



Universidad de La Laguna



Facultad de Biología

**El papel de factores físicos y biológicos en
la distribución de la FDOM en el océano
Atlántico**

**Physical and microbial drivers for FDOM
distribution in the Atlantic Ocean**

Sergio González Motos

**Máster Universitario en Biología Marina:
Biodiversidad y Conservación**

Julio de 2018

José Manuel González Hernández, Profesor Titular del área de Microbiología de Departamento de Bioquímica, Microbiología, Biología Celular y Genética de la Universidad de La Laguna,

CERTIFICA:

Que la memoria presentada por el graduado en Ciencias Ambientales Sergio González Motos, titulado “El papel de factores físicos y biológicos en la distribución de la FDOM en el océano Atlántico”, ha sido realizada bajo mi dirección y considero que reúne todas las condiciones de calidad y rigor científico requeridas para optar a su presentación como Trabajo de Fin de Máster, en el Máster de Biología Marina: Biodiversidad y Conservación de la Universidad de La Laguna, curso 2017-2018.

Y para que así conste y surta los efectos oportunos, firmo el presente certificado

En San Cristóbal de La Laguna, a 29 de junio de 2018

Fdo. Dr. José Manuel González Hernández

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015. La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Document Id: 1371582 Verification code: o2Ld5yaG

Signed by: José Manuel González Hernández
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Date: 29/06/2018 12:36:05

“Lo que sabemos es una gota de agua; lo que ignoramos es el océano”

Isaac Newton

ÍNDICE

Agradecimientos.....	5
Resumen.....	6
Introducción.....	7
Objetivos.....	10
Material y métodos	
Recogida de las muestras.....	10-11
Tratamiento y análisis de las muestras.....	11-13
Tratamiento de datos.....	14-15
Herramientas estadísticas.....	15-17
Resultados y discusión	
Secciones del océano profundo.....	17-23
Secciones de la superficie.....	23-26
Análisis de los modelos de la regresión polinomial.....	27-32
Análisis de los residuos de los modelos de regresión polinomial.....	32-38
Conclusiones.....	39-40
Referencias.....	41-43

Agradecimientos

Me gustaría introducir este trabajo dando las gracias a todas aquellas personas que directa o indirectamente contribuyeron a la culminación de esta memoria. Ya que sin su ayuda este trabajo no hubiera llegado a buen puerto.

En primer lugar agradecer la posibilidad de trabajar en las instalaciones del Instituto de Ciencias del Mar de Barcelona con las muestras recogidas con gran esfuerzo y dedicación por los componentes de la campaña FICARAM. Agradecer el trabajo realizado por mis tutores Cèlia Marrasé, José M. González y los consejos de Dolors Vaqué. Sobre todo en los últimos tramos donde habéis tenido una paciencia infinita. Sin olvidar la encomiable ayuda que me aportaron los miembros de Onemind-DataScience en labores estadísticas. Los cuales, además de enseñarme cosas nuevas, me contagiabais motivación y compromiso en cada una de vuestras aportaciones.

Gracias a esta experiencia en el instituto de Ciencias del Mar me encuentro a día de hoy con una profunda familiarización del entorno oceanográfico de trabajo, además de con un conocimiento del manejo de bases de datos, tratamiento y estadística destacable. De forma que no puedo más que agradecer esta etapa de mi vida.

Trabajando desde Barcelona pero con una parte de mí siempre en Tenerife no puedo terminar esta sección sin hacer mención a mis principales apoyos morales, Dani y Fran. Espérenme que pronto estaré allí para terminar la temporada.

Resumen

Las distribuciones de microorganismos autótrofos y heterotróficos, virus, materia orgánica disuelta fluorescente (FDOM) húmica y proteica y la aparente utilización de oxígeno (AOU) han sido determinadas a partir de muestras de agua tomadas en toda la columna de agua en 49 estaciones entre 50.708 °S y 36.006 °N en el Océano Atlántico. La relación de todas estas variables con la temperatura y salinidad ha sido evaluada estadísticamente con el objetivo de estimar el porcentaje de variabilidad de sus distribuciones debido al origen de la masa de agua. Una vez eliminado el peso de la masa de agua a través de regresiones polinomiales múltiples con salinidad y temperatura se exploró la posible influencia de las variables biológicas en la distribución de la materia orgánica disuelta.

Se encontró una relación significativa entre los residuos de Pico C y AOU en el océano profundo, ($R^2=34\%$, valor de $p < 0.005$) conforme al artículo de De la Fuente *et al*, 2014 y en superficie ($R^2=41\%$, valor de $p < 0.005$). Esto respalda la idea de que los cambios en la intensidad de fluorescencia están directamente relacionados con la oxidación in situ de la materia orgánica por actividad microbiana en aguas profundas del Océano Atlántico. Contrariamente, no se encontró una buena relación entre abundancia de procariotas heterotróficas y AOU o FDOM, ello puede ser debido a que las variables AOU y FDOM son acumulativas mientras que la abundancia de organismos no lo es.

Summary

The distributions of autotrophic and heterotrophic microorganisms, virus, humic and protein-like fluorescent dissolved organic matter (FDOM) and the apparent oxygen utilization (AOU) are determined from water samples taken in the entire water column in 49 stations between 50,708 ° S and 36.006 ° N in the Atlantic Ocean. The relationship of all these variables with temperature and salinity is evaluated statistically with the objective of estimating the percentage of variability of their distributions due to the origin of the water mass. Once the influence of the water mass was eliminated through multiple polynomial regressions with salinity and temperature, the possible influence of the biological variables on the distribution of the dissolved organic matter was explored.

A significant relationship between the residuals of C-Peak and AOU is found in the deep ocean, ($R^2=34\%$, p -value < 0.005) according to De la Fuente *et al*, 2014 article and in the surface ($R^2=41\%$, p -value < 0.005). This endorses the idea that changes in fluorescence intensity are directly related to in situ oxidation of organic matter by microbial activity in deep waters of Atlantic Ocean. Nevertheless, a significant relationship between abundance of heterotrophic prokaryotes and AOU or FDOM was not found, this may be due to the fact that AOU and FDOM are accumulative variables while the abundance of organisms is not.

Palabras clave/Keywords: AOU, Bacteria, Pico A, Pico C Pico M, Pico T, Virus.

Introducción

El siguiente trabajo ha sido desarrollado en el Instituto de Ciencias del Mar de Barcelona (ICM), perteneciente al área de Recursos Naturales del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). Se desenvuelve en el contexto de la campaña FICARAM realizada entre febrero y mayo del 2013 a bordo del buque Hespérides.

El objetivo principal de la campaña es investigar la evolución temporal del carbono antropogénico y evaluar la capacidad de absorción de la región del Atlántico Sud, la Zona ecuatorial y la región subtropical de las Azores-Gibraltar del Atlántico Norte. Por ello la recogida de muestras abarcó desde Punta Arenas (Chile) hasta Cartagena (España).

Es conocido que además de la bomba de solubilidad, la bomba biológica desempeña un importante rol en el almacenamiento temporal o permanente de carbono en los océanos. (Volk and Hoffert, 1985; Honjo *et al.*, 2014; Legendre *et al.*, 2015). Gran parte de este carbono almacenado lo encontraremos en forma de materia orgánica disuelta (DOM) el cual se produce mediante diversos mecanismos: exudación por parte del fitoplancton (Hopkinson *et al.*, 2002; Romera-Castillo *et al.*, 2011; Sarmiento *et al.*, 2013), liberación por lisis viral (Brussaard, 2004; Motegi *et al.*, 2009), por la propia senescencia celular y la solubilización de materia orgánica particulada (POM) por bacterias en cuencas (Nagata *et al.*, 2000; Sala and Güde, 2004). Se especula que la mayor parte de la DOM en zonas profundas proviene de varios procesos de degradación microbiana y lisis vírica, esta DOM tiene carácter refractario y por lo tanto es de difícil biodegradación. Los mecanismos de formación y acumulación de esta DOM refractaria (DOMR) ha dado lugar a la formulación del concepto de bomba microbiana (Jiao *et al.* 2010). Desde que ésta fuera descrita por primera vez, el interés por conocer los mecanismos de formación y la dinámica de la DOMR ha dado lugar a numerosos estudios. Parte de esta DOMR tiene propiedades fluorescentes, la fracción que se conoce como materia orgánica fluorescente (FDOM). Dos grandes grupos de compuestos contribuyen a la fracción de FDOM, los compuestos húmicos y los proteicos. Los húmicos se han utilizado como trazadores de masas de agua, precisamente por su carácter refractario. Además se ha podido observar que existe una relación significativa entre la fracción húmica de la FDOM y la aparente utilización de oxígeno (AOU), De la fuente *et al.* 2014, Jorgensen *et al.* 2011. Entendiendo la aparente utilización de oxígeno como la diferencia entre la concentración de oxígeno en saturación y la concentración de oxígeno observada (Weiss, 1970; Ito *et al.*, 2004). Sin embargo, en ninguno de estos estudios se consideró la contribución de los microorganismos como fuente de variabilidad en la distribución de la FDOM. En este

trabajo y aprovechando la base de datos de la campaña FICARAM se explora empíricamente la distribución de microorganismos y factores físico-químicos (temperatura y salinidad) en relación con la dinámica de la FDOM a lo largo de un transecto latitudinal en el océano Atlántico. En particular se ha examinado la distribución de cuatro grupos de compuestos fluorescentes que se caracterizan por responder a los siguientes picos de Excitación/Emisión (Ex/Em). Tres de ellos corresponden a compuestos húmicos (C, A y M) y uno a compuestos proteicos (T):

- **Pico C:** Ex/Em 340 nm/440 nm. Se ha atribuido a materiales húmicos de origen terrestre, ya que generalmente es más abundante en zonas costeras o con importantes aportes terrígenos (Coble *et al.*, 1998), aunque es sabido que los microorganismos marinos, y en particular los procariotas, también los producen (Romera-Castillo *et al.*, 2011).

- **Pico A:** Ex/Em 260/400-460 nm. Se atribuye a materiales húmicos en general. A veces asociado a la presencia de contaminantes como hidrocarburos policíclicos. (Coble *et al.*, 1998).

- **Pico M:** Ex/Em 310 nm/392nm. Se atribuye a materiales húmicos de origen marino. (Coble, 1996) y en particular de origen eucariota (Romera-Castillo *et al.*, 2011).

- **Pico T:** Ex/Em 280 nm/350 nm. Se atribuye a proteínas y aminoácidos como el triptófano (Coble, 1996) y (Determann *et al.*, 1998) Su distribución podría estar relacionada con la distribución de virus debido a la naturaleza proteica de su cápside.

El estudio empírico se realizó en aguas superficiales (< 300 m) y en aguas profundas (> 300 m) separadamente, debido a que 1) la AOU no se puede utilizar como *proxy* de respiración celular en superficie (debido al intercambio de oxígeno con la atmósfera y a la producción de oxígeno por la fotosíntesis) y 2) los compuestos húmicos son de fácil fotodegradación. En las aguas profundas se estudiaron las distribuciones de virus, y de microorganismos heterotróficos procariotas* (ver nota a pie de sección). Mientras que en las aguas superficiales se estudiaron además las de microorganismos autotróficos (*Synechococcus*, *Prochlorococcus*, piceucarionas y nanoeucariotas).

Además, y en toda la columna de agua, se tomaron medidas de salinidad y temperatura, mediante las cuales establecemos las siguientes masas de agua que nos ayudarán a entender mejor el patrón de distribución de nuestras variables:

SubAntarctic Central Water (SACW), masa de agua entre 20 y 25°S a profundidades de entre 200 y 800 m con salinidades de entre 37 y 35.5 PSU y temperaturas de entre 15 y 10 °C respectivamente.

SubAntarctic Mode Water (SAMW), masa de agua entre 30 y 40°S a profundidades de entre 500 y 1000 m. Se trata de aguas frías con temperaturas de entre 4 y 5 °C y salinidades de 34 PSU.

Antarctic Intermediate Water (AAIW), formadas entre el frente polar del sur y el frente subantártico debido a un fuerte exceso de precipitaciones que supera la evaporación. Tienen por lo tanto una salinidad baja con 34 PSU al igual que bajas temperaturas de entre 2 y 4 °C.

NorthAtlantic Deep Water (NADW), masa de agua que circula por encima del ecuador a profundidades entre 1200 m y 4000 m con salinidades más elevadas de 35 PSU y temperaturas de 5 °C. Generalmente concentraciones de oxígeno también elevadas pero poca concentración de nutrientes.

Circumpolar Deep Water (CDW), dividida generalmente en *Upper Circumpolar Deep Water (uCDW)* y *Lower Circumpolar Deep Water (lCDW)* se encuentran entre 40 y 50°S a profundidades de 2000 m y 3000 m respectivamente. Tienen ambas salinidades cercanas a 35 PSU y temperaturas que rondan los 3°C. A partir de la primera la salinidad comienza a aumentar en profundidad para volver a los valores anteriores otra vez con la lCDW. En cambio, a partir del CDW la salinidad disminuye hasta los valores que delimitan AABW.

Antarctic Bottom Water (AABW), masas de agua generalmente a partir de los 4000 m que cubren todo el fondo antártico con temperaturas inferiores a 2 °C y salinidades de 34,7 PSU.

Como podemos observar la temperatura y la salinidad nos aportan gran parte de la información asociada a las masas de agua en su origen. Sin embargo, si queremos establecer relaciones entre bacterias, virus, fitoplancton, FDOM y AOU deberemos retirar la variabilidad asociada a temperatura y salinidad puesto que no nos interesa que dicha variabilidad intervenga en los estadísticos.

(*) A lo largo de todo el documento, cuando hablamos de microorganismos heterótrofos o de bacterias, en realidad nos referimos a microorganismos procariontes heterótrofos que incluyen bacterias y arqueas.

Objetivos

Establecer la relación entre cada una de las variables estudiadas y la temperatura y salinidad mediante el uso de regresiones múltiples, para posteriormente establecer relaciones entre los residuos de las distintas variables y explorar patrones generales entre:

- Distribución de AOU y Pico C en profundidad.
- Distribución de bacterias y Pico C en profundidad.
- Distribución de bacterias y AOU en profundidad.
- Distribución de virus y bacterias en profundidad.
- Distribución de Pico T y virus en profundidad.
- Distribución de fitoplancton y Pico A en superficie
- Distribución de fitoplancton y Pico M en superficie
- Distribución de bacterias y fitoplancton en superficie.

Teniendo en cuenta que se trata de una de las campañas con mayor resolución en la columna de agua con una media aproximada de 16 muestras en profundidad los resultados de este trabajo también nos servirán para entender mejor como es la distribución de las variables estudiadas y tratar de sentar las bases para proyectos futuros.

Material y métodos

Recogida de las muestras

Durante la campaña se completaron un total de 108 lances de CTD de profundidad completa desde Punta Arenas (Chile) hasta Cartagena (España) tal y como aparece en la **figura 1**.

