

Variabilidad Estacional e Interanual del Fitoplancton en la costa de Barcelona.



**GRADO DE CIENCIAS
AMBIENTALES**

Oriol Mulet Morales

Tutores:

Daniel Rodríguez (UNED)

Jorge Guillén (ICM-CSIC)

Oriol Mulet Morales

omulet@msn.com

Centro Asociado UNED: Sant Boi

“El documento que sigue a continuación ha sido realizado completamente por el firmante del mismo, no ha sido aceptado previamente como ningún otro trabajo académico y todo el material que ha sido tomado literalmente de cualquier fuente, ha sido citado en las referencias bibliográficas y se ha indicado entre comillas en el texto”.

Índice

| | |
|---|----|
| 1. Introducción | 6 |
| <i>1.1 El fitoplancton y la red trófica marina</i> | 7 |
| <i>1.2 Dinámica del Fitoplancton en la zona de estudio</i> | 7 |
| <i>1.3 El fitoplancton y la evolución del clima</i> | 9 |
| <i>1.4 El fitoplancton y los nutrientes</i> | 9 |
| <i>1.5 Descripción del punto de estudio</i> | 11 |
| 2. Metodología | 14 |
| <i>2.1 Descripción de la metodología para la obtención de datos y muestras</i> | 15 |
| <i>2.2 CTD y Sensores Ambientales incorporados</i> | 17 |
| <i>2.2.1 Sensores ópticos de Fluorescencia. Determinación de clorofila (In Situ)</i> | 18 |
| <i>2.3 Análisis de Laboratorio Fluorómetro, principio de fluorimetría y método del análisis de clorofila-a. (Ex situ)</i> | 19 |
| <i>2.4 Comparativa de métodos</i> | 21 |
| <i>2.4.1 Metodología para la comparativa e intercalibración</i> | 22 |
| <i>2.4.2 Correlaciones y consideraciones previas a la intercalibración</i> | 23 |
| <i>2.4.3 Intercalibración entre fluorómetro y sensores de fluorescencia</i> | 23 |
| <i>2.5 Determinación de Nutrientes</i> | 25 |
| <i>2.6 Representaciones graficas</i> | 25 |
| <i>2.6.1 Representación gráfica de [Chla] del método ex situ</i> | 25 |
| <i>2.6.2 Representación gráfica del perfil vertical del CTD</i> | 25 |
| <i>2.6.3 Representación gráfica de la concentración de nutrientes</i> | 26 |

| | |
|--|-----------|
| 2.6.4 Representación gráfica de la Temperatura y la Salinidad..... | 26 |
| 2.6.5 Representación gráfica de las tendencias interanuales..... | 26 |
| 3. Resultados..... | 27 |
| 3.1 Resultados de la comparativa de métodos..... | 27 |
| 3.1.1 Regresiones lineales..... | 27 |
| 3.1.2 Intercalibraciones en superficie..... | 28 |
| 3.1.3 Intercalibraciones de Fondo..... | 29 |
| 3.2 Resultados para la variación estacional anual (amplitud y periodicidad) e interanual (tendencias) de la concentración del fitoplancton..... | 30 |
| 3.3 Resultados de la concentración de nutrientes..... | 30 |
| 3.4 Resultados para Salinidad y Temperatura..... | 31 |
| 3.5 Resultados para tipos de perfil Vertical del CTD..... | 31 |
| 4. Discusión..... | 39 |
| 4.1 Correlaciones e Intercalibraciones..... | 40 |
| 4.2 Concentración de clorofila-a en superficie y fondo..... | 41 |
| 4.3 Relación entre concentración de nutrientes y concentración de clorofila-a..... | 43 |
| 4.4 Tendencias Interanuales..... | 44 |
| 5. Conclusiones..... | 45 |
| 5.1 Variabilidad estacional e interanual de Fitoplancton..... | 45 |
| 5.2 Comparativa metodológica..... | 46 |
| 6. Bibliografía..... | 47 |
| 7. Anexo I..... | 49 |
| 8. Anexo II..... | 52 |

Phytoplankton Seasonal and Interannual Variability in Barcelona Coast

Abstract – During the period from March 2003 until December 2015 two transects in the NW Mediterranean consisting of 8 vertical stations were carried out once per month in order to study the physical, chemical and optical conditions of the spots of interest. One station of them is studied in order to determine the chlorophyll concentration distribution through the vertical profile of the water column and throughout the year during the period of the temporal series. Also other parameters as nutrients, salinity and temperature were studied. The chlorophyll maximum through the year is given during February and March both in depth and surface samples where nutrients concentration is an important contributing factor. Chlorophyll data is obtained by means of two different methods as Fluorimeter and fluorescence optical sensors which will be compared in order to estimate the quality of the obtained data.

Resumen – Durante el periodo de Marzo de 2003 hasta Diciembre de 2015 dos transeptos compuestos por 8 estaciones verticales fueron realizados mensualmente para el estudio de condiciones físicas, químicas y ópticas de los puntos de interés. Una estación concreta de entre las realizadas es estudiada para determinar la distribución de la concentración de clorofila a través del perfil vertical de la columna de agua y a lo largo del año durante el periodo de la serie temporal. También otros parámetros como nutrientes, salinidad y temperatura fueron estudiados. Los máximos de clorofila anuales se dan en Febrero y Marzo ambos en muestras de superficie y en profundidad en el que la concentración de nutrientes es un factor implicado importante. Los datos de clorofila se obtienen mediante dos diferentes métodos, Fluórometro y sensores ópticos de fluorescencia los cuales han sido comparados por tal de estimar la calidad de los datos obtenidos.

Variabilidad Estacional e Interanual del Fitoplancton en la costa de Barcelona.

1

Introducción

El fitoplancton está formado por microorganismos autótrofos vegetales con capacidad fotosintética al poseer un pigmento fotosintético llamado clorofila-A común a todos los organismos autótrofos. Este pigmento de clorofila-A una vez cuantificado se puede relacionar con la concentración de fitoplancton. Entre sus diferentes especies más características que se pueden encontrar en agua de mar están las diatomeas, dinoflagelados, cocolitofóridos, silicoflagelados entre otros. Los tamaños de estos organismos están comprendidos entre 2 -200 micras y pueden hallarse tanto en superficie como a mayores profundidades, dentro de la zona fótica en la que penetra la radiación activa fotosintéticamente (PAR) que les permite realizar la fotosíntesis.

Este trabajo pretende como objetivo estudiar la variabilidad de la concentración de fitoplancton a través del tiempo a la vez que establecer los factores determinantes en la evolución del mismo al largo de los años. Para ello se tendrá que tener en cuenta cómo es la variación estacional anual (amplitud y periodicidad) e interanual (tendencias) de la concentración del fitoplancton en el punto de muestreo, mediante el cálculo de la concentración de clorofila-A a partir de los datos de fluorescencia de un sensor in situ y a través de una correlación con los datos de la concentración obtenida con el fluorómetro en el laboratorio, por lo que la comparativa metodológica para la obtención de valores de concentración de clorofila-A será también objeto de estudio.

Se ha visto que las fluctuaciones en la producción primaria de fitoplancton ofrecen cierta regularidad con el retorno de valores máximos o mínimos, por lo que el estudio de estas fluctuaciones no sólo tiene interés en si mismo sino que puede proporcionar información de cuáles son los factores clave que gobiernan la producción.

(De Margalef, 1968).

El interés de estudiar la producción primaria de fitoplancton radica en su importancia en la cadena trófica marina y sus servicios ecológicos en el medio marino a la vez que al ser organismos autótrofos fijadores de carbono contribuyen a la fijación del gas de efecto invernadero anhídrido carbónico, participando en el ciclo del carbono.

1.1 El fitoplancton y la red trófica marina

La concentración total, estacional e interanual de la población fitoplanctónica tiene gran importancia en la red trófica marina al ser estas microalgas la base de la cadena alimentaria, las especies del mar dependen en cierta medida del fitoplancton como productores primarios que son, muchas larvas de zooplancton se alimentan de él a la vez que el zooplancton es consumido por otros eslabones de la cadena alimentaria marina hasta llegar a los niveles tróficos más altos, es decir si un eslabón se ve afectado repercutirá en el resto de la cadena. La interacción alimentaria en un ecosistema puede representarse a través de cadenas y redes tróficas donde cada elemento de la cadena se alimenta del anterior y sirve de alimento al siguiente.

Una red trófica es un conjunto de cadenas alimentarias interconectadas. En las cadenas y redes tróficas podemos distinguir varios niveles tróficos. El primer nivel trófico lo constituyen los productores (fitoplancton, algas y plantas marinas, entre otros organismos), que son capaces de producir su propio alimento. El segundo nivel está ocupado por los consumidores primarios, que se alimentan de los productores. El tercero lo ocupan los consumidores secundarios, que se alimentan de los consumidores primarios. Más allá se encuentran los consumidores terciarios. Los descomponedores se encargan del reciclaje de la materia.

1.2 Dinámica del Fitoplancton en la zona de estudio

La zona donde se ha venido realizando el estudio es el Nord-Oeste del Mediterráneo, en esta región oligotrófica se espera que durante los inviernos se dé mezcla vertical y afloramientos costeros como mecanismo básico de enriquecimiento de nutrientes y que el fósforo sea el nutriente limitante más importante seguido del nitrógeno. El Mediterráneo presenta una serie de estructuras de mesoescala que favorecen significativamente la entrada de nutrientes en la zona fótica, donde llega la luz, en la zona Noroccidental estas estructuras de mesoescala incluyen los frentes y las zonas de divergencia de los mares Liguro-Provenzal y el que se centra el presente estudio, el Catalano-Balear. Este tipo de zonas han sido reconocidas durante las últimas décadas como influyentes en la producción planctónica. En el mar catalán el frente plataformatalud y la divergencia central situada entre la península y las Islas Baleares contribuyen

variablemente a la fertilización de la zona fótica, el frente de plataforma-talud parece ser más importante en primavera y la divergencia al final del período de estratificación. (*De Estrada, 1996*), es decir que el perfil de la columna de agua durante la mezcla vertical no presenta estratificaciones indicando que las condiciones son homogéneas a lo largo de la columna de agua y ocurre lo contrario cuando hay estratificación, no se presenta mezcla y los datos obtenidos del perfil de columna presentan más heterogeneidad.

Se considera que en los meses de verano la curva del perfil vertical de la columna del agua de mar está menos mezclada, muestra un perfil clásico de temperatura, incluyendo una capa superficial de temperatura similar en la capa de mezcla y una zona de gradiente acusado, presentando termoclina estacional. Por lo que los parámetros de temperatura salinidad y el fitoplancton que hay en ese momento tenderán a estar más estratificados existiendo más variabilidad a lo largo de la columna, mientras que en invierno al existir mezcla en la columna de agua, el gradiente es menos acusado, presentando termoclina permanente y los valores de los parámetros serán más homogéneos a lo largo de la columna de agua. (*De Varela, 2008*).

Se ha visto que las poblaciones de fitoplancton son muy variables durante un año, y también entre los años siguientes. El fitoplancton se somete a un fuerte ciclo estacional en aguas abiertas donde los valores de la clorofila y la dinámica planctónica se pueden predecir anualmente (*De Romero, 2014*) de la misma manera que las plantas hacen en tierra. Florecen en primavera, mueren en el otoño, y luego al año siguiente todo vuelve a la vida de nuevo. El fitoplancton en el océano análogamente realiza las mismas funciones que realizan las plantas terrestres, fijan carbono y precisan de nutrientes para realizar la fotosíntesis adecuadamente, por lo que ahí radica el interés en la comprensión de que es lo que controla, cuándo se genera y dónde ocurre la floración de la primavera.

Las zonas cercanas a la costa sometidas a la presión urbana y a las actividades antropogénicas como es la zona de estudio suelen mostrar una leve estacionalidad y varios factores que hacen difícil mostrar un comportamiento definido en sus máximos de concentración (*De Romero, 2014*) donde los fenómenos físicos naturales se ven afectados por alteraciones antropogénicas.

1.3 El fitoplancton y la evolución del clima

Por otro lado la concentración total, estacional e interanual de la población fitoplanctónica también tiene gran importancia en la evolución del clima debido a su capacidad de fijar carbono en la llamada “bomba biológica oceánica”, por lo que su estudio es relevante no sólo en aspectos del rol que desarrolla en la cadena alimentaria marina sino también a efectos de cambio climático ya que el CO₂, que es uno de los gases de efecto invernadero, es absorbido en gran parte por el fitoplancton permitiendo así una vía de entrada en el llamado ciclo biogeoquímico del carbono.

Las algas microscópicas que constituyen el fitoplancton absorben el CO₂ que se ha disuelto en el agua en contacto con la atmósfera para, como cualquier planta verde terrestre, sintetizar materia orgánica con la ayuda de la energía de la luz. Aunque la mayor parte del carbono incorporado en la materia orgánica de estas células es devuelto rápidamente (en unos pocos días o semanas) a la atmósfera a través del proceso de respiración, una pequeña pero significativa parte del carbono es "exportado" hacia el fondo simplemente por la tendencia de las células a sedimentar, tendencia que es más acusada cuanto mayor es su tamaño. Este proceso de sedimentación es la vía principal mediante la cual el carbono viaja desde la atmósfera hacia las aguas profundas una vez incorporado en el interior de las células del fitoplancton donde a través de los sedimentos podrá ser almacenado en depósitos entrando en la parte geológica del ciclo del carbono. *(De Rodriguez, 2001)*

1.4 El fitoplancton y los nutrientes

Además de energía luminosa, la actividad biológica del fitoplancton requiere, como cualquier planta verde, el aporte de nutrientes inorgánicos, compuestos fertilizantes de nitrógeno, fósforo, amonio, silicato que son generados en las aguas profundas como resultado de la actividad de las bacterias que descomponen la materia orgánica sedimentada. La actividad de estas microalgas se encuentra así comprometida por una característica del ecosistema oceánico (y de otros muchos ecosistemas acuáticos): donde hay luz no hay nutrientes y donde hay nutrientes no hay luz. Se requiere, por tanto, algún mecanismo que permita eliminar esta separación física, mecanismo que en el océano toma principalmente la forma de movimientos ascendentes de agua que

transportan los nutrientes desde las aguas profundas y oscuras hasta las aguas superficiales e iluminadas, el mecanismo de Ekman. La tensión del viento que sopla a lo largo de la superficie del mar provoca el movimiento de la capa de agua inferior inmediata, debido a la baja viscosidad del agua esta tensión no es transmitida a toda la columna de agua, sino que se va equilibrando con la fuerza de Coriolis en una profundidad de 10 a 200 metros de espesor. *(De Zúñiga, 2010)*. Estos movimientos verticales tienen consecuencias especialmente notables en determinadas regiones del océano (las llamadas "zonas de afloramiento") donde el fuerte crecimiento vegetal, que se traduce en poblaciones más densas y abundancia de células de gran tamaño, sostiene una elevada biomasa de animales consumidores (herbívoros, carnívoros), lo que finalmente suele traducirse en la abundancia de recursos biológicos explotables por el hombre (ejemplos típicos son los enormes recursos pesqueros existentes en las regiones de afloramiento del Sahara, de Chile-Perú, entre otros). Es inmediato predecir entonces que en estas regiones de movimientos verticales ascendentes y de aumento puntual de estos nutrientes esenciales para el fitoplancton de las profundidades oscuras a la superficie iluminada favorece su proliferación, es inmediato predecir entonces que en estas regiones de movimientos verticales ascendentes y de aporte de nutrientes se produce una mayor exportación de carbono en forma particulada hacia las aguas profundas (células grandes que sedimentan rápidamente, partículas fecales de animales, etc), flujo que, en definitiva, representa el bombeo biológico de carbono iniciado con la actividad primaria de la comunidad de fitoplancton, por eso juegan un papel muy importante en la regulación del clima.

Al estar disponibles más cantidad de nutrientes esenciales, el fitoplancton puede desarrollarse en mayores concentraciones por lo que implica a su vez una mayor tasa de fijación del carbono disuelto disponible en el océano, al aumentar su población, se produce también una mayor producción primaria, es decir más producción de materia orgánica gracias a sus procesos fotosintéticos como organismos autótrofos.

(De Rodríguez, 2001)

El transporte de Ekman es frecuentemente usado para cuantificar de manera general la intensidad del fenómeno de afloramiento costero, sin embargo puede también detectarse experimentalmente con medidas de temperatura ya que eleva aguas frías cerca de la costa, curvándose hacia arriba las isotermas en las proximidades de la misma, teniendo

en cuenta que a mayor intensidad del viento mayor es la profundidad característica de la capa de Ekman, por lo que mayor será la profundidad de las aguas que ascienden y renuevas las capas superficiales. (*De Varela, 2008*).

