Africa. *Environ Biol Fishes* 51:201–220.

Qu X, Su L, Li H, Liang M, Shi H (2018) Assessing the relationship between the abundance and properties of microplastics in water and in mussels. *Sci Total Environ* 621:679–686.

Quezada-Romegialli C, Jackson A, Harrod C (2019) *tRophicPosition*: Bayesian Trophic Position Calculation with Stable Isotopes. R package version 0.7.7. <<https://CRAN.R-project.org/package=tRophicPosition>>.

Raffo MP, Lo Russo V, Schwindt E (2013) Introduced and native species on rocky shore macroalgal assemblages: Zonation patterns, composition and diversity. *Aquat Bot* 112:57–65.

Rechimont ME, Galván DE, Sueiro MC, Casas G, Piriz ML, Diez ME, Primost M, Zabala MS, Márquez F, Brogger M, Alfaya JEF, Bigatti G (2013) Benthic diversity and assemblage structure of a north Patagonian rocky shore: A monitoring legacy of the NaGISA project. *J Mar Biol Assoc United Kingdom* 93:2049–2058.

Rezania S, Park J, Md Din MF, Mat Taib S, Talaiekhosani A, Kumar Yadav K, Kamyab H (2018) Microplastics pollution in different aquatic environments and biota: A review of recent studies. *Mar Pollut Bull* 133:191–208.

Ríos MF, Hernández-moresino RD, Galván DE (2020) Assessing urban microplastic pollution in a benthic habitat of Patagonia Argentina. *Mar Pollut Bull* 159:111491.

Romeo T, Pietro B, Pedà C, Consoli P, Andaloro F, Fossi MC (2015) First evidence of presence of plastic debris in stomach of large pelagic fish in the Mediterranean Sea. *Mar Pollut Bull* 95:358–361.

Ronda AC, Arias AH, Oliva AL, Marcovecchio JE (2019) Synthetic microfibers in marine sediments and surface seawater from the Argentinean continental shelf and a Marine Protected Area. *Mar Pollut Bull* 149.

Ronda AC, Blasina G, Renaud LC, Menéndez MC, Tomba JP, Silva LI, Arias AH (2023a) Effects of microplastic ingestion on feeding activity in a widespread fish on the southwestern Atlantic coast: *Ramnogaster arcuata* (Clupeidae). *Sci Total Environ* 892:164715.

Ronda AC, Menéndez MC, Tombesi N, Álvarez M, Tomba JP, Silva LI, Arias AH (2023b) Microplastic levels on sandy beaches: Are the effects of tourism and coastal recreation really important? *Chemosphere* 316.

Rosa M, Ward JE, Shumway SE (2018) Selective capture and ingestion of particles by suspension-feeding bivalve molluscs: A review. *J Shellfish Res* 37:727–746.

Russel J (2022) MicEco: Various functions for microbial community data .R package version 0.9.19.

Scharf FS, Juanes F, Sutherland M (1998) Inferring ecological relationships from the edges of scatter diagrams: Comparison of regression techniques. *Ecology* 79:448–460.

Schwindt E, Battini N, Giachetti C, Castro K, Bortolus A (2018) *Especies exóticas marino-costeras de Argentina*. Buenos Aires.

Silberschneider V, Booth DJ (2001) Resource use by *Enneapterygius rufopileus* and other rockpool fishes. *Environ Biol Fishes* 61:195–204.

Silva JDB, Barletta M, Lima ARA, Ferreira GVB (2018) Use of resources and microplastic contamination throughout the life cycle of grunts (*Haemulidae*) in a tropical estuary. *Environ Pollut* 242:1010–1021.

Sparks C (2020) Microplastics in mussels along the coast of Cape Town, South Africa. *Bull Environ Contam Toxicol* 2017.

Steer M, Cole M, Thompson RC, Lindeque PK (2017) Microplastic ingestion in fish larvae in the western English Channel. *Environ Pollut* 226:250–259.

Tirasin EM, Jørgensen T (1999) An evaluation of the precision of diet description. *Mar Ecol Prog Ser* 182:243–252.

Tonini MH, Palma ED, Piola AR (2013) A numerical study of gyres, thermal fronts and seasonal circulation in austral semi-enclosed gulfs. *Cont Shelf Res* 65:97–110.

Truchet DM, López ADF, Arduso MG, Rimondino GN, Buzzi NS, Malanca FE, Spetter C V., Severini MDF (2021) Microplastics in bivalves, water and sediments from a touristic sandy beach of Argentina. *Mar Pollut Bull* 173.

Vandermeersch G, Van Cauwenberghe L, Janssen CR, Marques A, Granby K, Fait G, Kotterman MJJ, Diogène J, Bekaert K, Robbens J, Devriese L (2015) A critical view on

microplastic quantification in aquatic organisms. *Environ Res* 143:46–55.

Velasco EM, Hernando JA, Soriguer MC (2010) Trophic relationships in an intertidal rockpool fish assemblage in the gulf of Cádiz (NE Atlantic). *J Mar Syst* 80:248–252.

Venables W, Ripley B (2002) *Modern Applied Statistics with S*. Fourth Edition. Springer, New York. ISBN 0-387-95457-0.

Venerus LA, Parma AM, Galván DE (2008) Annual occupation pattern of temperate rocky reefs by the Argentine sandperch *Pseudoperca semifasciata* in San José Gulf Marine Park, Argentina. *Fish Manag Ecol* 15:217–229.

Vergés A, Steinberg PD, Hay ME, Poore AGB, Campbell AH, Ballesteros E, Jr KLH, Booth DJ, Coleman MA, Feary DA, Figueira W, Langlois T, Marzinelli EM, Mizerek T, Mumby PJ, Nakamura Y, Roughan M, Seville E Van, Gupta A Sen, Smale D, Tomas F, Wernberg T, Wilson S (2014) The tropicalization of temperate marine ecosystems : climate-mediated changes in herbivory and community phase shifts. *Proc R Soc B Biol Sci* 281.

Villagran DM, Truchet DM, Buzzi NS, Forero Lopez AD, Fernández Severini MD (2020) A baseline study of microplastics in the burrowing crab (*Neohelice granulata*) from a temperate southwestern Atlantic estuary. *Mar Pollut Bull* 150:110686.

Villanueva L, Scientific N, Ehrlich MD (2020) Spring and summer ichthyoplankton assemblages in a temperate Patagonian gulf: an overview of temporal and spatial patterns on their structure. *An Acad Bras Cienc* 92.

Wang J, Tan Z, Peng J, Qiu Q, Li M (2016) The behaviors of microplastics in the marine environment. *Mar Environ Res* 113:7–17.

Wang Z, Wagner J, Ghosal S, Bedi G, Wall S (2017) SEM/EDS and optical microscopy analyses of microplastics in ocean trawl and fish guts. *Sci Total Environ* 603–604:616–626.

Weiher E, Keddy P (1999) Relative abundance and evenness patterns along diversity and biomass gradients. *Oikos*:355–361.

Wickham H (2016) *Ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York.

Winkler NS, Paz-Goicoechea M, Lamb RW, Pérez-Matus A (2017) Diet reveals links between morphology and foraging in a cryptic temperate reef fish. *Ecol Evol* 7:11124–11134.

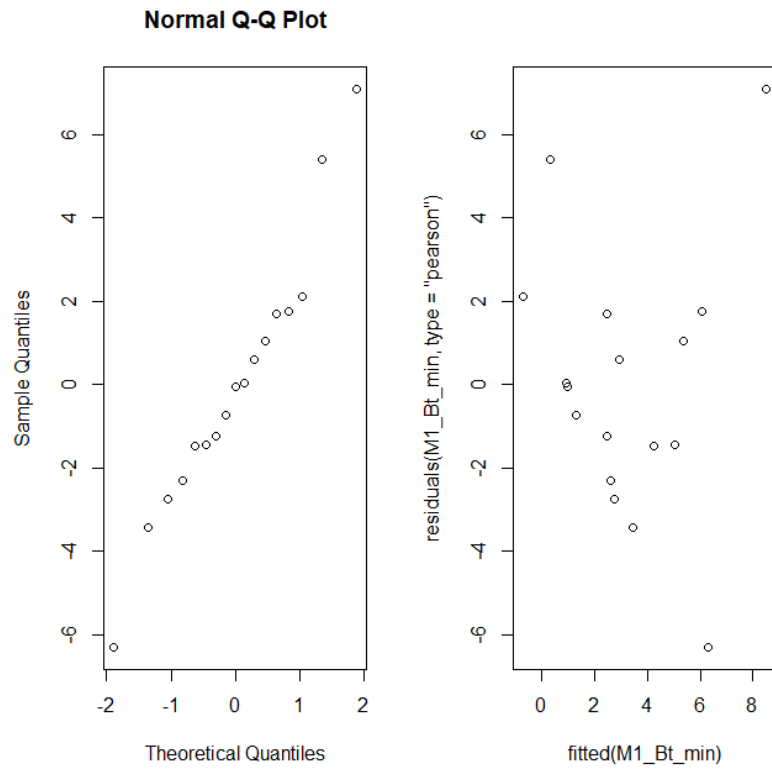
De Witte B, Devriese L, Bekaert K, Hoffman S, Vandermeersch G, Cooreman K, Robbens J (2014) Quality assessment of the blue mussel (*Mytilus edulis*): Comparison between commercial and wild types. *Mar Pollut Bull* 85:146–155.

Zaixso H, Lizarralde Z, Pastor C, Gomes-Simes E, Romanello E, Pagnoni G (1998) Distribución espacial del macrozoobentos submareal del golfo San José (Chubut , Argentina). *Rev Biol Mar Oceanogr* 33:43–72.

Zar JH (1999) *Biostatistical analysis*. Pearson Education. India.

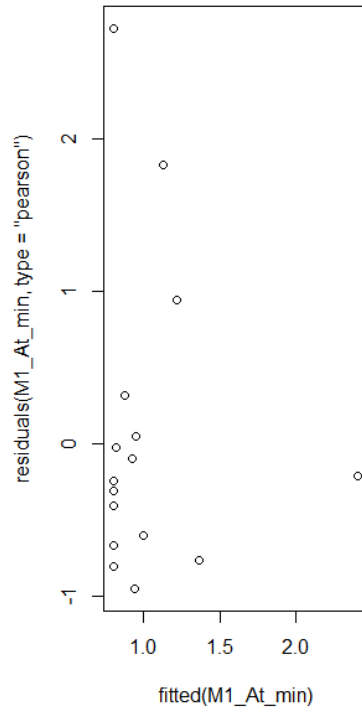
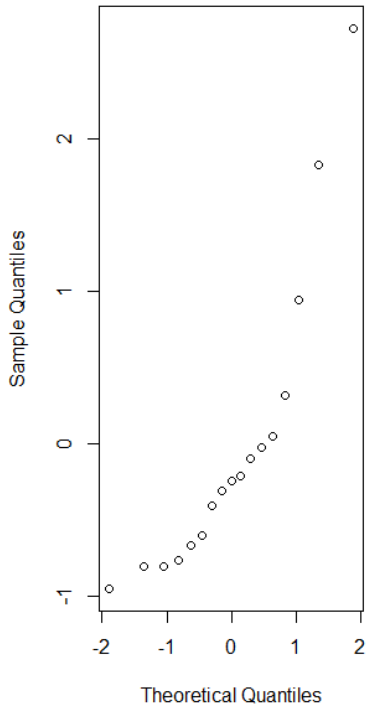
Material suplementario

(Capítulo1)