Se utilizó una sonda CTD SBE911plus (Sea-BirdElectronics) dotada de 24 botellas Niskin desde la superficie hasta una distancia aproximada de 15 metros desde el fondo. Previamente todo el equipo fue verificado en la estación 0 a una profundidad de 112 metros.

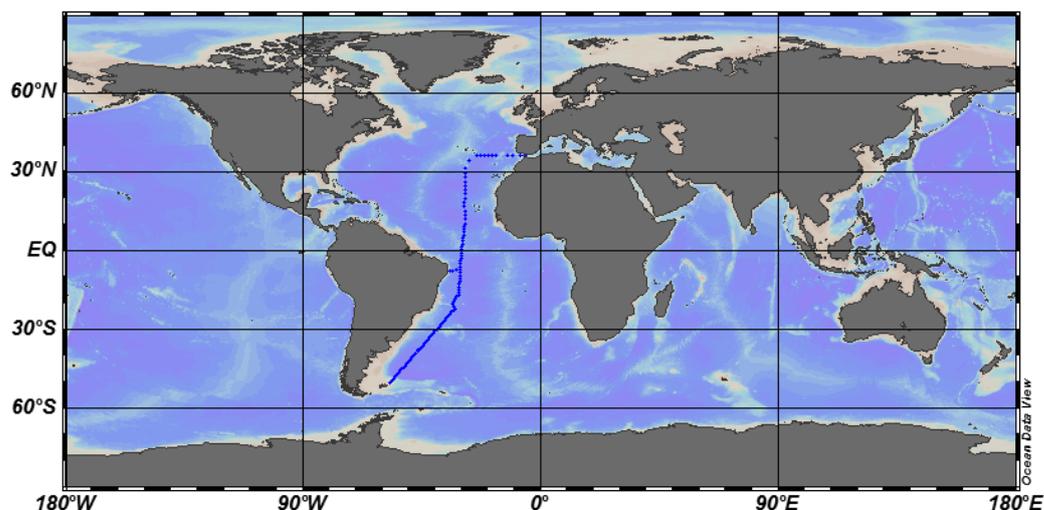


Figura 1. Mapa en el cual se muestran las 108 estaciones en color azul durante el transecto de la campaña FICARAM. (50.708°S-36.006°N).

La unidad CTD estaba equipada con sensores duales de temperatura y conductividad, un Digiquartz con sensor de presión TC, una sonda de oxígeno SBE-43, un fluorómetro SeaPoint, un turbidímetro SeaPoint y un altímetro. Cada una de las 24 botellas de la roseta albergaba 12 L de capacidad.

Mediante los datos de la unidad CTD fueron obtenidos los valores de conductividad, los cuales fueron convertidos a *Practical Salinity Units* (PSU) según la relación la conductividad de una muestra de agua de mar con respecto a la de una solución estándar de KCl descrita por Lewis, E.L. (1980). Además se obtuvo la presión, la cual ha sido usada como referencia en el trazado de las secciones de profundidad y la temperatura.

Fueron recogidas muestras de agua de un total de 49 estaciones de los 108 lances para el análisis de AOU, bacterias, virus y FDOM (superficie y océano profundo) y fitoplancton (en superficie).

Tratamiento y análisis de las muestras

Tal y como describíamos anteriormente, la aparente utilización de oxígeno (AOU) no es más que la diferencia entre la concentración de oxígeno en saturación y la concentración de oxígeno observada. De forma que previamente deberemos conocer ambas variables.

Para analizar las muestras de O₂ se siguió el método Winkler. En el cual las muestras se recogieron en matraces calibrados (~ 113 ml) usando un tubo de silicona que evitaba la formación de burbujas. La fijación de la muestra fue realizada añadiendo 0,6 ml de sal manganosa (MnCl₂ · 4H₂O) y 0,6 ml de solución de yoduro alcalino (NaOH + NaI). Las muestras fueron almacenadas lejos del alcance de la luz al menos 24 horas antes de la medición. Posteriormente, se agregaron 0,8 ml de ácido sulfúrico para disolver el precipitado y valorar la muestra de O₂ con tiosulfato usando una bureta automática de 5 ml "Titrandometrohm". La concentración de la solución de tiosulfato fue controlada periódicamente por estandarización con yodato de potasio 0,02 N para cada sesión. La concentración de O₂ se obtuvo en μmol kg⁻¹. Todo este proceso fue llevado a cabo en el mismo barco.

La concentración de oxígeno en saturación fue calculada siguiendo el proceso descrito por Benson and Krause (1984). Una vez obtenidas ambas variables se llevó a cabo el cálculo de lo que entendemos por AOU.

Las muestras destinadas al recuento de bacterias fueron fijadas con glutaraldehído y posteriormente conservadas a -80 C° hasta el momento de su tratamiento en el laboratorio. Éstas fueron trabajadas siguiendo el protocolo descrito por Gasol, 1999. De este modo se añadieron 0,4 ml de muestra en tubos de ensayo previamente preparados. Posteriormente se añadieron 4 μl de SYBR Green, el cual fue usado como método de tinción del ADN. Después de pasar las muestras por el vórtex se dejaron reposar durante 10 minutos lejos del alcance de la luz para evitar pérdidas de fluorescencia de la tinción.

Posteriormente se añadió una solución de bolas de látex de tamaño calibrado (10⁵/ml) previamente sonicada. Éstas se usaron como referencia a la hora de realizar la lectura de los citogramas que resultarán del citómetro de flujo.

Las muestras fueron analizadas mediante un citómetro de flujo "FACSCalibur", aparato que utiliza agua purificada y desionizada con el fin de ejercer presión sobre la muestra líquida. Esta presión hace que la muestra pase a través de un punto fijado en un único sentido en el que cada partícula atraviesa un haz de luz disparado por un láser de 488 nm. La luz dispersada por la partícula y la fluorescencia emitida por la misma después de la excitación con el láser son recogidas por fotomultiplicadores y enviadas a un ordenador donde se procesan en forma de citogramas. El citómetro fue usado en un modo de velocidad "lenta" tal y como recomienda el protocolo.

Las muestras destinadas al recuento de fitoplancton también fueron fijadas con glutaraldehído al 25% y conservadas a -80 C° y hasta el momento de su tratamiento en el laboratorio. Se siguieron los mismos protocolos descritos por Gasol, 1999 para el análisis de su concentración. Así pues, se añadieron 0,6 ml de muestra en tubos de ensayo previamente preparados. Posteriormente se añadió una solución de bolas de látex de tamaño calibrado (10^5 /ml) previamente sonicada. Al no añadir tinción de ADN solo las células pertenecientes al fitoplancton responden con una señal de fluorescencia. De forma que obtenemos por un lado la cantidad de fitoplancton en superficie (< 300m) y la cantidad de bacterias restando ésta cantidad del total. El citómetro fue usado en un modo de velocidad “rápida” tal y como recomienda el protocolo.

Las muestras destinadas al recuento de virus mismamente se fijaron con glutaraldehído al 25% y se conservaron a -80 C°. Se siguió el protocolo descrito por Boras, 2009 en el cual se usa como tinte SYBERGreen I preparado mediante la dilución del original en 995 µl de agua MilliQ estéril. En cuanto a la preparación de muestras se consideraron diluciones x5, x10 y x20 en una solución TE buffer Tris: EDTA preparada con 1,21g Tris + 2 ml 0,5 M EDTA , 98 ml de MilliQ y HCl al 37% hasta alcanzar un pH de 8. En este caso no fueron usados Beads. El citómetro fue usado en un modo de velocidad “rápida” tal y como recomienda el protocolo.

Las muestras destinadas al análisis del FDOM fueron conservadas en ausencia de luz y materia orgánica volátil. Previo reposo a temperatura ambiente y filtrado fueron analizadas las muestras correspondientes a la superficie (<300m) y en ausencia de filtrado las correspondientes al océano profundo (>300m) ya que a semejantes profundidades el fitoplancton se considera prácticamente inexistente.

Para ello fue usado un espectrofluorómetro “Perkin Elmer LS55” con luz de Xenon de 150W conectado al programa WinLab.

Como blanco referencia se usó MQ. Se usó una cubeta de cuarzo de 1 cm limpiada con ácido y se enjuagó tres veces con la muestra. La intensidad de fluorescencia se midió en longitudes de onda fijas de 340nm /440 nm, característico de las sustancias húmicas que corresponden al pico C (Pareja *et al.*, 1990; Pareja, 1996). Así como en longitudes de onda fijas de 280 nm/350, nm260/400-460 nm y 310 nm/392nm que corresponden a los picos T, A y M. Los datos fueron normalizados a unidades Raman (U.R) de acuerdo con Lawaetz y Stedmon (2009).

Tratamiento de datos

Los resultados de citometría fueron recogidos y trabajados mediante el programa BD CellQuest Pro en un ordenador contiguo conectado al aparato. Las salidas las encontramos en forma de citogramas tales como los que se muestran en las **figuras 2 y 3**. En este caso se nos muestran los eventos hallados en muestras pertenecientes al análisis de bacterias en la estación 51 a una profundidad de 600 m.

En la **figura 2** se nos muestra una representación logarítmica de la fluorescencia FL3 en función de la fluorescencia FL1. Es decir, la emisión de fotones por parte de las partículas excitadas por el láser a unas longitudes de onda de 590 nm y 400 nm respectivamente. Los cuales pertenecen a los patrones de fluorescencia de las bacterias analizadas.

En la **figura 3** observamos una representación logarítmica de FL3 en función de la luz dispersada lateralmente por las partículas (SideScatter). Gracias a estos patrones recogidos en los citogramas nos podemos hacer una idea del tamaño y la complejidad de la estructura de las células e incluso de los virus.

De este modo, además de conocer el número de elementos contados en cada muestra representados por cada uno de los puntos o eventos del citograma también podemos diferenciar en el caso de las bacterias entre diferentes poblaciones. Por un lado tenemos las “High DNA Bacteria” representadas en las **figuras 1 y 2** por el color azul, las cuales corresponden a bacterias con un contenido o complejidad mayor de ADN. Y por otro lado tenemos las “Low DNA Bacteria” representadas en las mismas por el color verde y correspondientes a bacterias con un contenido o complejidad menor de ADN.

En el caso del fitoplancton nos ocurrirá lo mismo permitiéndonos diferenciar entre poblaciones de los géneros *Synechococcus*, *Prochlorococcus*, picoeucarionas y nanoeucariotas.

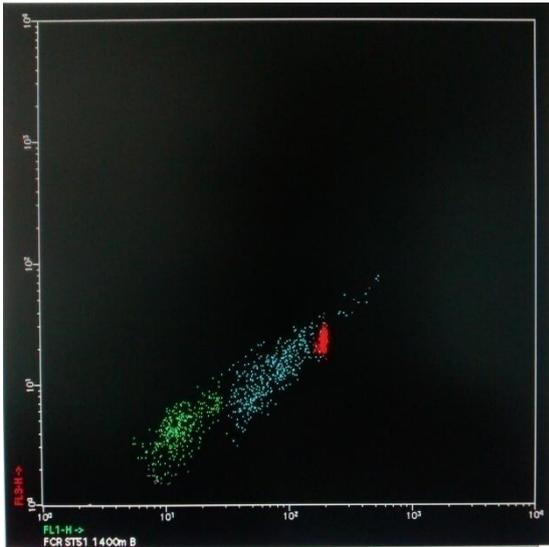


Figura 2. Citograma FL3/FL1. (Véase texto)

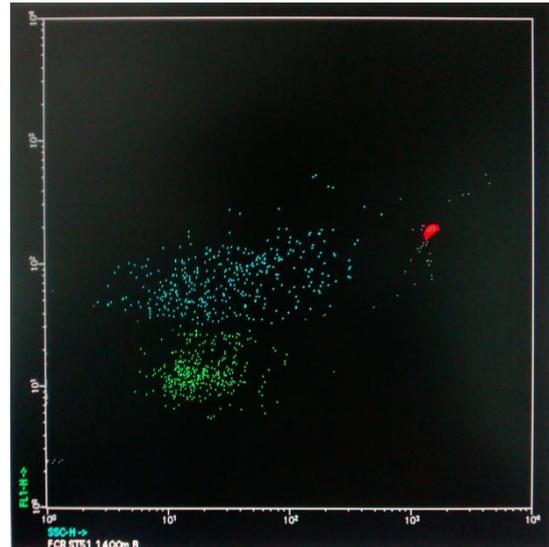


Figura 3. Citograma FL3/SSC (Véase texto)

Herramientas estadísticas

Se evaluaron las relaciones lineales entre las variables no-conservativas: pico-C y AOU, fitoplancton con el pico-M, fitoplancton con el pico-A y fitoplancton con bacterias para la capa superficial (< 300 m); para el océano profundo (>300 m) se evaluaron las relaciones lineales entre las variables no-conservativas: pico-C y UAO, bacterias y UAO, bacterias y pico-C, bacterias con virus y virus con pico-T.

La variabilidad de las variables no-conservativas y las relaciones entre las mismas están sujetas a alteraciones debidas no sólo a la actividad biológica sino también a procesos físicos. Por lo que, para una correcta descripción y evaluación de los procesos no-conservativos de la zona de estudio, se hace necesario determinar si la variabilidad de dichas variables se debe a procesos de mezcla de masas de agua con distinto contenido de dichas variables en origen o a la propia actividad biológica.

La fracción conservativa de una variable biogeoquímica se puede determinar a partir de un modelo de regresión en función de la temperatura y la salinidad (Castro *et al.*, 2006; Carlson *et al.*, 2010). Ambos parámetros, temperatura y salinidad, se usan para identificar las masas de agua (Mamayev, 1975) ya que son propiedades conservativas: los cambios en dichas propiedades se producen sólo como resultado de mezcla con otras masas de agua de diferentes características. La idea subyacente es que la mezcla de masas de agua tiene el mismo efecto sobre las variables conservativas y no conservativas. Por lo tanto, la evolución de la fracción conservativa de una variable biogeoquímica puede inferirse a partir de la covarianza entre los

parámetros biogeoquímicos y la salinidad y la temperatura como representantes de la masa de agua.

Siguiendo esta idea, en este trabajo para separar la influencia de los procesos físicos y dejar sólo la variabilidad de la variable no-conservativa debida a procesos biológicos se siguió la metodología propuesta por De La Fuente *et al.* (2014, 2017), mediante la cual, a través de una regresión polinómica múltiple no-lineal de la variable no-conservativa con los parámetros conservativos temperatura potencial (θ) y salinidad absoluta (S_A) como variables regresoras, se capturó la variabilidad de las variables no-conservativas explicada por θ y S_A . La regresión se aplicó en todo el espacio (θ , S_A) de cada capa de agua definida en este trabajo: superficial (<300m) y profunda (>300 m).

En esta metodología, como primer paso, se definieron como modelos de partida, tres modelos de regresión polinómicos no-lineales de diferente complejidad: el primer modelo incluye todos los términos lineales, cuadráticos y cúbicos en θ y S_A , así como una dependencia no lineal en el producto de θ y S_A (términos de interacción de orden cuadrático y cúbico). El segundo modelo incluye los términos anteriores menos la dependencia no-lineal cúbica en el producto de θ y S_A . El tercer modelo incluye sólo términos cuadráticos, tanto en θ y S_A , como en el término de interacción (De La Fuente *et al.*, 2017).