1.5 Descripción del punto de estudio (contexto geológico, características físico-bio-químicas)

El estudio se va a centrar en la interpretación de los datos de los parámetros ambientales recogidos a lo largo del tiempo, tomados en un único punto de la zona costera de Barcelona con coordenadas conocidas. Este punto de muestreo es el que se va a tener en cuenta para el estudio de su columna de agua a lo largo de los años, sin embargo para la comparativa de métodos de determinación de clorofila se añadirán exclusivamente para este objetivo otros puntos de la campaña que serán tenidos en cuenta para disponer de más datos y tener una comparativa entre metodologías más solida.

A lo que se refiere al contexto geológico el área de estudio se encuentra delimitada por la influencia de dos ríos, El Besós desembocando en el norte y el Llobregat desembocando en el sud de la zona de estudio con sus respectivos aportes sedimentarios, agua dulce y nutrientes. También se encuentra el puerto Olímpico en sus inmediaciones y en el sud del punto de muestreo otra actividad portuaria, el Puerto de Barcelona modificando las corrientes marinas naturales tanto para el transporte de sedimento como por el desplazamiento de otra materia en suspensión, como puede ser en este caso el fitoplancton. El área de estudio está sometida a una fuerte influencia antropogénica, existen emisarios de aguas de escorrentía procedentes de la ciudad, situados tanto al norte como al sur del punto de muestreo, aportando agua de escorrentía cuando llueve rica en desechos, partículas y contaminantes que vienen siendo arrastrados de la ciudad al mar.

El clima Mediterráneo de la zona de estudio se caracteriza por tener veranos secos e inviernos húmedos. La sequía estival está asociada a la influencia de las altas presiones de los sistemas anticiclónicos semipermanentes. La temperatura en verano varía entre suave y calurosa y los inviernos son fríos pero más suaves cerca del mar.

En el mar catalano-balear se impone un ciclo estacional el cual presenta unas fuertes diferencias interanuales, sufre cambios a corto plazo debido a los forzamientos

meteorológicos y la heterogeneidad hidrográfica interactúa para producir inputs intermitentes de nutrientes en los estratos más elevados, a través de mecanismos tales como la inestabilidad en los frentes o la ruptura de olas internas en la termoclina (donde la temperatura cambia rápidamente con la profundidad) , estos eventos pueden crear crecimiento repentino de fitoplancton lo cual influye en los otros niveles tróficos. *(De Estrada, 1996)*

En esta zona del mar Mediterráneo se espera que el máximo de clorofila en profundidad generalmente coincida más con la el aporte de nitrógeno que no con las superficies de igual densidad, isopicnas, lo que indica que la distribución de la clorofila asociada con la producción primaria son influenciadas inicialmente por el aporte de nutrientes. *(De Lohrenz, 1987)*

Puede producirse en esta zona del Mediterráneo interacción entre la ruptura de los frentes de olas en la plataforma continental y la topografía del fondo, produciendo remolinos y corrientes de subida las cuales pueden favorecer eventos de fertilización. *(De Font ,1986)*

El muestreo original incluye 2 transeptos, el primero con cuatro puntos 1.1, 1.2, 1.3 y 1.4 delante del Port Olímpic de Barcelona perpendicular a la costa y el segundo transepto también perpendicular a la costa más al norte cercano a la desembocadura del Río Besós con otros cuatro puntos de muestreo 2.1, 2.2, 2.3 y 2.4. Las primeras 20 campañas fueron bautizadas con el nombre de Habes, luego pasaron a llamarse Pudem dándole un numero correlativo a cada mes.



Figura1: *Puntos de muestreo de la campaña mensual durante 2002 y 2015. (De Soto, 2015)*

Para el presente estudio considerando el volumen de datos de todos los puntos se ha hecho hincapié en un punto exclusivo del primer transepto, el 1.3 con las coordenadas Latitud Norte 41 22.710 y Longitud Este 2 12. 504.

En la siguiente figura está delimitado el punto de muestreo, con una columna de agua de 30 metros de profundidad situado a pocas millas del puerto Olímpico y de la costa ubicado entre dos emisarios situados en los diques perpendiculares a la costa en forma de diapasón, uno al Norte y otro al Sur del punto de estudio.



Figura2: Mapa de la costa de Barcelona con zoom de la zona del muestreo delimitada por dos emisarios y dos desembocaduras.

2 Metodología

La metodología del estudio incluye la propia del muestreo in situ en la embarcación para las muestras de agua de mar, la captación y procesado de los datos obtenidos con sensores medioambientales y la parte de los ensayos de laboratorio con las muestras recogidas. Por otro lado se han realizado unas representaciones gráficas para la obtención de los datos de la concentración de clorofila-a a partir de la fluorescencia, para luego proceder a la interpretación de las mismas para poder desarrollar la comparativa metodológica.

Para la realización del muestreo de la serie temporal 3 técnicos y el patrón de la embarcación realizan salidas mensuales. Las características de la embarcación son las siguientes modelo ASTINOR 740 fabricada con Fibra de vidrio con una Eslora de 7,40 m y Manga 2,80 m, alcanza una velocidad máxima de 11 nudos con capacidad para 8 personas dotada con una polea que soporta 200 Kg de la que se suspende el CTD para la

toma de datos de la columna de agua, que junto con un cuenta metros se puede comprobar la profundidad alcanzada desde a bordo a lo largo de su bajada por la columna de agua. También se dispone de una sonda a bordo que marca la profundidad real que se tiene en un punto dado al desplazarse con la embarcación.(De Guillén,2016).

Las salidas son desde el Puerto Olímpico, enclave muy cercano al punto de muestreo cuyas coordenadas son conocidas. Una vez allí se procede a tomar nota de las coordenadas del punto y con unos cubos se coge agua superficial para la toma de muestra de los nutrientes y el fitoplancton. Mientras tanto se introduce el CTD con los sensores en el agua y se espera dos minutos para su estabilización después de la puesta en marcha de la bomba de agua. Una vez estabilizado el CTD se va bajando con la polea mecánica lentamente mientras los sensores van grabando los datos que serán descargados y procesados con el software pertinente tras la campaña.

Se han ido tomando datos del perfil de columna de agua con el CTD desde 2002 hasta la actualidad con los parámetros de temperatura, salinidad, fluorescencia, turbidez desde marzo de 2002 hasta diciembre de 2015. Se va a hacer un análisis estadístico de la serie temporal disponible para estos parámetros para determinar su influencia sobre el fitoplancton. El análisis estadístico constará del cálculo de las medias mensuales a través de los años para cada parámetro para así poder estimar las tendencias interanuales así como la representación gráfica de dichos parámetros para evaluar su comportamiento.

También los resultados de este periodo de tiempo de la concentración de clorofila-A mediante los ensayos con fluorómetro de laboratorio y los valores de la concentración de nutrientes de las muestras de agua tomadas en superficie y fondo durante las campañas han sido tenidos en cuenta y evaluados con representación gráfica.

2.1 Descripción de la metodología para la obtención de datos y muestras.

Para la toma de muestras del estudio **in situ** de agua tanto de superficie como de fondo se ha usado por un lado la recogida de datos de la columna de agua con el CTD y por el otro lado se han recogido muestras de agua tanto en superficie como en profundidad para analizar en el laboratorio, la toma de muestras en la embarcación permite realizar estudios tanto *in situ*, mediante el uso de sensores de fluorescencia que detectan el pigmento fotosintético, o **ex situ** como son los análisis de las muestras de agua

recogidas para la determinación de la concentración mediante análisis de clorofila con el fluorómetro y la concentración de nutrientes en el laboratorio. Para la toma de muestras de agua en profundidad se utiliza una botella Niskin, montada en serie con el CTD en el cable de acero que pende de la grúa de la embarcación.



Figura3: *Jaula del CTD con los sensores medioambientales y botella Niskin montados en la grúa para el muestreo del perfil de la columna de agua*

Cuando la botella alcanza la profundidad deseada un peso metálico ("mensajero") se deja caer deslizándose por el cable para así accionar el mecanismo de cierre de la botella Niskin que consta de válvulas o tapas superior e inferior que son mantenidas abiertas por cordones (usualmente de nylon) y cerradas por una venda elástica que corre por dentro de la botella, al liberar la tensión que las mantiene abiertas atrapa el agua al impactar el peso enviado a través del cable de acero que la sostiene estable en la profundidad de interés. El cilindro de la botella se fabrica de plástico lo cual elimina las reacciones químicas entre la botella y la muestra que podría interferir con la medición de sustancias trazas. Puesto que la botella Niskin es fija en el cable en dos puntos hace más fácil aumentar su volumen de muestra así como su estabilidad para muestrear.



El CTD es introducido en el agua y se mantiene durante dos minutos en superficie para la estabilización de los sensores por tal de obtener datos fiables antes de empezar el descenso por la columna de agua. Los datos de superficie de salinidad temperatura y fluorescencia son grabados mientras simultáneamente se recogen muestras de agua en superficie que servirán para realizar las correlaciones en el caso de la fluorescencia y la clorofila o comparar datos obtenidos entre los sensores ambientales y las metodologías del laboratorio.

Figura4: *CTD grabando datos en superficie de la columna de agua con botella Niskin abierta para captar agua de la profundidad deseada.*



Figura5: Toma de muestra de agua de profundidad con botella Niskin.

Para la toma de muestras de agua la botella Niskin dispone de un grifo que facilita el muestreo, para el fitoplancton se utilizan botes de plástico que se enjuagan con el agua de mar de la muestra tanto de fondo como de superficie y se guardan en nevera sin luz directa y con placas de hielo. Para la toma de muestra de los nutrientes se utilizan dos probetas de muestra duplicada tanto para superficie como para fondo que se enjuagan 3 veces y se conservan con hielo picado en la nevera al resguardo de la luz directa para ser analizados posteriormente en el laboratorio.

2.2 CTD y Sensores Ambientales incorporados.

En la actualidad, el instrumento estándar que se utiliza para medir la temperatura, salinidad y a menudo también el contenido en oxígeno disuelto es el CTD (Por sus siglas en inglés: Conductivity Temperature and Depth (conductividad, temperatura y profundidad). Cada uno de los sensores del CTD emplea el principio de la medida eléctrica. Un termómetro de platino cambia su resistencia eléctrica con la temperatura. Si se incorpora un oscilador eléctrico, un cambio en su resistencia produce un cambio de la frecuencia del oscilador, que puede ser medido. La conductividad del agua de mar se puede medir de una manera similar como el cambio de la frecuencia de un segundo oscilador, y un cambio en la presión produce un cambio de la frecuencia en un tercer oscilador. Esto produce lecturas continuas de temperatura y conductividad en función de la profundidad a una razón de hasta 30 lecturas por segundo.

El CTD graba datos de bajada y subida al desplazarse por la columna de agua por lo que considerando que la columna de agua esta menos perturbada al bajar, los datos con los que se realizará el estudio son los de bajada por la columna de agua. Los datos brutos son adquiridos con el software del instrumento que proporciona el fabricante. Estos datos se filtran para eliminar distintos tipos de errores (ruidos, datos fuera de los rangos climatológicos...) en el proceso del control de calidad. Incluso procediendo de una manera muy rigurosa en la estrategia de la planificación de adquisición, pueden quedar

errores asociados a la misma técnica de medición, pudiendo modificar los parámetros que se quieren medir. (De Soto, 2015)

2.2.1 Sensores ópticos de Fluorescencia. Determinación de clorofila (In Situ)

Para determinar la concentración de clorofila in situ se han usado sensores ópticos de fluorescencia. Según el modelo usado se pueden obtener valores de fluorescencia o valores de concentración de clorofila directamente ya calculados por el modelo.

Este método óptico se basa en el hecho de que la clorofila, al ser excitada por la radiación solar, tiene la capacidad de re-emitir fotones aproximadamente en 685 y 740 nm (De Espinosa, 2011). Después de fluorescer, la clorofila regresa a su estado estable. La relación entre la fluorescencia y la cantidad de clorofila activa es directamente proporcional (De Damm, 2010)

Los modelos que detectan la fluoresceína como el Seapoint Fluorescein Fluorometer (SFF) es un sensor analógico que excita la fluoresceína mediante una lámpara LED verde y un filtro de excitación. La luz emitida por la fluoresceína pasa a través de un filtro de emisión de color naranja y es detectada por un fotodiodo de silicio. La señal recibida se procesa y se genera un voltaje de salida proporcional a la concentración de fluoresceína. Mediante una correlación interna calibrada en el sensor se pueden pasar los datos de fluorescencia a valores de clorofila.

Se han usado 4 sensores de fluorescencia a lo largo de la serie temporal, el Sea Tech Fluorometer 228 y 2205, el Seapoint 2774 Chlorophyll Fluorometer y el actualmente en uso Wetstar a lo largo de diferentes campañas durante la serie temporal de 13 años de duración hasta la actualidad, montados en varios CTD (ICM/UTM) según se indica en la tabla 1 más abajo.

Los valores obtenidos del 228, 2774 y 2205 son de fluorescencia mientras que para el Wetstar se obtiene el dato directo de concentración de clorofila calculado previamente por el sensor ($\mu\text{g/L}$), por lo que se deben hacer correlaciones para los tres primeros 228 2774 y 2205 entre la fluorescencia obtenida con el sensor y el valor de clorofila obtenido en el laboratorio para la misma muestra y mediante la ecuación de la recta obtenida, realizar el cálculo para obtener el valor de la concentración de clorofila

($\mu\text{g/L}$), ya que la fluorescencia de la clorofila no es una medida directa para cuantificar su concentración pero indirectamente indica su cantidad. Al hacer la fotosíntesis parte de la energía absorbida es transferida como energía de excitación y atrapada por el centro de reacción, en donde es utilizada para hacer trabajo químicamente útil, y la otra parte disipada principalmente como calor y en menor grado es la fluorescencia reemitida como energía luminosa de menor energía (De González, 2008)

| Sensor | CTD CONFIGURACIÓN | Obtención del dato | Necesaria Correlación Obtención Chl (flúores vs chl-lab) | Campañas realizadas |
|---------------|--------------------|--------------------|--|-----------------------------|
| SEATECH 228 | 25729004.con (UTM) | Fluorescencia | Si | Habes 1-20 Pudem1-7 |
| SEATECH 228 | 0104B.con (ICM) | Fluorescencia | Si | Pudem 25-27/ Pudem 37-78 |
| SEATECH 2205 | 25097.con (UTM) | Fluorescencia | Si | Pudem 12-17 |
| SEAPOINT 2774 | 25097bis.con (UTM) | Fluorescencia | Si | Pudem 18-24/ 28-36 |
| WETSTAR | 104_10w.con (ICM) | Chl | No | Pudem 79- 135 |

Tabla1. Diferentes sensores de fluorescencia usados en diferentes CTD durante la serie temporal y a tener en cuenta para la interpretación de los datos obtenidos en cada campaña.

2.3 Análisis de Laboratorio Fluorómetro, principio de fluorimetría y método del análisis de clorofila-a. (Ex situ).

Para la determinación de la concentración de clorofila ex situ con las muestras de agua recogidas de superficie y de fondo se ha usado un fluorómetro Turner-Designs.

A nivel fotoquímico la fluorescencia se da cuando una molécula de clorofila vuelve a su estado fundamental después de haber sido excitada electrónicamente.

El fluorómetro es un aparato que usa el principio de la fluorimetría el cual parte de que las moléculas tienen diferentes estados llamados niveles de energía. La espectrometría de fluorescencia se refiere principalmente a estados vibracionales y electrónicos. En general, las especies objeto de examen tendrán un estado electrónico basal (un estado de

baja energía) de interés, y un estado electrónico excitado de mayor energía. Dentro de cada uno de estos estados electrónicos hay diferentes estados vibracionales.

En la espectroscopia de fluorescencia, primero se excita la muestra mediante la absorción de un fotón de luz, desde su estado electrónico basal a uno de los distintos estados vibracionales del estado electrónico excitado. Las colisiones con otras moléculas causan que la molécula excitada pierda energía vibracional hasta que alcanza el estado vibracional más bajo del estado electrónico excitado.

La molécula desciende luego a uno de los distintos niveles de vibración del estado electrónico basal, emitiendo un fotón en el proceso. Como las moléculas pueden caer a cualquiera de los diferentes niveles de vibración en el estado basal, los fotones emitidos tendrán diferentes energías y, por lo tanto, frecuencias. Así pues, mediante el análisis de las diferentes frecuencias de luz emitida por espectrometría de fluorescencia, junto con sus intensidades relativas, se puede determinar la estructura de los diferentes niveles de vibración.

En un experimento típico, se miden las diferentes frecuencias de luz fluorescente emitida por una muestra, manteniendo la luz de excitación a una longitud de onda constante. A esto se le llama espectro de emisión. Un espectro de excitación se mide mediante el registro de una serie de espectros de emisión utilizando luz de diferentes longitudes de onda.