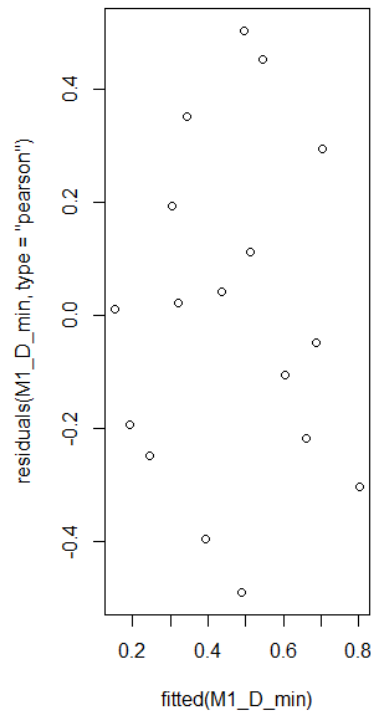
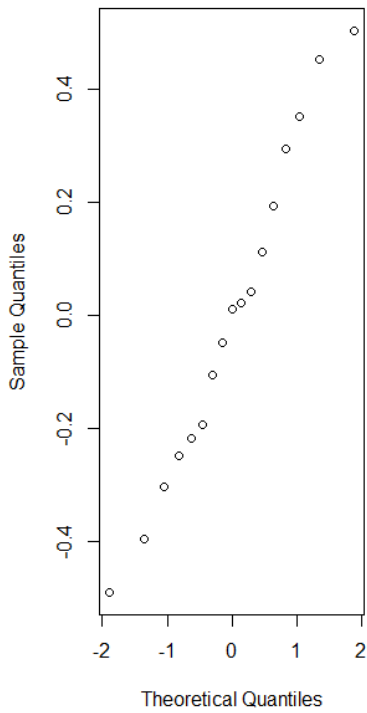
Mat. Sup 1. Biomasa

Normal Q-Q Plot

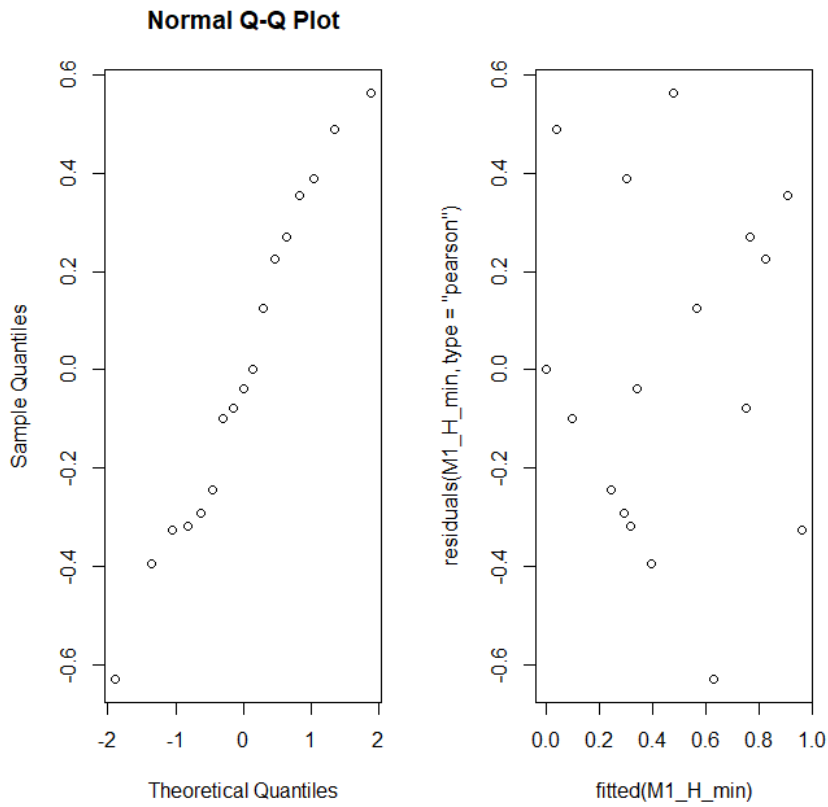


Mat. Sup 2. Abundancia

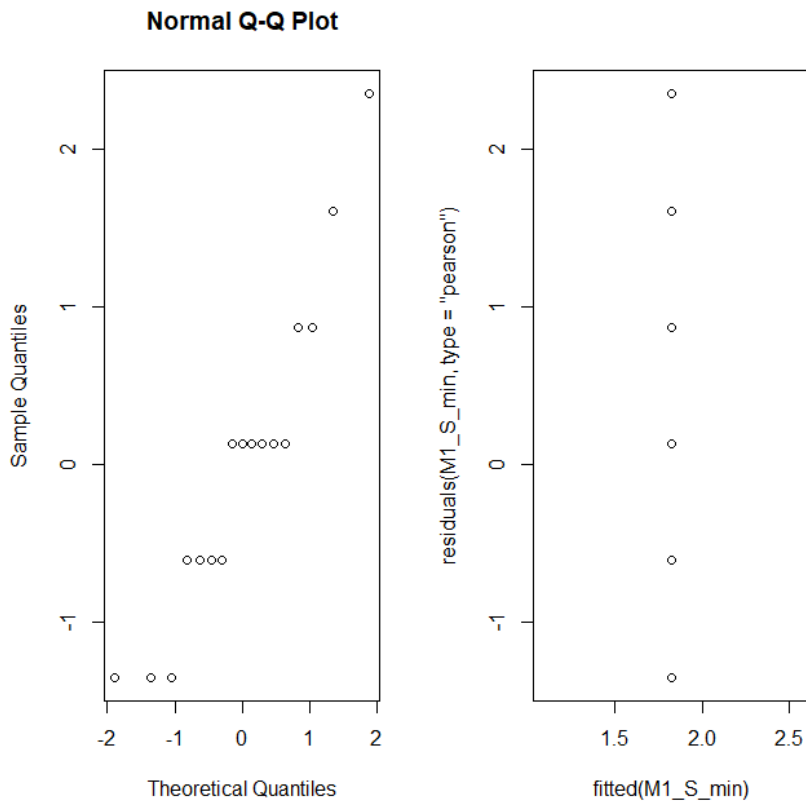
Normal Q-Q Plot



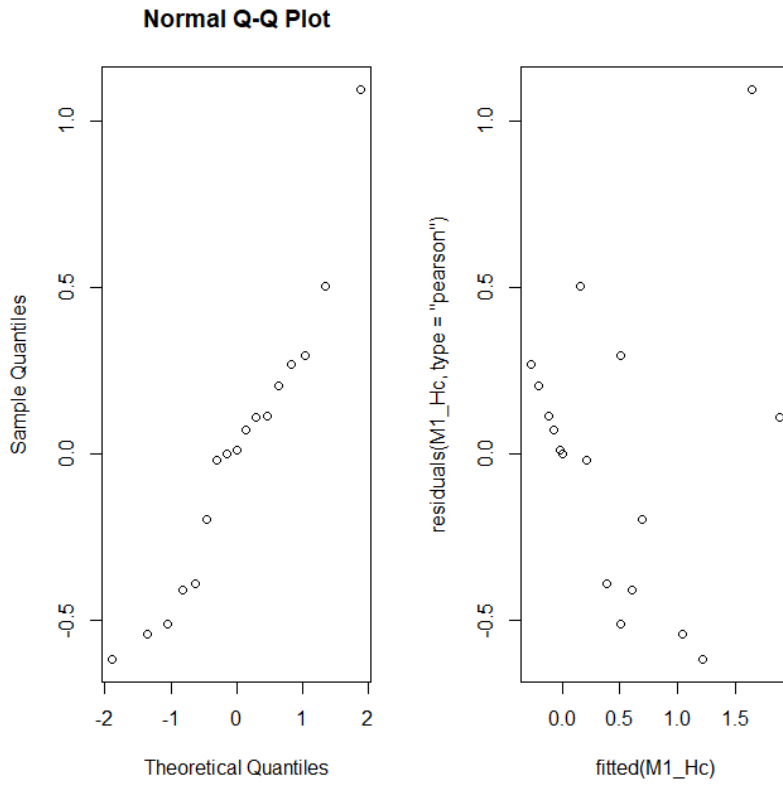
Mat. Sup 3. Diversidad de Simpson



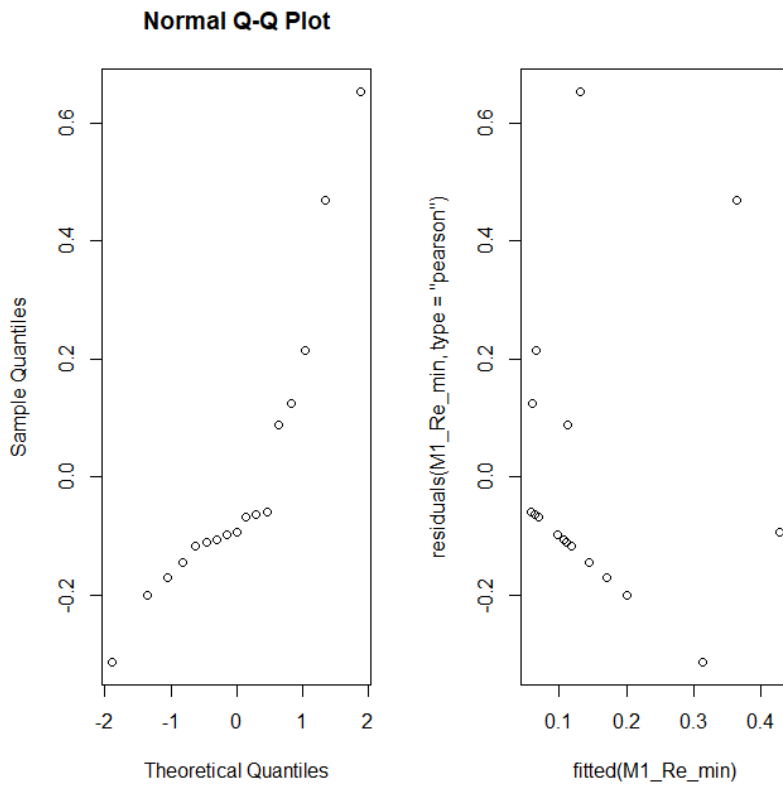
Mat. Sup 4. Diversidad de Shannon



Mat. Sup 5. Riqueza

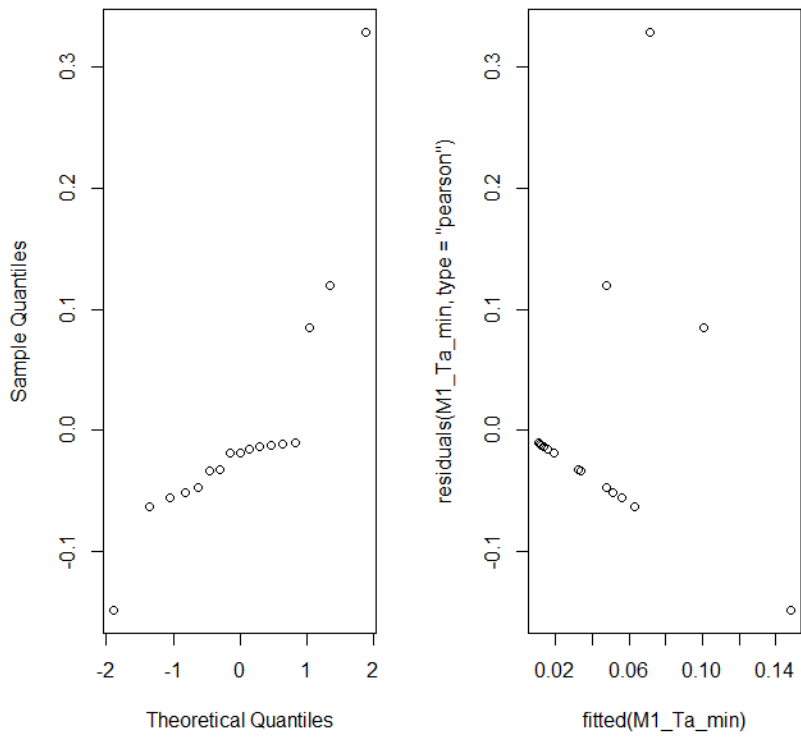


Mat. Sup 6. *Helcogrammoides cunninghami* (Diablillo)