Cada modelo de ajuste se afina mediante el procedimiento “paso a paso (*stepwise*)” de eliminación progresiva y usando diferentes criterios estadísticos: la significancia del modelo es testada mediante el estadístico de Fischer [$\Pr (<|F|)$] con p-valor < 0.01, la varianza capturada por el modelo es evaluada mediante el coeficiente de regresión ajustado (R^2 -adj), la significancia de los coeficientes estimados es testada a través del test de Student [$\Pr (<|T|)$] con p-valor < 0.05 y tanto la bondad de ajuste como la varianza asociada a la estima de los parámetros mediante el criterio de información de Akaike (AIC), el cual penaliza por cada parámetro adicional. A menor AIC, mejor es el modelo (Zurr *et al.*, 2009). Los coeficientes del modelo (α_i) se determinaron mediante el método de mínimos cuadrados ordinarios.

El segundo paso consistió en restar los valores estimados a través del modelo de los valores observados empíricamente. Los residuos resultantes contienen la variabilidad de las variables no-conservativas no explicada por (θ , S_A) y se espera que reflejen principalmente la variabilidad debido a la actividad biológica (Castro *et al.*, 2006; Carlson *et al.*, 2010; De La Fuente *et al.*, 2014; De La Fuente *et al.*, 2017).

Finalmente las relaciones entre los residuos de cada variable no-conservativa se determinaron mediante un modelo de regresión lineal tipo II: SMA (*Standard Major Axis*) por sus siglas en

inglés). La relación calculada se evaluó a través del coeficiente de correlación ajustado (R^2 -adj) y el p-valor ($\alpha < 0.05$).

Bajo el supuesto de que todos los residuos responden a procesos no conservativos que se relacionan (Álvarez-Salgado *et al.*, 2013; Catala *et al.*, 2015; Jørgensen *et al.*, 2011; Yamashita y Tanoue 2008), se espera que de los tres modelos el que mejor capture el comportamiento conservativo, sea aquel que genere aquellos residuos que retengan la mayor parte de la variabilidad asociada con los procesos biogeoquímicos (De La Fuente *et al.*, 2017). Siguiendo esta metodología, el modelo polinómico no lineal de regresión de los tres evaluados que mejor captura la evolución de la fracción conservativa sin quitar información asociada no-conservativa es el que se muestra al pie de la tabla 1.

Resultados y discusión

Secciones del océano profundo (> 300m)

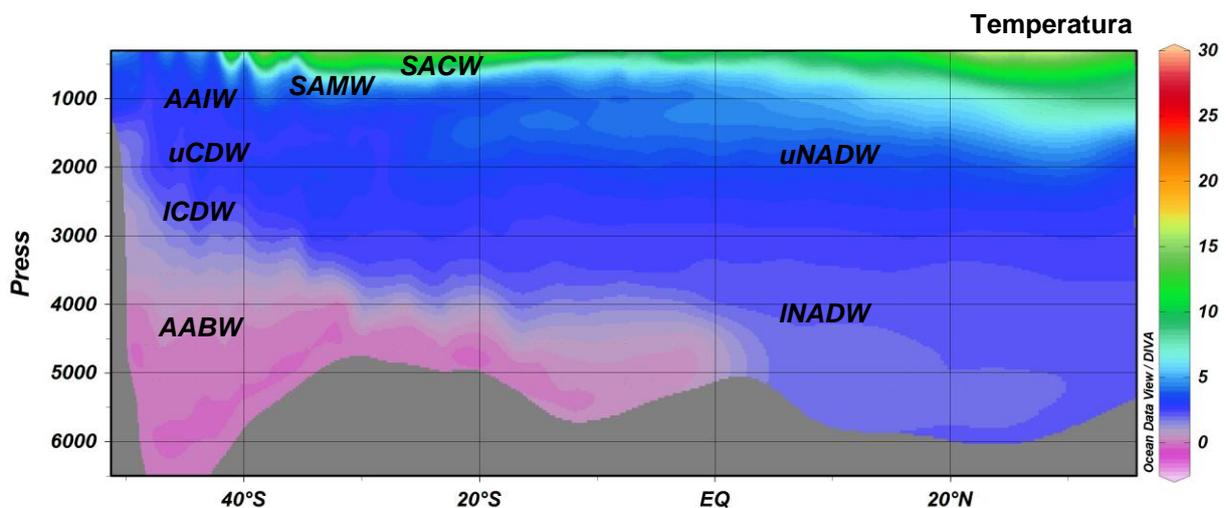


Figura 4. Sección 50°S-10°N de la variable temperatura en °C a partir de 300 m. Ésta se indica por el gradiente de colores. Se muestran las masas de agua consideradas: SACW=SubAntarctic Central Water; SAMW=SubAntarctic Mode Water; AAIW=Antarctic Intermediate Water; NADW=NorthAtlantic Deep Water; CDW=Circumpolar Deep Water; AABW=Antarctic Bottom Water. “u” i “l” expresan capas altas y bajas de una misma masa de agua respectivamente.

Como podemos observar en la **figura 4**, la temperatura sigue un gradiente batimétrico. De modo que conforme nos adentramos en profundidad la temperatura pasa a temperaturas cercanas a los 0 °C. Sin embargo, esta disminución no es una constante a nivel latitudinal conformándose las masas de agua anteriormente descritas. De este modo a 1500 metros podemos observar temperaturas que rondan los 8 °C en la masa de agua uNADW y no llegar

hasta los 0°C hasta que nos topamos con la masa de agua INADW a 4000 metros. Sin embargo en la masa de agua uCDW la temperatura ya nos alcanza los 0°C a una profundidad de 1500 metros. Nótese que queda muy patente el efecto de las aguas frías provenientes del océano Antártico que al tener una densidad mayor se sumergen hasta llegar al lecho marino desplazándose hasta el ecuador en la masa de agua indicada como AABW.

En la **figura 5** se nos representa la salinidad con un dibujo muy similar al de la temperatura. Además, en este caso las masas de agua AAIW y SAMW nos muestran de qué manera influye el agua derivada de ese exceso de precipitaciones en la región con una considerable disminución de la salinidad hasta unidades 34 PSU. Estas aguas más dulces son consecuentemente menos densas por lo que tienden a quedarse en superficie sumergiéndose a medida que recuperan valores estándar de salinidad.

Dado que la temperatura y la salinidad son parámetros muy ligados a la densidad del agua, éstos nos indicarán generalmente la manera como se distribuyen nuestras variables en el océano. Es por ello tan importante considerarlos en nuestro estudio.

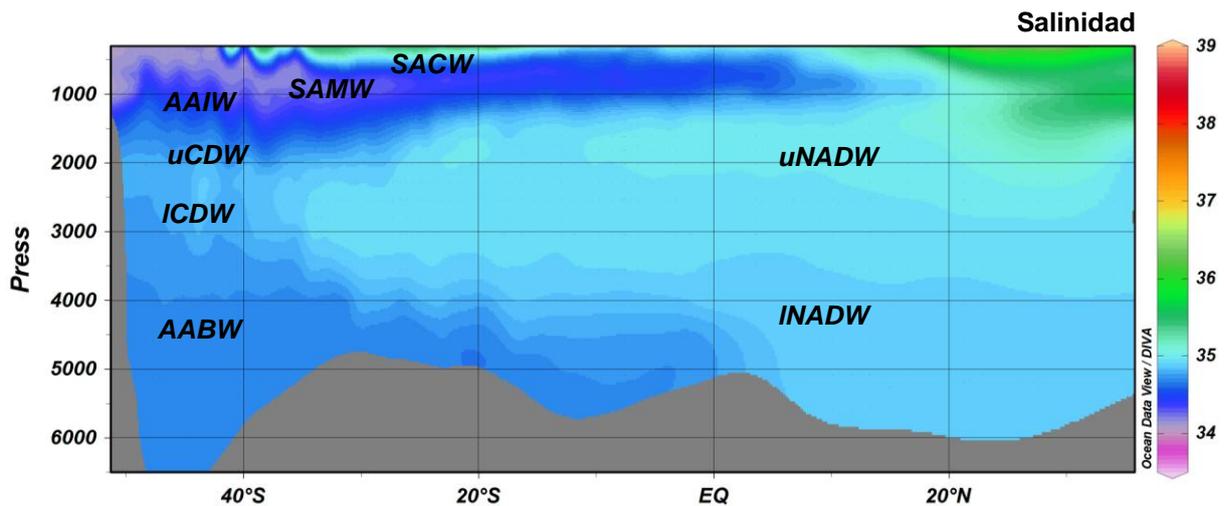


Figura 5. Sección 50°S-10°N de la variable salinidad a partir de 300 m. PSU (*Practical Salinity Units*) indicadas por el gradiente de colores. Se muestran las masas de agua consideradas: SACW=*SubAntarctic Central Water*; SAMW=*SubAntarctic Mode Water*; AAIW=*Antarctic Intermediate Water*; NADW=*North Atlantic Deep Water*; CDW=*Circumpolar Deep Water*; AABW=*Antarctic Bottom Water*. “u” i “l” expresan capas altas y bajas de una misma masa de agua respectivamente.

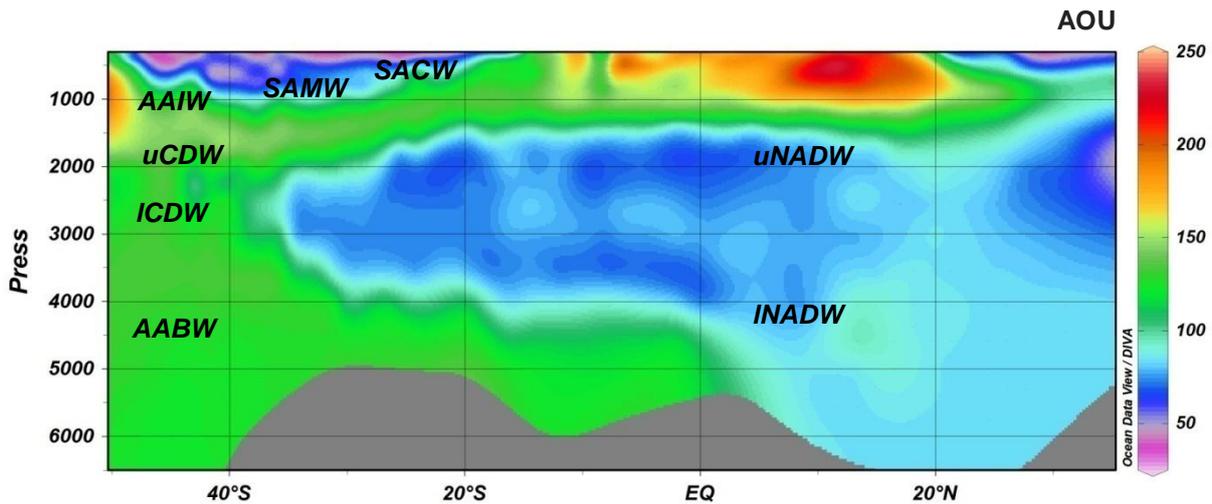


Figura 6. Sección 50°S-10°N de la variable AOU a partir de 300 m. Unidades en $\mu\text{mol O}_2/\text{kg}$ indicadas por el gradiente de colores. Se muestran las masas de agua consideradas: SACW=SubAntarctic Central Water; SAMW=SubAntarctic Mode Water; AAIW=Antarctic Intermediate Water; NADW=NorthAtlantic Deep Water; CDW=Circumpolar Deep Water; AABW=Antarctic Bottom Water. “u” i “l” expresan capas altas y bajas de una misma masa de agua respectivamente.

En la **figura 6** podemos observar que la aparente utilización del oxígeno o AOU sigue un patrón de distribución muy parecido al de temperatura y salinidad. En ella, percibimos como las masas de agua AAIW, CDW y AABW que provienen del océano Antártico adquieren valores elevados de AOU conforme se sumergen. Se trata de masas de agua que no se encuentran en contacto con la superficie por lo que no ha existido renovación de oxígeno. Se podría pensar que nos muestran una gran acumulación de organismos que nos consumen el oxígeno pero no hay que olvidar que AOU es una variable acumulativa. Por lo que se antoja más razonable que estas masas de agua no hayan renovado el oxígeno disuelto en mucho tiempo. Sin embargo, a 10°N y profundidades de entre 300 y 1500 metros encontramos valores de AOU que superan los 250 $\mu\text{mol O}_2/\text{kg}$ que si que podrían indicarnos la proliferación de microorganismos heterotróficos o a un aumento de su actividad ya que en esta zona la distribución de la AOU no responde a las masas de agua que nos muestran las distribuciones de temperatura y salinidad (**figuras 4 y 5**).

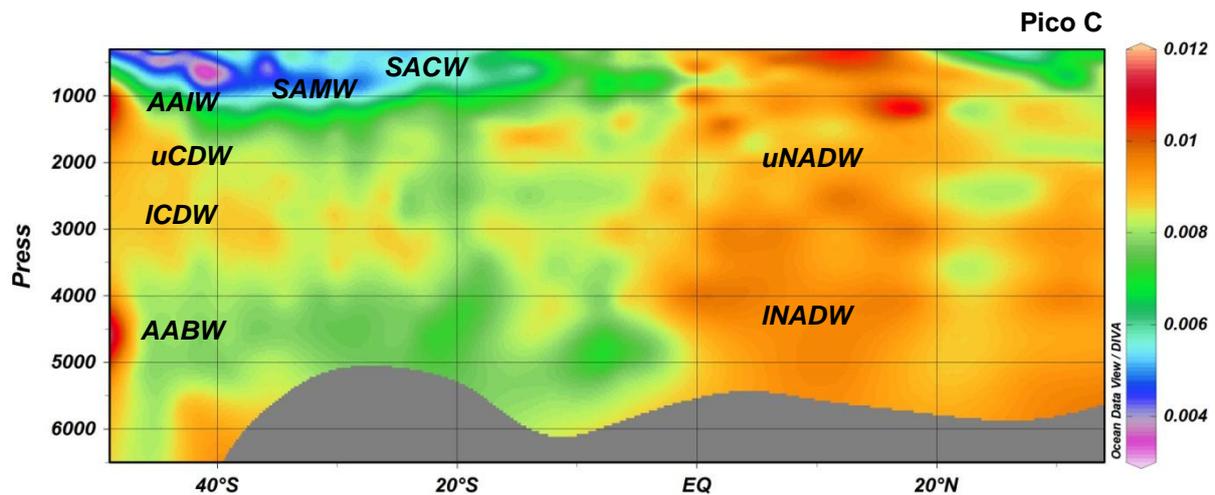


Figura 7. Sección 50°S-10°N de la variable Pico C a partir de 300 m. Unidades en R.U. indicadas por el gradiente de colores. Se muestran las masas de agua consideradas: SACW=SubAntarctic Central Water; SAMW=SubAntarctic Mode Water; AAIW=Antarctic Intermediate Water; NADW=North Atlantic Deep Water; CDW=Circumpolar Deep Water; AABW=Antarctic Bottom Water. “u” i “I” expresan capas altas y bajas de una misma masa de agua respectivamente.

