

**EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE FILTRACIÓN, EXCRECIÓN DE  
NUTRIENTES Y TENDENCIA POBLACIONAL DE LA ESPONJA MARINA  
*Hymeniacidon perlevis*, EN UN SITIO DE ALTO IMPACTO ANTRÓPICO DE  
LA BAHÍA SAN ANTONIO (RÍO NEGRO, ARGENTINA).**

**Liendo Roggia, Dana Milena**

**Directora: Dra. Gastaldi, Marianela**

**Co-director: Dr. Svendsen, Guillermo Martín**

Licenciatura en Biología Marina

Escuela Superior de Ciencias Marinas

Universidad Nacional del Comahue

2024



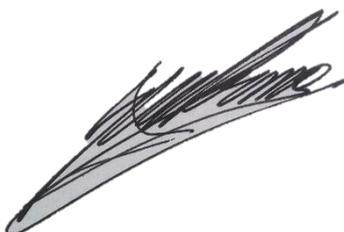
**EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE FILTRACIÓN, EXCRECIÓN DE  
NUTRIENTES Y TENDENCIA POBLACIONAL DE LA ESPONJA MARINA  
*Hymeniacidon perlevis*, EN UN SITIO DE ALTO IMPACTO ANTRÓPICO DE  
LA BAHÍA SAN ANTONIO (RÍO NEGRO, ARGENTINA).**



Liendo Roggia, Dana Milena



Directora: Dra. Gastaldi, Mariana



Co-director: Dr. Svendsen Guillermo Martín

Licenciatura en Biología Marina

Escuela Superior de Ciencias Marinas

Universidad Nacional del Comahue

2024



*Nam-Myoho-Renge-Kyo*

## **Agradecimientos**

A mi directora Marianela y Guillermo por ser una fuente de inspiración, acompañar y guiar impecablemente el desarrollo de la presente tesina. Gracias por abrirme las puertas de su hogar, darme consejos y ánimos contantemente, no hubiera elegido mejor equipo para culminar esta etapa de formación. Gracias.

A Milena Toledo por acompañar y prestar su conocimiento fotográfico para el desarrollo de los muestreos, todas las fotos de la presente tesina son de su autoría. Gracias.

A la Escuela Superior de Ciencias Marinas por darme una excelente formación académica, llena de oportunidades y desafíos; gracias Juan, Jose y Giuli por asesorarnos constantemente, gracias Matias, Miriam y Claudio por los intercambios que hicieron posible el desarrollo de la metodología. Gracias Pedro, Luna, Barb, Camilo, JP, Eli y Maité por prestarme sus manos y tiempo siempre que los necesité. Gracias Maca por presentarme el mundo de las esponjas. Este trabajo no hubiera sido posible sin su extensa ayuda.

A la familia que forme en San Antonio, gracias por sostenerme todos estos años.

A mi familia, gracias por minimizar las distancias de los kilómetros y el tiempo.

A mi abuela Inés, quien me enseñó perseverancia y paciencia, y a mi mamá por darme las alas, confiar en mí y apoyarme siempre. Gracias.

Y a mí, por no rendirme nunca.

## Resumen.

*Hymeniacidon perlevis* es una especie de esponja marina ampliamente distribuida en ambientes templado-fríos, y ha sido identificada y estudiada en la Bahía San Antonio (BSA). Esta especie se considera biorremediadora y bioindicadora, dada su eficiente retención de bacterias patógenas asociadas a la eutrofización. La hipótesis general de este trabajo es que *H. perlevis* es una filtradora generalista y aprovecha los recursos particulados (materia orgánica e inorgánica > 0,7  $\mu\text{m}$ ) de una amplia gama de tamaños, presentes en el agua del canal principal de la BSA, lo cual ha favorecido su colonización y la expansión de su cobertura en los últimos 10 años. Para abordar esta hipótesis se realizó un experimento en acuario para evaluar la capacidad de clareamiento y remoción de *H. perlevis* sobre los recursos particulados de diferentes fracciones de tamaño, y las tasas de excreción de los recursos disueltos al sistema de estudio. También se evaluó la tendencia en la cobertura de *H. perlevis* en un periodo de 10 años (2012 – 2022), en un sitio interno del canal principal de la BSA cercano a las fuentes de ingreso de nutrientes de origen antrópico. Se encontró que *H. perlevis* de la BSA presenta mayor tasa de clareamiento y remoción sobre picoplancton, y en menor medida microplancton. Además, se registró un aumento de  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{PO}_4^{-3}$  y  $\text{NO}_x^-$  como resultado de su metabolismo, así como también una disminución de  $\text{SiO}_3^{-2}$ , que sería utilizado por las esponja para la producción de espículas. *H. perlevis* presenta una tendencia positiva en el sitio de estudio, lo cual le confiere una mayor significancia a las funciones que desempeña en el reciclado de nutrientes y acoplamiento bento-pelágico de la columna de agua del ecosistema costero BSA.

**Palabras clave:** poríferos, acoplamiento bento-pelágico, reciclado de nutrientes, crecimiento poblacional, eutrofización.

## Abstract.

*Hymeniacidon perlevis* is a widely distributed marine sponge species in temperate-cold environments, which has been identified and studied in San Antonio Bay (BSA). This species is considered a bioremediator and bioindicator due to its efficient retention of pathogenic bacteria associated with eutrophication. The general hypothesis of this study is that *H. perlevis* is a generalist species that exploits particulate resources (organic and inorganic matter > 0.7  $\mu\text{m}$ ) of a wide range of sizes present in the main channel water of BSA, which has favored its colonization and expansion of coverage over the last 10 years. To address this hypothesis, an aquarium experiment was conducted to assess the clearance rate and removal capacity of *H. perlevis* on particulate resources of different size fractions, as well as the excretion rates of dissolved resources into the study system. Additionally, the trend in *H. perlevis* coverage was evaluated over a 10-year period (2012–2022) at an internal site in the BSA main channel near to sources of nutrient input of anthropogenic origin. *Hymeniacidon perlevis*, exhibits a higher clearance rate and removal on picoplankton and, to a lesser extent, microplankton in the BSA. Additionally, there was an increase in  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{PO}_4^{-3}$  and  $\text{NO}_x^-$  due to its metabolism, along with a decrease in silicates during the experiment for spicule production. *H. perlevis* shows a growth trend in coverage at the study site, which enhances its significance in nutrient recycling and benthopelagic coupling within the coastal water column of the BSA ecosystem.