El análisis de clorofila -a total mediante fluorómetro se basa en extraer la clorofila con acetona al 90%. Primeramente se filtran 100ml de agua de mar de cada muestra con una bomba de vacío y un filtro de microfibra de vidrio Whatman, estos filtros son insolubles en acetona por lo que evitan problemas de precipitados como los que se dan con otros tipos de filtros. (*De Yentsch, 1963*). Una vez filtrados cada filtro es introducido en un tubo con 6.5 ml de acetona con el dosificador (medidos exactamente con la probeta graduada por si hay error) y se conserva durante 24 horas a temperatura de 8 grados para la adecuada extracción de la clorofila-a que será transferida a la fase líquida y podrá ser leída con el fluorómetro para determinar su concentración. Antes de la lectura de la muestra se realiza un blanco de acetona con las 4 escalas de rango de lectura que presenta el fluorómetro (100x1, 100x3'16, 100x10, 100x31'6) para comprobar que los

valores obtenidos están dentro del rango normal y la acetona usada es apta para el análisis.

La escala a usar para la lectura de la muestra se escoge en función de la señal recibida, para una correcta lectura se debe trabajar con la escala que nos dé un valor por debajo de 5 en la graduación del fluorómetro que llega hasta 10 unidades relativas. El cálculo de concentración de clorofila una vez realizada la lectura con el fluorómetro viene dado por la formula:

$$[\text{Chl}] = \frac{(\text{Valor lectura} - \text{Valor blanco}) \times \text{factor de calibración}}{\text{Escala de lectura}} \times \frac{\text{ml Acetona}}{\text{litros filtrados}} \quad (1.1)$$

El método con el fluorómetro es considerado de referencia ya que los datos obtenidos con el fluorómetro ex situ son considerados más consistentes y más estables respecto a los obtenidos con los sensores in situ debido a la fotoinhibición que presenta la clorofila cuando es próxima a la superficie al ser alterada por la excesiva radiación solar, un exceso de exposición a la luz lleva a una disminución de la tasa de luz saturando la fotosíntesis, las células atrapadas en la termoclina diurna debido a la luz solar plena en su valoración de fotosíntesis tienden a mostrar fotoinhibición (De Long, 1994).

Por otro lado, para la fiabilidad de los valores de clorofila obtenidos con el fluorómetro, ya que es el método de referencia y para la posterior comparativa de métodos con los sensores ópticos, se realizan periódicamente rectas de calibración mediante espectrofotometría para determinar el factor de corrección (1.1) a aplicar en la ecuación del cálculo de la concentración final de clorofila.

Estas rectas de calibración se realizan con una concentración conocida de clorofila y se realizan varias lecturas por espectrofotometría con un espectrofotómetro.

2.4 Comparativa de métodos

Se pretende estudiar cómo se relacionan las medidas obtenidas con ambos métodos para comparar como difieren y para determinar si los sensores ópticos usados se desvían mucho o no de los datos del método de referencia establecido.

Esta comparativa se ha realizado teniendo en cuenta todos los puntos del primer transecto 1.1-1.2-1.3-1.4 (Figura 1) por tal de tener un mayor número de datos.

Se han usado varios sensores de fluorescencia a lo largo de la serie temporal (*Tabla 1*) por lo que con esta comparativa se podrá determinar no solo la desviación entre métodos sino además qué sensor de los usados tiene menos desviación.

2.4.1 Metodología para la comparativa e intercalibración.

Para obtener la concentración de clorofila de los sensores de fluorescencia que no la calculan internamente, hay que realizar una regresión lineal con los datos obtenidos con ambos métodos pero con variables dependientes, esto es los valores de una variable varían sistemáticamente con las de la otra variable, y una vez obtenida la recta con los datos establecidos, $y = a + bx$, se podrá calcular mediante su ecuación para cada valor de fluorescencia la concentración de clorofila donde a y b son valores de la recta resultante de los datos de las dos variables en un eje (x,y). En la fórmula, x es el valor de fluorescencia al estar sus datos en el eje x y la concentración de clorofila, que es el valor buscado, es la variable y que podrá ser calculada en función de x para cada caso.

Una vez obtenidos vía regresión lineal los datos de la concentración de clorofila calculada a partir de los valores de fluorescencia de algunos de los sensores ópticos (*Tabla 1*) ya será posible compararlos con los valores de las mismas muestras del fluorómetro y realizar entonces una intercalibración entre los dos métodos para ver como difieren el uno de otro.

Para la intercalibración se han restado los datos de la concentración de clorofila del fluorómetro de los datos de concentración de los sensores, con previa transformación de los valores de fluorescencia a concentración de clorofila mediante las ecuaciones de las rectas de las regresiones lineales para posteriormente con el valor de estas diferencias discriminadas entre datos de superficie y de fondo, realizar una media total para finalmente representar gráficamente su resultado, siendo el cero de la gráfica el indicativo del acercamiento del valor del dato entre ambos métodos, es decir la coincidencia entre los dos valores conseguidos con ambos métodos. Por encima de cero indica que los valores del método de referencia son mayores mientras que si la gráfica es negativa indica que los valores del sensor en cuestión son superiores.

2.4.2 Correlaciones y consideraciones previas a la intercalibración

En el Anexo 1 se adjuntan las regresiones lineales para cada sensor y su configuración del CTD asociado empleada durante las tomas de datos, ya que esta también afecta al valor proporcionado final de fluorescencia, por ello es necesario realizar las regresiones lineales por separado y específicas a cada configuración (*Tabla 1*). Para ello se han seleccionado exclusivamente los valores de fondo de todos los puntos del muestreo inicial (*Figura 1*) por tal de obtener más cantidad de valores para obtener mejores regresiones lineales. Los valores de fondo son considerados más estables ya que los valores de superficie conseguidos con los sensores suelen tener mala calidad debida a la mala captación que se da por la fotoinhibición (*De Long, 1994*). Una vez calculada la ecuación de la recta de la regresión lineal ($y = a+bx$) con el programa Sigma Plot ya se puede obtener la [Chla] a partir de cada valor leído de fluorescencia, cuyo valor ya podrá ser comparado metodológicamente con el fluorómetro del laboratorio, de lo contrario no sería significativo realizar una comparativa metodológica ya que estaríamos comparando dos variables distintas que no se podrían correlacionar.

Para los sensores que obtienen valores calculados directamente de [Chla] como el Wetstar se han realizado correlaciones directas con ambas metodologías tanto de fondo como de superficie, incluidas también en el *Anexo I*.

2.4.3 Intercalibración entre fluorómetro y sensores de fluorescencia

Se realiza la comparativa de los datos de clorofila medidos con el fluorómetro y los medidos con los diferentes sensores de fluorescencia in situ de toda la serie para determinar el comportamiento en superficie y en fondo.

Menos con el sensor Wetstar que ya realiza el cálculo directo de [Chla] y una vez obtenidos los valores calculados mediante la ecuación de las respectivas regresiones lineales de los otros sensores que no realizan el cálculo directo, se ha pasado a estudiar qué desviación sufren los datos obtenidos con ambos métodos.

Para esta comparativa se han realizado las diferencias entre los valores obtenidos para la misma fracción de agua entre ambos métodos, se ha restado el valor del sensor previa

transformación del dato de fluorescencia a [Chla] al valor obtenido con fluorómetro de todos los puntos del primer transecto 1.1-1.2-1.3-1.4 de cada toma de muestras durante la serie temporal, no centrándose sólo en los valores del punto del estudio, para así tener más datos a comparar al ser una comparativa metodológica y obtener un resultado más sólido.

Una vez obtenido el valor de la resta del resultado de ambos métodos para cada punto se ha determinado su valor medio para cada sensor de interés para ver la desviación entre los dos métodos.

Por un lado los datos de superficie y por el otro lado los datos de fondo, de esta forma se podrá estimar en qué situación la desviación entre los métodos es más acusada.

Posteriormente se ha representado gráficamente la intercalibración en función del tipo de sensor usado y de su situación de los datos en superficie o en profundidad estableciéndose los valores más cercanos a cero como los valores más parecidos entre ambos métodos. Encima de cero los valores del fluorómetro son mayores mientras que por debajo de cero los valores de los sensores son mayores. Se ha usado el programa Excel para la representación gráfica al haber usado esta hoja de cálculo para aplicar las fórmulas de la regresión lineal para transformar el dato de fluorescencia a [Chla] (Anexo II).

Esta separación se realiza con ánimo de confirmar la fotoinhibición que sufre el fitoplancton en las capas superficiales, ya que la clorofila es un pigmento fuertemente afectado por la luz y la incidencia no es la misma para ambas profundidades produciéndose más fotoinhibición en superficie (*De Long, 1994*) alterando el valor normal de la concentración de clorofila leída con sensores in situ. La serie total comparada abarca desde marzo de 2002 a diciembre de 2015.

Sin embargo hay que tener en cuenta que para los sensores con necesidad de regresión lineal se han usado valores de fondo considerados más estables para el cálculo de dicha regresión, por lo que posteriormente los valores de fluorescencia de superficie se han transformado a valores de [Chla] mediante la ecuación de la recta de calibración originada con valores de fondo más estables.

2.5 Determinación de Nutrientes

Para la determinación de los nutrientes Amonio , Nitrito, Nitrato, Silicato y Fosfato se obtienen las muestras del agua de superficie y de profundidad en tubos roscados que son refrigerados al instante in situ para prevenir su degradación y que la cuantificación de su concentración sea la adecuada. Los ensayos posteriores son realizados en el laboratorio del Instituto de Ciencias del Mar certificados por el fabricante SEAL ANALYTICAL con el Equipo: AA3 (Bran+Luebbe) antes llamado Technicon.

2.6 Representaciones graficas

Por un lado los valores obtenidos con el método ex situ y por el otro los valores de los parámetros in situ serán representados gráficamente con el programa Sigma Plot siguiendo unos criterios concretos que se detallan seguidamente para cada representación específica.

2.6.1 Representación gráfica de [Chla] del método ex situ.

Se ha optado por representar gráficamente los datos obtenidos de [Chla] con el fluorómetro como método de referencia del laboratorio tanto en superficie como en fondo para determinar la variabilidad del fitoplancton ya que con la otra metodología debido al uso de varios sensores de fluorescencia y por ser un método in situ dependiente de errores de lectura del CTD y la fotoinhibición en superficie es preferible usar un mismo método unificado para toda la serie sin necesidad de regresiones lineales para la obtención del dato final expresado en microgramos por litro de concentración de clorofila.

En una misma grafica anual se confrontan los valores de superficie y de profundidad a 30 metros de clorofila por cada mes desde el año 2002 al 2015 (*Figura 1 Resultados*)

2.6.2 Representación gráfica del perfil vertical del CTD

Los datos obtenidos con el CTD previo control de calidad son procesados obteniendo un promedio del valor de interés cada medio metro de profundidad. El CTD usado realiza 8 scans por segundo por lo que es un promedio muy preciso. Los valores obtenidos con el CTD son la Temperatura, la Salinidad, la Profundidad y la Fluorescencia. Mediante el programa Sigma Plot se ha realizado una gráfica con los 3 parámetros de Temperatura, Salinidad y Fluorescencia confrontados con la Profundidad a 30 metros del punto de

estudio, ajustando cada escala para cada parámetro concreto se puede evaluar el comportamiento de los mismos a lo largo de la columna de agua. (*Figura 2 Resultados*)

2.6.3 Representación gráfica de la concentración de nutrientes

Debido a la cantidad de nutrientes a tener en cuenta relacionados con la concentración de fitoplancton, se ha optado por representar gráficamente por un lado valores en superficie (*Figura 3 Resultados*) y por el otro lado valores en profundidad (*Figura 4 Resultados*) para determinar la variabilidad de su concentración a lo largo del año expresada en micromoles por litro de concentración de cada nutriente. Se ha tenido en cuenta 5 nutrientes esenciales donde el Fósforo siempre aparece en relación a los demás en muy bajas concentraciones, por lo que para poder ver las relaciones que se dan entre los 5 de manera gráfica se ha optado por establecer una escala graduada especialmente para el fósforo más estrecha que para los demás nutrientes en el eje derecho, de otro modo la concentración de fósforo respecto a los demás nutrientes es tan baja que no sería posible observar las relaciones con los demás nutrientes pues estaría siempre muy cercano a cero.

2.6.4 Representación gráfica de la Temperatura y la Salinidad

Se ha representado gráficamente los datos obtenidos con el CTD previo control de calidad y procesados obteniendo un promedio del valor de interés cada medio metro de profundidad. Las gráficas incluyen valores tanto en superficie como en fondo para determinar la variabilidad de la Temperatura y la Salinidad expresado en grados centígrados °C y PSU (Unidades Prácticas de Salinidad, relación de conductividad de una muestra de agua de mar con una solución estándar de KCl) respectivamente. En una misma gráfica anual se confrontan los valores de superficie y de profundidad a 30 metros de los dos parámetros conjuntamente cada mes desde el año 2002 al 2015 (*Figura 5 Resultados*)

2.6.5 Representación gráfica de las tendencias interanuales

Para determinar las tendencias de los valores de Temperatura, Salinidad y [Chla] tanto en superficie como en profundidad para cada parámetro y para toda la serie temporal se realizó una media anual del valor de cada mes desde 2002 hasta 2015, calculando su desviación estándar indicativa de la separación de los valores de dicha media.

3.1 Resultados de la comparativa de métodos:

Para poder determinar y evaluar el valor de [Chla] se han tenido que transformar primero los valores de fluorescencia mediante regresiones lineales, para posteriormente realizar la comparativa de los valores obtenidos con las dos metodologías con las correlaciones e intercalibraciones de los diferentes sensores de fluorescencia usados.

3.1.1 Regresiones lineales

En el *Anexo I* se incluyen las figuras de las regresiones lineales realizadas para los diferentes sensores usados. En la **Figura 1** del *Anexo I*, la ecuación de la recta dada por la regresión lineal tiene una pendiente de 3.5873 que multiplicada al valor de la variable dependiente x (fluorescencia) y sumado al valor de la ordenada al origen de 0.2181 se obtiene el valor de la variable y (concentración de clorofila del sensor).

En esta regresión los puntos de arriba de la recta trazada son errores positivos y los puntos por debajo de la recta trazada son errores negativos, para tener una regresión buena la suma de ambos errores debería dar cero, por eso la recta está desplazada en medio de la nube de puntos a modo de mejor ajuste promedio para obtener el mínimo error en la obtención del cálculo de la variable y .

El criterio de ajuste se toma como aquél en el que la desviación cuadrática media sea mínima, es decir, debe de ser mínima la siguiente suma donde x_i , y_i son errores positivos y negativos.

En la **Figura 2** del *Anexo I*, la ecuación de la recta dada por la regresión lineal tiene una pendiente de 2.2144 que multiplicada al valor de la variable dependiente x (fluorescencia) y sumado al valor de la ordenada al origen de 0.1723 se obtiene el valor de la variable y (concentración de clorofila del sensor).

En la **Figura 3 Anexo I**, la ecuación de la recta dada por la regresión lineal tiene una pendiente de 5.302 que multiplicada al valor de la variable dependiente x (fluorescencia) y restado al valor de la ordenada al origen de 0.1855 se obtiene el valor de la variable y (concentración de clorofila del sensor).

Para la **Figura 4 Anexo I**, la ecuación de la recta dada por la regresión lineal tiene una pendiente de 1.8478 que multiplicada al valor de la variable dependiente x (fluorescencia) obtiene el valor de la variable y (concentración de clorofila del sensor).

En la **Figura 5 del Anexo I**, para el sensor Wetstar se ha realizado una correlación directa con los datos proporcionados de [Chla] en superficie del sensor con los datos del fluorómetro al tratarse de las mismas unidades ($\mu\text{g/L}$ de clorofila) obteniendo un coeficiente de Correlación de Pearson (R) del 0.7904. Cuanto más cercano a 1 es el coeficiente más se acercan las variables por lo que más precisos serían sus datos.

En la **Figura 6 del Anexo I**, para el sensor Wetstar se ha realizado otra correlación directa con los datos proporcionados de [Chla] en profundidad del sensor con los datos del fluorómetro obteniendo un coeficiente de Correlación de Pearson (R) del 0.9785.

3.1.2 Intercalibraciones en superficie

Recordamos al lector que se han restado los datos de la concentración de clorofila del fluorómetro de los datos de concentración de los sensores, con previa transformación de los valores de fluorescencia a concentración de clorofila mediante las ecuaciones de las rectas de las regresiones lineales para posteriormente con el valor de estas diferencias discriminadas entre datos de superficie y de fondo, realizar una media total para finalmente representar gráficamente su resultado, siendo el cero de la gráfica el indicativo del acercamiento del valor del dato entre ambos métodos.