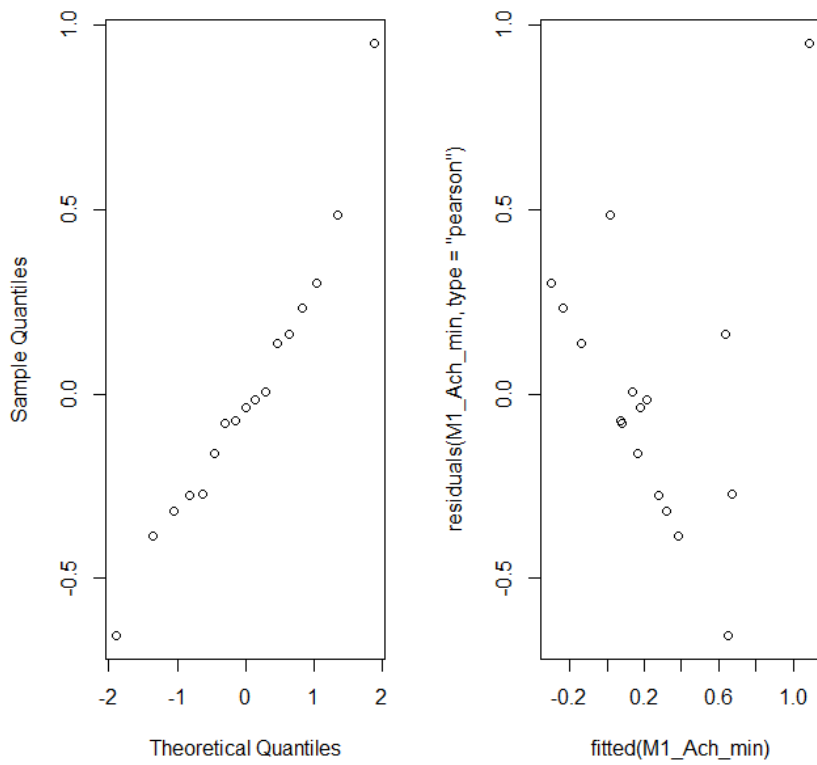
Mat. Sup 7. *Ribeiroclinus eigenmanni* (Clínido)

Normal Q-Q Plot

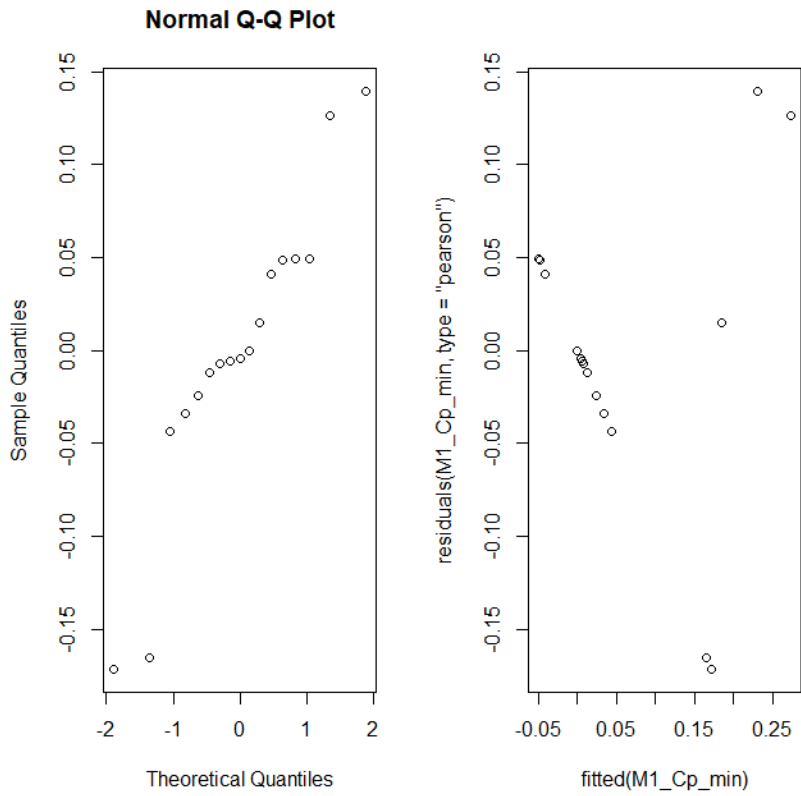


Mat. Sup 8. *Triathalassothia argentina* (Pez piedra)

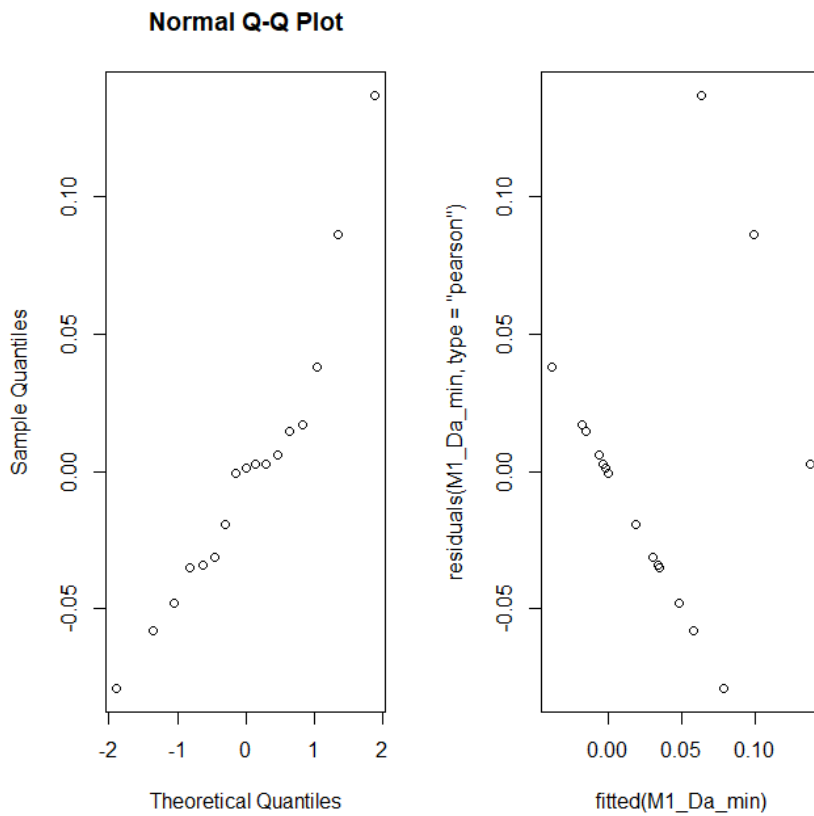
Normal Q-Q Plot



Mat. Sup 9. *Agonopsis chiloensis* (Acorazadito)



Mat. Sup 10. *Congiopodus peruvianus* (Cacique)



Mat sup. 11. *Dules auriga* (Cocherito)



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Marine Pollution Bulletin

journal homepage: www.elsevier.com/locate/marpolbul

Assessing urban microplastic pollution in a benthic habitat of Patagonia Argentina



María F. Ríos, Rodrigo D. Hernández-Moresino*, David E. Galván

Centro para el Estudio de Sistemas Marinos (CESIMAR), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Edificio CCT CONICET – CENPAT, Boulevard Brown 2915, U9120ACD Puerto Madryn, Chubut, Argentina

ARTICLE INFO

Keywords:

Benthos
Bioindicators
Coastal waters
Marine pollution
SEM/EDS analysis
South-Western Atlantic

ABSTRACT

Plastic pollution in the oceans has become a global problem, but its documentation is disparate around the world. We assess the abundance and type of microplastics in three benthic matrices: mussels, small fishes, and bottom water; in three sites nearby Puerto Madryn city (Patagonia, Argentina). Microplastics were present in the three matrices for all sites sampled. The average amounts of items observed were 1.6 and 0.3 per total wet weight in fishes and mussels, respectively, and 10.5 per liter in bottom water. Mussels and fishes presented a difference of microplastics size comparing with the surrounding bottoms waters; fishes also presented color discrimination, suggesting the necessity of more than one bioindicator to perform microplastic pollution monitoring. Moreover, small fishes had more MPs in their gastrointestinal tracts than bigger ones. The present study is the first one about the interaction between MPs and small aquatic organisms in coastal marine environments from Patagonia.

1. Introduction

Plastic pollution in the oceans has become a global problem. It has increased exponentially since the early 1950s, reaching 322 million tons in 2015, and it is expected that the production of plastics will continue to increase in the foreseeable future and production levels are likely to double by 2025 (Lusher et al., 2017). Numerous human activities, carried out both near and far from coastal areas, have a negative impact on the marine environment and on the organisms that inhabit it (Avio et al., 2017; Rezanía et al., 2018). Plastic pollution causes damage to wildlife through entanglement and ingestion (Gregory, 2009). Microplastics (MPs) are mainly the result of the breakdown of larger plastic products when exposed to ultraviolet light and physical abrasion, but also include synthetic fibers from laundering and microbeads added to cleansers and toothpaste, with sizes smaller than 5 mm (Arthur et al., 2009). This type of material is widespread in the marine environment, either in the water column, on coastlines and in subtidal sediments (Arthur et al., 2009; Eriksen et al., 2014; Ling et al., 2017), and thus, available to be ingested by a wide range of marine organisms.

The South Atlantic Ocean reported having the lowest densities of plastic pollution (0–1.5 items/ha, Barnes et al., 2009), however, the number of studies done in South America are scarce compared with developed countries (Eriksen et al., 2014). Fortunately, there is an

increasing number of studies on MPs in South America (see Barletta et al., 2019 for a recent review) focused mainly on estuaries and evidencing the potential ecological and economic impact of this pollutant (e.g. Ivar do Sul et al., 2009; Lozoya et al., 2016). Particularly, in Argentina, plastic debris have been documented in the continental shelf (Ronda et al., 2019) and also in coastal environments, either in estuaries of the Río de la Plata (Acha et al., 2003; Pazos et al., 2018) and Bahía Blanca (Fernández Severini et al., 2019; Villagran et al., 2020), and along urban beaches (Colombini et al., 2008; Denuncio and Bastida, 2014; Esteves et al., 1997). Regarding the presence of MPs and their ingestion by aquatic organisms, Pazos et al. (2017) found that all of the 11 species of coastal freshwater fish of the Río de la Plata estuary exhibited MPs in their gut contents and that fibers represented the 96% of the plastic ingested. Similarly, Arias et al. (2019), Fernández Severini et al. (2019) and Villagran et al. (2020) reported the presence of MPs in marine commercial fish species, bivalves and crabs of the Bahía Blanca estuary, respectively.

There are no studies yet on MP pollution along the almost 3000 km of the Argentinian Patagonian coast. Nuevo Gulf (NG) constitutes one of the three north Patagonian gulfs. These gulfs are one of the richest areas of the Argentinean Sea for its high productivity and biological diversity. The NG has one deep basin with a wide cyclonic gyre year-round (Tonini et al., 2013). The main urban area in the NG is the Puerto Madryn city, with a population of over 100.000 inhabitants and an

* Corresponding author.

E-mail address: rodrigo@cenpat-conicet.gob.ar (R.D. Hernández-Moresino).

<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111491>

Received 3 June 2020; Received in revised form 17 July 2020; Accepted 18 July 2020

Available online 27 July 2020

0025-326X/ © 2020 Elsevier Ltd. All rights reserved.

intense industrial activity. The city has two ports with high maritime traffic, both for industries (i.e. transporting materials for fishing industries and aluminum production) and tourism with large cruises and sport vessels. The NG is a semi-enclosed basin with restricted water exchange with the marine platform, and thus, it has the potentiality to accumulate and concentrate contaminant emissions and magnify their effects in the environment. Different anthropogenic pollutants, such as persistent pollutants (PAHs) or trace metals in organisms and environments near Puerto Madryn harbor areas have been documented (Giarratano et al., 2013; Primost et al., 2018). However, studies of MPs in organisms or in the aquatic environment near the city have not yet been published.

Bivalve species, as filter feeders, are used as bioindicator species in most studies assessing MP pollution (de Sá et al., 2018; Li et al., 2016a). In this study, there were also included microcarnivores fishes with a small body-size (i.e. less than 10 cm in total length). Small fishes may rather be particularly susceptible to negative impacts of MP exposure, with potential biomagnification throughout the food web (Ferreira et al., 2019; Lehtiniemi et al., 2018). Small-size species are probably more prone to confound MPs with prey (Ory et al., 2017) or to suffer mechanical interference in the feeding and digestion process than fishes of commercial size (Jovanović, 2017); then, small fishes are possibly accurate indicators of MP pollution.

The present study assesses the MP types and their abundances in the benthic habitat close to the urban area of Puerto Madryn. The sampling includes bottom water and representative organisms like the ribbed mussel (*Aulacomya atra*) and three small benthic fishes (*Helcogrammoides cunninghami*, *Riberoclinus eigenmanni*, and juvenile *Eleginops maclovinus*). This is the first study about the interaction between MPs and aquatic organisms in a Patagonian marine environment.