**Keywords:** sponges, benthopelagic coupling, nutrient recycling, population growth, eutrophication.

## Indice.

1. Introducción	8
2. Objetivos e hipótesis	15
3. Metodología	16
3.1. Sitio de estudio:	16
3.2. Estimación de la tasa de clareamiento y excreción de <i>H. perlevis</i>	19
3.2.1 Experimento en laboratorio	19
3.2.2. Evaluación de los recursos particulados (> 0,7 µm)	22
3.2.3. Evaluación de los recursos disueltos (< 0,7 µm)	26
3.2.4. Análisis estadísticos	27
3.3. Tendencia de la cobertura de <i>H. perlevis</i> .	28
3.3.1. Análisis estadísticos	29
4. Resultados	30
4.1. Experimento en laboratorio	30
4.1.1. Clareamiento y remoción de <i>H. perlevis</i> sobre los recursos particulados	31
4.1.2 Excreción de recursos disueltos por <i>H. perlevis</i>	37
4.2. Tendencia de la cobertura de <i>H. perlevis</i>	40
5. Discusión	43
6. Bibliografía	53
7. Material complementario	62

## 1. Introducción.

Las esponjas (Phylum Porifera) son organismos acuáticos con origen en el Precámbrico que constituyen, en la actualidad, un componente importante de los hábitats bentónicos desde ambientes tropicales hasta los polos. Se trata de animales exclusivamente acuáticos, con una plasticidad morfológica y capacidad de adaptación que ha permitido su proliferación en ambientes bentónicos intermareales como también de grandes profundidades (Bell 2008, 2020, Soest et al. 2012, Maldonado et al. 2017, Bell et al. 2020, Hooper et al. 2021). Las esponjas son animales sésiles que presentan un cuerpo especializado en la alimentación por filtración (Leys y Hill 2012, Morganti et al. 2021). Su cuerpo consiste en un sistema acuífero constituido por canales y cámaras, recubiertos por células flageladas características (coanocitos) que activamente generan la corriente de agua necesaria para su alimentación (Weisz et al. 2008). Además, las esponjas presentan un esqueleto compuesto por pequeñas estructuras llamadas espículas, en el 75% de las especies (principalmente de la clase Demospongiae) estas estructuras están constituidas por sílice, el cual adquieren del medio en su forma disuelta (Maldonado et al. 2012).

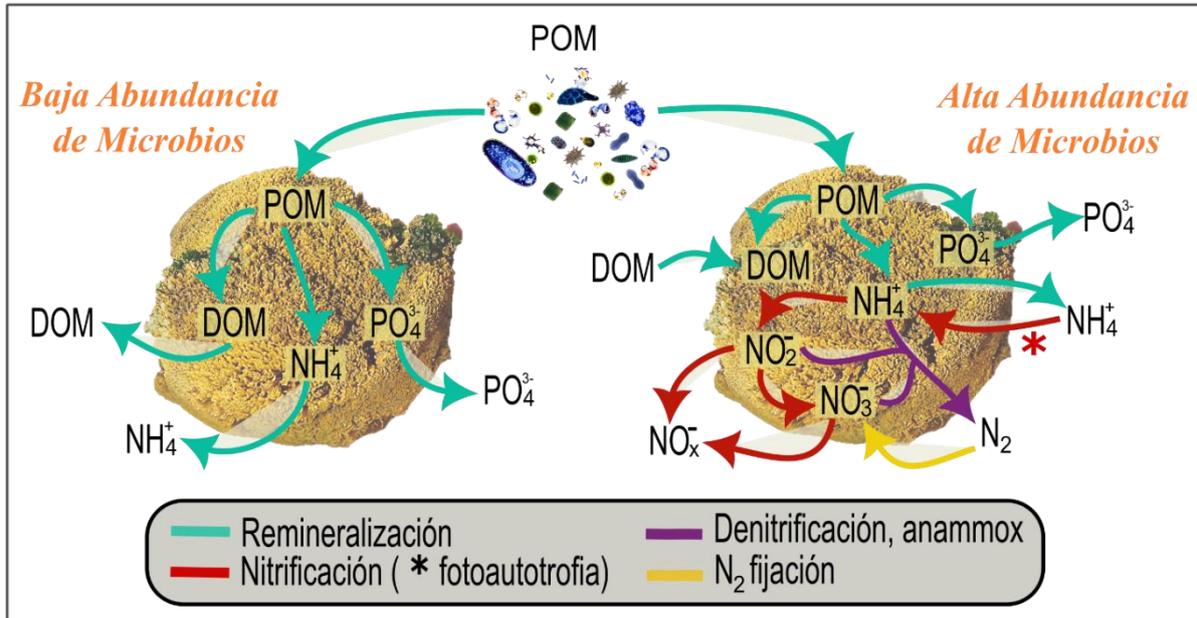
La capacidad de filtración de los poríferos ha sido estudiada a través de la tasa de clareamiento, la cual estima indirectamente la retención de partículas en función de los ítems registrados en un momento inicial y los que persisten luego de la exposición a las esponjas, en un volumen conocido y por un tiempo registrado (Coughlan et al. 1969). Se sabe que los representantes de este phylum tienen la capacidad de filtrar grandes cantidades de agua y, en este proceso, retener picoplancton (0,7 – 2  $\mu\text{m}$ ), nanoplancton (2 – 20  $\mu\text{m}$ ), algunos componentes del microplancton (20 – 200  $\mu\text{m}$ ) así como detritos (producto de la desintegración de una materia sólida orgánica e inorgánica) dentro de estos rangos de tamaño (Reiswig 1971,

Pile et al. 1997, Ribes et al. 1999, Hadas et al. 2006, Varamogianni-Mamatsi et al. 2022). Estos organismos también pueden alimentarse de materia orgánica disuelta ( $< 0,7 \mu\text{m}$ ), la cual incluye coloides y agregados de diversa composición química así como también virus (Hadas et al. 2006, Maldonado et al. 2012, Zhangt et al. 2019). Las esponjas, además, desarrollan asociaciones simbióticas con una gran diversidad y abundancia de microbios, por lo cual son consideradas en la actualidad holobiontes (Pita et al., 2018). La comunidad microbiana, le provee a la esponja una fuente de nutrición suplementaria, producción de metabolitos secundarios, reciclado de productos de desecho metabólico, protección ante la radiación ultravioleta, entre otras funciones (Maldonado et al. 2012, Thacker y Freeman 2012).

La capacidad de las esponjas de alimentarse de diferentes recursos implica que interactúan con el ambiente a través de múltiples mecanismos, los cuales llevan aparejados roles ecológicos en los ambientes donde se encuentran (Bell 2008, Maldonado et al. 2012, Morganti et al. 2019). Su alimentación por filtración favorece el acoplamiento bento-pelágico, haciendo que la energía y nutrientes almacenados en la materia orgánica particulada y disuelta de la columna de agua estén disponibles para organismos de niveles tróficos superiores (Bell 2008, de Goeij et al. 2013). Se ha registrado que las esponjas filtran microorganismos que tienen el potencial de generar efectos deletéreos en el ambiente, como virus, bacterias patógenas y también especies de fitoplancton formadoras de blooms (Fu et al. 2006, Hadas et al. 2006, Peterson et al. 2006, Bell 2008, Longo et al. 2010, 2016). Además, la presencia de ciertos microorganismos en su microbioma repercute en el ciclo de los nutrientes disueltos a través de procesos como la fotoautotrofia, nitrificación, desnitrificación y/o oxidación anaerobia del amonio (annammox), los cuales son fundamentales para el reciclado de nutrientes y la

producción primaria de los ecosistemas (Bell 2008a, Maldonado et al. 2012, de Goeij et al. 2013, Pawlik y McMurray 2020, Hooper et al. 2021).