En el *Anexo II* se incluyen todas las intercalibraciones realizadas para cada sensor usado para determinar su comportamiento tanto en superficie como en fondo

El comportamiento en superficie el del **Seatech 228** (*Figural- Anexo II*) durante las 70 campañas realizadas con él a parte del pico presente por sobre de 2.5 en los positivos se observa que la tendencia es estar por debajo de 1 punto manteniéndose muchas veces cercano al cero indicativo de la buena calidad de los datos entre ambos métodos y

sobrepasando el cero en los negativos, a parte del pico en -1, no suele pasar el punto de -0.5 en toda la serie que se ha usado dicho sensor.

El sensor **Seatech 2205** en superficie (*Figura2-Anexo II*) demuestra cierto acercamiento a los valores del fluorómetro, presenta un intervalo de coincidencia de datos entre ambos métodos entre 0.3 y -0.20.

Para el sensor **Seapoint 2774** (*Figura3-Anexo II*) durante las 20 campañas realizadas con él se observa que se mantiene más alejado del cero. Aunque pocas veces supera el valor del punto y medio, llega a puntos por debajo de cero.

Para el sensor **Wetstar** (*Figura4-Anexo II*) actualmente en uso y durante sus 56 muestreos tenidos en cuenta, en superficie llega a superar el punto 2,5 en más de una ocasión, sin embargo durante las últimas campañas realizadas con datos de este sensor muestran un acercamiento pero con comportamiento oscilatorio y aleatorio al cero.

3.1.3 Intercalibraciones de Fondo

A pesar de los cuatro picos en positivo más alejados la tendencia predominante de los datos de fondo para este sensor **Seatech 228** (*Figura5-Anexo II*) es encontrarse por debajo de cero en negativo, sin embargo raramente se aleja de -0.5 y va oscilando acercándose a cero.

El sensor **Seatech 2205** en fondo (*Figura6-Anexo II*) también demuestra cierto acercamiento a los valores del fluorómetro, en el periodo comparado de 6 muestreos presenta un intervalo de coincidencia de datos entre ambos métodos entre 0.2 y -0.05.

Para este sensor **Seapoint 2774** (*Figura7-Anexo II*) sin embargo el máximo del límite de separación entre datos de ambos métodos se ha identificado más allá del 1.5 sobrepasando los valores negativos hasta -1 pero a modo de un pico aislado.

Las variaciones de la calidad del dato entre el sensor **Wetstar** y el fluorómetro (*Figura 8- Anexo II*) están alejadas del cero sin sobrepasar más de 1.8 y de manera esporádica, donde su comportamiento general es oscilar entre 1-0.1 siempre en positivo.

3.2 Resultados para la variación estacional anual (amplitud y periodicidad) e interanual (tendencias) de la concentración del fitoplancton.

Se han representado gráficamente los resultados anuales del fluorómetro de superficie y de fondo en una misma grafica para cada año de la serie temporal.

El valor máximo de toda la serie temporal de [Chla] en superficie fue de 4,89 $\mu\text{g/L}$ de clorofila registrado en marzo del año 2004 mientras que el valor más bajo registrado en toda la serie fue de 0,09 $\mu\text{g/L}$ de clorofila registrado en agosto de 2008.

El valor máximo de toda la serie temporal de [Chla] en profundidad de 30 metros fue de 5,98 $\mu\text{g/L}$ de clorofila registrado en marzo del año 2007 mientras que el valor más bajo registrado en toda la serie fue de 0,17 $\mu\text{g/L}$ de clorofila registrado en enero de 2007.

En las diferentes graficas representadas (Figura1 Resultados) en alguna se aprecian los dos picos anuales del fitoplancton como en la grafica del 2007 uno durante los meses de primavera entre Febrero-Abril y otro menos elevado a finales de año durante los meses de otoño Octubre-Noviembre.

3.3 Resultados de la concentración de nutrientes

De la determinación en el laboratorio de los valores en $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ se ha realizado una representación grafica anual de los valores obtenidos para cada nutriente en superficie y en fondo en dos figuras separadas, una para superficie y otra para profundidad, cuyos máximos y mínimos se detallan a continuación:

| $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ | PO_4^{-3} | NH_4^+ | NO_2^- | NO_3^- | H_4SiO_4 |
|-------------------------------------|--------------------|-----------------|-----------------|-----------------|--------------------------|
| Max sup. | 1,24 | 16,52 | 1,86 | 8,23 | 5 |
| Min sup. | 0,01 | 0 | 0 | 0 | 0,04 |
| Max Fondo | 0,60 | 19,27 | 1,55 | 7,05 | 4,37 |
| Min Fondo | 0,00 | 0 | 0,01 | 0 | 0,007 |

Tabla2. Máximos y mínimos de concentración de nutrientes en superficie y en fondo.

3.4 Resultados para Salinidad y Temperatura

Se han representado gráficamente los resultados anuales obtenidos con el CTD para la Temperatura y la Salinidad de superficie y de fondo en una misma grafica para cada año de la serie temporal.

El valor máximo de toda la serie temporal de Salinidad en superficie fue de 38.87 PSU registrado en mayo del año 2009 mientras que el valor más bajo registrado en toda la serie fue de 36.93 PSU registrado en marzo de 2003.

El valor máximo de toda la serie temporal de Salinidad en la profundidad de 30 metros fue de 38.68 PSU registrado en agosto del año 2003 mientras que el valor más bajo registrado en toda la serie fue de 37.39 PSU registrado en diciembre de 2002.

El valor máximo de toda la serie temporal de Temperatura en superficie fue de 26.8°C registrado en julio del año 2006 mientras que el valor más bajo registrado en toda la serie fue de 11.77°C registrado en marzo de 2003.

El valor máximo de toda la serie temporal de Temperatura en la profundidad de 30 metros fue de 22,42°C registrado en julio del año 2007 mientras que el valor más bajo registrado en toda la serie fue de 11,88°C registrado en marzo de 2003.

3.5 Resultados para tipos de perfil Vertical del CTD

Se han obtenido perfiles diferenciados entre los meses de invierno mostrando la no estratificación y homogeneidad de los parámetros y otro perfil para los meses de verano mostrando estratificación y diferenciación de los parámetros a lo largo de los 30 metros de la columna de agua del estudio. Para ello se ha usado en programa Sigma Plot invirtiendo la escala del cero mostrando los 30 metros de profundidad en la base del eje a modo de profundidad. Se ha representado una escala para cada variable confrontada con la profundidad, en el eje superior la Salinidad y la temperatura mientras que en el eje inferior se ha representado la fluorescencia. (*Figura 2*)

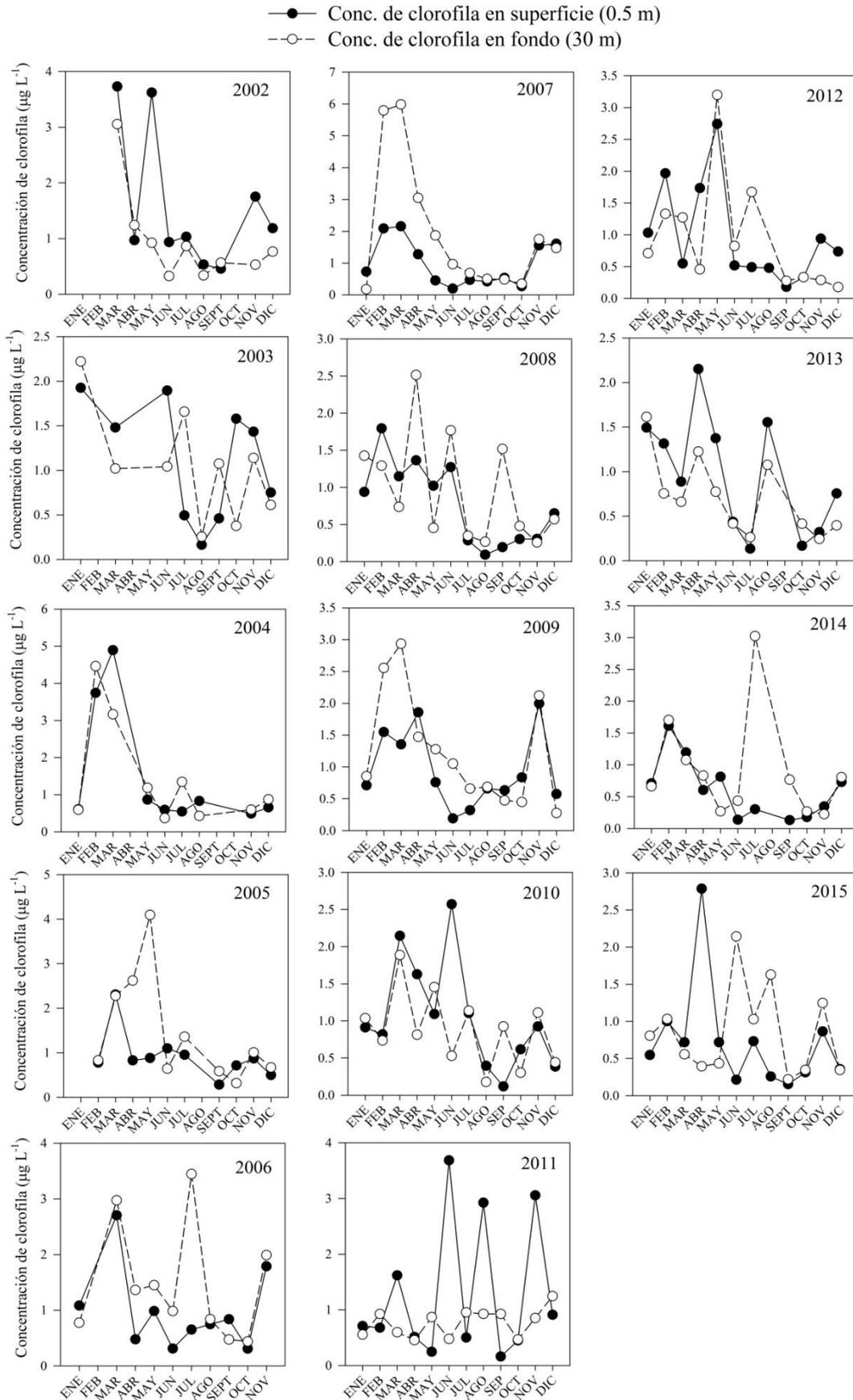


Figura 1. Variabilidad de la concentración de clorofila en fondo y superficie

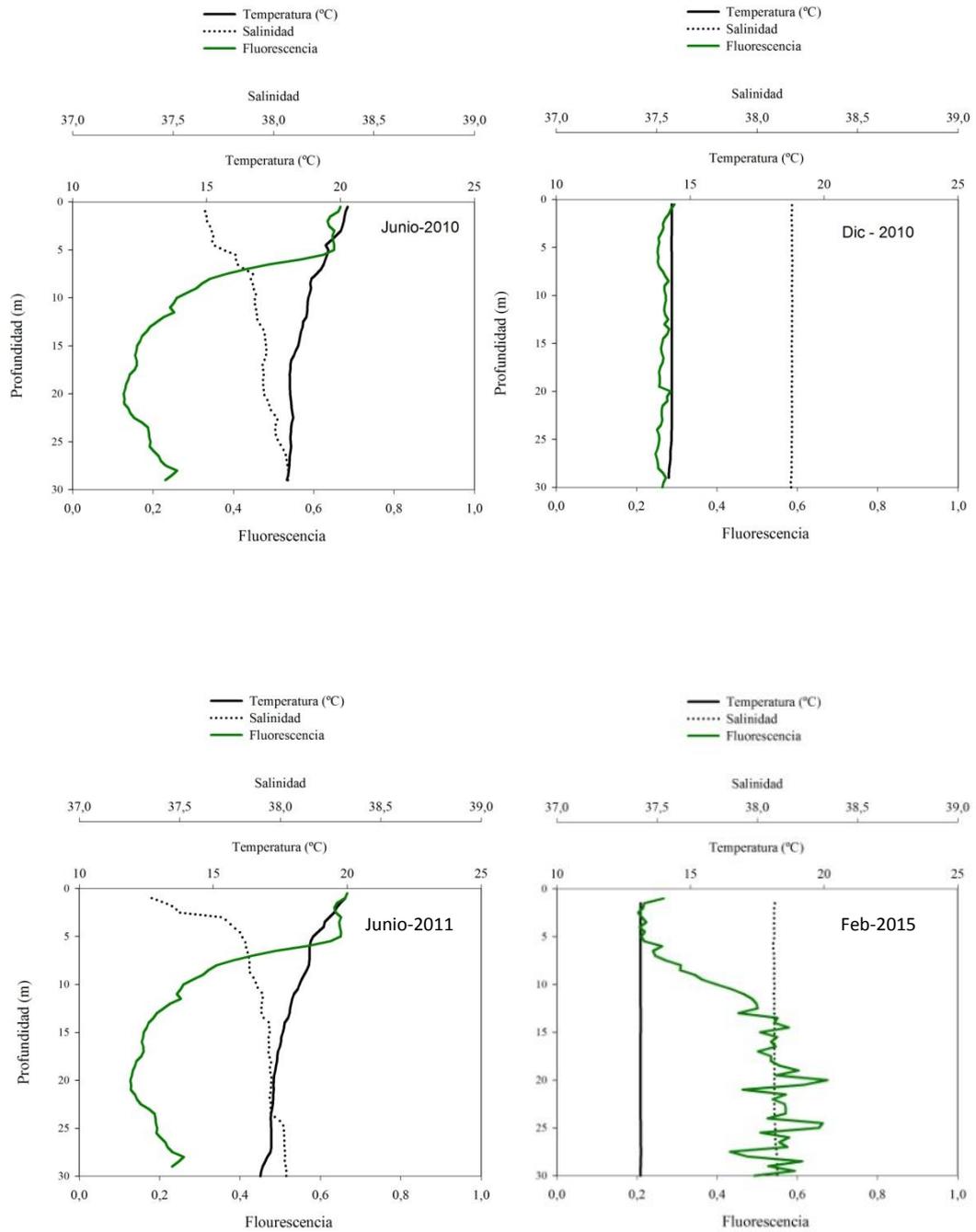


Figura 2: Perfil de CTD estratificado de verano izquierda, perfil no estratificado de invierno derecha.