2. Materials and methods

2.1. Sampling collection

Mussels, fishes and bottom water were sampled at three sites close to Puerto Madryn city: Playa Paraná, Náutico, and Punta Arco (Fig. 1). Náutico site is located in front of the city, in a harbor area between two ports. The maritime traffic and proximity to urban and industrial zones make this site a source of pollution. The remaining two sites are located 7–8 km from the Náutico site, one on each side. These two sites are not in front of any urban settlement, nor have commercial ship traffic or

industrial activities. Sampling was done in April 2019 in shallow waters with depths about 5–8 m. Fishes were collected with a small beam trawl (~0.6 m horizontal opening, 1 cm mesh size) and classified in the laboratory. Three fish species were collected in all sites: *H. cunninghami* ($N = 39$, total length range = 27–44 mm and body-mass range = 0.19–1.02 g), *R. eigenmanni* ($N = 9$, total length range = 25–60 mm and body-mass range = 0.15–1.78 g) and juvenile *E. maclovinus* ($N = 30$, total length range = 35–65 mm and body-mass range = 0.43–3.13 g). Ribbed mussels (*A. atra*) were collected by scuba diving ($N = 94$, shell-length range = 30–83 mm and body-mass range 0.6–15.8 g). Water was collected 1 m over the bottom using a Niskin bottle. Bottom water sampling was chosen because it represents the surrounding benthic medium where the selected organisms inhabit. Mussels and fishes were stored in new plastic bags. The bags were labeled, transported to the lab facilities, and stored at -20°C prior to MPs analysis. Bottom water was stored in new plastic bottles, labeled, and transported to the lab, being processed the same day. All bags and bottles were previously rinsed with distilled water filtered with a 30 μm size mesh.

2.2. Laboratory work

Total mussel soft tissues and whole gastrointestinal tract in fishes were selected for MPs analysis. Previous to the MPs analysis, total wet weight of soft tissue in mussels and total wet weight of the entire body in fishes were recorded. In order to simplify the detection of MP particles, mussel tissues and gastrointestinal tract of fishes were subjected to a solution of 30% hydrogen peroxide (H_2O_2) at 60°C on a hot plate, for 24–48 h, until almost all organic matter was digested (Avio et al., 2015; Digka et al., 2018). For that, the gastrointestinal tracts of each fish were treated individually with 5 ml of the H_2O_2 solution. In the case of mussels, five replicates at each site were prepared with soft tissues of 5–10 individuals (about 20 g each sample) and placed into glass bottles adding 100 ml of the digestive solution. In the case of fish samples, the same dishes used in the digestion process were later used for the MPs inspection. Mussel samples, as they contained more tissues, had to be previously filtered with a 30 μm size mesh and rinsed with pre-filtered distilled water to remove the organic foam generated during the digestion process. Afterward, they were placed in new clean Petri dishes and dried in the hot plate for further inspection.

Bottom water samples were filtered using Munktell® glass micro-fiber filters of 0.7 μm pore size and a vacuum pump. A total of 4.5 l of

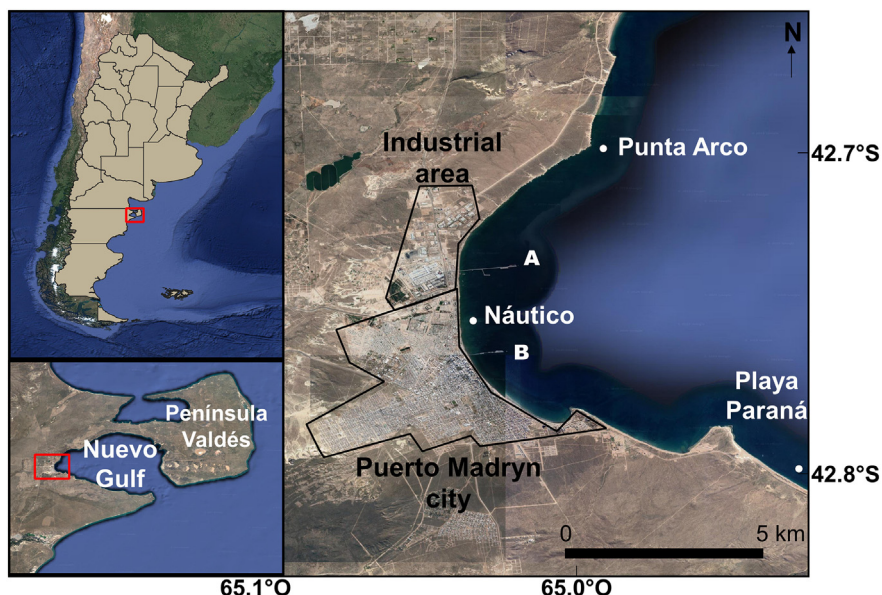


Fig. 1. Sampling area in Nuevo Gulf and location of sampling sites (Map data ©2015 Google). The harbor area includes Storni (A) and Luis Piedrabuena (B) ports.

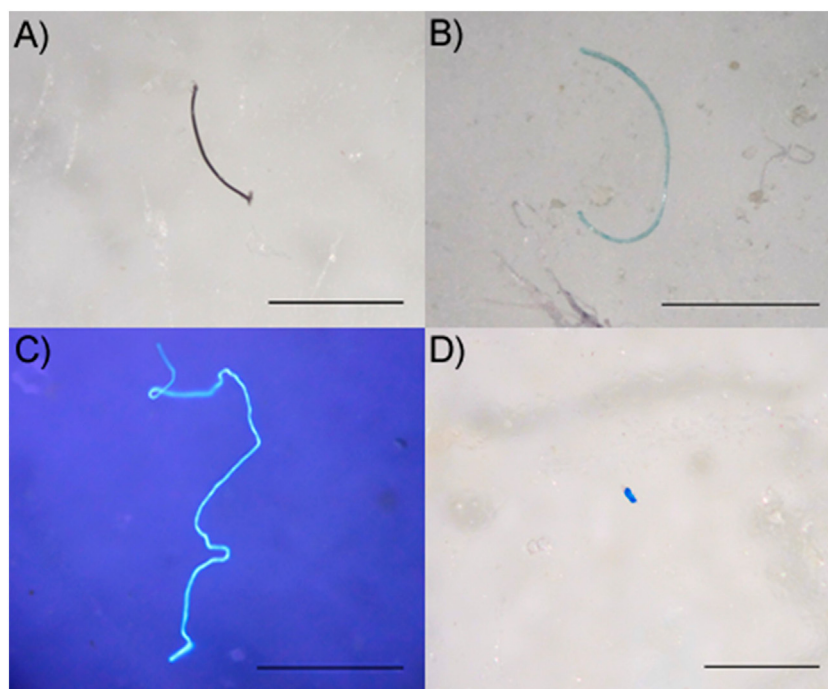


Fig. 2. Optical microscopy for plastic inspection of all samples. Fibers (A, B and C) and fragment (D). Transparent fiber (C) was detected using UV light. Black bars indicate 1 mm scale.

seawater were filtered for each site. Those filters were placed in Petri dishes with the digestive solution at 60 °C, for 24hs. In order to remove all the particles retained in the filters, each of them was removed and rinsed with distilled and 30 µm-filtered water into the same dishes where the digestion had taken place. Finally, the dishes were placed again on the hot plate until all the water was evaporated.

After the digestion process, samples were examined under an optical microscope Zeiss Stemi 2000c with 50× magnification. The items resembling MPs were photographed with a Canon Powershot G12 digital camera mounted in the microscope, and counted and classified according to length, color, and type (fibers or fragments) (Fig. 2). Three rules were applied in a first step to discriminate between plastic and non-plastic as described by Hidalgo-Ruz et al. (2012): (1) the object should not have any cellular or organic structures, (2) the fibers should be equally thick throughout the entire length, (3) the color of the particles should be clear and homogeneous, and if they are transparent or white, they must be examined under high magnification and a fluorescence microscope. Following these rules, a UV light was employed to detect white or transparent potential MPs, which are not detectable with visible light (Fig. 2C). Most organic particles and shells were easily distinguishable as non-plastic items through microscopy due to their texture and color, so they were excluded from further analysis.

To prevent any cross-contamination with MPs, several precautions were considered during field and laboratory procedures. The distilled water used was always prefiltered with 30 µm size mesh. All the filters, dishes, bags and bottles used were previously rinsed with the prefiltered distilled water. Similarly, the H₂O₂ solution was done using prefiltered distilled water. All working surfaces were cleaned with ethanol and tissue paper, and white cotton overalls were dressed during all the process, avoiding air flows keeping the room closed. Glass and metal containers and instruments were used whenever possible. Sampling filters were saved in aluminum envelopes until analysis, and all instruments and containers were covered with aluminum foil during digestion and when not in use. In addition, to test environmental contamination, we randomly placed clean dishes as blanks during the optical inspection. None events of cross-contamination were detected

during the procedure.

2.3. SEM-EDS analysis

Optical microscopy serves as the first step in MPs detection, however, some particles can be easily misidentified. Therefore, there are complementary analyses that must be used to readily distinguish plastic materials from other compounds. A scanning electron microscopy/energy-dispersive X-ray spectrometry (SEM/EDS) was used in this study for further differentiation of particles. This analysis was most useful in providing elemental composition signatures, following the criteria employed in previous works (Eriksen et al., 2013; Fries et al., 2013; Wang et al., 2017).

For this analysis, items were spread onto a double-sided conductive and adhesive carbon tape. For this procedure we first rubbed a metal needle onto the adhesive tape and then attached the particle to the needle and carefully placed it onto the tape. Tapes were mounted on an aluminum SEM sample holder, and then analyzed in a SEM/EDS (Jeol JSM-6460LV). The morphology of the samples was examined under a SEM, and the images were taken at x400 with an acceleration voltage of 25 kV. In addition to SEM inspection, the qualitative elemental composition of each item was provided using an EDS. The EDS analysis was performed at a high vacuum of 20 Pa, a working distance of 13 mm, and a spot size of 55.

Initially, 16 pieces of reference materials were analyzed with SEM/EDS: plastic (PET, PVC, PE) and non-plastic (bone, crustacean exoskeleton, cotton) materials that could be found in natural samples were inspected. Afterward, 12 particles isolated from mussels, fishes, and bottom water samples were selected through optical microscope inspections, encompassing all the different types of potential MP particles. This information was used to include or rule out particles into the MPs category.

2.4. Data analyses

Counts of MPs were transformed as items of MPs per gram of the total wet weight (items/g ww) of the organisms (the entire body in

fishes and the whole soft tissue in mussels) and items of MPs per liter of water. Samples in fishes are represented per individual, while samples in mussels consist of pools of 3–11 soft tissues that reached 14–35 g each. Abundance data did not satisfy the assumptions of parametric tests probably because they are truncated at zero and contain some zeros. Then, the non-parametric Kruskal-Wallis test (Zar, 1999) was performed to examine differences among sites stratified by matrices (fishes and mussels). Quantile Regression (QR) was performed to detect a possible relationship between fish or mussel body-mass and the number of MPs ingested. For the same reason that abundance data not satisfied normality assumptions, a QR performed at quantile 0.90 is a robust approach to identify such possible trends (Scharf et al., 1998). The null hypothesis of slope $b = 0$ (i.e. absence of relationship) was evaluated by testing whether the 95% CI of the parameter b includes 0. Differences in MP size among matrices and sampling sites were tested by a multifactorial-ANOVA, and a post-hoc pair comparison using the Tukey HSD test (Zar, 1999). Size data were log-transformed to accomplish the assumptions of the parametric tests. All data analyses were done using the software R version 3.5 (R Core Team, 2018).

3. Results

3.1. MPs identification

The chemical spectra obtained from the reference materials analyzed by SEM/EDS, showed that plastic items presented a strong carbon (C) peak, followed in some cases by a weak oxygen (O) peak (Fig. 3, A–C). The exception was the cases of polyvinyl chloride (PVC) materials, which spectrum denoted a strong chloride (Cl) peak instead of a C one (Fig. 3D). On the other hand, non-plastic particles could be recognized by strong peaks of other elements such as the case of bones (calcium, phosphorus), hairs (sulphur), shells (with high contents of

calcium), or cotton fibers (medium O peak) (Fig. 3, E–H).