Las esponjas se clasifican dicotómicamente en función de la abundancia de microorganismos en su microbioma, aquellas que presentan una abundancia similar a la del medio se denominan de “baja abundancia de microbios”, mientras que aquellas esponjas con una abundancia de 2 a 4 veces mayor que la del medio se consideran de “alta abundancia de microbios” (Weisz et al. 2008, Maldonado et al. 2012, Zhangt et al. 2019, Pawlik y McMurray 2020). Las esponjas de “baja abundancia de microbios” presentan, en general, una tasa de filtración alta, un metabolismo sencillo y como resultado de su alimentación liberan amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) y fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) como producto de desecho, además de materia orgánica disuelta (DOM; Fig. 1). Por otro lado, aquellas que tienen una “alta abundancia de microbios”, presentan tasas de filtración menores, y además pueden intervenir en el ciclo del nitrógeno liberando nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) y/o nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), además de consumir  $\text{NH}_4^+$  y materia orgánica disuelta (Fig. 1; Weisz et al. 2008, Maldonado et al. 2012, Zhangt et al. 2019, Pawlik y McMurray 2020). Es por todo ello, que la relevancia de los roles ecológicos de las esponjas (ejemplo: purificación del agua) varía según la especie de estudio, su capacidad de clareamiento, así como también de sus asociaciones simbióticas. Además, la magnitud de su impacto en el ambiente también dependerá de su abundancia, así como de las características del ambiente y los recursos tróficos disponibles (Bell 2008, Maldonado et al. 2010, Zhangt et al. 2019).



**Figura 1.** Esquema del flujo de nutrientes y materia orgánica durante el proceso de filtración en esponjas marinas con baja y alta abundancia de microorganismos en su microbioma. La remineralización incluye la remoción de materia orgánica particulada (POM) por todas las esponjas. Como resultado del metabolismo de POM se generan materia orgánica disuelta (DOM), fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), y amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) dentro de la esponja. Estos compuestos se liberan al ambiente en esponjas de baja abundancia de microbios, pero pueden ser procesados a través de la nitrificación, fotoautotrofia, denitrificación y/o anammox en las especies de alta abundancia de microbios. Adaptado de Maldonado et al. 2012.

En la Bahía San Antonio (BSA), localizada en el noroeste del Golfo San Matías (Río Negro, Argentina) se han identificado 8 especies de poríferos, entre ellas *Hymeniacidon perlevis* (Montagu, 1814) la cual es la especie de mayor abundancia en este ambiente (Gastaldi et al. 2016, 2018). *H. perlevis* presenta una distribución global en ambientes templado-fríos, siendo considerada por algunos autores como la especie de esponja más común y ampliamente distribuida conocida hasta la fecha (Longo et al. 2016, Schwindt et al. 2020, Turner 2020, De Voogd 2022, Mercurio et al. 2023). Estudios genéticos recientes han encontrado que las especies *H. perleve*, *H. caruncula*, *H. sanguinea* e *H. sinapium* son sinónimos de *H. perlevis*, lo cual sustenta un amplio rango geográfico que incluye registros en Europa, la costa del Atlántico Norte y Sur de América, la costa del Pacífico en América del Norte y Asia (Fig. 2 A; Gastaldi et al. 2018, Turner 2020, Mercurio 2023). También hay registros de esta especie en

Nueva Zelanda, el Sur de África y las costas del Pacífico Sur de América pero las mismas no han sido confirmadas con análisis moleculares (Mercurio 2023). Dada la baja capacidad de dispersión de esta especie y su evidente expansión histórica, su distribución global se atribuye a actividades antrópicas, principalmente el transporte marítimo y la acuicultura (Wasson et al. 2001, Maldonado 2006, Schwindt et al. 2020, Turner 2020, Mercurio et al. 2023). En Argentina la presencia de esta especie se registra, hasta el presente, sólo en la BSA, donde podría haber arribado en el agua de lastre de los buques internacionales que llegan al Puerto comercial San Antonio Este, ubicado en el margen norte de la Península Villarino en la BSA, el cual exporta principalmente a Europa y Asia (Fig. 2 B; Giaccardi y Reyes 2012). El mismo comenzó sus operaciones en 1983, lo cual sugiere que el asentamiento de *H. perlevis* en la BSA sería reciente.

Dentro de su extenso rango geográfico *H. perlevis* proliferó en ambientes intermareales y submareales, creciendo tanto enterrada en el sedimento como sobre sustratos duros (arrecifes rocosos; Wasson et al. 2001, Erpenbeck y Van Soest 2002, Gastaldi et al. 2016, 2018, Turner 2020). Esta especie parece ser exitosa en ambientes sujetos a contaminación antrópica, siendo abundante en bahías y estuarios con puertos y centros urbanos en sus cercanías, como es el caso de la BSA (Wasson et al. 2001, Longo et al. 2016a, Gastaldi et al. 2018, Turner 2020, Mercurio et al. 2023). A pesar de esta prevalencia en ambientes contaminados, aún se desconoce si factores antrópicos, como la eutrofización, favorecen la presencia y aumento de su abundancia en estos sitios (Wasson et al. 2001, Gastaldi et al. 2018, Turner 2020).

*H. perlevis* presenta un patrón de cobertura estacional a lo largo de su rango de distribución (Stone 1970, Cao et al. 2007, Gastaldi et al. 2016, Mercurio et al. 2023). En la BSA, se caracteriza por presentar menores coberturas en primavera, estación en la cual comienza un período de crecimiento acelerado que continúa durante el verano hasta alcanzar

las máximas coberturas en otoño, luego le sigue un periodo de decrecimiento que se prolonga hasta el invierno (Gastaldi et al. 2016). Este ciclo estacional se asocia a los patrones de temperatura típicos de ambientes templados (Stone 1970, Cao et al. 2007, Mercurio et al. 2023). En la BSA se observó que, además, el crecimiento de *H. perlevis* estaría regulado principalmente por la oferta de recursos tróficos que van desde nutrientes disueltos (como  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{PO}_4^{3-}$ ) hasta material particulado mayor a  $0,7 \mu\text{m}$  (Marello Buch et al. 2024).

La capacidad de clareamiento de *H. perlevis* ha sido estudiada mediante experimentos en acuario, principalmente sobre el material particulado (mayor a  $0,7 \mu\text{m}$ ). Esta especie es particularmente eficiente en la retención de las fracciones más pequeñas, como picoplancton y nanoplancton ( $0,7-10 \mu\text{m}$ ; Fu et al. 2006, Longo et al. 2010, Maldonado et al. 2012, Feng y Li 2019, Morganti et al. 2019, Zhangt et al. 2019). Un estudio previo comprobó la naturaleza como filtradora generalista de *H. perlevis*, a través de un experimento donde alimentaron a las esponjas con materia orgánica muerta de un rango de tamaño entre  $0,2$  y  $200 \mu\text{m}$  (Fu et al. 2007). La gran mayoría de estudios analiza la capacidad de clareamiento de la especie sobre el bacterioplancton, con énfasis en especies patógenas asociadas a aguas eutrofizadas como *Vibrio anguillarum* y *Escherichia coli* (Fu et al. 2006, Longo et al. 2010, Longo et al. 2016b). En estos estudios se ha registrado una gran eficiencia de clareamiento sobre bacterias, pero a diferentes tasas, sugiriendo una retención y digestión diferencial según la especie (Fu et al. 2006, Maldonado 2010). Asimismo, *H. perlevis* presenta un microbioma de baja abundancia de microbios, por lo cual se espera que tenga altas tasas filtración y que no dependa de su microbioma para cumplir con sus demandas energéticas (Alex et al. 2012, Weigel y Erwin 2016, 2017, Pankey et al. 2022, Lamb y Watts 2023).