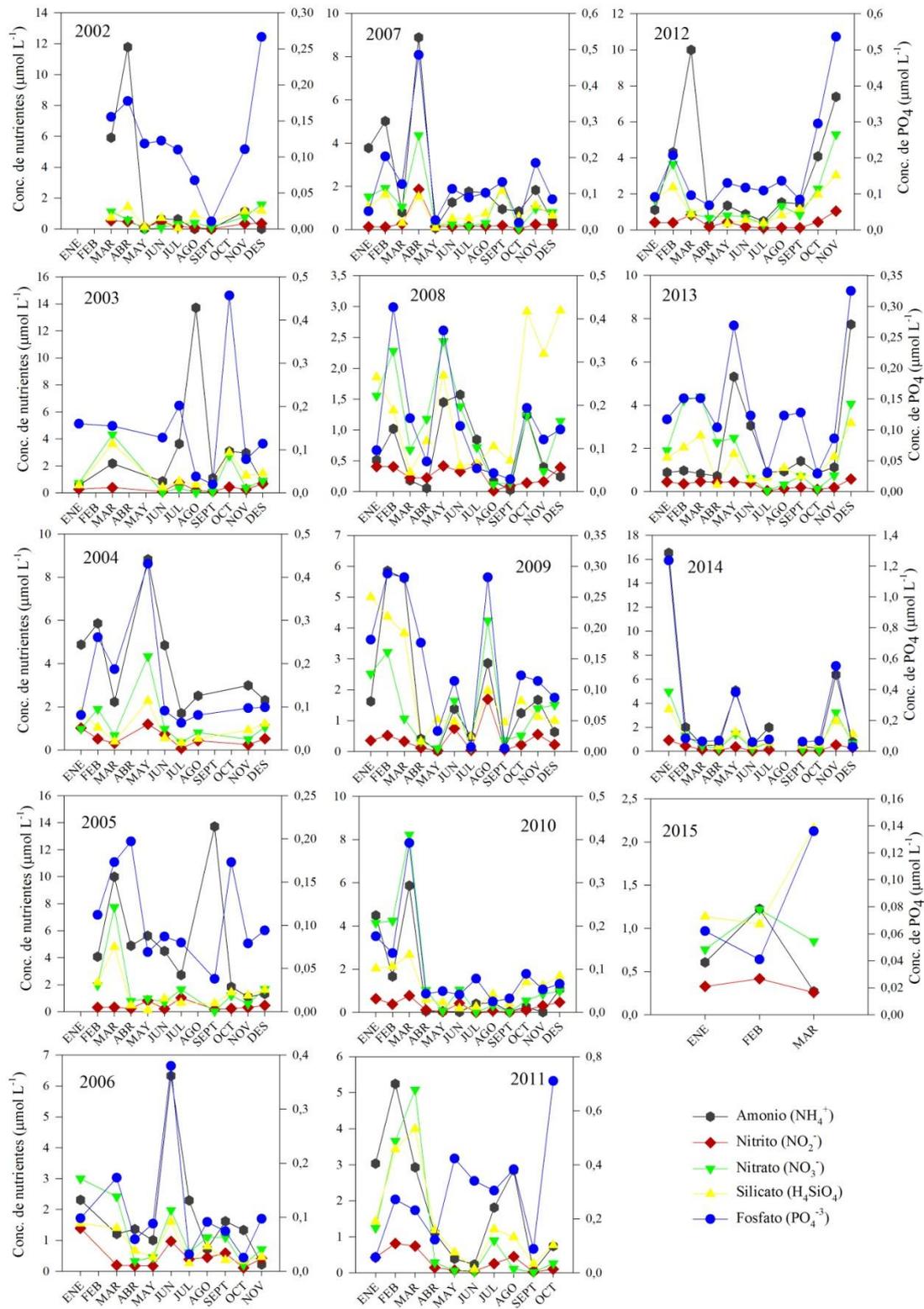


Figura 3. Evolución de los nutrientes en muestras de superficie

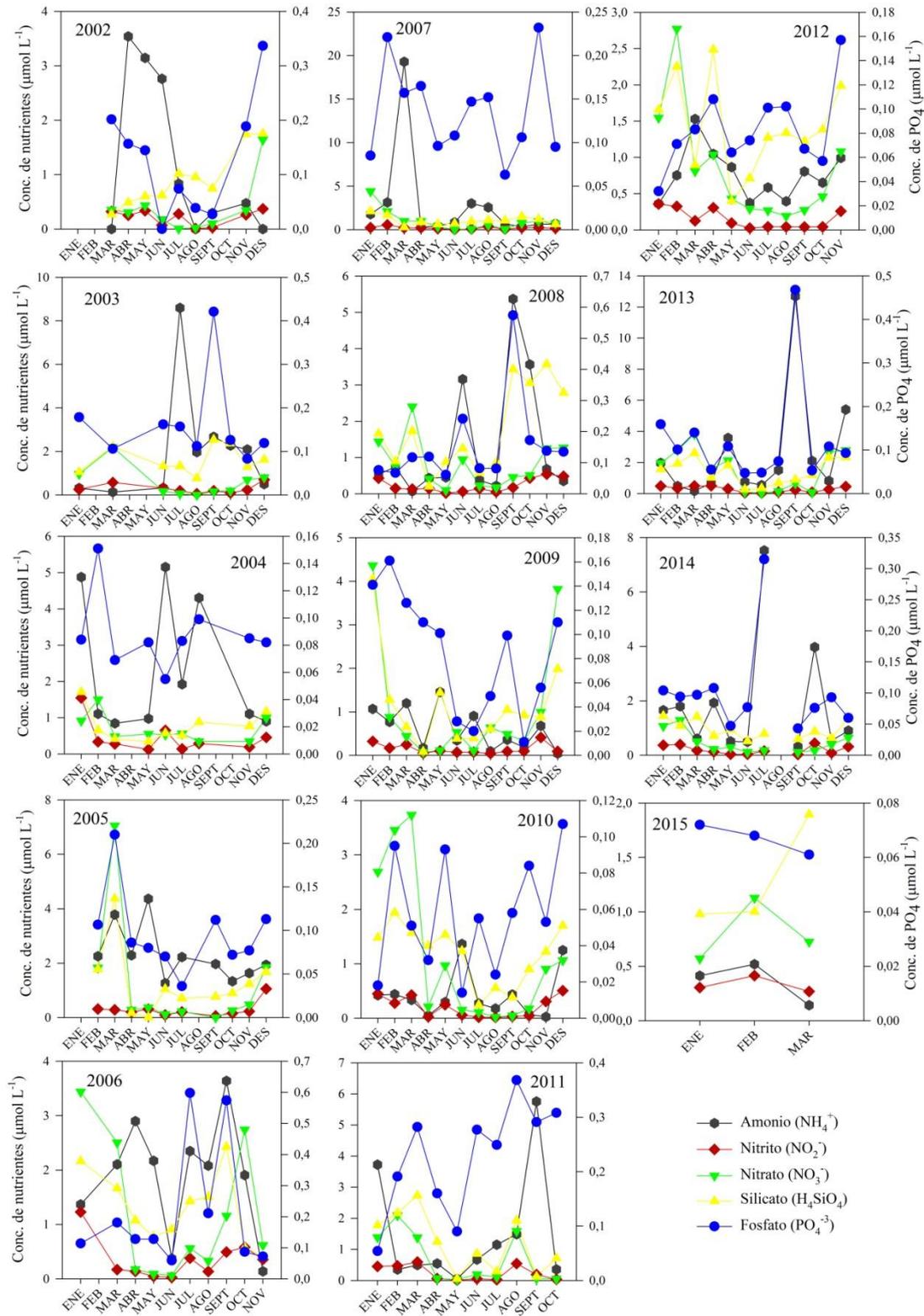
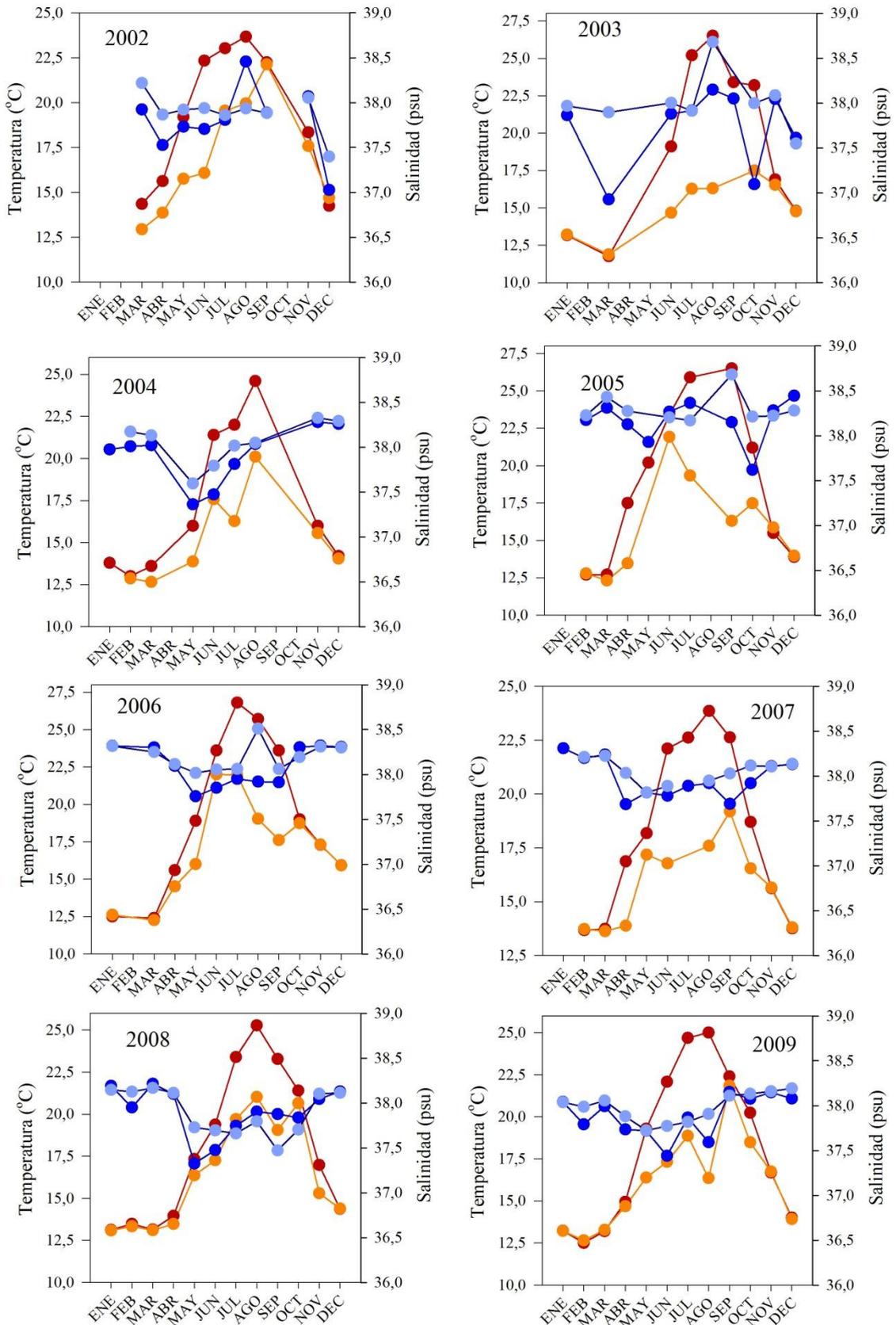
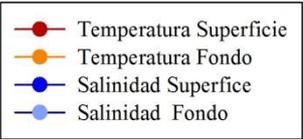


Figura 4. Evolución de nutrientes de muestras de fondo



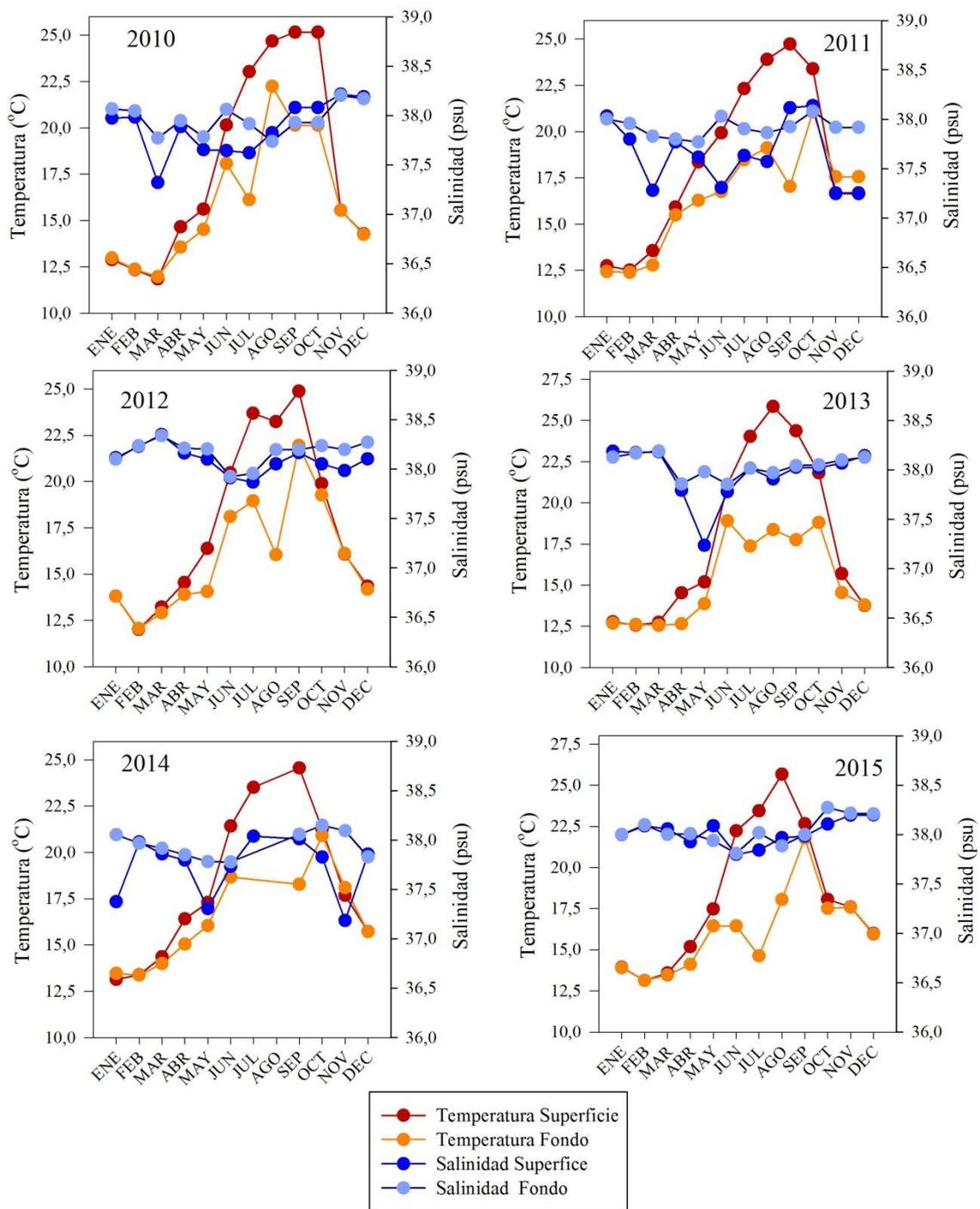


Figura 5. Evolución Salinidad y Temperatura en Superficie y en Fondo

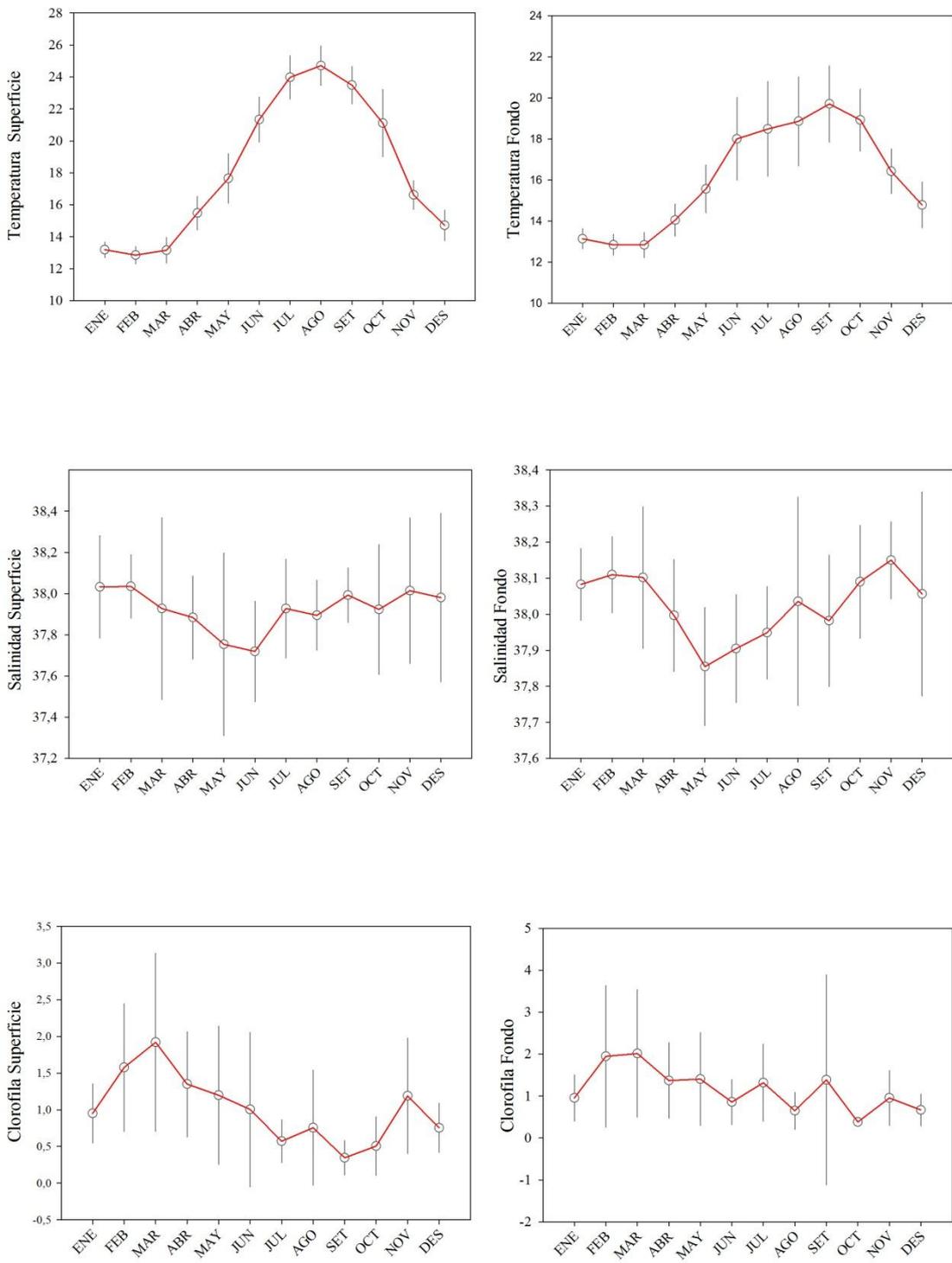


Figura 6. Tendencias interanuales con desviación estándar de medias mensuales de la serie temporal para Temperatura, Salinidad y Clorofila

La influencia de fenómenos meteorológicos puntuales, época de lluvias o aportes de agua dulce y nutrientes de las influencias costeras ya sea por las descargas puntuales de escorrentía de aguas superficiales provenientes de los ríos y los emisarios cercanos a la zona de estudio o por lluvias naturales, se pueden observar meses en los que la salinidad superficial disminuye claro indicativo de aportes de agua dulce o mezcla de corrientes y se observa que en los mismos puntos hay un incremento en la concentración de nutrientes. Durante el abril mayo y junio del 2006 hay un incremento en la concentración de nutrientes a la vez que la salinidad durante esos meses se ve disminuida, más allá de ser un echo aislado gráficamente se observa la tendencia al aumento en la concentración de nutrientes al disminuir la salinidad supuestamente durante la época de lluvias, por lo que podría resultar interesante establecer comparaciones con ambos parámetros para ver si están relacionados.