El pico C de fluorescencia (correspondiente a Ex/Em de 340nm/440nm) se atribuye a sustancias húmicas terrestres. (Coble *et al.*, 1998).

Generalmente la distribución de dichas sustancias húmicas aumenta gradualmente en el transcurso de los 300 primeros metros. Esto es debido a que las aguas superficiales reciben más intensidad lumínica produciéndose el fenómeno que se conoce como *Photobleaching*. Éste se caracteriza por la destrucción de los fluoróforos, es decir de las estructuras moleculares que generan la fluorescencia. (Mopper *et al.*, 1991; Chenand Bada, 1992; Stedmon and Markager, 2005). Es por ello que en las masas de agua SAMW y SACW en las que como describíamos anteriormente su influencia con la superficie es mayor encontramos valores bajos de R.U. Concretamente rondando las 0,003 U.R. a 10°N y profundidades de entre 300 y 1500 metros encontramos los valores más altos llegando a 0,0125 R.U. Se trata de una zona parecida a la que describíamos anteriormente en la sección de AOU (**figura 6**). Según De la Fuente *et al.*, 2014, valores de fluorescencia de pico C elevados y en profundidad nos podían indicar la presencia de afloramientos de DOM recalcitrante que como Romera-Castillo *et al.*, 2011 nos mostraba podían proceder del subproducto de la respiración bacteriana.

A partir de los 1000 metros y a lo largo de toda la zona batipelágica la distribución de pico C se mantiene elevada con valores cercanos a 0,01 R.U. Apenas se distingue la forma de las masas de agua delimitada por temperatura y salinidad.

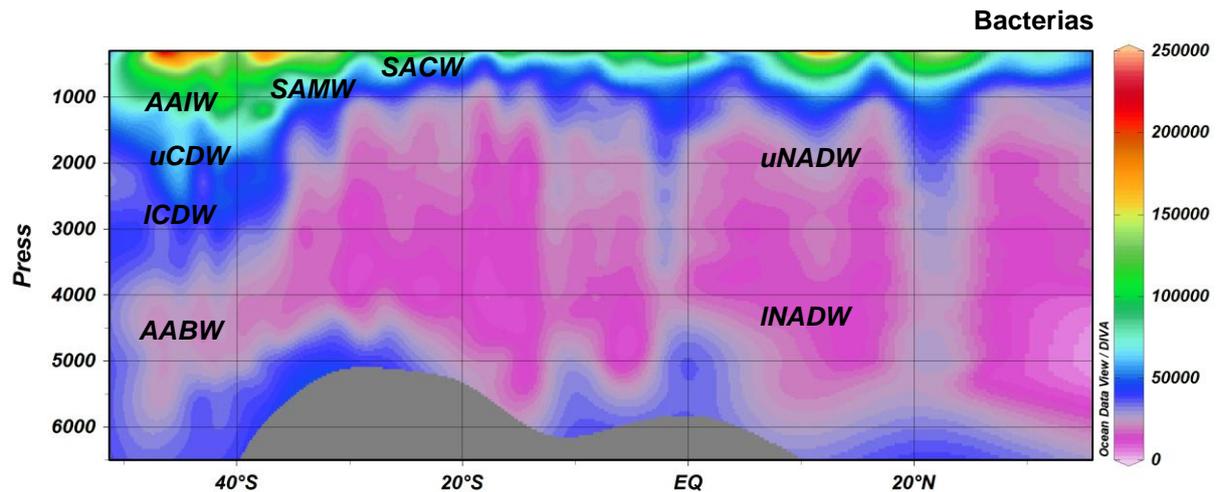


Figura 8. Sección 50°S-10°N de la variable Bacterias a partir de 300 m. Unidades en [células/ml] indicadas por el gradiente de colores. Se muestran las masas de agua consideradas: SACW=SubAntarctic Central Water; SAMW=SubAntarctic Mode Water; AAIW=Antarctic Intermediate Water; NADW=North Atlantic Deep Water; CDW=Circumpolar Deep Water; AABW=Antarctic Bottom Water. “u” i “l” expresan capas altas y bajas de una misma masa de agua respectivamente.

Tal y como podemos observar en la **figura 8**, la distribución de bacterias sigue un gradiente batimétrico a lo largo de toda la sección. De este modo observamos como la concentración de bacterias disminuye en profundidad a medida que se aleja de la capa fótica.

En ella es donde se produce toda la producción de materia orgánica por parte de los organismos fotosintetizadores o productores primarios que aprovechan la energía de la luz solar para fijar el carbono inorgánico disuelto en el agua. Gran parte de la materia orgánica producida será aprovechada por organismos heterótrofos como las bacterias. De manera que resulta lógico encontrar valores inferiores de abundancia bacteriana conforme nos alejamos de la capa de producción donde la disponibilidad de materia orgánica decrece.

Por otro lado, también advertimos un pequeño aumento de la concentración bacteriana cerca del lecho marino que podría deberse a la resuspensión de materia orgánica. En los últimos metros de la columna de agua tiende a acumularse materia orgánica particulada procedente de las capas superiores que ha ido bajando y que por acción de las corrientes de fondo se vuelve a movilizar (Lappo *et al.*, 2001; Nelson *et al.*, 2007). Esta movilización proporciona los recursos para que se puedan producir aumentos en la concentración de bacterias.

Además, el perfil dibuja latitudinalmente una forma similar a las que dibujan las secciones de temperatura y salinidad (**figuras 4 y 5**). En ella observamos la fuerte influencia de las masas de agua AAIW, CDW y AABW, provenientes del océano Antártico con abundancias más elevadas de bacterias que en el resto de la sección a estas profundidades. Esto podría ser debido a que la mezcla de aguas en estas regiones es superior y por lo tanto el intercambio de

nutrientes entre diferentes masas de agua que posteriormente van a ser utilizados por las bacterias.

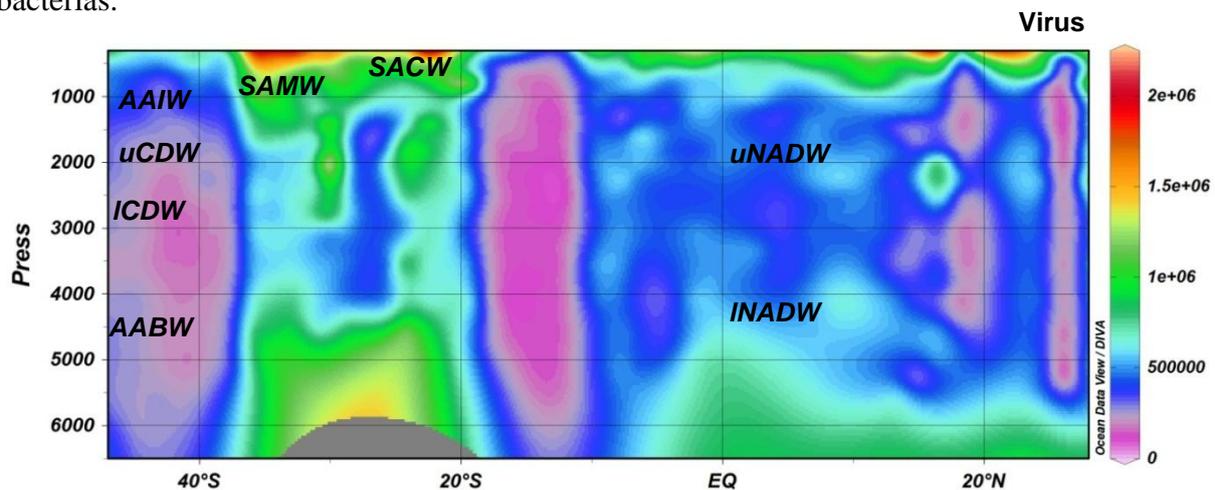


Figura 9. Sección 50°S-10°N de la variable Virus a partir de 300 m. Unidades en [Virus/ml] indicadas por el gradiente de colores. Se muestran las masas de agua consideradas: SACW=SubAntarctic Central Water; SAMW=SubAntarctic Mode Water; AAIW=Antarctic Intermediate Water; NADW=North Atlantic Deep Water; CDW=Circumpolar Deep Water; AABW=Antarctic Bottom Water. “u” i “l” expresan capas altas y bajas de una misma masa de agua respectivamente.

En la **figura 9** contemplamos como la distribución de la concentración de virus también sigue un gradiente batimétrico a lo largo de toda a sección. Por lo que encontramos concentraciones de virus más altas en los primeros metros y más bajas a medida que aumenta la profundidad. Este patrón puede deberse a la mayor concentración de bacterias en los primeros metros debido a la mayor disponibilidad de materia orgánica disuelta.

Además en los últimos metros también observamos un repunte de la concentración que podría encontrar explicación en el fenómeno anteriormente descrito, la resuspensión de materia orgánica.

Sin embargo lo que más llama la atención es que latitudinalmente el dibujo de la distribución difiere considerablemente de los anteriormente descritos. Entre 40°S y 20°S comprendiendo las masas de agua SAMW y SACW aparece una región con valores de concentración vírica inusualmente elevados. Éstos, pese a seguir un patrón batimétrico de las concentraciones razonable, presentan valores muy elevados si los comparamos con los adyacentes.

Asimismo, tampoco parece aparente una posible relación con la distribución de pico T representada en la **figura 10**. Se trata de 10 estaciones contiguas en las que se sugiere un posible error, sin embargo deberemos valernos de los estadísticos antes de adelantarnos con posibles conjeturas.

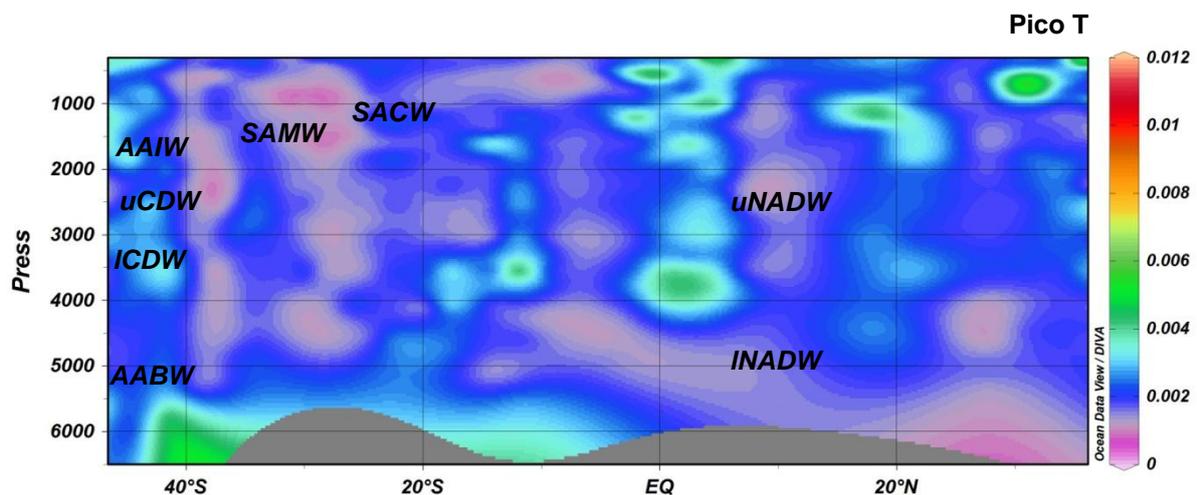


Figura 10. Sección 50°S-10°N de la variable Pico T a partir de 300 m. Unidades en R.U. indicadas por el gradiente de colores. Se muestran las masas de agua consideradas: SACW=SubAntarctic Central Water; SAMW=Sub Antarctic Mode Water; AAIW=Antarctic Intermediate Water; NADW=North Atlantic Deep Water; CDW=Circumpolar Deep Water; AABW=Antarctic Bottom Water. “u” i “l” expresan capas altas y bajas de una misma masa de agua respectivamente.

En la **figura 10** podemos observar como la distribución de valores de pico T se distribuye por la sección de forma uniforme con valores bajos cercanos a 0 R.U. Según Romera-Castillo *et al*, 2011 el pico T podría estar relacionado con procesos anabólicos bacterianos los cuales escasean en el océano profundo. De forma que podríamos esperar semejantes valores.

Se trata de la sección que aparentemente difiere más de las secciones de temperatura y salinidad (**figuras 4 y 5**). Además, tampoco se percibe una posible relación con la distribución de virus. Debemos tener en cuenta que otros factores no considerados en este estudio como el pH del agua también nos influyen considerablemente en la distribución de pico T en los océanos. (Reynolds and Ahmad, 1995).

Secciones de la superficie (< 300m)

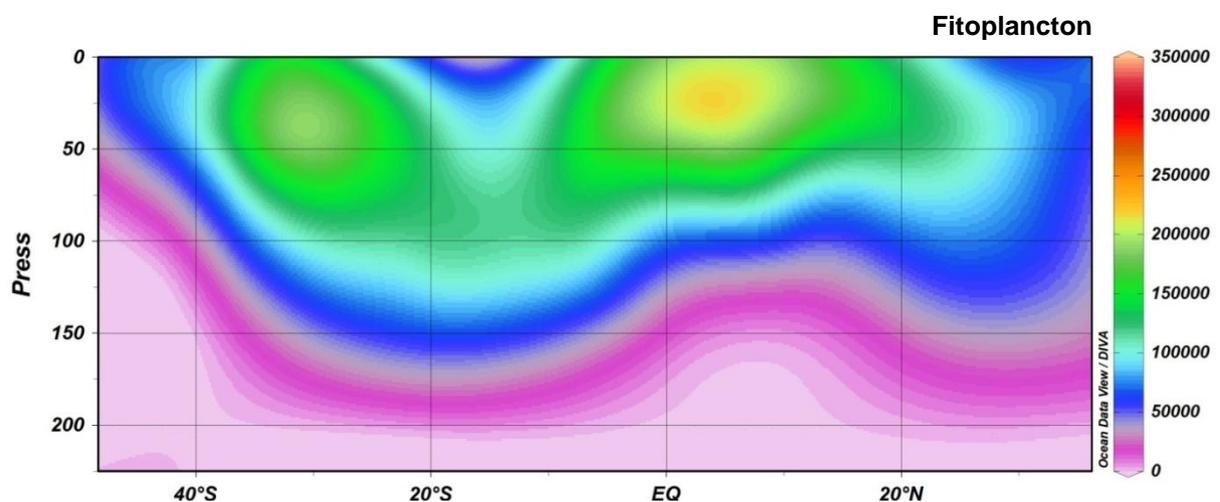


Figura 11. Sección 50°S-10°N de la variable Fitoplancton (*Synechococcus*, *Prochlorococcus*, piceocariotas y nanoeucariotas) entre 0 y 300 m. Unidades en [células/ml] indicadas por el gradiente de colores.