Las capacidades de clareamiento mencionadas sugieren que *H. perlevis* tiene un gran potencial como biorremediador y bioindicador de sitios altamente eutrofizados. Sin embargo, se desconoce la eficiencia de filtración que presenta esta especie sobre las comunidades naturales de microorganismos, las cuales presentan especies con gran diversidad de formas, estructuras, composición de macronutrientes, valores caloríficos y tamaños (Longo et al. 2010, Maldonado et al. 2010, Comerford et al. 2020). Puesto que el clareamiento de las esponjas sobre diferentes ítems alimenticios está directamente vinculado con la oferta trófica presente en el medio, resulta necesario conocer los recursos disueltos y particulados presentes en el ambiente para entender la relación de *H. perlevis* con los mismos. En la BSA los recursos nano y microplanctónicos presentan una mayor densidad en los canales internos, que se encuentran más cerca de los focos de contaminación (Esteves 1995, Saad et al. 2019). Si bien se observa una predominancia constante de células de menor tamaño durante todo el año, los picos de densidad del nanoplancton ocurren en primavera y verano como consecuencia, principalmente, de la liberación de zooides de *Ulva* spp. (Saad et al. 2019). La disponibilidad de estos recursos estaría maximizada por el proceso de eutrofización que fue documentado en la zona en 1995 (Estevez 1995), el cual se produce por el ingreso de nutrientes provenientes de los pozos sépticos urbanos que se comunican con la bahía a través de la napa freática y del vertido de efluentes de la industria pesquera (Martinetto et al. 2010, 2011, Teichberg et al. 2010). En la actualidad, el crecimiento poblacional de los centros urbanos en la BSA continúa con un plan de tratamiento de aguas servidas que no alcanza la totalidad de la población, además del vertido de aguas industriales (Giaccardi y Reyes, 2012). Surge entonces el interrogante de si este aumento de recursos disueltos y particulados por la intervención antrópica está facilitando la

presencia de *H. perlevis*, así como también un aumento de su cobertura en los sitios de mayor eutrofización a través de los años.

## **2. Objetivos e hipótesis.**

Objetivos de trabajo:

1. Evaluar, mediante experimentos en acuario, la capacidad de clareamiento y remoción de *Hymeniacidon perlevis* sobre los recursos particulados de diferentes fracciones de tamaño, así como las tasas de excreción de los recursos disueltos por parte de la esponja al sistema de estudio.
2. Evaluar la tendencia en la cobertura de *H. perlevis* en un periodo de 10 años (2012 – 2022) siguiendo el ciclo anual de esta especie, en un sitio interno del canal de marea principal de la BSA el cual es cercano a las fuentes de ingreso de nutrientes de origen antrópico.

La hipótesis general de este trabajo es que *H. perlevis* es una especie filtradora generalista y aprovecha los recursos particulados de una amplia gama de tamaños, presentes en el agua del canal principal de la BSA, lo cual ha favorecido su colonización y la expansión de su cobertura en los últimos 10 años.

Se plantean las siguientes hipótesis específicas (H) y predicciones (P)

(H1) *H. perlevis* es una especie generalista, removiendo todos los recursos tróficos particulados presentes en el ambiente. (P1) En presencia de la esponja la concentración de sólidos totales, materia orgánica y clorofila *a* será menor a medida que pase el tiempo de experimentación y, en congruencia, disminuirá la turbidez general del sistema;

(H2) Como *H. perlevis* es una esponja con baja abundancia de microbios, los procesos de nitrificación, anammox y fijación de nitrógeno son despreciables en relación con la remineralización producto del metabolismo activo de la esponja. (P2) Durante el experimento las tasas de excreción estimadas para el  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{PO}_4^{3-}$  serán positivas, siendo estos los principales compuestos de excreción de la esponja; mientras tanto la tasa de excreción de  $\text{NO}_x^-$  será constante y cercana a cero. Así mismo la tasa de excreción de  $\text{SiO}_3^{2-}$  será negativa por la disminución en la concentración de este compuesto, asociado al consumo por la esponja para ser utilizado en la producción de espículas;

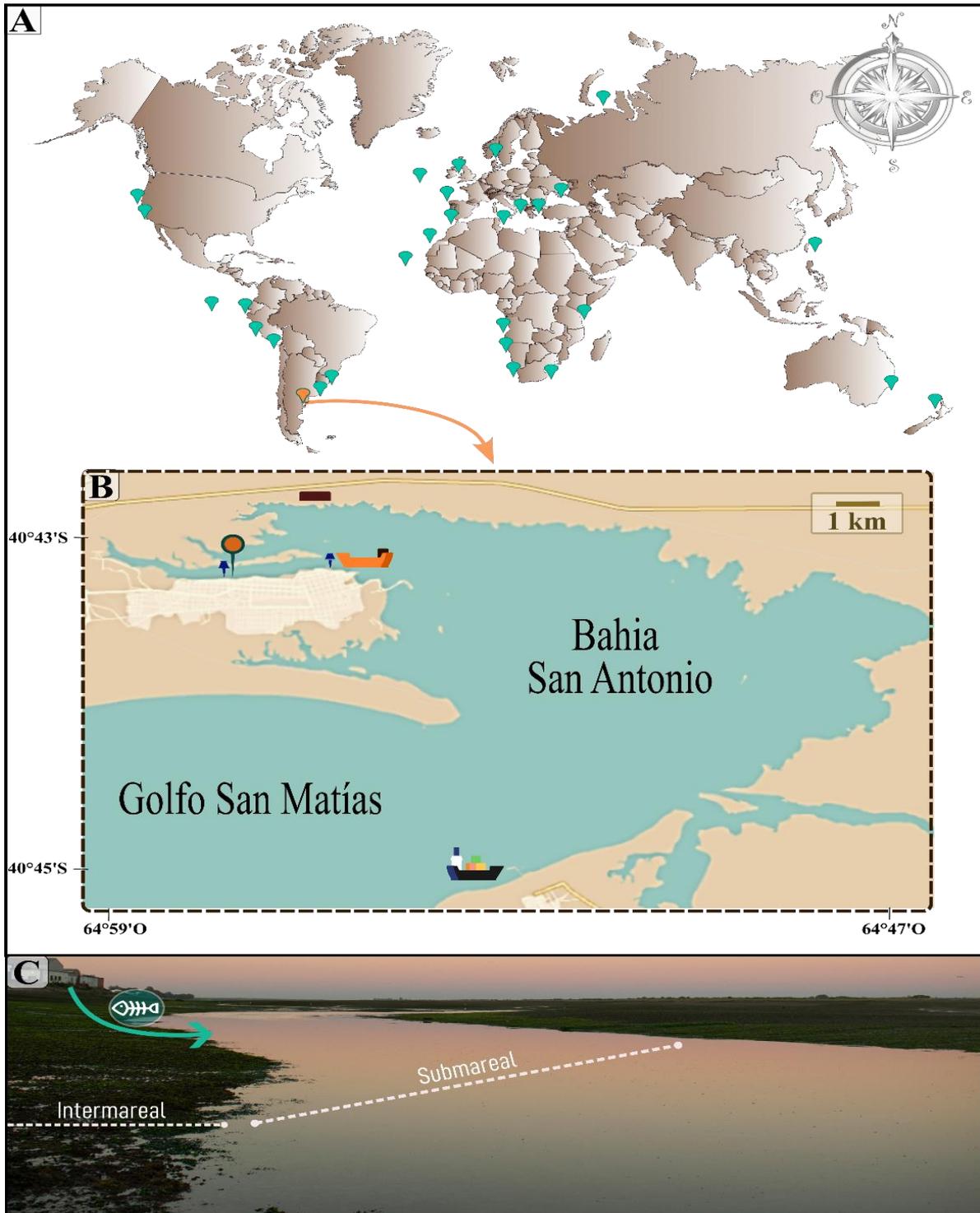
(H3) Esta especie se encuentra en expansión en el intermareal y submareal de un sitio interno de la BSA, el cual es cercano a las fuentes de contaminación por el ingreso de nutrientes antrópicos. (P3) Se encontrará una tendencia positiva en el porcentaje de cobertura de *H. perlevis* en el sitio de estudio entre el 2012 y 2022, siendo el aumento de cobertura mayor en el submareal que en el intermareal dado que este último es un ambiente estresante para las esponjas.