As a result from the SEM/EDS analyses of the different types of particles found in water, bivalves and fish samples, 41.6% of the items from field sampling were identified as non-plastics and discarded for further analyses. Plastic-like particles have a strong C peak and usually another weak O peak (Fig. 4A and B). However, there are synthetic particles such as PVC that also present Cl peaks (Fig. 4E), or strong silicon (Si) peaks such as glass fibers and that might be mistaken with diatom frustules by performing solely an EDS analysis (Fig. 4C and D).

3.2. Abundance of MPs

There were no significant differences in the abundance of MPs among the three sampling sites, neither in fishes nor in mussels (Kruskal-Wallis test, $H_{(5,94)} = 2.6$, $P = 0.27$). Although no statistical significance, the highest average abundance of MPs was found in Punta Arco for both organisms (fishes and mussels) (Fig. 5). In contrast, the highest abundance in bottom water was found in Playa Paraná (Fig. 5), however, we must take this result with caution due to the lack of replicates. Fishes presented the highest abundance: a total of 55 MP particles were identified, with a general average of 1.6 MPs items/g ww (0.6 item/ind.), and an occurrence of 38.5%. A significant and negative relationship between the body mass of fishes and the number of MPs was also found (Fig. 6); the slope of the QR for the quantile 0.90 was negative and different from zero ($b = -1.03$; 95% CI = -1.18 – -0.13). In the case of the soft tissues of mussels, a total of 103 MPs were identified, with a general average of 0.3 items/g ww. No relationship between the body mass of mussels and the number of MPs was found. Regarding the bottom water, a total of 124 MP particles were identified, with an average concentration of 10.5 items/l (Fig. 5).

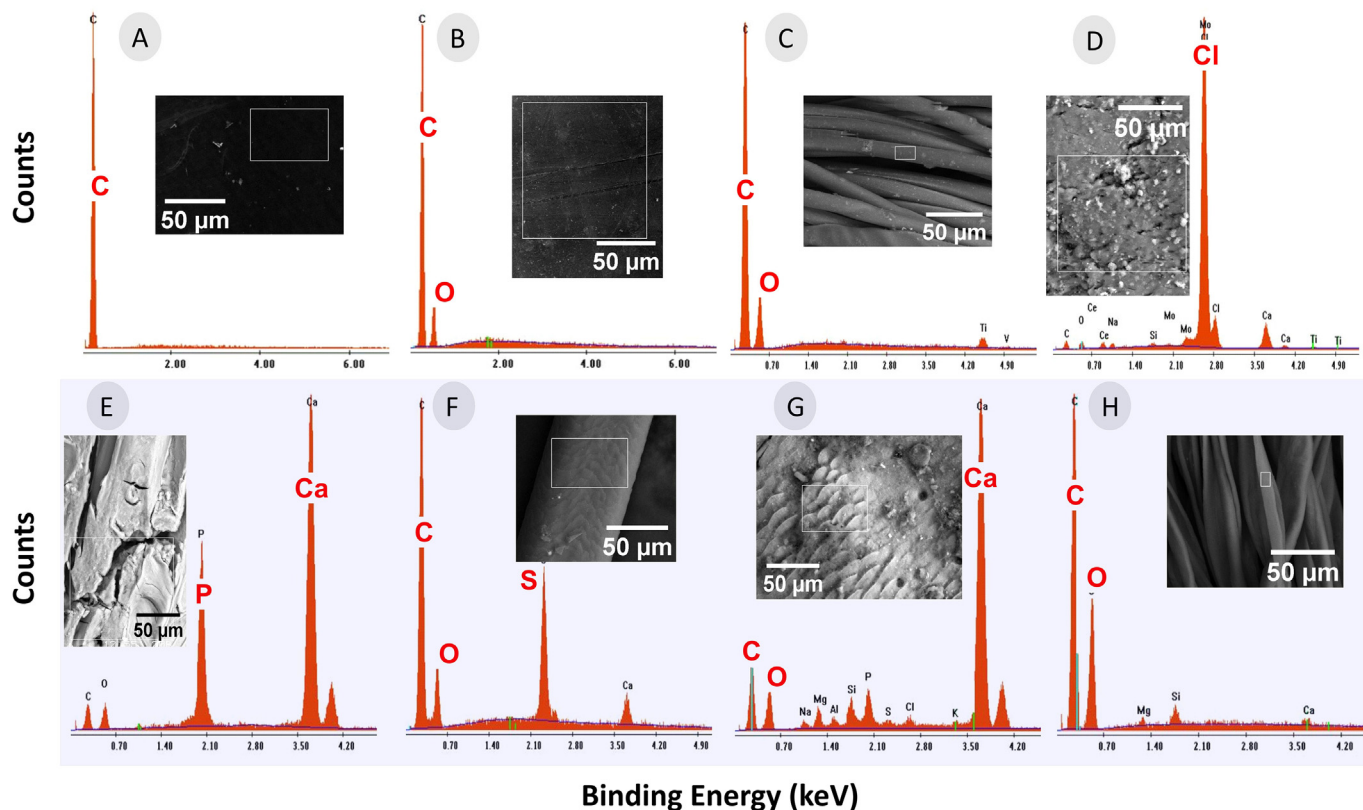


Fig. 3. Characterization of pattern samples with SEM (grey photos) and EDS (graphs). Upper and bottom panels show plastic and non-plastic items, respectively. A) polyethylene (PE); B) polyethylene terephthalate (PET); C) polyester; D) polyvinyl chloride (PVC); E) bond; F) hair; G) CaCO₃; H) cotton fiber. Red letters show strong peaks of chemical elements. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

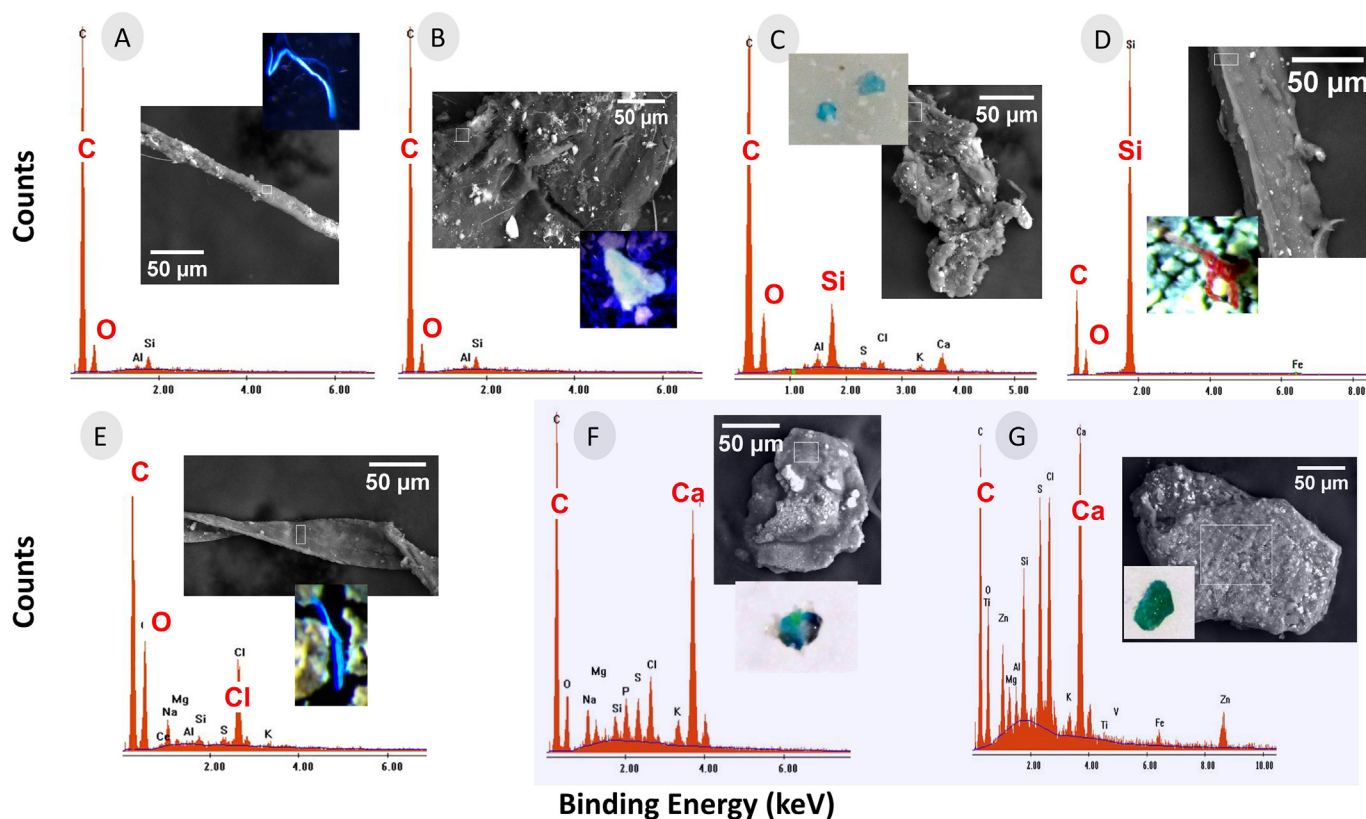


Fig. 4. Identification of MPs with SEM (grey photos) and EDS (graphs). Particles first identified with optical microscope using visible or UV light are also shown (color photos). From A to E, particles classified as MPs. Panels F and G, particles classified as non-MPs. Red letters show strong peaks of chemical elements. Yellow bars in photos indicate 50 µm scale. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

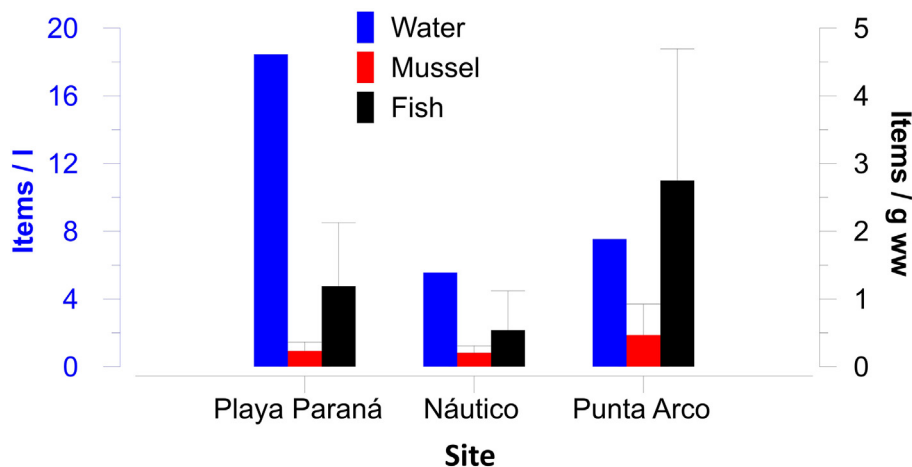


Fig. 5. Abundance of MPs in three matrices of the benthic habitat: soft tissue of ribbed mussels, gastrointestinal tract of three benthic fishes, and bottom water. Bars and whiskers indicate mean and 95% CI.

3.3. Types of MPs

In terms of the MPs characterization, white/transparent colored MPs were the most abundant in all matrices: 79% in water, 67.9% in mussels, and 41.1% in fishes (Fig. 7). In bottom water, the yellow color is the next most abundant. In the case of mussels, the black color is the next most abundant followed by yellow. In the case of fishes, they presented a singular high amount of blue-colored particles, only surpassed by the white/transparent ones. Briefly, the color proportion of MPs found in mussels resemble those observed in the bottom waters, being different when comparing MPs color patterns ingested by fishes,

mainly because of the high amount of blue particles found in the latter. Regarding MP shapes, microfibers were the most abundant class of MPs in all samples, representing an average abundance of 90.3%, having the mussels a slightly higher amount of MP fragments (12.7%) than fishes (10%) and bottom water (9.7%).