Si nos fijamos en la **figura 11** percibimos que la distribución de la concentración de fitoplancton sigue un gradiente batimétrico a lo largo de toda la sección. De forma que las mayores concentraciones las encontraremos en superficie y las menores en profundidad, alcanzando valores cercanos a [0 células/ml] a profundidades de 200 metros aproximadamente. Estos resultados son los esperables dado que el fitoplancton necesita de la luz solar para realizar la fotosíntesis y ésta comienza a ser muy limitada a partir de 150 metros.

Sin embargo latitudinalmente llaman la atención dos regiones en las que la concentración parece mayor entre 0 y 75 metros (40°S, 20°S) y (10°S, 20°N).

En cuanto a la primera dicho aumento podría deberse a la influencia del aporte terrígeno de la cuenca del río de la Plata del continente americano. Éste aporte proporciona nutrientes que junto con la luz del sol permite una mayor proliferación de fitoplancton.

Respecto a la segunda región, dichas concentraciones podrían deberse a la influencia del continente africano como zona de surgencia. En ella las aguas más profundas suben a superficie gracias al desplazamiento de las masas superiores por los vientos Alisios renovándose el contenido en nutrientes y permitiendo una mayor proliferación del fitoplancton.

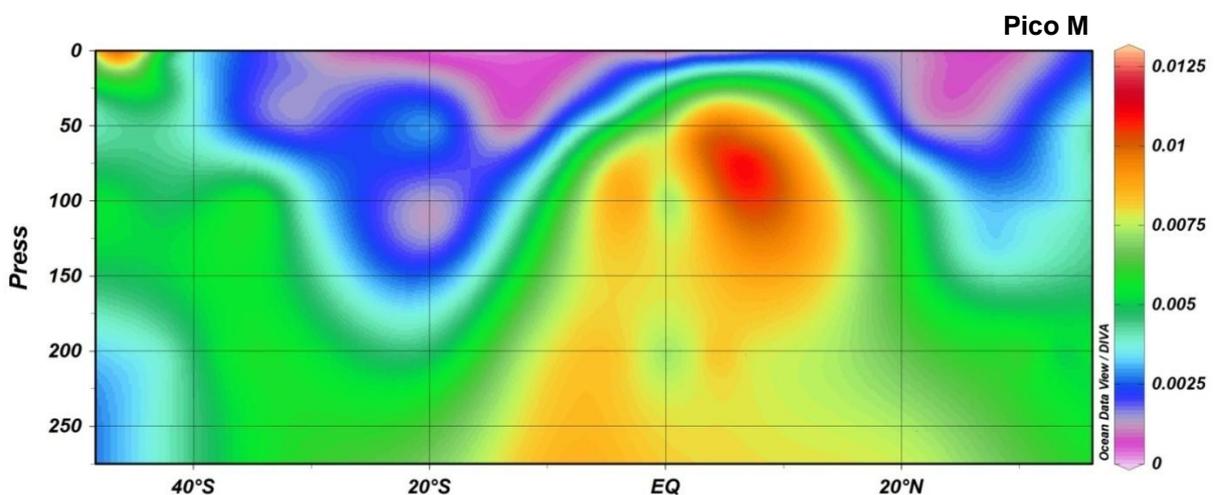


Figura 12. Sección 50°S-10°N de la variable Pico M entre 0 y 300 m. Unidades en R.U. indicadas por el gradiente de colores.

En la **figura 12** podemos observar la distribución de los valores de pico M. En ella percibimos un gradiente batimétrico en el que los valores de fluorescencia aumentan en profundidad. Debemos tener en cuenta que se trata de una variable acumulativa en la que en los primeros metros prevalece el efecto del nombrado como *Photobleaching*. De modo que al

romper la luz solar las estructuras moleculares que generan la fluorescencia las unidades R.U de pico M bajan en los primeros metros.

Latitudinalmente destacamos el aumento de R.U. entre 10°S y 20°N a profundidades de entre 50 y 100 metros. Este podría deberse al aporte terrígeno del continente africano aunque generalmente las sustancias húmicas que nos aportan este pico M de fluorescencia tienen origen marino. De modo que el origen de tal aumento podría deberse a procesos catabólicos del fitoplancton que como subproducto genera. Romera-Castillo *et al.*, 2011.

Además, si comparamos la sección de pico M con la sección de fitoplancton observamos que esta misma región parece repetirse con repuntes en ambas variables (**figuras 11 y 12**).

Sin embargo deberemos valernos de los estadísticos para confirmar dicha relación.

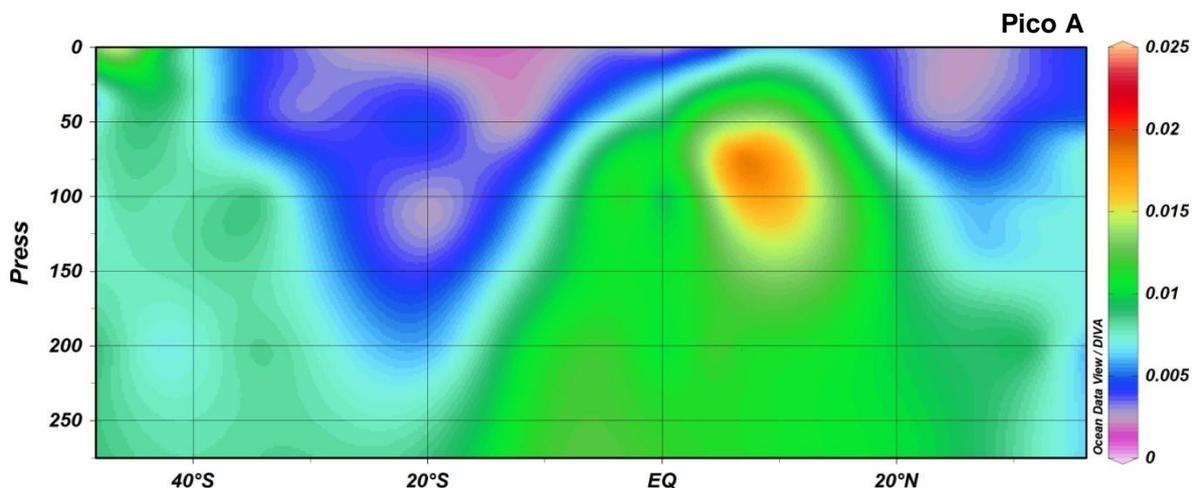


Figura 13. Sección 50°S-10°N de la variable Pico A entre 0 y 300 m. Unidades en R.U. indicadas por el gradiente de colores.

En el caso de la **figura 13** que representa la distribución del pico A ocurre el mismo fenómeno de *Photobleaching* que observábamos anteriormente en la **figura 12** para el pico M. De modo que en los primeros metros se dan los valores más bajos de toda la sección. Valores que en ciertas regiones rondan las 0 U.R. Al tratarse de materiales húmicos su distribución también es parecida a la del pico M de manera que prácticamente la forma que se dibuja es la misma.

Latitudinalmente destaca la misma región entre 10°S y 20°N a profundidades de entre 50 y 100 metros con valores elevados aunque no tanto como los del pico M. Del mismo modo éste aumento podría estar relacionado con el aumento que observamos en la sección de fitoplancton.

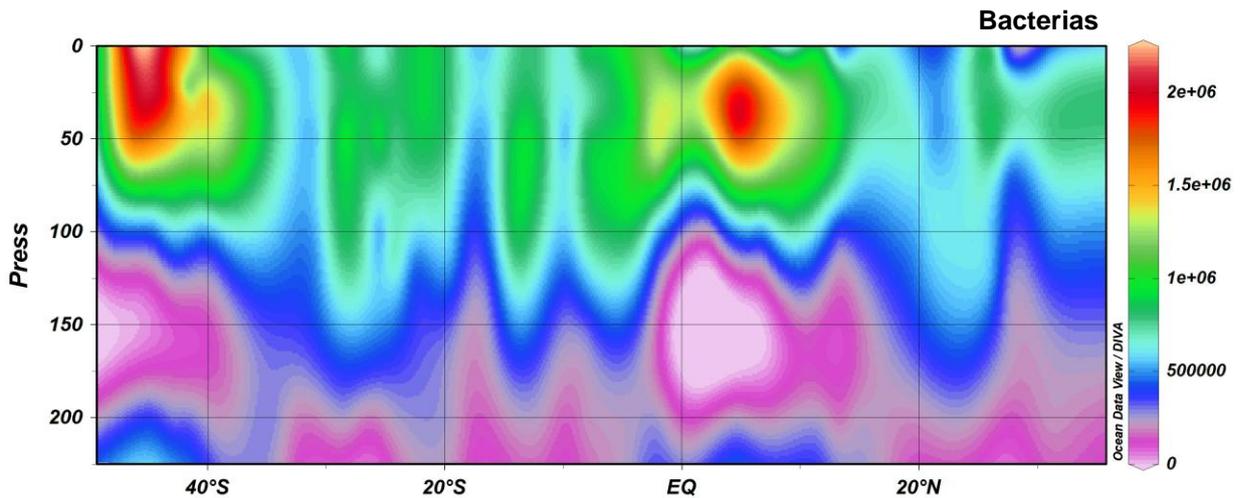


Figura 14. Sección 50°S-10°N de la variable Bacterias entre 0 y 300 m. Unidades en [células/ml] indicadas por el gradiente de colores.

Por último, en la **figura 14** podemos observar la distribución de la concentración de bacterias en superficie con un claro gradiente en profundidad. En el que encontramos las concentraciones más elevadas en superficie con valores que rondan las 2×10^6 bacterias/ml. Concentraciones que van disminuyendo a medida que aumenta la profundidad. Conforme nos alejamos de la capa productora la disponibilidad de materia orgánica aprovechable por las bacterias disminuye y así lo hace también su concentración.

Latitudinalmente observamos dos regiones con aumentos considerables de la concentración bacteriana. El primer caso ocurre entre 50°S y 40°S a profundidades de entre 0 y 50 metros aproximadamente, coincidiendo con un aumento de pico M y A (**figuras 12 y 13**). Se trata de la región más al sur de la campaña que coincide con aguas ricas en materia orgánica que provienen del océano Antártico.

En el segundo caso, entre 10°S y 10°N, se trata de aproximadamente la misma región que aparece en las secciones de fitoplancton, pico M y pico A entre 0 y 75 metros (**figuras 11, 12 y 13**). Cabe destacar que tal y como hicimos mención anteriormente, el subproducto originado tras procesos catabólicos del fitoplancton que nos aporta el denominado pico M de fluorescencia y posiblemente el pico A es usado por bacterias en diferentes proporciones. (Romera-Castillo *et al.*, 2011). Por lo que de esta forma se explicaría en gran parte la distribución bacteriana en superficie. Sin embargo solo mediante los estadísticos resolveremos estas y las anteriores hipótesis planteadas.

Análisis de los modelos de la regresión polinomial

Estratos del Océano	Y _i	R ²	p-valor	a ₀	a ₁	a ₂	a ₃	a ₄	a ₅	a ₆	a ₇
Océano profundo	AOU	0.73	<0.001	-5.70x10 ⁶	4.75x10 ⁵	-2.45x10 ³	-1.31x10 ⁴	3.17	70.3	1.21x10 ²	-3.52x10 ⁻¹
	Pico-C	0.71	<0.001	-1.09x10 ²	9.13	-2.97x10 ⁻²	-2.53x10 ⁻¹	-2.06x10 ⁻⁵	8.61x10 ⁻⁴	2.34x10 ⁻³	-2.59x10 ⁻⁶
	Bacterias	0.72	<0.001	2.37x10 ⁴	-1.91x10 ³	-8.44	54.4	2.73x10 ⁻²	2.43x10 ⁻¹	-5.18x10 ⁻¹	-1.68x10 ⁻³
	Virus	0.30	<0.001	27.32	-0.41	2.23	-	0.011	-0.06	-	-
	Pico-T	0.04	<0.001	-1.41	8.21x10 ⁻²	-9.94x10 ⁻³	-1.19x10 ⁻³	-1.95x10 ⁻⁵	2.90x10 ⁻⁴	-	-
Superficie	AOU	0.58	<0.001	-6.86x10 ⁵	-5.62x10 ⁴	6.75	-1.51x10 ³	-1.47	-	14	-3.49x10 ⁻²
	Pico-C	0.52	<0.001	-2.3	1.33x10 ⁻¹	-6.76x10 ⁻⁶	-1.93x10 ⁻³	-1.32x10 ⁻⁴	2.49x10 ⁻⁴	-	2.25x10 ⁻⁶
	Pico-M	0.52	<0.001	-28.1	2.32	1.16x10 ⁻⁴	-6.39x10 ⁻²	-9.09x10 ⁻⁶	-	5.85x10 ⁻⁴	-
	Pico-T	0.35	<0.001	34.3	-2.83	1.41x10 ⁻³	7.7x10 ⁻²	-2.69x10 ⁻⁵	-	-7.12x10 ⁻⁴	-
	Pico-A	0.5	<0.001	-8.58x10 ¹	4.90x10 ⁻²	1.77x10 ⁻³	-6.98x10 ⁻⁴	-1.11x10 ⁻⁴	-	-	1.91x10 ⁻⁶
	Bacterias	0.51	<0.001	4.10x10 ³	-3.26x10 ²	2.11x10 ⁻¹	8.66	5.58x10 ⁻³	-	-7.66x10 ⁻²	-2.34x10 ⁻⁴
	Fitoplancton	0.69	<0.001	1.47x10 ⁴	-1.20x10 ³	2.10x10 ⁻¹	32.7	4.19x10 ⁻²	-	-2.97x10 ⁻¹	-1.19x10 ⁻³

Tabla1. Coeficientes para el modelo de regresión polinomial según el enfoque de polinomios cúbicos descritos por De La Fuente *et al.*, 2014, 2017. Donde S

corresponde a la salinidad y θ a la temperatura.

$$\hat{Y}_i = \alpha_0 + \alpha_1 S_i + \alpha_2 \theta_i + \alpha_3 S_i^2 + \alpha_4 \theta_i^2 + \alpha_5 \theta_i S_i + \alpha_6 S_i^3 + \alpha_7 \theta_i^3$$

Análisis de los modelos de regresión polinomial

Océano profundo (> 300m)

En la tabla 1 observamos que existe una relación estadísticamente significativa entre las variables AOU, temperatura y salinidad en el océano profundo dado que el p-valor es menor que 0,05 asumiendo un nivel de confianza del 95%. Asimismo el estadístico R^2 nos indica que el modelo ajustado nos explica un 73% de la variabilidad en la distribución de AOU. Los resultados se corresponden con los descritos por De la Fuente *et al*, 2014. En ellos podemos percatarnos de la importancia que tienen la salinidad y la temperatura para explicar la distribución de AOU. Una distribución que no es homogénea tal y como nos muestra la **figura 15** en la que podemos distinguir hasta 3 regiones bien diferenciadas donde AOU se comporta de diferente manera en función de la temperatura y la salinidad.