### **3. Metodología.**

#### **3.1. Sitio de estudio.**

El trabajo se realizó en un punto interno del canal de la Marea en la BSA ( $40^\circ 43' \text{ S}$ ,  $64^\circ 56' \text{ O}$ ). Este canal presenta una longitud de 11 km y recorre, en sentido Este-Oeste, el margen norte de la ciudad de San Antonio Oeste (SAO, Fig. 2 B). La BSA presenta un régimen de marea semidiurno con una amplitud de marea promedio anual de 7 m, el cual se incrementa durante las mareas extraordinarias (Fricke et al. 2016). Durante la bajamar, el canal de la Marea se reduce a un submareal estrecho y poco

profundo (menor 1 m en los sectores internos, observación personal), dejando expuesto por hasta 5 h un amplio intermareal de lodo (arcilla y limo), en menor medida arena, grava y aleros rocosos. Actualmente la ciudad cuenta con una red cloacal parcial, la cual drena a una planta de tratamiento de aguas servidas en el margen noroeste de la BSA, sobre la RN3 (Fig. 2 B). Según el último censo del Instituto Nacional de Estadística y Censos de la República Argentina ([www.indec.gob.ar](http://www.indec.gob.ar)) en 2022 solo el 56% de los hogares de la localidad de SAO tiene acceso a la cloaca, por ello la disposición de aguas domiciliarias de esta comunidad es principalmente a través de pozos negros (Giaccardi y Reyes 2012). Además, dentro de SAO existen plantas pesqueras que vierten el agua residual de su proceso productivo sin tratamiento previo en el Canal de la Marea. En este canal también opera el muelle “Heleno Arcángel”, el cual es de tipo pesquero artesanal. El impacto de la contaminación urbana en este ambiente se ha registrado a través de altas concentraciones de amonio y nitrato, así como *blooms* de macroalgas y proliferación de bacterias patógenas, características de ambientes eutrofizados (Narvarte y Williams 2004, Martinetto et al. 2010, 2011, Teichberg et al. 2010). El sitio de estudio también presenta contaminación por metales pesados (plomo, cobre, zinc, entre otros), provenientes de los desechos de una empresa minera que operaba en el municipio (<https://multisectorialplomo.org/>; Häder et al. 2020).



**Figura 2.** [A] Distribución global de *Hymeniacidon perlevis*, adaptado de worms database (<https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=132663>) destacando el registro del sitio de estudio en color naranja. [B] Ubicación de la Bahía San Antonio, se indican con  el sitio de estudio en la ciudad San Antonio Oeste,  la planta de tratamiento de aguas domiciliarias,  las plantas pesqueras dentro de la ciudad,  el Muelle “Heleno Arcángel” y  el Puerto San Antonio Este. [C] Detalle del sitio de estudio en marea baja, indicando las zonas de muestreo intermareal y submareal (líneas blancas), la presencia de una de las plantas pesqueras () y la zona de descarga del agua residual de la misma (línea verde).

## **3.2. Estimación de las tasas de clareamiento y excreción de *Hymeniacidon perlevis*.**

### **3.2.1 Experimento en laboratorio.**

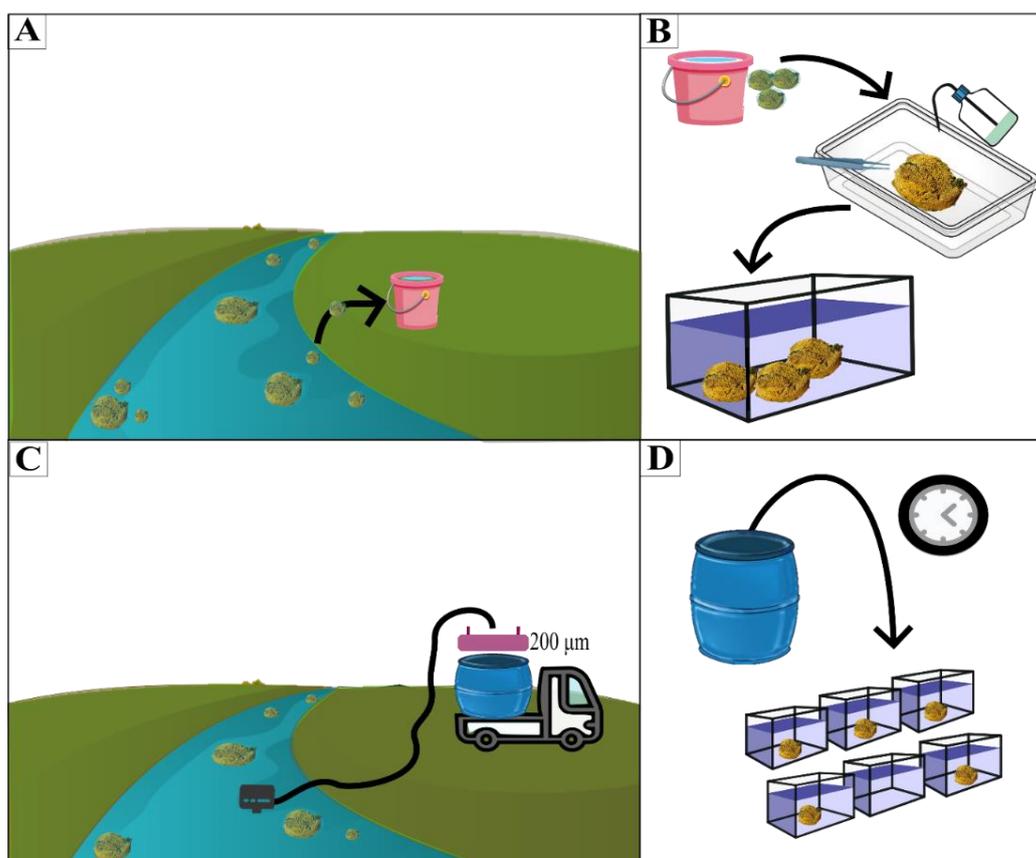
Con el objetivo de evaluar la capacidad de clareamiento y remoción de *H. perlevis* sobre los recursos particulados de diferentes fracciones de tamaño, así como las tasas de excreción de los recursos disueltos, se realizó un experimento en acuario durante la primavera de 2022. El experimento consistió en incubar esponjas, previamente aclimatadas, en peceras con agua de mar del sitio de estudio durante 24 h. Para ello, se recolectaron 5 ejemplares de esponja de igual tamaño (aproximadamente 10 x 10 cm) del sitio de estudio, y se transportaron en recipientes con agua al acuario de la Escuela Superior de Ciencias Marinas (ciudad de San Antonio Oeste) para su aclimatación a las condiciones experimentales (Fig. 3 A). Una vez allí, los ejemplares se limpiaron con agua de mar filtrada (1  $\mu\text{m}$ ) para extraer epibiontes y sedimento.