Los eventos marcados como usuales de la proliferación de fitoplancton que se explican en la bibliografía (*Estrada,1996*) muestran que se dan 2 máximos anuales, uno en primavera más alto y otro en otoño más bajo, siendo el tiempo de verano la más baja producción de fitoplancton como efectivamente se observa en los años 2007 y 2009.

Sin embargo en los datos recogidos en los años 2008,2010 entre otros, se puede ver un aumento inusual en verano de la concentración de fitoplancton, echo que podría demostrar que la influencia humana con aporte de nutrientes ya sea por descarga de ríos o emisarios tras la lluvias como vertidos accidentales podrían favorecer el aumento puntual fuera de la estacionalidad del fitoplancton en zonas costeras al tener un aporte de nutrientes extra que proceden de las áreas antropogénicas cercanas a la costa.

A partir de los perfiles del CTD obtenidos de cuando hay mezcla en columna y cuando no la hay relacionados con la concentración de nutrientes, se podrían entrever los fenómenos de afloramiento que se dan en las masas de agua y que permiten la disponibilidad de nutrientes a capas más altas, con ello se podría observar si se dan y qué tipo de afloramientos existen en la zona de estudio.

4.1 Correlaciones e Intercalibraciones

Se observa que las comparativas realizadas con los datos de superficie resultan más dispersas y menos precisas respecto a las mismas comparativas realizadas con datos de fondo, esto se ve perfectamente en la correlación realizada entre datos de superficie (*Figura 5 Anexo I*) con los valores de concentración de clorofila-a, comparando con los datos de fondo (*Figura 6 Anexo I*) lo que confirmaría que el máximo de luz incidente en las capas superficiales están sometidos al error aleatorio de la fotohinibición alterando la calidad de la obtención de los datos en esas capas de agua superficial. El hecho de que la correlación lineal entre los datos de superficie recogidos con el mismo sensor (Wetstar) y los mismos métodos tenga un índice de correlación de Pearson de 0.79 y la R de los datos de fondo sea de 0.98 confirma que en profundidad los valores son más consistentes.

Para las intercalibraciones realizadas con el sensor actualmente en uso Wetstar se observa que las diferencias siempre están por encima de cero tanto en superficie como en fondo indicando que los valores determinados con el fluorómetro son más altos respecto a la [Chla] determinada con el sensor, sin embargo se ve claramente que en fondo el intervalo de los datos conseguidos es más estrecho, indicando menos separación entre los datos obtenidos con ambos métodos, por lo que se podría decir que respecto a los valores de superficie efectivamente la calidad de los datos entre el valor dado por este sensor en fondo y las mismas muestras para el fluorómetro son más cercanos, ya que en superficie ha sobrepasado el 2.5 en más de una ocasión (*Figura 4 Anexo II*) y en fondo a parte de un pico, normalmente se encuentra debajo de 1.2.

| Intervalos | Superficie | Fondo |
|-------------------------|-------------|-------------|
| Intercalibración | | |
| SEATECH 228 | (1,-1) | (1,-0'5) |
| SEATECH 2205 | (0'3,-0'15) | (0'2,-0'05) |
| SEAPOINT 2774 | (1'5,-2) | (1'5,-1'8) |
| WETSTAR | (2'5,0'1) | (1'2,0'1) |

Tabla3. Máximos y mínimos de las intercalibraciones

El **Seatech 228** al estar en profundidad por debajo de cero en negativo indica que los valores obtenidos de [Chla] con su regresión correspondiente son superiores a los del fluorómetro, sin embargo posteriormente se acerca a cero lo que indicaría una buena calidad del dato conseguida con ambos métodos con tendencia a ser superior el determinado con el presente sensor.

El **Seatech 2205** a pesar de que se ha usado en pocas ocasiones y hay pocos datos para seguir el estudio del comportamiento concreto, el periodo comparado de 6 muestreos con él presentó el intervalo más estrecho de coincidencia de datos entre métodos siendo aún más estrecho el de profundidad, remarcando la fotohinibición.

La tendencia del **Seapoint 2774** es tener valores siempre más altos para el fluorómetro, pudiéndose considerar una desviación puntual los valores que llegan por debajo de cero.

A nivel general se observa que para todos los sensores en mayor o menor medida el intervalo de la calidad de los datos entre ambos métodos es más estrecha en fondo, por lo tanto más cercano el resultado entre ambos métodos cuando se tratan datos de profundidad. Los picos que se dan fuera de la tendencia más estable podrían contemplar algún error puntual del método y deberían ser eliminados.

4.2 Concentración de clorofila-a en superficie y fondo

Durante la serie temporal se observa que los picos de alta concentración de clorofila se dan en dos etapas anuales coincidiendo con los mínimos de temperatura registrados, durante los primeros meses de invierno anuales antes y durante la primavera y a los últimos meses fríos del año, se observa claramente en la *Figura 1* de resultados, en la grafica del año 2003, 2007, 2009, 2014. En los otros años sin embargo no se intuye tanto esta diferenciación de los máximos de concentración de clorofila donde la variación que se aprecia podría darse por los inputs cercanos de nutrientes antropogenicos de la ciudad durante todo el año, provocando un aumento del fitoplancton fuera de su estacionalidad como se muestra en la gráfica del año 2010 durante los meses de junio y julio.

Se observa que los valores de superficie no siempre son lo más elevados siendo los del fondo los que superan en [Chla] a los de superficie en más de un año durante la serie.

Estos puntos podrían ser estudiados con eventos registrados de aportes de nutrientes puntuales tales como riadas o aguas de escorrentía procedentes de los emisarios cercanos al punto de estudio así como el estudio de los fenómenos de afloramiento costero.

Identificar la estratificación o la no estratificación de la columna de agua mediante los datos obtenidos con el CTD sirve para hacerse una buena idea de si los valores obtenidos a lo largo del perfil vertical serán homogéneos o diversos por lo que obtener estos perfiles es una buena manera de saber cómo se distribuye el fitoplancton a lo largo de la columna de agua dependiendo de la época del año así como sus parámetros asociados tales como temperatura y salinidad.

Rápidamente en el ejemplo de la *Figura 2 Resultados* se puede observar que durante los meses cálidos de estratificación la línea de fluorescencia tiende a moverse hacia la izquierda, mostrando una disminución de la concentración al desplazarse en vertical por la columna de agua, mientras que para los meses de invierno su homogeneidad en diciembre muestra una concentración que se mantiene estable a lo largo del perfil vertical pero en febrero a las puertas de la primavera la concentración de fluorescencia aumenta en profundidad desplazándose su línea esta vez hacia la derecha.

Para determinar si durante los meses de no estratificación las concentraciones del fitoplancton y los nutrientes son estables entre el fondo y la superficie se podrían coger muestras de agua y CTD durante esos periodos de tiempo para ver si las concentraciones de nutrientes y fitoplancton son efectivamente estables a lo largo de la fracción de columna de agua.

A partir de estos datos también se podría intentar determinar si los periodos de baja salinidad, indicativo de aporte de agua dulce de los ríos y emisarios influyentes en la zona, van relacionados o no con aporte de nutrientes costeros extra ayudando a la proliferación no estacional del fitoplancton y así explicar junto con eventos de riadas o aportes de emisarios conocidos el aumento en la producción de fitoplancton fuera de su estacionalidad normal.

4.3 Relación entre concentración de nutrientes y concentración de clorofila-a

Según la representación gráfica de toda la serie y los máximos y mínimos listados en la *Tabla 2*, el amonio y el nitrato son los nutrientes que presentan una concentración más alta en superficie tanto a lo largo como a través de los años.

En profundidad parece que sigue siendo el amonio uno de los nutrientes con más concentración seguido del silicato y el nitrato.

Observando la representación gráfica de los nutrientes se puede observar que al haber un incremento en su concentración también lo hace la concentración de clorofila-a, por ejemplo en el año 2007 en fondo se registró la concentración máxima de nutrientes (*Figura 4 Resultados*) y a la vez fue la máxima concentración de clorofila-a también en ese nivel de fondo. Por otro lado si se observa el mismo año en superficie (*Figura3 Resultados*) se ve que no supera los $8 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ de amonio por lo que al mismo tiempo, a nivel de superficie y para el mismo periodo de tiempo, la concentración de clorofila-a en superficie tampoco ascendió tanto, estableciendo una relación causa efecto entre la concentración de nutrientes y la consecuente concentración de fitoplancton.

En contraposición si se observa la grafica de [Chla] del año 2004 (*Figura 1*) y se compara con el máximo de concentración de nutrientes del 2004 en superficie (*Figura3*) se puede observar que ambos presentan un máximo de concentración pero no coinciden en el espacio temporal, mientras el pico de [Chla] se da durante los meses de Febrero Marzo Abril, el máximo de concentración de nutrientes se da durante los meses Abril Mayo Junio, por lo que en esta ocasión no se cumpliría la interdependencia, aunque podrían ser errores metodológicos .

Se observa que el grupo de nutrientes en ocasiones cuando experimentan un máximo lo hacen cada uno en su proporción de concentración pero todos al mismo tiempo como ocurre en superficie los años 2007,2012,2013,2009 entre otros. Sin embargo este comportamiento en profundidad ya se ve más alterado posiblemente a causa de la no estratificación de la columna de agua o las diferentes corrientes que pueden haber a la hora del muestreo.

4.4 Tendencias Interanuales

Las tendencias interanuales de Temperatura, en fondo y superficie descritas muestran muy bien el echo de que en superficie el agua es más caliente que en profundidad y la curva anual del aumento de temperatura en verano respecto al invierno se ve perfectamente, en fondo se aprecia que siempre es más fría el agua habiendo más desviación de la media durante los meses de verano confirmando la heterogeneidad de la masa de agua, sin embargo en los meses de invierno la desviación de los datos medios de temperatura es menos pronunciada confirmando la homogeneidad de la masa de agua que muestran los perfiles de CTD durante el periodo invernal.

La diferencia entre los dos meses de invierno (*Figura2 Resultados*) Diciembre y Febrero mientras los parámetros de temperatura y salinidad se mantienen estables en ambos meses a lo largo de la columna de agua, el parámetro de fluorescencia muestra más oscilación en su concentración ya que es un mes previo a la primavera empezando ya la proliferación fitoplanctónica.

Las tendencias interanuales de [Chla] muestran en superficie los dos picos anuales de primavera y otoño no pasando como valor medio de los 2 $\mu\text{g/L}$ de clorofila con más o menos desviación.

En profundidad los picos anuales de [Chla] no se ven tan marcados, pudiéndose deber a los desplazamientos de la comunidad fitoplanctónica a lo largo de la columna dependiendo de factores radiativos o bióticos y de las estratificaciones o no de la columna de agua.

La tendencia interanual para la Salinidad tanto en superficie como en fondo muestra una variación de intervalo muy corto sin embargo durante los meses de primavera para ambas situaciones de marzo a mayo muestran una disminución leve en salinidad que podría coincidir con el periodo de lluvias con aporte de agua dulce con procedencia de los ríos y emisarios cercanos al punto de muestreo.

Las intercalibraciones realizadas en este estudio han permitido realizar una estimación de cuál sensor de fluorescencia usado durante la serie temporal ha sido el que se ha acercado más a los valores de [Chla] proporcionados por el fluorómetro de laboratorio.

Esto no había sido analizado previamente y se ha podido determinar, una vez evaluados los intervalos entre los sensores usados de la serie temporal, que el que ha obtenido un rango más estrecho indicando más cercanía entre los datos registrados por los dos métodos ha sido el **Seatech 2205**, sin embargo se debería disponer de más número de muestra (n) para poder seguir realizando una comparativa real con los demás sensores que si disponen de más número de muestra (n) y afirmar lo observado.

5.1 Variabilidad estacional e interanual de Fitoplancton

Esta serie de datos en mayor o menor medida ha sido ya analizada previamente en alguno de sus puntos de muestreo de los dos transeptos, sin embargo para el punto 1.3 usado no había antecedentes de un estudio a nivel fitoplanctónico a esas coordenadas observándose que cuando la columna de agua esta estratificada (meses de verano) se ve perfectamente la diferenciación de la distribución entre la superficie y el fondo para la fluorescencia como para la temperatura y salinidad, sin embargo cuando no hay estratificación de la columna de agua y la masa de agua está bien mezclada se dan condiciones de estabilidad de los anteriores parámetros durante el perfil vertical. Por esta razón los valores de [Chla] en superficie y fondo tienden a ser cercanos durante la estratificación y más diferenciados entre los valores de superficie y fondo cuando hay estratificación. Esto corrobora la existencia de la termoclina estacional y la termoclina permanente en este lugar del mediterráneo.

Se ve una relación entre los máximos de nutrientes y los máximos de [Chla] que habitualmente se dan durante los dos picos de clorofila anuales establecidos a principio y final de año, por lo que los aumentos fuera de estos periodos podrían relacionarse con el aumento puntual de concentración de nutrientes por el aporte de aguas ricas en estos procedentes de los emisarios cercanos o de descargas puntuales de los ríos cercanos a la costa y del punto de muestreo.

La comparativa de concentración de [Chla] a través de los años muestra cierta variabilidad haciendo difícil establecer un comportamiento repetitivo en sus máximos a estas latitudes costeras, por lo que lo observado en este estudio corrobora la dificultad para mostrar un comportamiento definido de la estacionalidad del fitoplancton cercano a la costa urbana.

Los nutrientes generalmente influyen directamente en la concentración de fitoplancton. El comportamiento general visto del aumento anual del fitoplancton en relación a la [Chla] que se ha observado durante algunos años de la serie temporal afirma la leve estacionalidad habitual en primavera, sin embargo también ha mostrado aumentos fuera de este periodo como en el ejemplo del 2010, 2011 o 2015 (Figura 1 Resultados). Esto podría deberse a la variabilidad del aporte de nutrientes de la zona costera fuera de la estacionalidad conocida del fitoplancton que puede favorecer incrementos en su concentración fuera de su periodicidad habitual.

Por ejemplo, el año 2005 muestra una distribución anual de aporte de nutrientes en superficie (Figura 3) coincidente con los dos picos anuales de [Chla] en cambio durante 2006 los picos de nutrientes fuera de la distribución anual normal de [Chla] también contribuyen a que se de un aumento de [Chla] fuera de la distribución anual normal, por lo que se podría decir que la [Chla] depende fuertemente de la concentración de nutrientes independientemente de su estacionalidad habitual lo que lleva a tener una gran variabilidad a lo largo del año.

5.2 Comparativa metodológica

Con el sensor Wetstar actualmente en uso siempre se obtienen valores de [Chla] inferiores a los obtenidos por el fluorómetro, por lo que este sensor debería ser calibrado de dos posibles maneras, una posterior a este estudio con patrones de concentración conocida de clorofila-a para determinar su precisión en las medidas y aplicarle, si hiciera falta, un factor de calibración para corregir el valor de su lectura proporcionada y la otra, ya realizada en este estudio, mediante las correlaciones con el método de referencia (el fluorómetro del laboratorio) pudiéndose aplicar un factor de corrección a los datos obtenidos con dicho sensor.

Si comparamos las desviaciones obtenidas por cada sensor para el Seatech 228 y el Wetstar se ve claramente que presentan unas desviaciones más bajas trabajando con

datos de fondo lo que indica y confirma que a estos niveles de la columna de agua , la aproximación de los datos conseguidos con ambos métodos es mayor, por lo que confirmaría el fenómeno de la fotoinhibición que se da en superficie.

Damm, A., Elbers, J., Erler, A., Gioli, B., Hamdi, K., Hutjes, R., Kosvancova, M., Meroni, M., Miglietta, F.; Moersch, A., “Remote sensing of sun-induced fluorescence to improve modeling of diurnal courses of gross primary production.”, *Global Change Biology*, **16** (2010), pp.171–18

Espinosa, A., Torres, I., Padilla, J., Osornio, R., de Jesus Romero, R., Villaseñor, C., Rico, E.; Guevara, R.,” Description of photosynthesis measurement methods in green plants involving optical techniques, advantages and limitations.”, *African Journal of Agricultural Research*, **6**(2011), pp. 2638–26

Estrada, M.,” Primary production in the northwestern Mediterranean”, *Scientia Marina*, **60** (1996), 55-64.