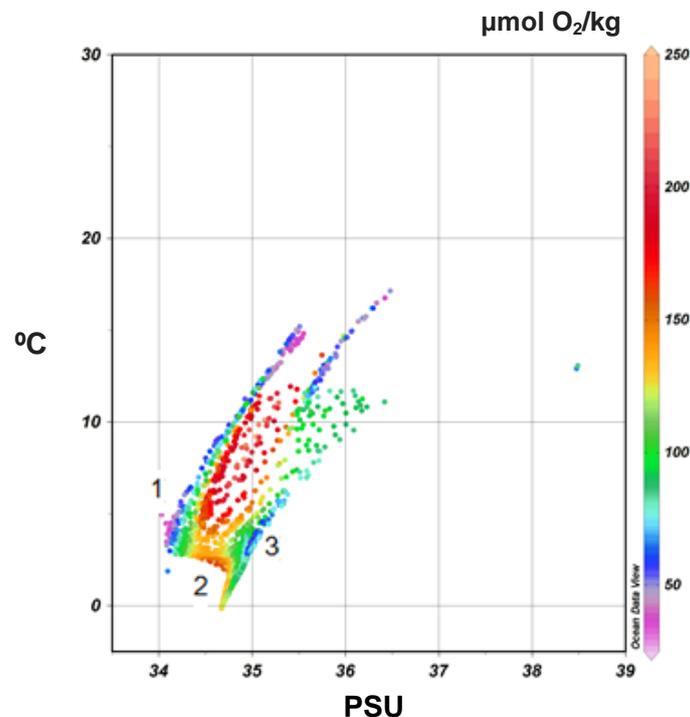


Figura 15. Diagrama de T / S de la distribución de AOU indicada mediante el gradiente de colores en función de la temperatura (Eje y) y la salinidad (Eje x).

Los números de la **figura 15** indican (1) Valores bajos de AOU que oscilan entre 25 y 75 $\mu\text{mol O}_2/\text{kg}$ que se ven aumentados conforme aumenta la salinidad. (2) Valores elevados de AOU que oscilan entre 125 y 200 $\mu\text{mol O}_2/\text{kg}$ y que aumentan conforme aumenta la temperatura. (3) Valores bajos de AOU que oscilan entre 25 y 75 $\mu\text{mol O}_2/\text{kg}$ que se ven aumentados conforme aumenta la salinidad. Esta figura visualiza la influencia de las distintas masas de agua sobre la distribución de la AOU.

En cuanto a la variable pico C (tabla 1), observamos que existe una relación estadísticamente significativa con temperatura y salinidad en el océano profundo con un p-valor inferior a 0,05 asumiendo un nivel de confianza del 95%. Asimismo el estadístico R^2 nos indica que el modelo ajustado nos explica un 71% de la variabilidad en la distribución de pico C.

En la **figura 16** apreciamos como las U.R. más elevadas las encontramos con salinidades más altas.

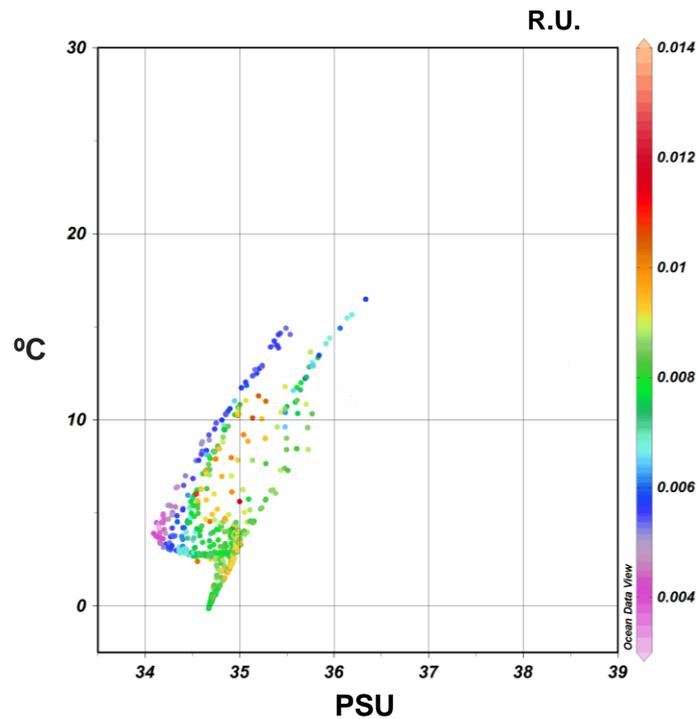


Figura 16. Diagrama de T / S de la distribución de Pico C indicada mediante el gradiente de colores en función de la temperatura (Eje y) y la salinidad (Eje x).

La variable bacterias también se encuentra significativamente relacionada con temperatura y salinidad en el océano profundo con un p-valor inferior a 0,05 asumiendo un nivel de confianza del 95% (Tabla 1). El estadístico R^2 nos indica que el modelo ajustado nos explica un 72% de la variabilidad en la distribución de bacterias.

En la **figura 17** se muestran los resultados observados frente a los esperados mediante la aplicación de nuestro modelo añadiendo la variable temperatura indicada por el gradiente de colores. Como podemos observar existe un patrón evidente entre los valores observados y los esperados con una pendiente positiva evidenciando que se cumple la ecuación descrita. Además de ello, gracias al gradiente de colores se percibe que a mayores temperaturas, mayores concentraciones bacterianas. En la **figura 18**, a parte del efecto de la temperatura, también queda patente el efecto de la salinidad. Encontrando que a salinidades menores la concentración bacteriana es mayor.

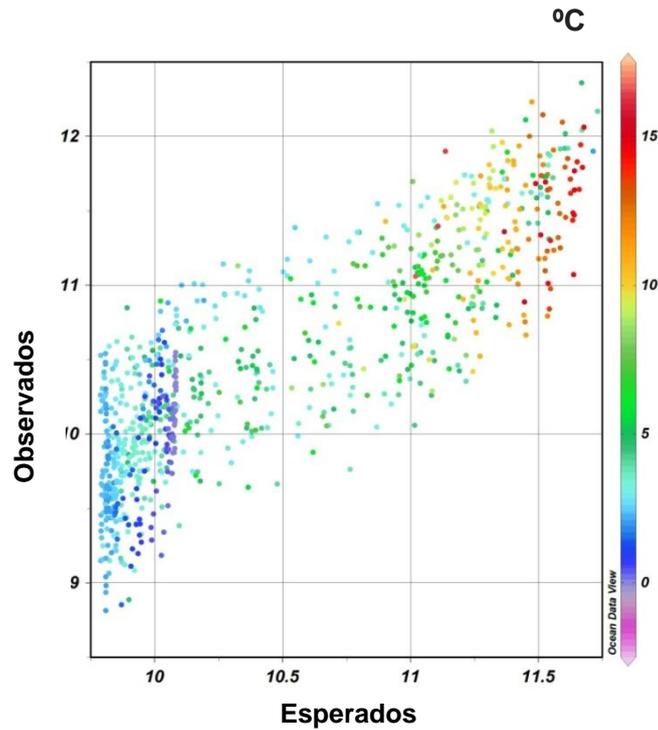


Figura 17. Logaritmo neperiano de los resultados observados (Eje y) y esperados (Eje x) a partir del modelo descrito para bacterias en relación con temperatura y salinidad. Temperatura indicada mediante el gradiente de colores.

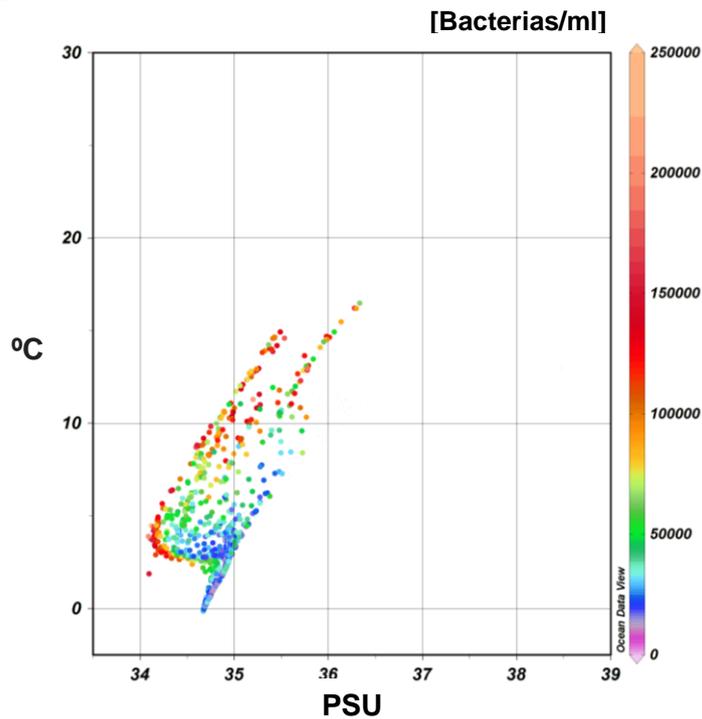


Figura 18. Diagrama de θ / S de la distribución de bacterias indicada mediante el gradiente de colores en función de la temperatura (Eje y) y la salinidad (Eje x).

La tabla 1 nos muestra que la distribución de virus tiene una relación estadísticamente significativa con temperatura y salinidad en el océano profundo con un p-valor inferior a 0,05 asumiendo un nivel de confianza del 95%. Sin embargo, el estadístico R^2 nos indica que el

modelo ajustado nos explica tan solo un 30% de la variabilidad en la distribución de virus. Se trata de un estadístico bajo del cual se plantea difícil extraer conclusiones. Es posible que los valores comprendidos entre 40°S y 20°S estén alterando los resultados estadísticos ya que como comentamos anteriormente éstos pese a seguir un patrón batimétrico de las concentraciones razonable, presentan valores muy elevados comparados con los adyacentes.

Finalmente la tabla 1 nos muestra que la distribución de pico T tiene una relación estadísticamente significativa con temperatura y salinidad en el océano profundo ya que asumiendo un nivel de confianza del 95% el p-valor es inferior a 0,05. Sin embargo, el estadístico R^2 nos indica que el modelo ajustado nos explica tan solo un 4% de la variabilidad en la distribución de pico T. Con un estadístico tan bajo es difícil extraer conclusiones aunque queda patente que otros factores diferentes a temperatura y salinidad son necesarios para explicar dicha distribución.

Superficie (< 300m)

En la tabla 1 observamos que existe una relación estadísticamente significativa entre las variables AOU, temperatura y salinidad en superficie dado que asumiendo un nivel de confianza del 95% el p-valor es menor que 0,05. El estadístico R^2 nos indica que el modelo ajustado nos explica un 58% de la variabilidad en la distribución de AOU. Se trata de un estadístico inferior al 73% que nos explica el modelo ajustado para el océano profundo. Además de ello las constantes descritas en la tabla 1 son muy diferentes entre océano profundo y superficie. Esto nos evidencia que ambas variables se comportan de diferente modo frente a temperatura y salinidad siendo un acierto considerar 2 modelos diferentes.

En cuanto al pico C en superficie, la tabla 1 nos muestra que existe una relación estadísticamente significativa con temperatura y salinidad en superficie dado que asumiendo un nivel de confianza del 95% el p-valor es menor que 0,05. El estadístico R^2 nos indica que el modelo ajustado nos explica un 52% de la variabilidad en la distribución de pico C siendo este porcentaje menor que el 71% que obtenemos en el océano profundo. Esto puede deberse a la importancia del efecto *Photobleaching*. La incidencia de la luz solar puede estar condicionando los resultados disminuyendo los valores de pico C que podrían esperarse para una determinada profundidad con una temperatura y salinidad determinadas.

Existe una relación estadísticamente significativa entre las variables pico M, temperatura y salinidad en superficie dado que asumiendo un nivel de confianza del 95% el p-valor es

menor que 0,05. El estadístico R^2 nos indica que el modelo ajustado nos explica un 52% de la variabilidad en la distribución de pico M. Lo mismo ocurre con el pico A aunque en este caso el modelo ajustado explica un 50% de la variabilidad de pico A. En cualquier caso se trata también de variables a las que les podría afectar el *Photobleaching*.

El caso de pico T resulta el más sorprendente ya que según la tabla 1 observamos que existe una relación estadísticamente significativa entre las variables pico T, temperatura y salinidad en superficie dado que asumiendo un nivel de confianza del 95% el p-valor es menor que 0,05. El estadístico R^2 nos indica que el modelo ajustado nos explica un 35% de la variabilidad en la distribución de pico T. Por lo que podemos asumir que la distribución de pico T se ve más influenciada por temperatura y salinidad en superficie que en el océano profundo donde el estadístico R^2 tan solo nos explicaba un 4%.

La tabla 1 también nos muestra que existe una relación estadísticamente significativa entre la distribución bacteriana, temperatura y salinidad en superficie ya que tomando un nivel de confianza del 95% el p-valor es menor que 0,05. El estadístico R^2 nos indica que el modelo ajustado explica un 51% de la variabilidad en la distribución bacteriana. Asumiendo el mismo, podemos decir que la distribución bacteriana se encuentra menos influenciada por temperatura y salinidad en superficie que en el océano profundo donde el estadístico R^2 nos explicaba un 72%. La explicación para esto se encuentra en que la mayor parte de los datos recogidos en superficie se encuentran en la capa de mezcla en la que es más probable que otros factores estén condicionando la distribución bacteriana. Factores como aumentos locales de nutrientes provocados por aportes terrígenos ligados a aumentos de fitoplancton.

Finalmente, la tabla 1 nos indica que existe una relación estadísticamente significativa entre la distribución de fitoplancton, temperatura y salinidad en superficie dado que con un nivel de confianza del 95% el p-valor es menor que 0,05. En este caso el estadístico R^2 nos indica que el modelo ajustado nos explica un 69% de la variabilidad en la distribución del fitoplancton, siendo este el estadístico más alto de la tabla en superficie.

Análisis de los residuos de los modelos de regresión polinomial

Mediante la extracción del residuo estadístico de cada una de las regresiones múltiples y el uso de regresiones SMA simples de pendiente lineal para comparar los residuos entre si obtenemos los resultados que se muestran en la tabla 2.

Estratos del Océano	DY ~ DX	Pendiente	R²	p-valor
	Pico-C ~ AOU	3.5x10 ⁻⁵	0.34	<0.001
Océano profundo	Bacterias ~ AOU	0.018	0.01	<0.01
	Bacterias~ Pico-C	535	0.06	<0.001
	Bacterias ~ Virus	-	-	0.84
	Virus ~ T-Peak	-617.0021	0.03	<0.001
	Pico-C ~ AOU	6.6x10 ⁻⁵	0.41	<0.001
Superficie	Fitoplancton ~ Pico-M	-	-	0.66
	Fitoplancton ~ Pico-A	-	-	0.70
	Bacterias ~ Fitoplancton	0.42	0.38	<0.001

Tabla 2. Relación de los residuos deducidos mediante una regresión de SMA. La pendiente de la regresión lineal (pendiente), el coeficiente de correlación ajustado (R²), la importancia de la prueba (p-valor= 0.05) se muestran para la superficie del interior del océano ($\alpha > 300$ m) y el Océano profundo. La pendiente se muestra solo para relaciones significativas (valor p, 0.05).