La aclimatación consistió en colocar grupos de 2 - 3 ejemplares en peceras de 15 l con agua del sitio de estudio filtrada (20  $\mu\text{m}$ ), con el fin de limitar la alimentación de las esponjas y mantener la limpieza de los ejemplares, y aireación durante 48 h (Fig. 3 B). Una vez finalizado el periodo de aclimatación, las esponjas fueron minuciosamente inspeccionadas en búsqueda de signos de decaimiento de los ejemplares (ejemplo: olor putrefacto, cambio en apariencia o en la consistencia, aparición de manchas blancas) para asegurar el buen estado de salud previo al experimento.

El agua para el experimento fue colectada en el sitio de estudio durante la bajamar del día previo al inicio del experimento, y filtrada a 200  $\mu\text{m}$  para extraer organismos del zooplancton que pudieran depredar sobre los mismos recursos particulados que las esponjas filtran (Fig. 3 C). Hasta el inicio del experimento el agua se almacenó en un tanque tricapa de

1000 l en oscuridad. Las unidades experimentales consistieron en recipientes de 40 l (N = 6), con un sistema de aireación y circulación de agua cerrado por medio de bombas sumergibles (Shanda, 3000 l/h) para evitar la sedimentación del material particulado.

El experimento se inició colocando al azar cinco esponjas en cinco peceras, una esponja por pecera. Una sexta pecera se dejó sin esponja para utilizar como control, permitiendo detectar variaciones en las variables respuesta (clorofila *a*, sólidos totales, materia orgánica, turbidez, amonio, óxidos nitrosos, fosfatos y silicatos; Tabla 1; 2) que puedan enmascarar cualquier efecto de la esponja (Fig. 3 D). Para evaluar el comportamiento de dichas variables a lo largo del experimento, se tomaron muestras de agua (5 l) en cada pecera a las 2, 5 y 24 h del inicio del experimento. Además, se tomó una muestra de agua del tanque de almacenamiento (por triplicado) representativa de las condiciones iniciales. Sin embargo, esta muestra no se tuvo en cuenta en los análisis subsiguientes, debido a que las condiciones de falta de luz durante las 24 h entre la colecta del agua y la toma de la muestra inicial no fueron representativas de las condiciones naturales (fotoperiodo 12:12) en las que se desarrolló el experimento. Por ejemplo, se sabe que en diatomeas marinas luego de 24 h de exposición a la oscuridad, la concentración de pigmentos fotosintéticos, entre ellos la clorofila *a*, disminuye un 60% aproximadamente (Katayama et al. 2011). Durante el tiempo que duró la experiencia, el acuario se mantuvo refrigerado a 17° C (temperatura del agua registrada durante la recolección y registros históricos de temperatura del agua en el sitio de estudio en primavera). En cada instancia de muestreo se midió la salinidad y temperatura del agua de la pecera control y una pecera tratamiento, con el fin de monitorear las condiciones generales de experimentación.



**Figura 3.** Ilustración de los pasos para el desarrollo del experimento. [A] Recolección de los especímenes de *Hymeniacion perlevis*, [B] su aclimatación previa a las condiciones experimentales, [C] recolección del agua usada para el experimento destacando el proceso de filtrado de la misma y [D] condiciones iniciales del experimento para evaluar el efecto de *Hymeniacion perlevis* sobre los recursos disueltos y particulados presentes en el agua del sitio de estudio.

Luego de 24 h de incubación se dio por finalizado el experimento. Se extrajeron las esponjas de las peceras y se estimó su biomasa a través del peso fresco y seco. Para ello, se colocaron los especímenes sobre papel absorbente durante 1 h, para eliminar el exceso de agua de su tejido. Posteriormente se pesaron (peso fresco, mg) y luego se secaron en estufa (a 70° C durante 72 h) para ser pesadas nuevamente (peso seco, mg). Las muestras de agua, inmediatamente luego de ser tomadas de las peceras a las 2, 5 y 24 h de experimentación, fueron procesadas para estimar las concentraciones de los recursos particulados en tres intervalos de tamaño creciente (Tabla 1) y de los recursos disueltos (Tabla 2) en las peceras. Estas

concentraciones se utilizaron para calcular las tasas de clareamiento, porcentaje de remoción y tasa de excreción de *H. perlevis*, según se detalla en las siguientes secciones.

### **3.2.2. Evaluación de los recursos particulados (> 0,7 $\mu\text{m}$ ).**

Con el objetivo de evaluar diferencias en las tasas de clareamiento entre los diferentes componentes del plancton, la muestra de cada pecera en los diferentes tiempos de extracción se procesó realizando un filtrado secuencial. Esto permitió medir el decaimiento de la clorofila *a* ( $\mu\text{g l}^{-1}$ ), sólidos totales ( $\text{mg l}^{-1}$ ), y materia orgánica ( $\text{mg l}^{-1}$ ) para tres fracciones de tamaño creciente de material particulado (Tabla 1). El filtrado secuencial consistió en la división de cada muestra de agua en tres submuestras de 1,5 l (a, b y c). La submuestra **a** se mantuvo sin prefiltrado, la submuestra **b** se prefiltró a 20  $\mu\text{m}$  de poro y la submuestra **c** se prefiltró a 2  $\mu\text{m}$  de poro (Fig. 4 A). Posteriormente, el agua resultante de a, b y c, se filtró usando filtros GF/F de 0,7  $\mu\text{m}$  de poro a través de un sistema de filtrado con bomba de vacío (entre 90 y 150 ml según la saturación del filtro). De esta manera el material particulado retenido comprendió los rangos de 0,7 - 200  $\mu\text{m}$  para la submuestra **a** (a partir de ahora fracción micro), de 0,7 - 20  $\mu\text{m}$  para la submuestra **b** (a partir de ahora fracción nano), y de 0,7 - 2  $\mu\text{m}$  para la submuestra **c** (a partir de ahora fracción pico). Los rangos de tamaño seleccionados fueron representativos del picoplancton en la fracción pico, picoplancton y nanoplancton en la fracción nano, y picoplancton, nanoplancton y microplancton en la fracción micro, incluyendo también detritos y materia orgánica. Este procedimiento se repitió para la estimación de clorofila *a*, sólidos totales y materia orgánica de cada fracción de material particulado en cada pecera a las 2, 5 y 24 h (Fig. 4 B).