3.4. Size of MPs

Regarding MP size, there was no significant interaction between sites and matrices ($F_{(4,263)} = 0.98, P = 0.41$), varying from a minimum of 0.05 to a maximum of 4.97 mm. Besides, there are no significant

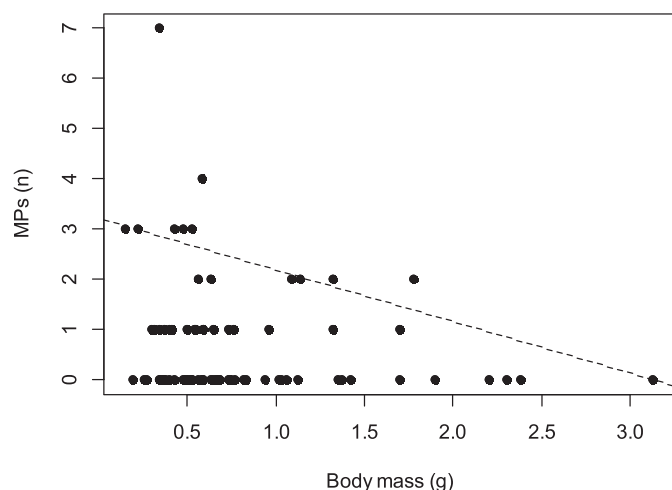


Fig. 6. Relationship between fishes' body-size (expressed in grams) and the number of MPs found in their gastrointestinal tracts. The dashed line shows the predicted values by the quantile regression (QR) for the quantiles 0.90.

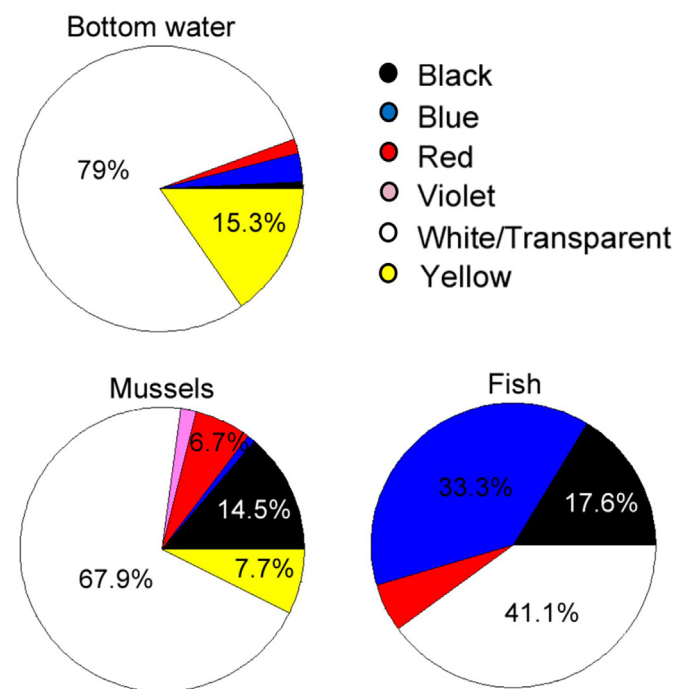


Fig. 7. Pie charts show the percentage of each color of MPs found in the three matrices.

differences among sites ($F_{(2,263)} = 1.50, P = 0.23$). However, MP size had significant differences among matrices ($F_{(2,263)} = 8.56, P < 0.01$). Contrasts showed that bottom water had smaller item size than mussels ($P = 0.05$) and fishes ($P < 0.01$), but mussels did not differentiate from fishes ($P = 0.11$), with average values of 0.81, 1.25, and 1.59, respectively (Fig. 8).

4. Discussion

The results presented here are from the first MP pollution monitoring in the Argentinean Patagonian coast. The assessment covered biotic and abiotic matrices; which is crucial to evaluate the risk of MP pollution at an ecosystem scale. We focused on the benthic ecosystem close to an urban and industrial area to test its direct impact on the coast and to present a baseline for future environmental local

monitoring and policy.

4.1. MPs identification

The particles were identified by optical microscopy and later included/ruled out in the MP category by SEM/EDS analysis. These combined technics can offer a rapid and acceptable accuracy to screen the MP particles within marine environments (Wang et al., 2017). However, there are other more advantageous technics for identification of MPs such as Raman and FTIR spectroscopy, but their analysis process is more expensive and time-consuming. Raman and FTIR spectroscopy can identify the polymer type of samples, which is important to speculate the source. In the present study, the authors were conservative and by means of SEM/EDS analyses a total of 41.6% of the previously selected plastic-like particles by optical microscopy were discarded. Those particles were mainly shell parts. However, we must recognize that some particles we believe are MPs might be non-synthetic microfibers (Carr, 2017). Non-plastic materials, like cotton, were discovered across the ocean samples by Barrows et al. (2018). The degradation time and threats of that non-synthetic microfibers to aquatic ecosystems merit further investigations due to dyes and other additives used in textile production. On the other hand, we found fibers with a high Si peak corresponding to red glass-fiber materials. Small glass-fiber particles were neither identified nor reported in previous studies as they are not plastics. However, like other small fibers, they could have adsorbed organic or metal pollutants, or adhered hazardous microorganism (Oberbeckmann et al., 2015; Wang et al., 2016). Thus, we considered that these fibers must be taken into account in futures researches to assess pollution by human-produced microparticles.

4.2. Abundance of MPs

A variety of sampling methods are used for MPs studies, collecting a different range of MPs sizes. For example, several studies subestimate the MP abundance in the sea surface, like pelagic investigations by deploying neuston and bongo nets with mesh sizes around 0.33 mm (Hidalgo-Ruz et al., 2012) which lose the smaller particles. Small MP particles less than 0.33 mm proved to represent a high proportion of the total plastic particles in studies that combined both nets and sampling bottle (Di Mauro et al., 2017), or on-board seawater pump (Lusher et al., 2015). Indeed, trawl net studies could be undersampling particle density by approximately three orders of magnitude (Barrows et al., 2017). In the present study, we combined bottom water samples with live organisms. Thus, the presence of MPs retained close to Puerto Madryn city were collected in an abiotic matrix and biotic matrices represented by the filter-feeder ribbed mussel and three species of small-benthic fishes. As the sampled sites had shallow deeps (between 5 and 8 m) and tides range up to 5 m, bottom water might be considered as representative of the water column and is comparable with those researches using sub-surface bottles, buckets/jars or pump devices. We found a MP concentration from 5 to 18 items/l, similar to those found in Atlantic coastal waters obtained in the global water study by Barrows et al. (2018), with an average of 6 items/l. Our findings can also be considered close to those along the coastal waters of the United Kingdom (Li et al., 2018, 1.5–6.7 items/l), or China (Qu et al., 2018, 0.68–6.44 items/l), but much lower than those reported in the Gulf of Mexico (Di Mauro et al., 2017, 60–157 items/l), or the North Sea coast (Karlsson et al., 2017, 27 items/l). Our results suggest that the coastal waters of Puerto Madryn present similar values than most coastal areas, contrary to initial expectations (Barrows et al., 2018). However, values reported here were smaller than those for Polar Regions, where pollution is much higher; areas where MPs would be heavily concentrated by currents (Eriksen et al., 2014), or they are the result of poor waste management practices in nearby areas with intensive anthropic activities.

The retention of MPs in mussels is closely related to human activity

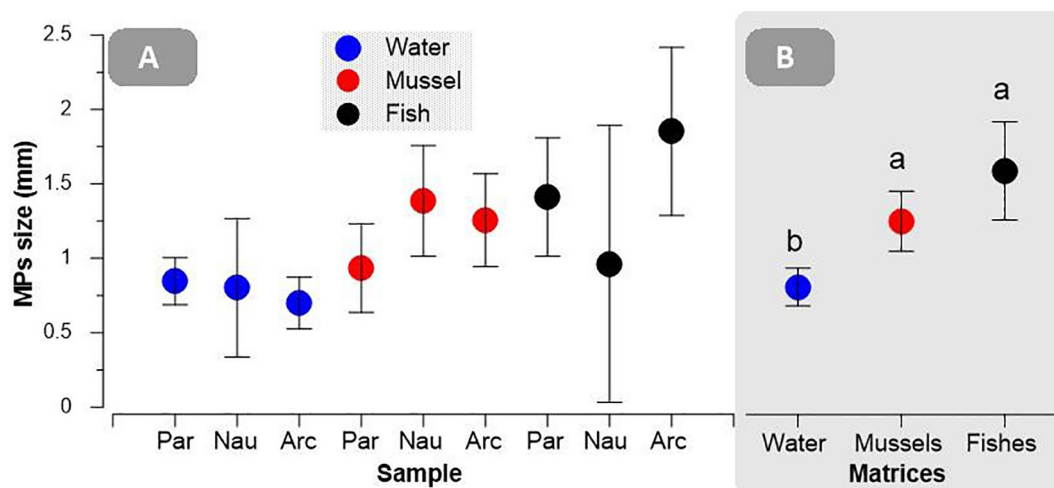


Fig. 8. Microplastic size. Panel A and B show different arrangements from the same data. Circles and whiskers represent mean and 95% CI, respectively. Lowercase letters in panel B indicate homogeneous groups using Tukey HSD test. Par = Playa Paraná; Nau = Náutico; Arc = Punta Arco.

(Li et al., 2016b). To compare our results of MPs ingestion in mussels with other works, we selected those studies that report measures as items per gram of the whole soft tissues (wet weight). Mussels from the present study presented values from 0.22 to 0.59 items/g ww, comparable with low values observed in several European coasts (De Witte et al., 2014; Van Cauwenberghe and Janssen, 2014; Van Cauwenberghe et al., 2015; Vandermeersch et al., 2015). On the other hand, medium or high values of contamination (from 1 to 10 items/g ww) were reported in mussels from coasts of Canada (Mathalon and Hill, 2014), UK (Li et al., 2018), China (Li et al., 2016a; Qu et al., 2018), Norway (Lusher et al., 2017), and South Africa (Sparks, 2020).

Microplastic consumption by size commercial fishes has been widely reported, including pelagic and demersal populations in freshwater and marine environments (e.g. Neves et al., 2015; Romeo et al., 2015). To our best knowledge, there is currently no substantial published data regarding MP ingestion by marine fish species in natural conditions within the size range we sampled. There are several assessments on wild fish larvae (e.g. Lima et al., 2015; Steer et al., 2017), which are much smaller than the juveniles and adults we sampled, some studies on juveniles fish in freshwater and estuarine environments (e.g. Ferreira et al., 2018; Silva et al., 2018), and also a large number of researches on fishes heavier than 5 g. In this context, our contribution intends to fill this gap of knowledge. Fishes sampled in the present study ranged between 0.15 g and 3 g of body mass. The average number of MPs per individual decreased with body size (Fig. 6). This result backs up our initial expectation that small fishes may be particularly more susceptible to negative impacts of exposure to MP pollution. Most studies on juvenile and adult fishes heavier than 5 g report no relationship between fish size and the abundance of MPs detected (e.g. Foekema et al., 2013; Güven et al., 2017), or even they found positive trends (Pegado et al., 2018), contrary to our finding. The lack of relationship was interpreted as a low accumulation of MPs in the gastrointestinal tract of fishes (Güven et al., 2017; Jovanović, 2017). However, it is known that MPs might cause gut blockage and induce starvation in fish larvae (Lima et al., 2015). Then, our samples may be reflecting the point of inflection in fishes' body-size between accumulation and ephemeral transit of MPs. In the present study, we focused on the presence of MPs in the gastrointestinal tract of fishes, as most researches sampling fish do (Ferreira et al., 2018; Jovanović, 2017). However, other tissues than the gastrointestinal could also have MPs. For example, Abbasi et al. (2018) reported MPs in skin, gills, muscle and liver; being the size of the MPs in gills and gastrointestinal tract larger than in the other tissues. Although the results reported by Abbasi et al. (2018) showed that the occurrence of MPs outside the digestive

system suggests that translocation is significant, other reviews suggest that this process is infrequent and more probable to occur for nano-plastics than MPs (e.g. Jovanović, 2017; Lu et al., 2016).

Most of the studies assessing the MP contents in aquatic organisms did not test MP concentration in the surrounding waters; thus the relationship between biotic and abiotic matrices cannot be discussed, neither its relation with the human activity. In our work, there was not a clear trend among sites and matrices. The southern site (Playa Paraná) had the most contaminated water; in contrast, the northern site (Punta Arco) exhibited the highest values for mussels and fishes. As the residual current circulation in NG is in the clockwise direction (i.e. from south to north on the east coast, see Fig. 1) (Tonini et al., 2013) the highest values should be observed northward the city. The biotic matrices (fishes and ribbed mussels) showed the expected trend (Fig. 5), although not significant; in contrast, the water samples did not. The lack of the expected trend possibly shows that at the sampled scale, MP pollution is not principally driven by currents, and that other forces, like winds, might force its distribution.