Océano profundo (> 300m)

La tabla 2 nos muestra que existe una relación estadísticamente significativa entre el residuo de pico C y el residuo de AOU en el océano profundo dado que asumiendo un nivel de confianza del 95% el p-valor es menor que 0,05. Además la pendiente es de 3,5x10⁻⁵ resultando muy similar a la ya descrita por De la Fuente *et al*, 2014 (3,14x10⁻⁵). Sin embargo, ambas variables se ajustan al modelo con un estadístico R² de 34% mientras que en el estudio realizado por De la Fuente *et al*, 2014 la R² es del 79%. Hay que tener en cuenta que en el presente estudio se ha considerado una amplia región que abarca desde 50.708°S hasta 36.006°N en la que no se han tenido en cuenta posibles eventos locales o la segmentación de las estaciones latitudinalmente por lo que resulta lógico que el estadístico R² sea inferior al de otros estudios de carácter más local.

Asimismo en la **figura 19** podemos ver como se ajustan a un patrón rectilíneo los residuos de AOU frente a los de pico C corroborándose que existe una evidente relación entre las variables.

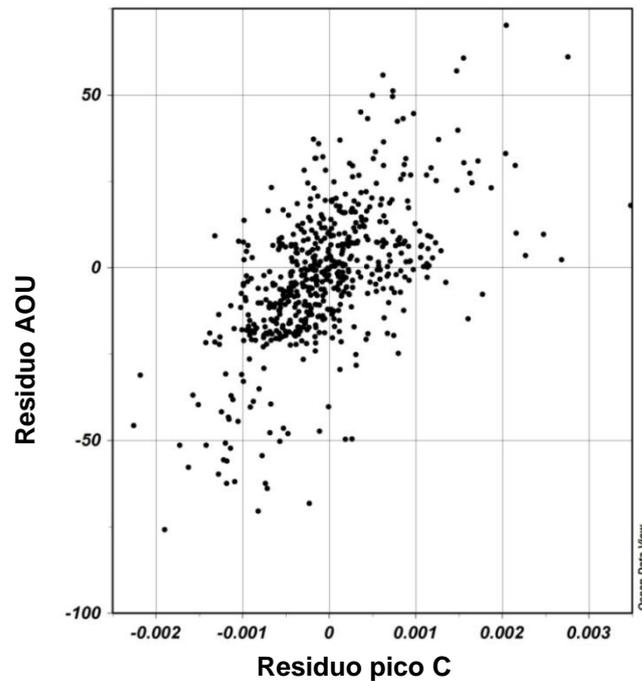


Figura 19. Regresión SMA simple de pendiente lineal entre los residuos de AOU (Eje y) y los residuos de pico C (Eje x) en el océano profundo.

Tal y como nos indica la tabla 2 existe una relación estadísticamente significativa entre el residuo de bacterias y el residuo de AOU en profundidad dado que asumiendo un nivel de confianza del 95% el p-valor es inferior a 0,05. Sin embargo, ambas variables se ajustan al modelo con un estadístico R^2 que tan solo explica un 1%. Relación que resulta prácticamente nula. Cabe recordar que la aparente utilización de oxígeno (AOU) es una variable acumulativa mientras que la concentración de bacterias no lo es. Por lo que la falta de relación no es de extrañar.

Lo mismo ocurre entre el residuo de bacterias y el residuo de pico C, tal y como indica la tabla 2 existe una relación estadísticamente significativa entre las variables ya que el p-valor es inferior a 0,05 asumiendo un nivel de confianza del 95%. Sin embargo, las variables se ajustan al modelo con un estadístico R^2 de solo 6%. El pico C de fluorescencia también tiene carácter acumulativo por lo que su relación con la concentración bacteriana se antoja complicada.

No existe relación estadísticamente significativa entre el residuo de bacterias y el residuo de virus ya que asumiendo un nivel de confianza del 95% el p-valor es superior a 0,05 según nos indica la tabla 2. Esto podría deberse a la influencia sobre el estudio de las estaciones de virus comprendidas entre 40°S y 20°S en las que los valores de concentración vírica son inusualmente elevados. En las **figuras 20 y 21** observamos cómo influye la latitud en lo que

respecta a delimitar regiones de estudio más concretas y la temperatura en la relación entre la concentración bacteriana y la concentración vírica.

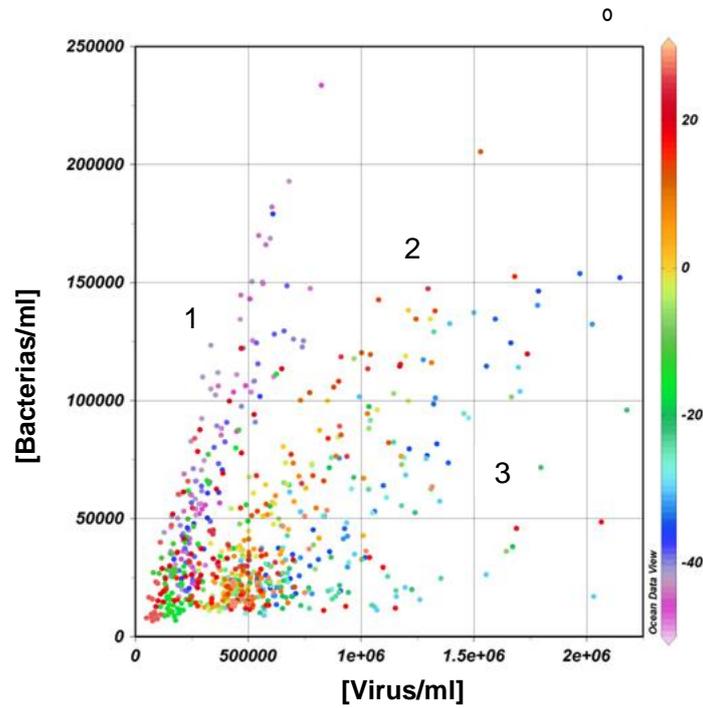


Figura 20. Gráfico entre la concentración bacteriana (Eje y) y la concentración vírica (Eje x) donde la latitud aparece indicada por el gradiente de colores.

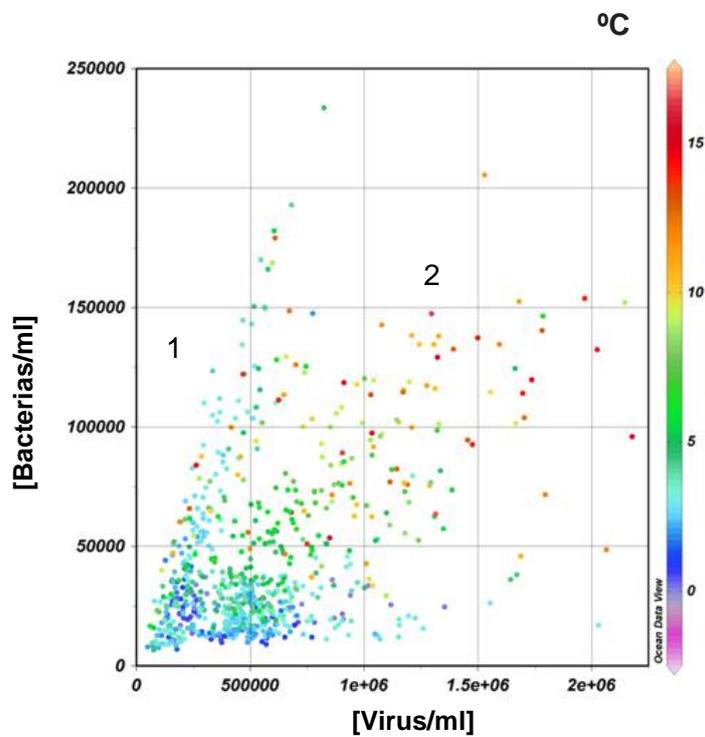


Figura 21. Gráfico entre la concentración bacteriana (Eje y) y la concentración vírica (Eje x) donde la temperatura aparece indicada por el gradiente de colores.

Tal y como podemos observar en la **figura 20**, existen tres tendencias en la relación entre la concentración de bacterias y de virus en lo que respecta a la latitud. Esto evidencia que existen al menos 3 regiones donde la posible relación entre la distribución de bacterias y virus es diferente. (1) Aparente relación que parece darse entorno a los 40°S con la pendiente positiva más elevada. (2) Aparente relación entorno a los 20°N con una pendiente más tenue y mayor dispersión. (3) Datos que se encuentran entorno 40°S y 20°S con una dispersión muy elevada que podrían darnos una idea de que efectivamente se trate de “*Outliers*” que distorsionen los estadísticos.

En la **figura 21** podemos observar 2 tendencias en la relación entre la concentración de bacterias y de virus en lo que respecta a la temperatura. (1) Aparente relación entorno a temperaturas de 2,5°C. (2) Aparente relación entorno a temperaturas de entre 5°C y 10°C. Estas temperaturas son representativas de las diferentes masas de agua cuya consideración parece importante a la hora de establecer una relación entre la distribución bacteriana y la distribución vírica en el océano profundo para futuros estudios.

Finalmente, la tabla 2 nos muestra que existe una relación estadísticamente significativa entre el residuo de virus y el residuo de pico T en profundidad dado que asumiendo un nivel de confianza del 95% el p-valor es inferior a 0,05. Sin embargo, ambas variables se ajustan al modelo con un estadístico R^2 que tan solo explica un 3%. Relación que resulta prácticamente nula. Se trata de un resultado esperable teniendo en cuenta lo poco que se ajusta la distribución de pico T a temperatura y salinidad y los posibles “*Outliers*” en la distribución de virus.

Superficie (< 300m)

En la tabla 2 podemos observar que existe una relación estadísticamente significativa entre el residuo de pico C y el residuo de AOU en superficie ya que con un nivel de confianza del 95% el p-valor es menor que 0,05. Las variables se ajustan al modelo con un estadístico R^2 del 41%. Superior al estadístico R^2 de 34% que encontramos en el océano profundo.

En la **figura 22** podemos observar cómo se ajustan los residuos de AOU y pico C a una recta de pendiente 6.6×10^{-5} . Sin embargo, deberemos tomar los resultados con cautela ya que como mencionamos anteriormente en superficie intervienen factores como la fotodegradación y la producción de oxígeno por parte del fitoplancton pudiendo alterar la relación AOU-pico C en superficie.

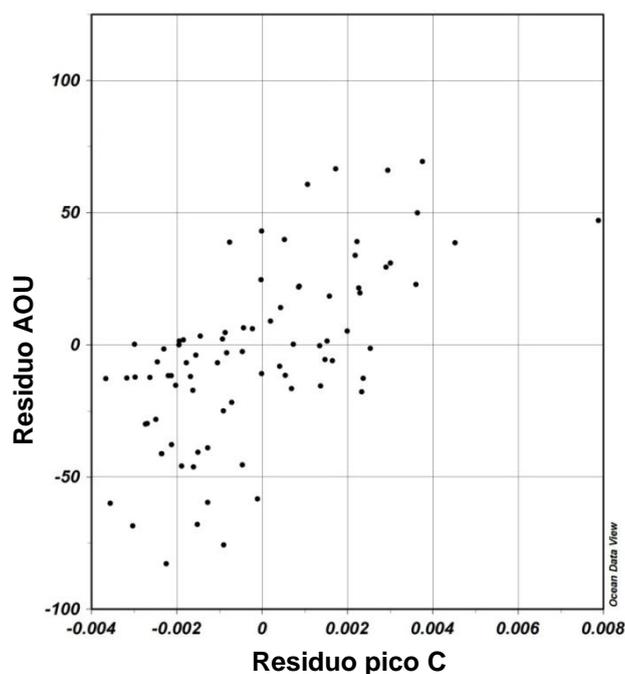


Figura 22. Regresión SMA simple de pendiente lineal entre los residuos de AOU (Eje y) y los residuos de pico C (Eje x) en superficie.

La tabla 2 nos indica que no existe relación estadísticamente significativa entre el residuo de fitoplancton y el residuo de pico M ya que asumiendo un nivel de confianza del 95% el p-valor es superior a 0,05. Este resultado contrasta con la relación descrita por Romera-Castillo *et al.*, 2011 entre el fitoplancton y el pico M de fluorescencia. Sin embargo, esto podría encontrar explicación en que de nuevo estamos tratando de comparar una variable acumulativa (pico M) con una variable que no lo es (fitoplancton). Además de que en superficie debemos considerar el efecto de otros factores como la fotodegradación.

Lo mismo ocurre con el pico A donde la tabla 2 nos muestra que no existe relación estadísticamente significativa entre el residuo de fitoplancton y el residuo de pico A ya que asumiendo un nivel de confianza del 95% el p-valor es superior a 0,05. La distribución de pico A también tiene un carácter acumulativo mientras que la distribución de fitoplancton no. Además de que cabe considerar otros factores como la fotodegradación que pueden estar alterando la relación.

Finalmente la tabla 2 nos indica que existe una relación estadísticamente significativa entre el residuo de bacterias y el residuo de fitoplancton en superficie ya que con un nivel de confianza del 95% el p-valor es menor que 0,05. Las variables se ajustan al modelo con un estadístico R^2 del 38%. Los residuos de bacterias y fitoplancton se ajustan a una recta de pendiente 0,42 que se ve representada en la **figura 23**.

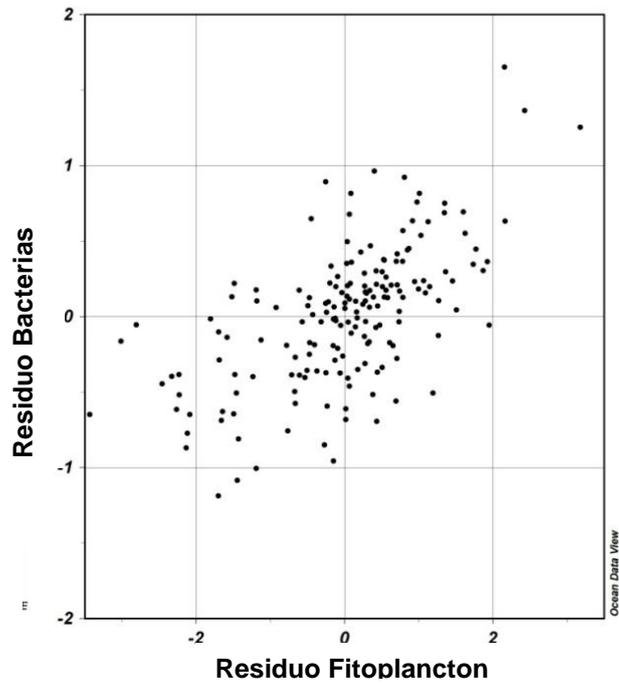


Figura 23. Regresión Simple de pendiente lineal entre los residuos de bacterias (Eje y) y los residuos de fitoplancton (Eje x) en superficie.