**Tabla 1.** Resumen de las variables usadas para caracterizar los recursos particulados de las fracciones de tamaño entre 0,7 - 200  $\mu\text{m}$  (micro), 0,7 - 20  $\mu\text{m}$  (nano) y 0,7 - 2  $\mu\text{m}$  (pico).

	<i>Estima:</i>	<i>Interpretación</i>	
		<i>Aumento:</i>	<i>Disminución:</i>
<b>Clorofila <i>a</i></b>	Abundancia de fitoplancton	Reproducción de fitoplancton	Clareamiento de esponja sobre fitoplancton
<b>Sólidos totales</b>	Concentración de plancton, detritos y materia orgánica en suspensión	Producción de plancton, liberación de detritos y/o liberación de materia orgánica	Clareamiento de esponja sobre plancton, detritos y/o materia orgánica
<b>Materia orgánica</b>	Concentración de plancton y materia orgánica en suspensión	Producción de plancton y/o liberación de materia orgánica	Clareamiento de esponja sobre plancton y/o materia orgánica
<b>Turbidez</b>	Atenuación de la luz visible en función del material particulado y disuelto presente en el agua	Producción de plancton, aumento de detritos y/o materia orgánica en suspensión	Clareamiento de esponja sobre plancton, detritos y/o materia orgánica en suspensión

La concentración de clorofila *a* se estimó mediante la extracción de los pigmentos totales de los filtros con etanol y la posterior medición de la absorción con espectrofotómetro (Persee T7S) (54 medidas de chl-*a* en total), siguiendo la metodología en Gastaldi et al. (2021). Brevemente, los filtros se incubaron en 5 ml de etanol (96%) por 16 h en oscuridad a 4 °C. Luego, el material de la extracción fue centrifugado (2400 rpm, durante 10 min). Posteriormente, se realizaron las lecturas en el espectrofotómetro en las longitudes de onda 632, 649, 665 y 696 nm. No fue posible estimar la concentración de clorofila *a* para la fracción pico debido a la baja concentración de pigmentos fotosintéticos en esta fracción de tamaño. Para la cuantificación de los sólidos totales, los filtros de 0,7  $\mu\text{m}$  se secaron en estufa (60 °C, 48 h) y se pesaron. Finalmente, fueron muflados (500 °C por 3 h) y pesados nuevamente para obtener el peso de la materia inorgánica y estimar, por diferencia, el contenido de materia orgánica siguiendo la relación:

Sólidos totales (mg) = materia inorgánica (mg) + materia orgánica (mg).

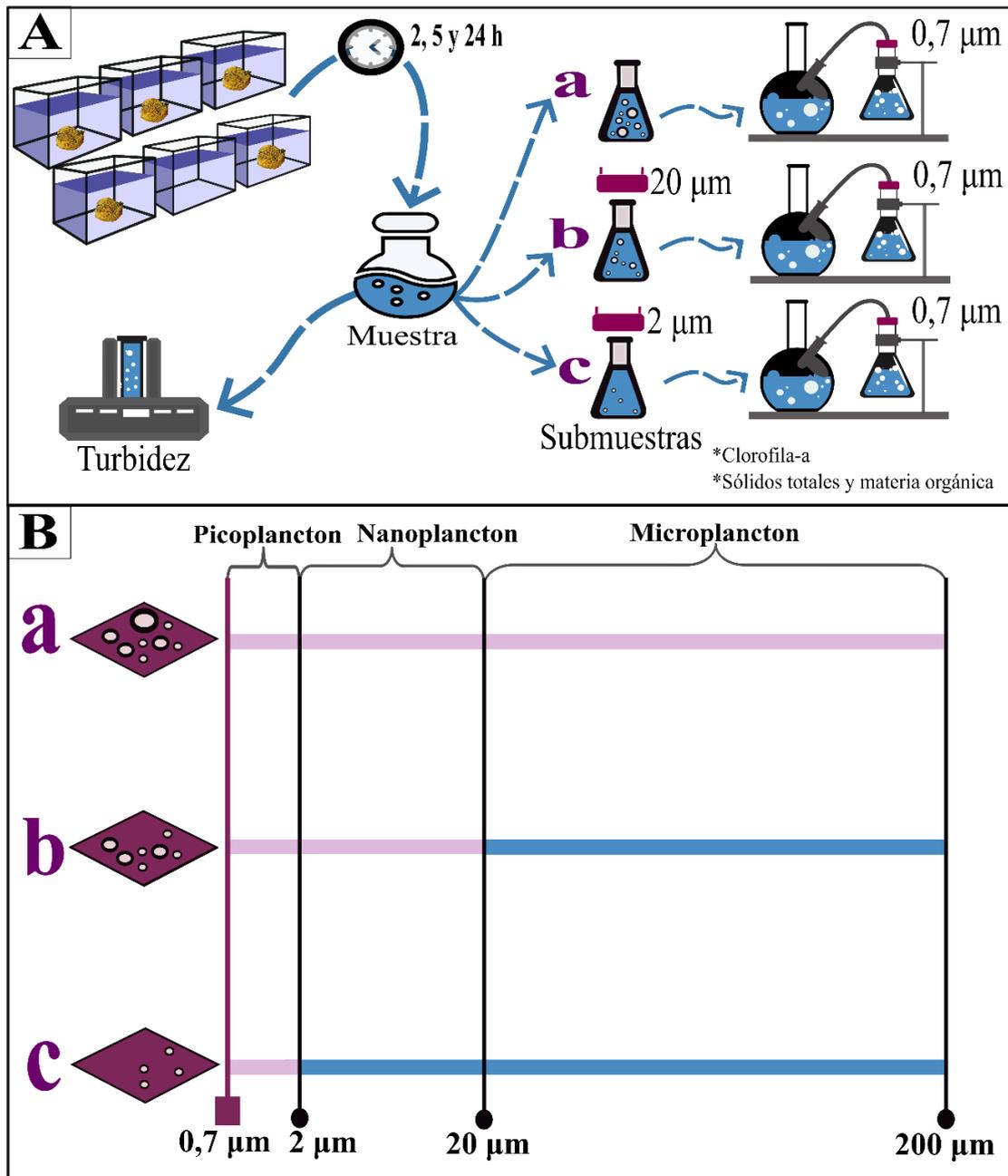
Adicionalmente, previo al prefiltrado, se extrajo un volumen de 5 ml para medir la turbidez en cada unidad experimental y tiempo de muestreo, usando un turbidímetro marca Hach 2100Q (NTU).