4.3. Types of MPs

Microfibers were the dominant shape in all matrices investigated (88–96%), with white/transparent as the most prevalent colors (41–68%). The prevalence of white/transparent particles is in agreement with previously observed by Barrows et al. (2018) in waters of the global marine ecosystems, with blue, black, and red as the remaining most abundant colors. In the present study, this pattern was found in gastrointestinal tracts of fishes, while in mussels was black and yellow and in water only yellow, followed by a minor proportion of other colors.

Regarding the color of MPs in fishes, our findings (white/transparent = 41.1%, blue = 33.3% and black = 17.6%) are similar to those of Mizraji et al. (2017) for carnivores fish, where white/transparent (63%), black (19%) and blue (13%) microfibers were the most abundant colors. On the other hand, fishes have less white/transparent and nothing of yellow-colored particles compared with mussels and water, and a high proportion of blue items, suggesting that fishes could actively select blue MPs resembling their prey. On the other hand, mussels would filter and retain MP particles regardless of their color, and this could explain that the proportion of colors resemble those found in the bottom waters. In agreement with our results, most works show that fish have more colored MPs in their gastrointestinal tracts than white/transparent ones (Ory et al., 2017; Peters and Bratton, 2016; Pozo et al., 2019), contrary to water samples that mostly present white/transparent

MPs. Indeed, most of those works identified blue color as the most consumed item (Ory et al., 2017; Peters and Bratton, 2016). Therefore, evidence suggests that fish mistakenly ingest MPs resembling their natural prey and that the MP ingestion is, to some extent, active.

4.4. Size of MPs

The MP size in bottom water samples ranged from 0.07 to 4.45 mm in length, with an average of 0.81 mm (± 0.13 , 95% IC). Microplastics were predominantly < 0.5 mm (44%), increasing to 87% when we include all particles < 1.5 mm. These results are consistent with Barrows et al. (2018), who found a global predominance of MPs less than 1.5 mm (77%) throughout the ocean waters. The size-frequency distribution of MPs obtained in mussels differs from that of the environmental waters, with higher average and wide dispersion values (average of 1.25 mm and 0.2 of 95% IC, accounted with 66% of particles < 1.5 mm). Mussels, as well as all filter-feeding organisms, incorporate MPs directly from the surrounding water; thus, they must reflect the MP characteristics of the environment. Indeed, mussels were recently proposed as a global bioindicator of MP pollution in terms of morphotype and polymer types (Li et al., 2019). In particular, the work of Qu et al. (2018) evidences a close similarity of size-frequency distribution between mussels and environmental water; but the size distribution observed in water samples is highly dependent on the sampler device. On the other hand, it is widely known that these organisms have developed complex mechanisms associated with particle uptake and selection, with species-specific processes based upon both the physical and chemical characteristics of the particles (Rosa et al., 2018). Moreover, it was discovered that 50% of MPs found in mussels adhere to organs that are not involved in the ingestion process (Kolandhasamy et al., 2018). This suggests that mussels may serve “partially” as bioindicators of environmental contamination until further investigations in terms of MPs selectivity and incorporation/adhering are performed.

Similar to mussels, fish showed higher average values of MP size than the water samples. This difference may be caused by active ingestion of the bigger particles or by differential retention of the larger size particles in the gastrointestinal tract. The color proportions of MPs ingested by fishes also differ from the availability in water reinforcing the hypothesis of active ingestion of MP by these fishes.

5. Conclusions

In this study, we reported MPs in all samples from all matrices under inspection (mussels, fishes and, bottom water). Biotic matrices retained MPs bigger than those observed in the bottom waters. Furthermore, evidence suggests that small fishes select MPs by color, due to the high proportion of blue particles they ingested. This result calls attention to the importance to sample more than one matrix for adequate research on environmental MP pollution.

The concentration of MPs in the Nuevo Gulf does not seem to be high until now; however, this is not an indicator that it cannot imply a risk for the organisms and humans. Small organisms such as fishes and mussels seem to be more vulnerable and prone to consume small plastic particles resembling their prey size categories; and our result suggests that the smaller the fish, the higher the number of MPs in the gastrointestinal tract.

To achieve a better assessment of MP pollution in the Nuevo Gulf, not only the urban coastal waters should be sampled. This gulf is a semi-enclosed basin with a restricted exchange with the sea and also presents a gyre that may enhance the concentration of those particles in the centre of the gyre, as it was observed in the ocean gyres.

CRediT authorship contribution statement

M. Florencia Ríos: Conceptualization, Formal analysis, Writing -

original draft, Funding acquisition. **Rodrigo D. Hernández-Moresino:** Conceptualization, Methodology, Visualization, Investigation, Writing - review & editing. **David E. Galván:** Conceptualization, Investigation, Writing - review & editing.

Declaration of competing interest

The authors declare that the submission is an original work and it is not under consideration for publication elsewhere. The authors have no known competing financial interests or personal relationships that have, or could be perceived to have, influenced the work reported in this article.

Acknowledgements

This work was partially supported by the PADI Foundation (2018-32773) to MFR. Samples were collected under the Resolution No 1315/2016-MT to DEG. The analysis of the samples was conducted in ALUAR S.A.I.C. in the framework of the cooperation project No 6213/15. We are very grateful to Norberto de Garin (CENPAT-CONICET) and to Mauricio Luquet (ALUAR S.A.I.C.) for SEM/EDS assistance. Also thanks to the two anonymous reviewers for valuable comments that greatly improved the Ms.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found in the online version, at <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111491>. These data include the Google map of the most important areas described in this article.

References

- Abbasi, S., Soltani, N., Keshavarzi, B., Moore, F., Turner, A., Hassanaghaei, M., 2018. Microplastics in different tissues of fish and prawn from the Musa Estuary, Persian Gulf. *Chemosphere* 205, 80–87. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.04.076>.
- Acha, E.M., Mianzan, H.W., Iribarne, O., Gagliardini, D.A., Lasta, C., Daleo, P., 2003. The role of the Río de la Plata bottom salinity front in accumulating debris. *Mar. Pollut. Bull.* 46, 197–202.
- Arias, A.H., Ronda, A.C., Oliva, A.L., Marcovecchio, J.E., 2019. Evidence of microplastic ingestion by fish from the Bahía Blanca estuary in Argentina, South America. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 750–756. <https://doi.org/10.1007/s00128-019-02604-2>.
- Arthur, C., Baker, J., Bamford, H., 2009. Proceedings of the International Research Workshop on the Occurrence, Effects, and Fate of Microplastic Marine Debris. NOAA Techn.
- Avio, C.G., Gorb, S., Regoli, F., 2015. Experimental development of a new protocol for extraction and characterization of microplastics in fish tissues: first observations in commercial species from Adriatic Sea. *Mar. Environ. Res.* 111, 18–26. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2015.06.014>.
- Avio, C.G., Gorb, S., Regoli, F., 2017. Plastics and microplastics in the oceans: from emerging pollutants to emerged threat. *Mar. Environ. Res.* 128, 2–11. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2016.05.012>.
- Barletta, M., Lima, A.R.A., Costa, M.F., 2019. Distribution, sources and consequences of nutrients, persistent organic pollutants, metals and microplastics in south American estuaries. *Sci. Total Environ.* 651, 1199–1218. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.276>.
- Barnes, D.K.A., Galgani, F., Thompson, R.C., Barlaz, M., 2009. Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 364, 1985–1998. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0205>.
- Barrows, A.P.W., Neumann, C.A., Berger, M.L., Shaw, S.D., 2017. Grab vs. neuston tow net: a microplastic sampling performance comparison and possible advances in the field. *Anal. Methods* 9, 1446–1453. <https://doi.org/10.1039/c6ay02387h>.
- Barrows, A.P.W., Cathey, S.E., Petersen, C.W., 2018. Marine environment microfiber contamination: global patterns and the diversity of microparticle origins. *Environ. Pollut.* 237, 275–284. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.02.062>.
- Carr, S.A., 2017. Sources and dispersive modes of micro-fibers in the environment. *Integr. Environ. Assess. Manag.* 13, 466–469. <https://doi.org/10.1002/ieam.1916>.
- Colombini, M., Alderete, S., Harris, G., 2008. 2° Censo Nacional de Contaminación Costera de la República Argentina.
- de Sá, C.L., Oliveira, M., Ribeiro, F., Lopes, T., Norman, M., 2018. Studies of the effects of microplastics on aquatic organisms: what do we know and where should we focus our efforts in the future? *Sci. Total Environ.* 645, 1029–1039. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.207>.
- De Witte, B., Devriese, L., Bekaert, K., Hoffman, S., Vandermeersch, G., Cooreman, K.,