Falkowski, P., Barber,R.; Smetacek,V.” Biogeochemical Controls and Feedbacks on Ocean Primary Production.”, *Chemistry and Biology of the Oceans*, **281**(1998), 200-206.

Font, J.,” La circulació general a la Mar Catalana. *Unpublished. PhD. Thesis, University of Barcelona*, 1986.

Gonzalez, M., Perales, H.; Salcedo, M.,”La Fluorescencia de la Clorofila-a como herramienta en la investigación de efectos tóxicos en el aparato fotosintético de plantas y algas.”, *Revista de Educación Bioquímica*, **27** (2008) ,119-129.

Guillén, J,” Coastal Ocean Observatory”, www.coo.icm.csic.es (25/03/2016)

Lhorenz, S. E., Wiesenburg, D. A., De Palma, I. P., Johnson, K. S.; Gustafson, D. E., “Interrelationship among primary production, chlorophyll, and environmental conditions in frontal regions of the Western Mediterranean Sea.”, *Deep-Sea Research* , **35** (1988), 793-810.

Long, S.; Humphries,S.” Photoinhibition of Photosynthesis in Nature.”, *Annual Reviews Physiology*, **45** (1994), 633-662.

Rodríguez, J.; Tintoré,J.” Circulación vertical y estructura de tamaños del fitoplancton: Implicaciones sobre el papel del océano en el control del cambio climático”, *Encuentros en la Biología*,**71** (2001), 1-3.

Romero, E., Peters, F., Arin, L; Guillén, J., “Decreased seasonality and high variability of coastal plankton dynamics in an urban location of the NW Mediterranean”, *Journal of Sea Research*, **1**(2014), 88, pp. 130-143.

Soto, S., Chic, O., Mulet, O; Guillén, J., “Visualización de series temporales oceanográficas mediante SOS.js.”, *Servicio de Sistemas de Información Geográfica y Teledetección*, **1**(2015), 2-3.

Varela, R; Rosón, G; “Métodos en Oceanografía Física”, Editorial Anthias, España, 2008.

Yentsch, C.; Menzel, D., “A method for the determination of phytoplankton chlorophyll and phaeophytin by fluorescence.”, *Woods Hole Oceanographic Institution*, **1**(1963), 222-223.

Zúñiga, I; Crespo del Arco, E; “Meteorología y Climatología”, Editorial UNED, España, 2010.

7. Anexo I – Regresiones Lineales con [Chla] fluorómetro y fluorescencia de varios sensores. Correlaciones sensor Wetstar (Tabla1)