Tanto la distribución de bacterias como la distribución de fitoplancton son variables no acumulativas que tal y como ya nos sugerían las secciones, parecen tener una clara relación. Sin embargo, el hecho de no haber encontrado una relación evidente entre las distribuciones de pico A y M con fitoplancton nos impide deducir si realmente tal relación entre bacterias y fitoplancton se produce como sugiere Romera-Castillo *et al.*, 2011.

Conclusiones

1. En el océano profundo (> 300 m), las distribuciones de las variables AOU, pico C, bacterias, virus y pico T se encuentran estadísticamente explicadas por los parámetros físico-químicos temperatura y salinidad. Con estadísticos R^2 que nos indican que los modelos ajustados nos explican un 73% de la variabilidad en el caso de AOU, un 71% en el caso de pico C, un 72% en el caso de bacterias y un 30% en el caso de virus. Tan solo un 4% de la variabilidad en la distribución de pico T se encuentra explicada por temperatura y salinidad.

2. En aguas superficiales (< 300 m), las distribuciones de las variables AOU, pico C, pico M, pico A, pico T, bacterias y fitoplancton se encuentran estadísticamente explicadas por los parámetros físico-químicos temperatura y salinidad. Con estadísticos R^2 que nos indican que los modelos ajustados nos explican un 58% de la variabilidad en el caso de AOU, un 52% en el caso de pico C, un 52% en el caso de pico M, un 50% en el caso de pico A, un 35% en el caso de pico T, un 51% en el caso de bacterias y un 69% en el caso del fitoplancton.

3. En el océano profundo, los residuos después de aplicar el modelo de regresión polinomial de las variables pico C y AOU se encuentran significativamente relacionados. Las variables se ajustan al modelo con un estadístico R^2 de 34%, valor considerablemente inferior al obtenido por De la Fuente *et al*, 2014 de 79%. Sin embargo cabe destacar que en el presente estudio se ha considerado una región muy amplia en la que no se han tenido en cuenta posibles eventos locales o la segmentación de las estaciones latitudinalmente por lo que resulta lógico que el estadístico R^2 sea inferior al de otros estudios de carácter más local.

4. En el océano profundo, los residuos después de aplicar el modelo de regresión polinomial de las variables bacterias y AOU se encuentran significativamente relacionados. Sin embargo, el estadístico R^2 tan solo explica un 1%. Esto se debe a que la aparente AOU es una variable acumulativa mientras que la concentración de bacterias no lo es. Por lo que la falta de relación resulta coherente.

5. En el océano profundo, los residuos después de aplicar el modelo de regresión polinomial de las variables bacterias y pico C se encuentran significativamente relacionados. Aun así el estadístico R^2 tan solo explica un 6% debido a que el pico C de fluorescencia tiene carácter acumulativo mientras que la concentración de bacterias no.

6. En el océano profundo los residuos después de aplicar el modelo de regresión polinomial de las variables bacterias y virus no se encuentran significativamente relacionados. Las estaciones de virus entre 40°S y 20°S tienen valores de concentración vírica inusualmente elevados que podrían habernos llevado a una alteración de los resultados esperados.

7. En el océano profundo los residuos después de aplicar el modelo de regresión polinomial de las variables virus y pico T se encuentran significativamente relacionados. Sin embargo, el estadístico R^2 que tan solo explica un 3%. Por lo que la relación es prácticamente nula. Esto se debe probablemente a que la distribución de pico T apenas se encuentra explicada por temperatura y salinidad. Además de la posible alteración causada por las estaciones de virus entre 40°S y 20°S.

8. En la superficie los residuos después de aplicar el modelo de regresión polinomial de las variables pico C y AOU se encuentran significativamente relacionados. El estadístico R^2 es del 41%. Superior al estadístico R^2 de 34% que encontramos en el océano profundo. Sin embargo, en superficie intervienen también otros factores como la fotodegradación y la producción de oxígeno que no se han tenido en cuenta en este trabajo por lo que dicha relación variar.

9. En la superficie los residuos después de aplicar el modelo de regresión polinomial de las variables fitoplancton y pico M no se encuentran significativamente relacionados. Esto podría ser debido a que la distribución de pico M tiene carácter acumulativo mientras que la distribución de fitoplancton no. Además en superficie actúan también otros factores como la fotodegradación que no se han tenido en cuenta en el presente trabajo.

10. En la superficie los residuos después de aplicar el modelo de regresión polinomial de las variables fitoplancton y pico A no se encuentran significativamente relacionados. La distribución de pico A tiene un carácter acumulativo mientras que la distribución de fitoplancton no. Además en superficie actúan también otros factores como la fotodegradación que no se han tenido en cuenta en el presente trabajo.

11. En la superficie los residuos después de aplicar el modelo de regresión polinomial de las variables bacterias y fitoplancton se encuentran significativamente relacionados. Las variables se ajustan al modelo con un estadístico R^2 del 38%. Las dos son variables no acumulativas que tal y como nos sugerían las secciones, parecen tener una relación evidente.

Referencias

- ÁLVAREZ-SALGADO, X. A., M. NIETO-CID, M. ÁLVAREZ, F. F. PÉREZ, P. MORIN, AND H. MERCIER, 2013. New insights on the mineralization of dissolved organic matter in central, intermediate, and deep water masses of the northeast North Atlantic. *Limnology Oceanography*, 58, 681–696.
- BENSON, B.B., KRAUSE JR., D., 1984. The concentration and isotopic fractionation of oxygen dissolved in freshwater and seawater in equilibrium with the atmosphere. *Limnology Oceanography*, 29 (3), 620–632.
- BRUSSAARD, C. P. D. 2004. Viral control of phytoplankton - a review. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 51, 125–138.
- CARLSON, C. A., D. A. HANSELL, N. B. NELSON, D. A. SIEGEL, W. M. SMETHIE, S. KHATIWALA, M. M. MEYERS, AND E. HALEWOOD, 2010. Dissolved organic carbon export and subsequent remineralisation in the mesopelagic and bathypelagic realms of the North Atlantic basin. *Deep-Sea Research part II*, 57, 1433–1445.
- CASTRO, C. G., F. F. PÉREZ, S. E. HOLLEY, AND A. F. RÍOS, 1998. Chemical characterisation and modelling of water masses in the Northeast Atlantic. *Progress in Oceanography*, 41, 249–279.
- CATALÁ, T. S., AND COAUTHORS, 2015. Turnover time of fluorescent dissolved organic matter in the dark global ocean. *Nature Communications*, 6, 5986.
- CHEN, R.F., BADA, J.L., 1992. The fluorescence of dissolved organic matter in seawater. *Marine Chemistry*, 37, 191-221.
- COBLE, P.G., 1996. Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation-emission matrix spectroscopy. *Marine Chemistry*, 51, 325-346.
- COBLE, P.G., DEL CASTILLO, C.E., AVRIL, B., 1998. Distribution and optical properties of CDOM in the Arabian Sea during the 1995 Southwest Monsoon. *Deep-Sea Research part II*, 45, 2195-2223.
- DE LA FUENTE, P., C. MARRASÉ, A. CANEPA, X. A. ÁLVAREZ-SALGADO, M. GASSER, N. M. FAJAR, C. ROMERA-CASTILLO, AND J. L. PELEGRÍ, 2014. Does a general relationship exist between fluorescent dissolved organic matter and microbial respiration? The case of the dark equatorial Atlantic Ocean. *Deep-Sea Research part I*, 89, 44– 55.
- DE LA FUENTE, P., PELEGRÍ, J.L., CANEPA, A., GASSER, M., DOMÍNGUEZ, F., MARRASÉ, C., 2017. A simple nonlinear and end-member-free approach for obtaining ocean remineralisation patterns. *Journal of Atmospheric and Oceanic Technology*, 34, 2443–2455.
- DETERMANN, S., LOBBES, J.M., REUTER, R., RULLKÖTTER, J., 1998. Ultraviolet fluorescence excitation and emission spectroscopy of marine algae and bacteria. *Marine Chemistry*, 62, 137-156.
- GASOL, J. M. 1999. How to count picoalgae and bacteria with the FACScalibur flow cytometer. Volume 2.
- HANSELL, D.A., CARLSON, C.A., REPETA, D.J., REINER, S., 2009. Dissolved organic matter in the ocean: new insights stimulated by a controversy. *Oceanography* 22, 52–61.
- HANSELL, D.A., 2013. Recalcitrant dissolved organic carbon fractions. *Annual Review of Marine Science*, 5, 3.1–3.25.
- HONJO, S., EGLINTON, T. I., TAYLOR, C. D., ULMER, K. M., SIEVERT, S. M., BRACHER, A., ET AL. 2014. Understanding the role of the biological pump in the global carbon cycle. An imperative for ocean science. *Oceanography*, 27, 10–16.
- HOPKINSON, C. S., VALLINO, J. J., AND NOLIN, A. 2002. Decomposition of dissolved organic matter from the continental margin. *Deep-Sea Research part II* 49, 4461–4478.
- ITO, T., FOLLOWS M.J., BOYLE, E.A., 2004. Is AOU a good measure of respiration in the oceans? *Geophysical Research Letters*, 31 (17305–17305).

- JØRGENSEN, L., C. A. STEDMON, T. KRAGH, S. MARKAGER, M. MIDDELBOE, AND M. SØNDERGAARD, 2011. Global trends in the fluorescence characteristics and distribution of marine dissolved organic matter. *Marine Chemistry*, 126, 139–148.
- JIAO, N., HERNDL, G.J., HANSELL, D.A., BENNER, R., KATTNER, G., WILHELM, S.W., KIRCHMAN, D.L., WEINBAUER, M.G., LUO, T., CHEN, F., 2010. Microbial production of recalcitrant dissolved organic matter: long-term carbon storage in the global ocean. *Nature Reviews of Microbiology*, 8, 593–599.
- JULIA A. BORAS, 2009. Enumeración de Virus en el citometro de flujo por la tinción de ADN y detección fluorescente usando BecktonDickinson FCM. ICM (CMIMA), CSIC, Barcelona, Spain.
- KENNETH MOPPER, XIANLIANG ZHOU, ROBERT J. KIEBER, DAVID J. KIEBER, RICHARD J. SIKORSKI AND RONALD D. JONES, 1991. Photochemical degradation of dissolved organic carbon and its impact on the oceanic carbon cycle. *Nature*, volume 353, pages 60–62.
- LAPPO, S.S., LOZOVATSKY, I.D., MOROZOV, E.G., SOKOV, A.V., SHAPOVALOV, S.M., 2001. Variability of water structure in the equatorial Atlantic. *Doklady Earth Sciences*, Section 379, 739–743.
- LAWAETZ, A.J., STEDMON, C.A., 2009. Fluorescence intensity calibration using the Raman scatter peak of water. *Applied Spectroscopy*. 63 (8), 936–940.
- LEGENDRE, L., RIVKIN, R. B., WEINBAUER, M., GUIDI, L., AND UITZ, J., 2015. The microbial carbon pump concept: potential biogeochemical significance in the globally changing ocean. *Progress in Oceanography*, Press 134, 432–450.
- LEWIS, E.L., 1980. The Practical Salinity Scale 1978 and its antecedents. *IEEE J. Ocean Engineering*, OE-5(1): 3-8.
- MAMAYEV, O. I., 1975. Temperature–Salinity Analysis of World Ocean Waters. *Elsevier Scientific*, 374 pp.
- MOTEGI, C., NAGATA, T., MIKI, T., WEINBAUER, M. G., LEGENDRE, L., AND RASSOULZADEGAN, F., 2009. Viral control of bacterial growth efficiency in marine pelagic environments. *Limnology and Oceanography*, 54, 1901–1910.
- NAGATA, T., FUKUDA, H., FUKUDA, R., AND KOIKE, I., 2000. Bacterioplankton distribution and production in deep Pacific waters: Large-scale geographic variations and possible coupling with sinking particle fluxes. *Limnology and Oceanography*. 45, 426–435.
- NELSON, N.B., SIEGEL, D.A., 2013. Global distribution and dynamics of chromophoric dissolved organic matter. *Annual Review of Marine Science*. 5, 447–476.
- NELSON, N.B., SIEGEL, D.A., CARLSON, C.A., SWAN, C., SMETHIE, W.M., KHATIWALA, S., 2007. Hydrography of chromophoric dissolved organic matter in the North Atlantic. *Deep Sea Research Part I* 54, 710–731.
- REYNOLDS, D.M., AHMAD, S.R., 1995. The effect of metal ions on the fluorescence of sewage wastewater. *Water Research* 29 (9), 2214–2216.
- ROMERA-CASTILLO, C, MARRASÉ C. XOSÉ ÁLVAREZ-SALGADO, X. A. Tesis 2011. Optical properties of the dissolved organic matter as tracers of microbiological and geochemical processes in marine ecosystems. Universitat Politècnica de Catalunya. Spain.
- ROMERA-CASTILLO, C., SARMENTO, H., ÁLVAREZ-SALGADO, X. A., GASOL, J. M., AND MARRASÉ, C., 2011. Net production and consumption of fluorescent colored dissolved organic matter by natural bacterial assemblages growing on marine phytoplankton exudates. *Applied and Environmental Microbiology* 77, 7490–7498.
- SALA, M. M., AND GÜDE, H., 2004. Ectoenzymatic activities and heterotrophic bacteria decomposing detritus. *Archiv für Hydrobiologie*. 160, 289–303.

- SARMENTO, H., ROMERA-CASTILLO, C., LINDH, M., PINHASSI, J., SALA, M. M., GASOL, J. M., ET AL., 2013. Phytoplankton species-specific release of dissolved free amino acids and their selective consumption by bacteria. *Limnology and Oceanography* 58, 1123–1135.
- STEDMON, C.A., MARKAGER, S., 2005. Tracing the production and degradation of autochthonous fractions of dissolved organic matter by fluorescence analysis. *Limnology and Oceanography* 50, 1415-1426.
- VOLK, T., AND HOFFERT, M. I., 1985. “Ocean Carbon pumps: analysis of relative strengths and efficiencies in ocean-driven atmospheric CO₂ changes,” in *The Carbon Cycle and Atmospheric CO₂: Natural Variations Archean to Present*, eds E. T. Sundquist and W. S. Broecker (Washington, DC: AGU Monograph 32; American Geophysical Union), 99–110.
- WEISS, R.F., 1970. The solubility of nitrogen, oxygen and argon in water and seawater. *Deep Sea Research* 17, 721–735.
- YAMASHITA, Y., AND E. TANOUE, 2008. Production of bio-refractory fluorescent dissolved organic matter in the ocean interior. *Nature Geoscience*, 1, 579–582.
- ZUUR, A. F., E. N. IENO, N. J. WALKER, A. A. SAVELIEV, AND G. M. SMITH, 2009. *Mixed Effects Models and Extensions in Ecology with R*. Statistics for Biology and Health, Springer, 574 pp.