- Robbens, J., 2014. Quality assessment of the blue mussel (*Mytilus edulis*): comparison between commercial and wild types. *Mar. Pollut. Bull.* 85, 146–155. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.06.006>.
- Denuncio, P., Bastida, R., 2014. Composition, distribution and waste management of playa Grande, the most important touristic beach of Mar del Plata city, Argentina. *Waste Manag.* 34, 837–841. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2014.01.013>.
- Di Mauro, R., Kupchik, M.J., Benfield, M.C., 2017. Abundant plankton-sized microplastic particles in shelf waters of the northern Gulf of Mexico. *Environ. Pollut.* 230, 798–809. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.07.030>.
- Digka, N., Tsangaris, C., Torre, M., Anastasopoulou, A., Zeri, C., 2018. Microplastics in mussels and fish from the Northern Ionian Sea. *Mar. Pollut. Bull.* 135, 30–40. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.06.063>.
- Eriksen, M., Mason, S., Wilson, S., Box, C., Zellers, A., Edwards, W., Farley, H., Amato, S., 2013. Microplastic pollution in the surface waters of the Laurentian Great Lakes. *Mar. Pollut. Bull.* 77, 177–182. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.10.007>.
- Eriksen, M., Lebreton, L.C.M., Carson, H.S., Thiel, M., Moore, C.J., Borerro, J.C., Galgani, F., Ryan, P.G., Reisser, J., 2014. Plastic pollution in the world's oceans: more than 5 trillion plastic pieces weighing over 250,000 tons afloat at sea. *PLoS One* 12, 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111913>.
- Esteve, J.L., Harris, G., Musmeci, J.M., Palla, J., Sánchez, J.P., 1997. Primer censo de contaminación costera de la República Argentina. *Informes técnicos del Plan de Manejo Integrado de la Zona Costera Patagónica*.
- Fernández Severini, M.D., Villagran, D.M., Buzzi, N.S., Sartor, G.C., 2019. Microplastics in oysters (*Crassostrea gigas*) and water at the Bahía Blanca Estuary (Southwestern Atlantic): an emerging issue of global concern. *Reg. Stud. Mar. Sci.* 32, 100829. <https://doi.org/10.1016/j.rjsma.2019.100829>.
- Ferreira, G.V.B., Barletta, M., Lima, A.R.A., Morley, S.A., Justino, A.K.S., Costa, M.F., 2018. High intake rates of microplastics in a Western Atlantic predatory fish, and insights of a direct fishery effect. *Environ. Pollut.* 236, 706–717. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.01.095>.
- Ferreira, G.V.B., Barletta, M., Lima, A.R.A., 2019. Use of estuarine resources by top predator fishes. How do ecological patterns affect rates of contamination by microplastics? *Sci. Total Environ.* 655, 292–304. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.11.229>.
- Foekema, E.M., De Gruijter, C., Mergia, M.T., Van Franeker, J.A., Murk, A.J., Koelmans, A.A., 2013. Plastic in North Sea fish. *Environ. Sci. Technol.* 47, 8818–8824. <https://doi.org/10.1021/es400931b>.
- Fries, E., Deki, H., Willmeyer, J., Nuelle, M., Remy, D., 2013. Identification of polymer types and additives in marine microplastic particles using pyrolysis-GC/MS and scanning electron microscopy. *Environ. Sci. Process Impacts* 15, 1949–1956. <https://doi.org/10.1039/c3em00214d>.
- Giarratano, E., Gil, M.N., Malanga, G., 2013. Assessment of antioxidant responses and trace metal accumulation by digestive gland of ribbed mussel *Aulacomya atra atra* from Northern Patagonia. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 92, 39–50. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.02.007>.
- Gregory, M.R., 2009. Environmental implications of plastic debris in marine settings: entanglement, ingestion, smothering, hangers-on, hitch-hiking and alien invasions. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 364, 2013–2025. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0265>.
- Güven, O., Gökdağ, K., Jovanović, B., Kideys, A.E., 2017. Microplastic litter composition of the Turkish territorial waters of the Mediterranean Sea, and its occurrence in the gastrointestinal tract of fish. *Environ. Pollut.* 223, 286–294. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.01.025>.
- Hidalgo-Ruz, V., Gutow, L., Thompson, R.C., Thiel, M., 2012. Microplastics in the marine environment: a review of the methods used for identification and quantification. *Environ. Sci. Technol.* 46, 3060–3075. <https://doi.org/10.1021/es2031505>.
- Ivar do Sul, J.A., Spengler, A., Costa, M.F., 2009. Here, there and everywhere. Small plastic fragments and pellets on beaches of Fernando de Noronha (Equatorial Western Atlantic). *Mar. Pollut. Bull.* 58, 1236–1238. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2009.05.004>.
- Jovanović, B., 2017. Ingestion of microplastics by fish and its potential consequences from a physical perspective. *Integr. Environ. Assess. Manag.* 13, 510–515. <https://doi.org/10.1002/ieam.1913>.
- Karlsson, T.M., Vethaak, A.D., Almroth, B.C., Ariese, F., van Velzen, M., Hassellöv, M., Leslie, H.A., 2017. Screening for microplastics in sediment, water, marine invertebrates and fish: method development and microplastic accumulation. *Mar. Pollut. Bull.* 122, 403–408. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.06.081>.
- Kolandhasamy, P., Su, L., Li, J., Qu, X., Jabeen, K., Shi, H., 2018. Adherence of microplastics to soft tissue of mussels: a novel way to uptake microplastics beyond ingestion. *Sci. Total Environ.* 610–611, 635–640. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.053>.
- Lehtiniemi, M., Hartikainen, S., Nääki, P., Engström-Öst, J., Koistinen, A., Setälä, O., 2018. Size matters more than shape: ingestion of primary and secondary microplastics by small predators. *Food Webs* 17, e00097. <https://doi.org/10.1016/j.fooweb.2018.e00097>.
- Li, J., Qu, X., Su, L., Zhang, W., Yang, D., Kolandhasamy, P., Li, D., Shi, H., 2016a. Microplastics in mussels along the coastal waters of China. *Environ. Pollut.* 214, 177–184. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.04.012>.
- Li, J., Green, C., Reynolds, A., Shi, H., Rotchell, J.M., 2018. Microplastics in mussels sampled from coastal waters and supermarkets in the United Kingdom. *Environ. Pollut.* 241, 35–44. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.05.038>.
- Li, J., Lusher, A.L., Rotchell, J.M., Deudero, S., Turra, A., Bråte, I.L.N., Sun, C., Shahadat Hossain, M., Li, Q., Kolandhasamy, P., Shi, H., 2019. Using mussel as a global bioindicator of coastal microplastic pollution. *Environ. Pollut.* 244, 522–533. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.10.032>.
- Li, W.C., Tse, H.F., Fok, L., 2016b. Plastic waste in the marine environment: a review of sources, occurrence and effects. *Sci. Total Environ.* 566–567, 333–349. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.05.084>.
- Lima, A.R.A., Barletta, M., Costa, M.F., 2015. Seasonal distribution and interactions between plankton and microplastics in a tropical estuary. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 165, 213–225. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2015.05.018>.
- Ling, S.D., Sinclair, M., Levi, C.J., Reeves, S.E., Edgar, G.J., 2017. Ubiquity of microplastics in coastal sea floor sediments. *Mar. Pollut. Bull.* 104–110. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.05.038>.
- Lozoya, J., Teixeira de Mello, F., Carrizo, D., Weinstein, F., Olivera, Y., Cedrés, F., Pereira, M., Fossati, M., 2016. Plastics and microplastics on recreational beaches in Punta del Este (Uruguay): unseen critical residents? *Environ. Pollut.* 218, 931–941. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.08.041>.
- Lu, Y., Zhang, Y., Deng, Y., Jiang, W., Zhao, Y., Geng, J., Ding, L., Ren, H., 2016. Uptake and accumulation of polystyrene microplastics in zebrafish (*Danio rerio*) and toxic effects in liver. *Environ. Sci. Technol.* 50, 4054–4060. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b00183>.
- Lusher, A., Hollman, P.C., Mendoza-Hill, J., 2017. *Microplastics in Fisheries and Aquaculture: Status of Knowledge on Their Occurrence and Implications for Aquatic Organisms and Food Safety*. FAO Fisher.
- Lusher, A.L., Tirelli, V., O'Connor, I., Officer, R., 2015. Microplastics in Arctic polar waters: the first reported values of particles in surface and sub-surface samples. *Sci. Rep.* 5, 1–9. <https://doi.org/10.1038/srep14947>.
- Mathalon, A., Hill, P., 2014. Microplastic fibers in the intertidal ecosystem surrounding Halifax Harbor, Nova Scotia. *Mar. Pollut. Bull.* 81, 69–79. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.02.018>.
- Mizraji, R., Ahrendt, C., Perez-Venegas, D., Vargas, J., Pulgar, J., Aldana, M., Patricio Ojeda, F., Duarte, C., Galbán-Malagón, C., 2017. Is the feeding type related with the content of microplastics in intertidal fish gut? *Mar. Pollut. Bull.* 116, 498–500. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.01.008>.
- Neves, D., Sobral, P., Ferreira, J.L., Pereira, T., 2015. Ingestion of microplastics by commercial fish off the Portuguese coast. *Mar. Pollut. Bull.* 101, 119–126. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.11.008>.
- Oberbeckmann, S., Löder, M.G., Labrenz, M., 2015. Marine microplastic-associated biofilms—a review. *Environ. Chem.* 12, 551–562. <https://doi.org/10.1071/EN15069>.
- Ory, N.C., Sobral, P., Ferreira, J.L., Thiel, M., 2017. Amberstripe scad *Decapterus muroadsi* (Carangidae) fish ingest blue microplastics resembling their copepod prey along the coast of Rapa Nui (Easter Island) in the South Pacific subtropical gyre. *Sci. Total Environ.* 586, 430–437. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.01.175>.
- Pazos, R.S., Maittegui, T., Colautti, D.C., Paracampo, A.H., Gómez, N., 2017. Microplastics in gut contents of coastal freshwater fish from Río de la Plata estuary. *Mar. Pollut. Bull.* 85–90. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.06.007>.
- Pazos, R.S., Bauer, D.E., Gómez, N., 2018. Microplastics integrating the coastal planktonic community in the inner zone of the Río de la Plata estuary (South America). *Environ. Pollut.* 243, 134–142. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.08.064>.
- Pegado, T. de S. e S., Schmid, K., Winemiller, K.O., Chelazzi, D., Cincinelli, A., Dei, L., Giarrizzo, T., 2018. First evidence of microplastic ingestion by fishes from the Amazon River estuary. *Mar. Pollut. Bull.* 133, 814–821. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.06.035>.
- Peters, C.A., Bratton, S.P., 2016. Urbanization is a major influence on microplastic ingestion by sunfish in the Brazos River Basin, Central Texas, USA. *Environ. Pollut.* 210, 380–387. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.01.018>.
- Pozo, K., Gomez, V., Torres, M., Vera, L., Nuñez, D., Oyarzún, P., Mendoza, G., Clarke, B., Fossi, M.C., Baimi, M., Pribylová, P., Klánová, J., 2019. Presence and characterization of microplastics in fish of commercial importance from the Biobío region in central Chile. *Mar. Pollut. Bull.* 140, 315–319. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.01.025>.
- Primost, M.A., Commendatore, M., Torres, P.J., Bigatti, G., 2018. PAHs contamination in edible gastropods from north Patagonian harbor areas. *Mar. Pollut. Bull.* 135, 828–831. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.08.021>.
- Qu, X., Su, L., Li, H., Liang, M., Shi, H., 2018. Assessing the relationship between the abundance and properties of microplastics in water and in mussels. *Sci. Total Environ.* 621, 679–686. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.11.284>.
- R Core Team, 2018. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Rezania, S., Park, J., Md Din, M.F., Mat Taib, S., Taleaikhazani, A., Kumar Yadav, K., Kamyab, H., 2018. Microplastics pollution in different aquatic environments and biota: a review of recent studies. *Mar. Pollut. Bull.* 133, 191–208. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.05.022>.
- Romeo, T., Pietro, B., Pedà, C., Consoli, P., Andaloro, F., Fossi, M.C., 2015. First evidence of presence of plastic debris in stomach of large pelagic fish in the Mediterranean Sea. *Mar. Pollut. Bull.* 95, 358–361. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.04.048>.
- Ronda, A.C., Arias, A.H., Oliva, A.L., Marcovecchio, J.E., 2019. Synthetic microfibers in marine sediments and surface seawater from the Argentinean continental shelf and a marine protected area. *Mar. Pollut. Bull.* 149. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.11.0618>.
- Rosa, M., Ward, J.E., Shumway, S.E., 2018. Selective capture and ingestion of particles by suspension-feeding bivalve molluscs: a review. *J. Shellfish Res.* 37, 727–746. <https://doi.org/10.2983/035.037.0405>.
- Scharf, F.S., Juanes, F., Sutherland, M., 1998. Inferring ecological relationships from the edges of scatter diagrams: comparison of regression techniques. *Ecology* 79, 448–460. [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(1998\)079\[0448:IERFTE\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(1998)079[0448:IERFTE]2.0.CO;2).
- Silva, J.D.B., Barletta, M., Lima, A.R.A., Ferreira, G.V.B., 2018. Use of resources and microplastic contamination throughout the life cycle of grunts (Haemulidae) in a tropical estuary. *Environ. Pollut.* 242, 1010–1021. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.07.038>.
- Sparks, C., 2020. Microplastics in mussels along the coast of Cape Town, South Africa.

- Bull. Environ. Contam. Toxicol. 2017. <https://doi.org/10.1007/s00128-020-02809-w>.
- Steer, M., Cole, M., Thompson, R.C., Lindeque, P.K., 2017. Microplastic ingestion in fish larvae in the western English Channel. *Environ. Pollut.* 226, 250–259. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.03.062>.
- Tonini, M.H., Palma, E.D., Piola, A.R., 2013. A numerical study of gyres, thermal fronts and seasonal circulation in austral semi-enclosed gulfs. *Cont. Shelf Res.* 65, 97–110. <https://doi.org/10.1016/j.csr.2013.06.011>.
- Van Cauwenberghe, L., Janssen, C.R., 2014. Microplastics in bivalves cultured for human consumption. *Environ. Pollut.* 193, 65–70. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.06.010>.
- Van Cauwenberghe, L., Claessens, M., Vandegehuchte, M.B., Janssen, C.R., 2015. Microplastics are taken up by mussels (*Mytilus edulis*) and lugworms (*Arenicola marina*) living in natural habitats. *Environ. Pollut.* 199, 10–17. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.01.008>.
- Vandermeersch, G., Van Cauwenberghe, L., Janssen, C.R., Marques, A., Granby, K., Fait, G., Kotterman, M.J.J., Diogène, J., Bekaert, K., Robbens, J., Devriese, L., 2015. A critical view on microplastic quantification in aquatic organisms. *Environ. Res.* 143, 46–55. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2015.07.016>.
- Villagran, D.M., Truchet, D.M., Buzzi, N.S., Forero Lopez, A.D., Fernández Severini, M.D., 2020. A baseline study of microplastics in the burrowing crab (*Neohelice granulata*) from a temperate southwestern Atlantic estuary. *Mar. Pollut. Bull.* 150, 110686. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.110686>.
- Wang, J., Tan, Z., Peng, J., Qiu, Q., Li, M., 2016. The behaviors of microplastics in the marine environment. *Mar. Environ. Res.* 113, 7–17. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2015.10.014>.
- Wang, Z., Wagner, J., Ghosal, S., Bedi, G., Wall, S., 2017. SEM/EDS and optical microscopy analyses of microplastics in ocean trawl and fish guts. *Sci. Total Environ.* 603–604, 616–626. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.047>.
- Zar, J.H., 1999. *Biostatistical Analysis*, 4th edition. Prentice-Hall, Upper Saddle River, New Jersey, USA.