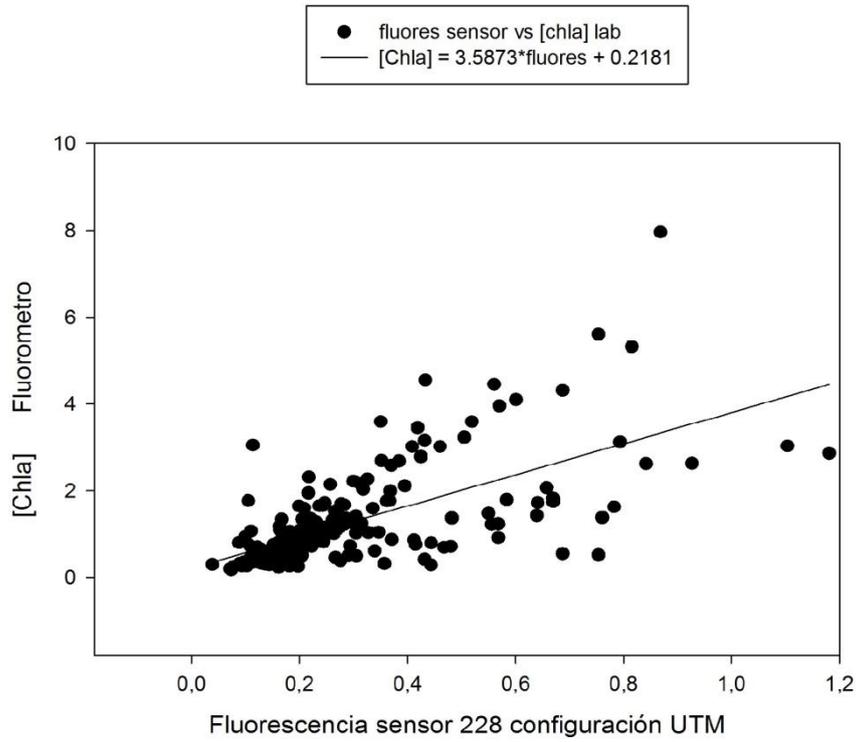


Figura 1: Sensor 228 Configuración UTM

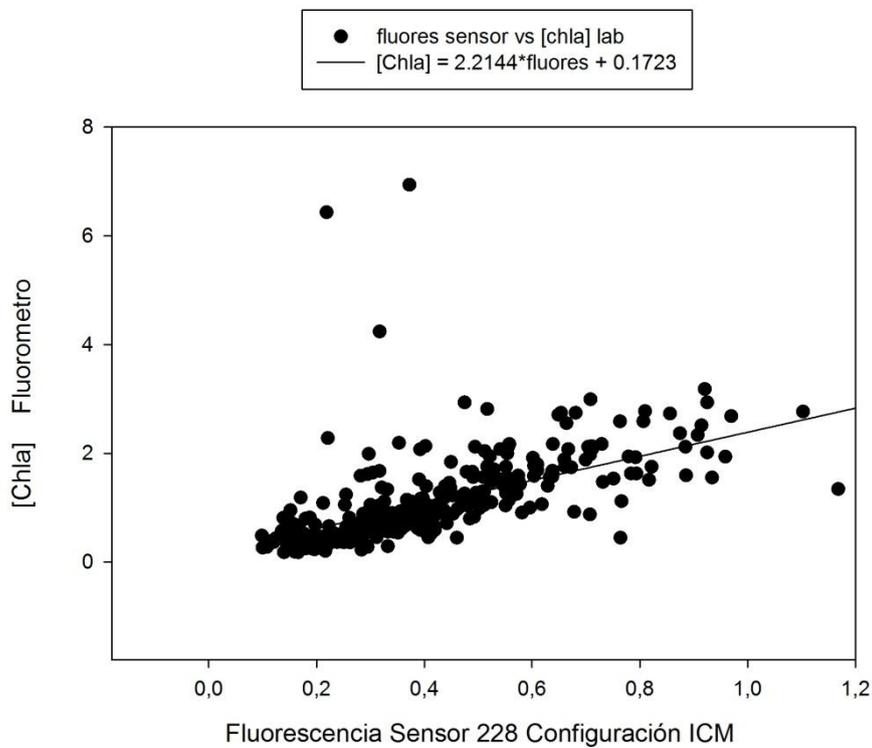


Figura 2: Sensor 228 Configuración ICM

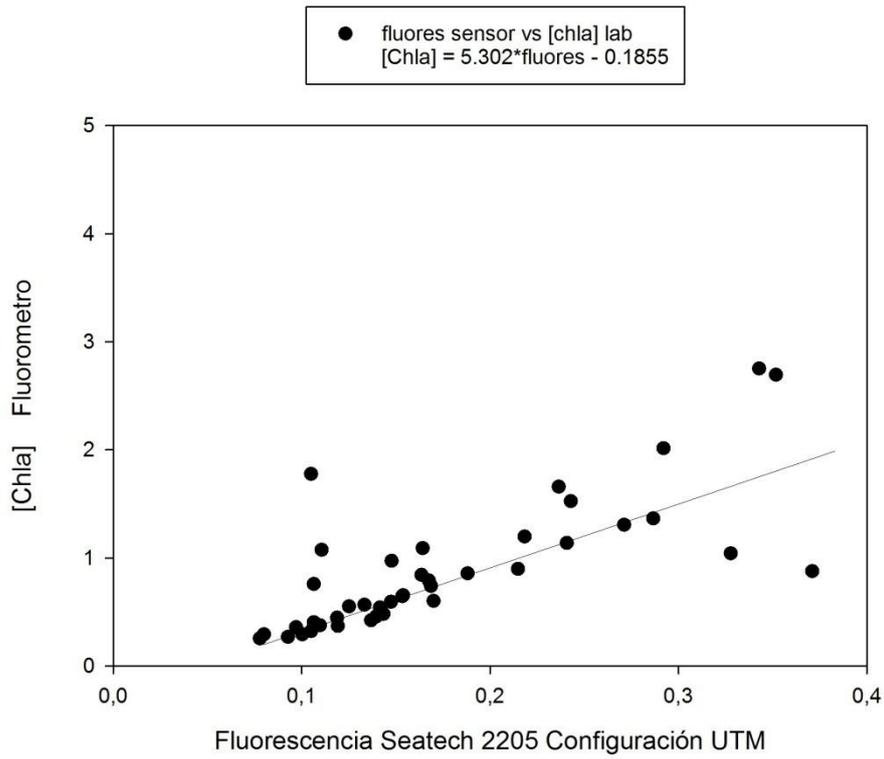


Figura3: Sensor Seatech 2205 Configuración UTM

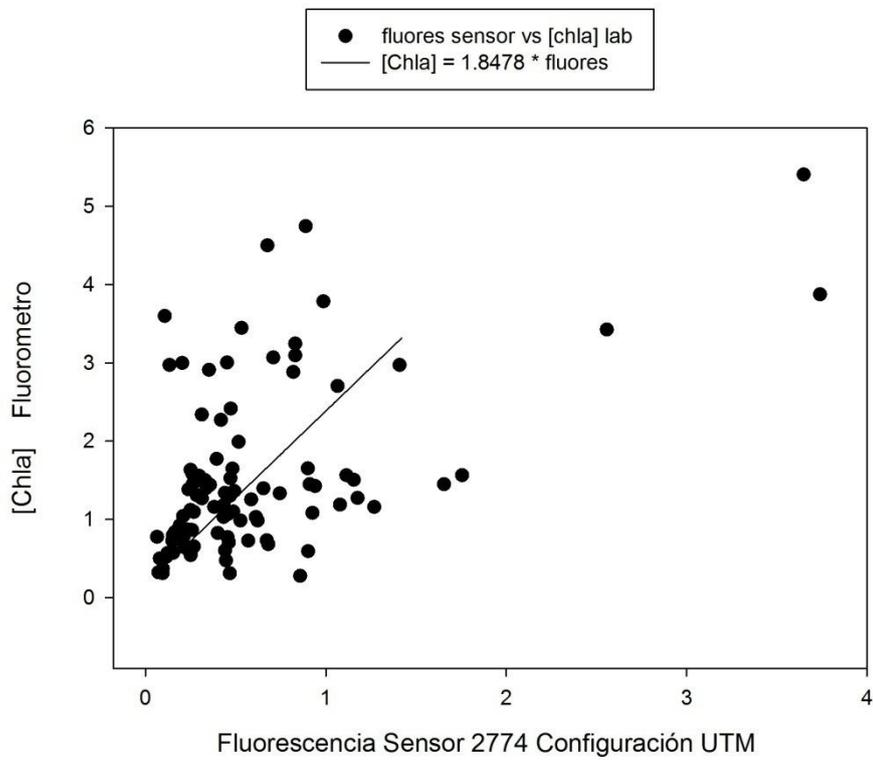


Figura 4: Sensor 2774 Configuración UTM

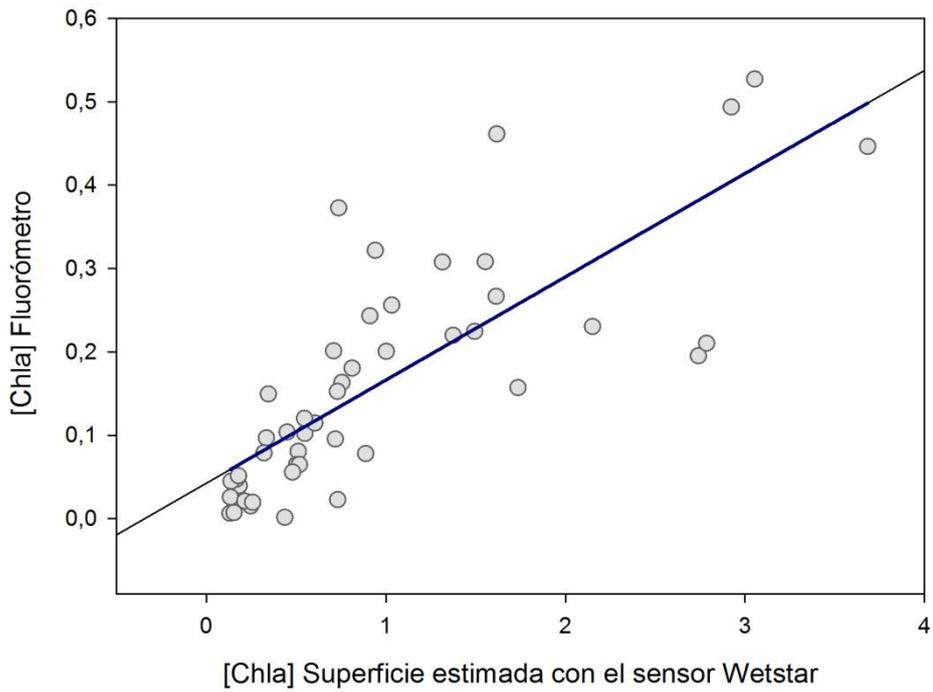


Figura5: *Correlación Wetsar superficie contra Fluorómetro laboratorio.*

$R = 0.7904$; $[Chla_{Fluorómetro}] = 0.1237 + 0.0426[Chla_{Sensor}]$

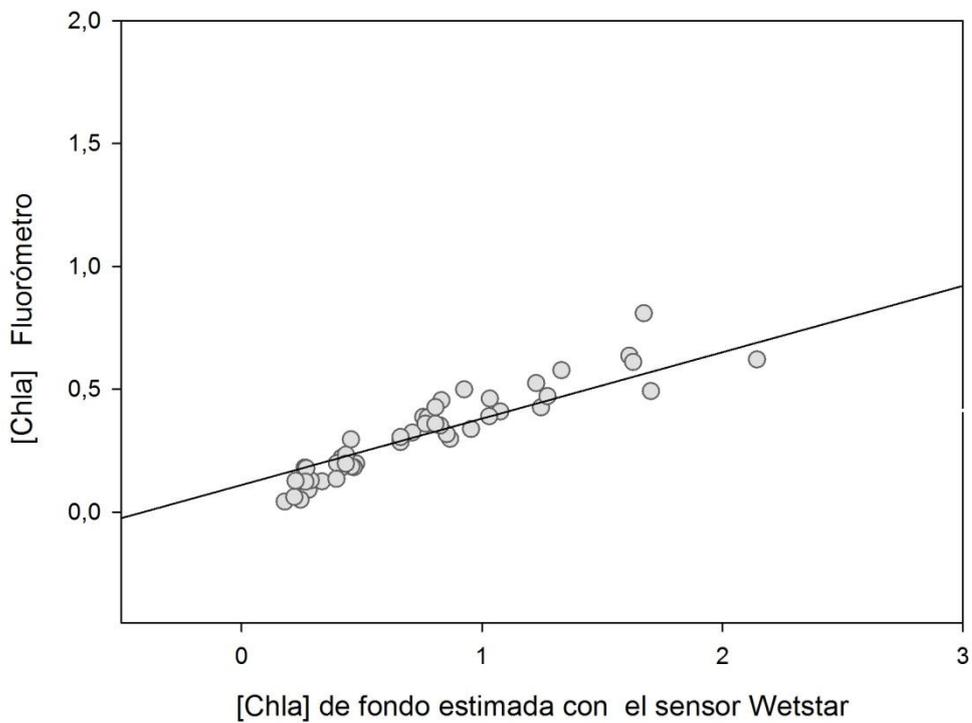


Figura6: *Correlación Wetstar fondo contra Fluorómetro laboratorio*

$R = 0.9785$; $[Chla_{Fluorómetro}] = 0.1107 + 0.27[Chla_{Sensor}]$

8. Anexo II – Graficas Intercalibración Metodológica

a) Comportamiento en Superficie

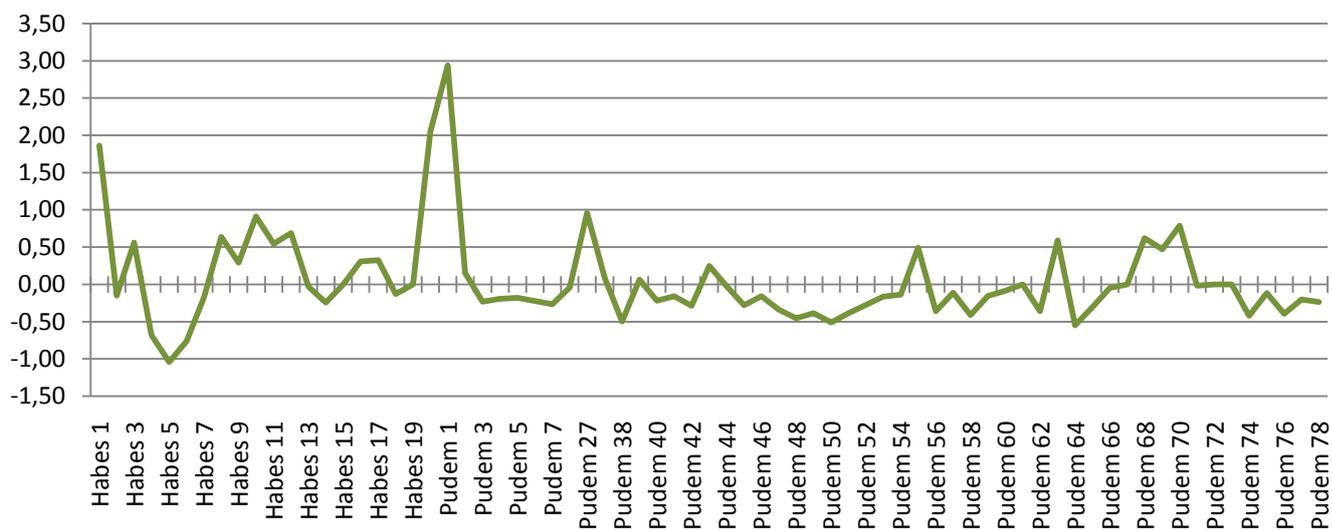


Figura 1: Seatech 228 superficie vs fluorometro

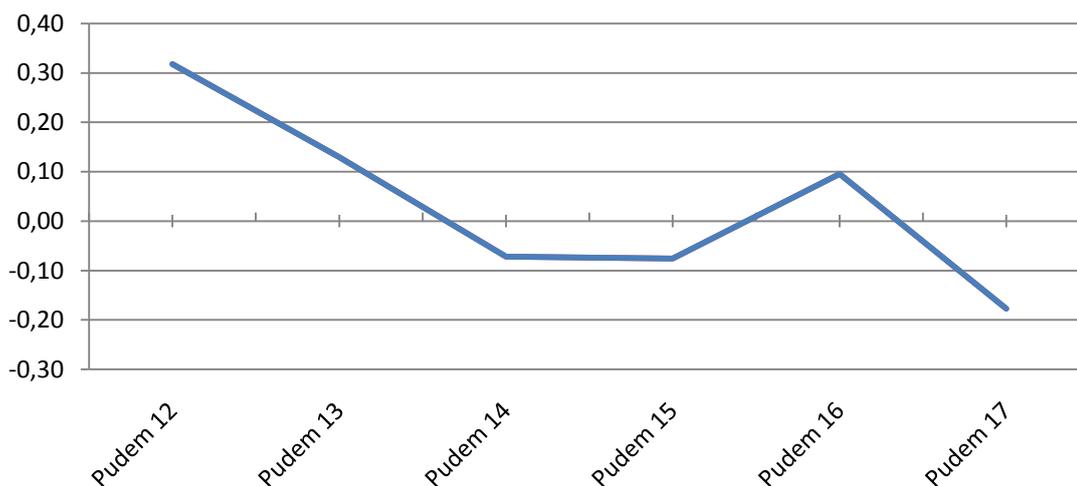


Figura 2: Seatech 2205 superficie vs fluorometro

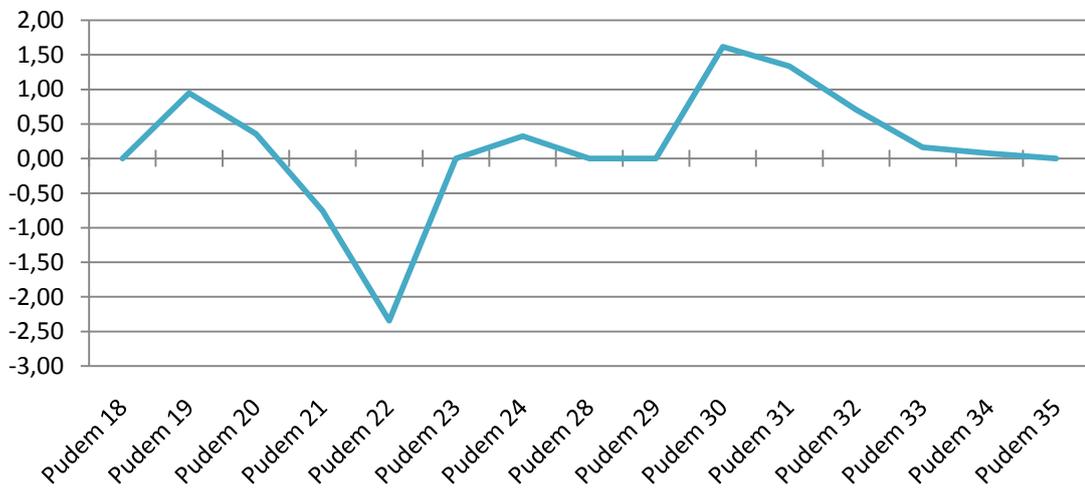


Figura 3: Seapoint 2774 superficie vs fluorometr

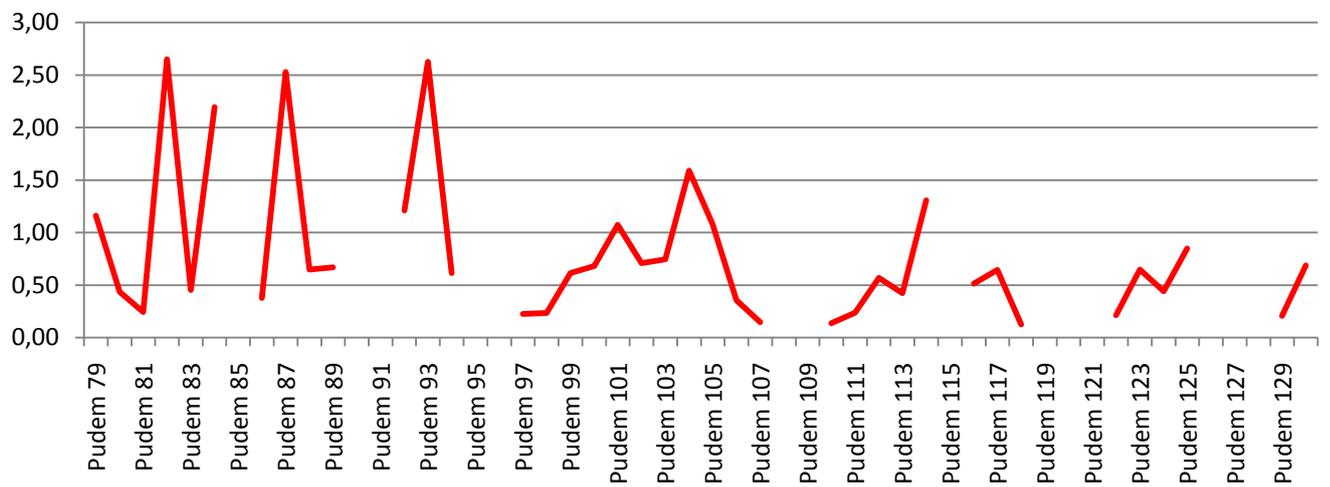


Figura 4: Wetstar superficie vs fluorometro

b) Comportamiento en Fondo

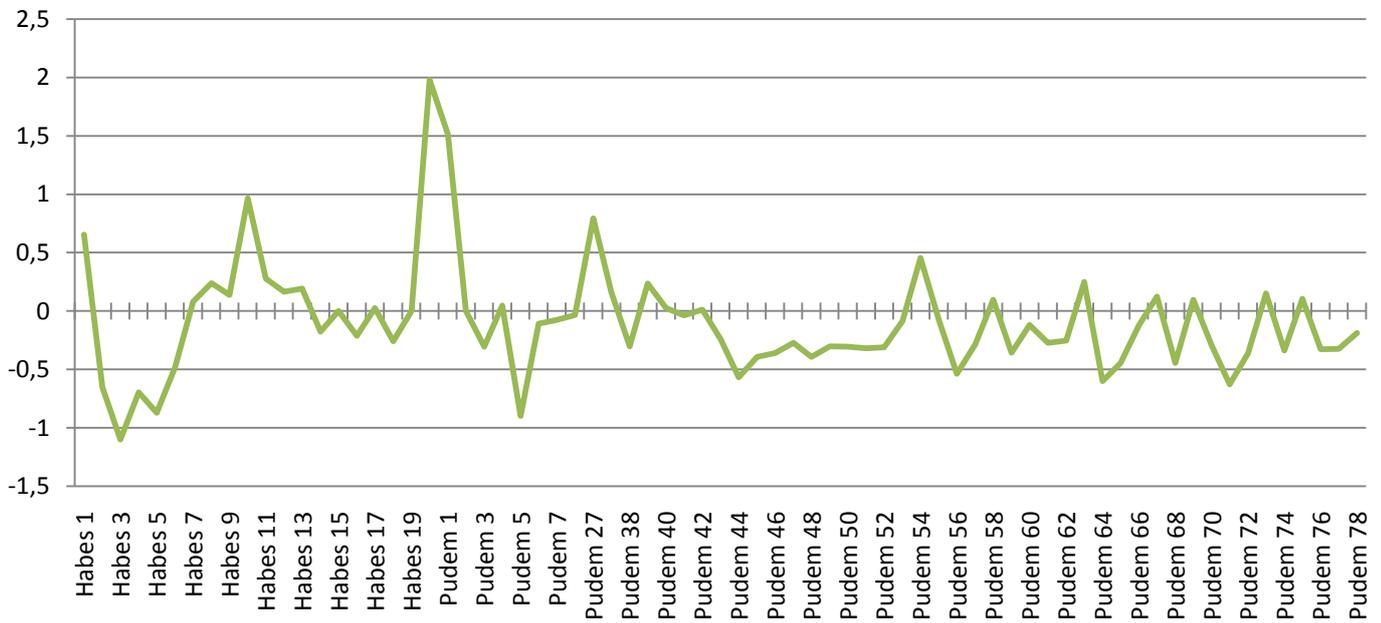


Figura 5: Seatech 228 fondo vs fluorometro

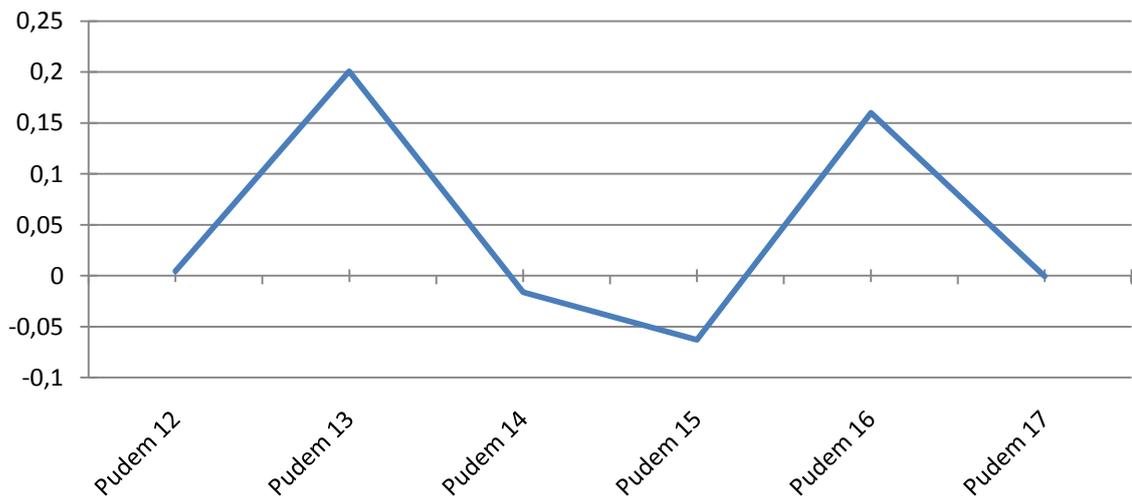


Figura 6: Seatech 2205 fondo vs fluorometro

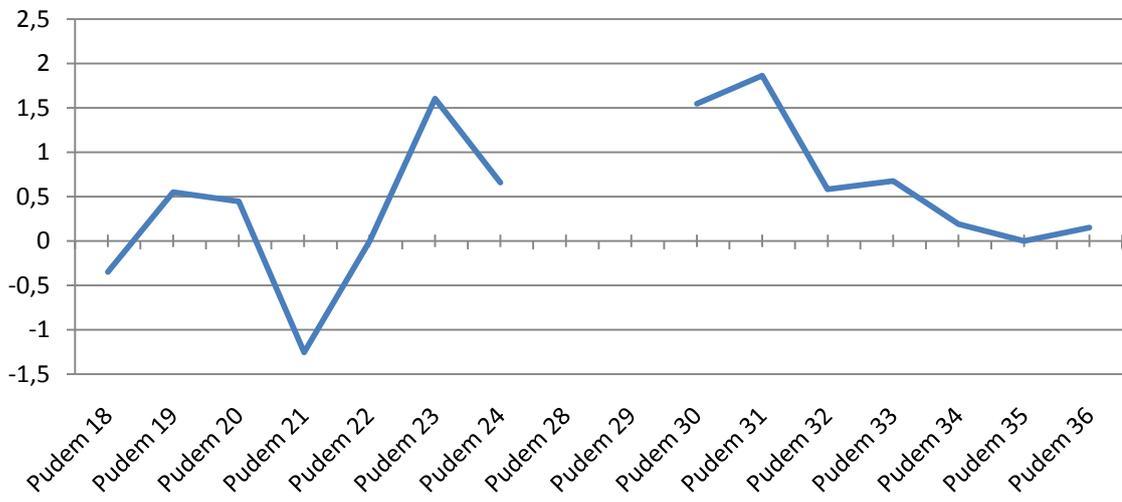


Figura 7: Seapoint 2274 fondo vs fluorometro

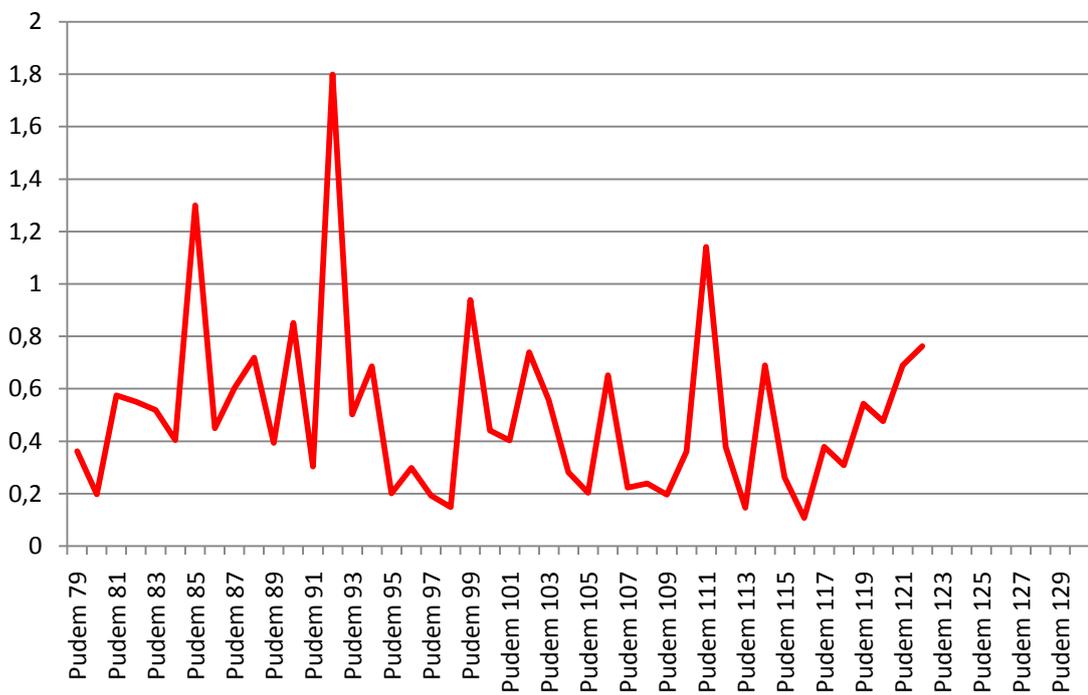


Figura 8: Wetstar fondo vs fluorometro