En una inspección preliminar del comportamiento de las variables durante el experimento, se observó que los cambios entre las 2 y 5 h (a partir de ahora intervalo 1) fueron diferentes al comportamiento entre las 5 y 24 h de experimentación (a partir de ahora intervalo 2), por ello se decidió analizar estos intervalos individualmente.

Para evaluar los cambios en la turbidez, y de la concentración de clorofila *a*, sólidos totales y materia orgánica de las tres fracciones de tamaño en cada intervalo de experimentación, se calculó la tasa de clareamiento para cada esponja siguiendo la fórmula de Coughlan (1969):

$$\text{Tasa de Clareamiento} = \frac{\left(\ln \frac{C_0}{C_t}\right) V}{TP}$$

La misma estima la remoción de partículas del agua en función de la concentración inicial ( $C_0$ ), y en cada tiempo de muestreo ( $C_t$ ), el tiempo de exposición ( $T$ ), el volumen de agua de la pecera ( $V$ ) y la biomasa de la esponja ( $P$ ). Para el intervalo 1 de experimentación se usó como  $C_0$  la concentración a las 2 h y  $C_t$  la concentración a las 5 h. En el segundo intervalo de experimentación se tomó como  $C_0$  la concentración a las 5 h y  $C_t$  la concentración a las 24 h. Se reporta la tasa de clareamiento de las cinco esponjas correspondiente a cada intervalo para turbidez, clorofila *a*, sólidos totales y materia orgánica en las tres fracciones tamaño consideradas (media  $\pm$  desvío estándar). La misma indica la concentración de cada variable removida por litro de agua, por hora transcurrida, por gramo de peso seco de esponja ( $l\ h^{-1}\ g^{-1}$ ).



**Figura 4.** [A] Proceso de recolección una muestra de agua en una pecera a las 2, 5 o 24 h de experimentación, con detalle en el prefiltro para estimar las concentraciones de clorofila *a*, sólidos totales y materia orgánica en diferentes fracciones de tamaño, y estimación de la turbidez. [B] Fracciones de tamaño de material particulado retenido en los filtros GF/F 0,7 µm (◆) para estimar clorofila *a*, sólidos totales y materia orgánica, (a) fracción micro (0,7 - 200 µm); (b) fracción nano (0,7 - 20 µm); y (c) fracción pico (0,7 - 2 µm).

Para las variables antes mencionadas se estimó, además, el porcentaje de remoción como una medida global del comportamiento de cada variable a las 24 h de experimentación, mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Porcentaje de remoción} = 100 * \left[ \frac{(C_0 - C_t)}{C_t} \right]$$

donde  $C_0$  es la concentración a las 2 h y  $C_t$  la concentración a las 24 h para cada variable. Se reporta el porcentaje de remoción de las cinco esponjas a las 24 h (media  $\pm$  desvío estándar) para turbidez, y para clorofila *a*, sólidos totales y materia orgánica de cada fracción de tamaño.

### 3.2.3. Evaluación de los recursos disueltos (< 0,7 $\mu\text{m}$ ).

Con el fin de monitorear el decaimiento y/o producción de nutrientes disueltos en el agua por parte de *H. perlevis*, se estimó la concentración de  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{NO}_x$  (nitritos y nitratos) y  $\text{SiO}_3^{2-}$  en cada instancia de muestreo durante el experimento (Tabla 2). Para ello, se filtraron a 0,7  $\mu\text{m}$  de poro 500 ml de agua de cada pecera en cada tiempo de muestreo (ver sección 3.2.2), y se conservaron a -20 °C hasta su análisis, siguiendo la metodología de Strickland y Parsons (1972). Debido al extravío de una muestra de la pecera con la esponja 5, la misma no fue incluida en los análisis.

El cambio en la concentración de nutrientes disueltos se analizó calculando la tasa de excreción (Stabili et al. 2006) de cada recurso disuelto considerado para cada esponja en cada intervalo de experimentación, siguiendo la fórmula:

$$\text{Tasa de excreción} = \frac{(N_t - N_0) V}{TP}$$

donde  $N_t$  es la concentración de cada nutriente en el tiempo de muestreo  $t$ ,  $N_0$  la concentración en el tiempo inicial,  $V$  el volumen de agua en la pecera,  $T$  el tiempo en horas y  $P$  la biomasa de la esponja. Se reporta la tasa de excreción para las cinco esponjas (media  $\pm$  desvío estándar), expresado en mg de nutriente excretado por gramo de peso seco de esponja por hora transcurrida ( $\text{mg g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ), para los intervalos 1 y 2 de experimentación.

**Tabla 2.** Variables usadas para caracterizar los recursos disueltos presentes en el agua de mar. <sup>2</sup> Pared celular silíceas de diatomeas.

Variables:	Estima:	Interpretación	
		Aumento:	Disminución:
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	Producto de desecho metabólico	Presencia de actividad metabólica	Consumo por microorganismos simbiotes y/o libres
<b>PO<sub>4</sub><sup>3-</sup></b>	Producto de desecho metabólico de poríferos y nutriente para plancton	Presencia de actividad metabólica de las esponjas	Consumo por plancton
<b>NO<sub>x</sub></b>	Proceso de nitrificación de simbiotes y/o uso por fitoplancton como nutriente	Presencia de actividad nitrificante	Consumo por parte de fitoplancton
<b>SiO<sub>3</sub><sup>2-</sup></b>	Material usado por las esponjas y diatomeas para construir espículas y frústulos <sup>2</sup> respectivamente	Degradación de frústulos y/o espículas	Consumo por esponjas para construir espículas

### 3.2.4. Análisis estadísticos.

Con el fin de incorporar las variaciones que no son explicadas por la presencia de la esponja durante el experimento en el análisis de las tasas de clareamiento, porcentajes de remoción y tasas de excreción de *H. perlevis*, se estimó el cambio de cada variable en la pecera control, como se expresa a continuación:

$$\Delta X_n = X_{ct} - X_{ct-1}$$

siendo  $\Delta X_n$  la variación de la variable X,  $X_{ct}$  el valor de la variable en la pecera control en el tiempo de muestreo t y  $X_{ct-1}$  el valor de la variable registrado en el tiempo anterior. El valor obtenido ( $\Delta X_n$ ) se restó al valor de cada variable (concentración de clorofila *a*, sólidos totales y materia orgánica en tres fracciones de tamaño, turbidez, concentración de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, NO<sub>x</sub> y SiO<sub>3</sub><sup>2-</sup>) en cada pecera con esponja en el tiempo correspondiente. Estos nuevos valores se reportan en la sección Resultados y fueron usados para calcular la tasa de clareamiento, porcentaje de remoción y tasa de excreción.

Las diferencias de cada variable entre tiempos de muestreo se testearon con la prueba Wilcoxon-Mann-Whitney para muestras pareadas. Se realizó un test comparando los valores entre las 2 y 5 h, y otro para comparar entre las 5 y 24 h de experimentación. También se compararon las tasas de clareamiento y excreción entre el intervalo 1 y el intervalo 2 de experimentación. Se eligió la prueba no paramétrica debido a la falta de normalidad y homocedacea de la mayoría de las variables analizadas. Todos los análisis, gráficos y test fueron realizados en R (R Core Team 2023) usando los paquetes rstatix (Kassambara 2023) y ggplot2 (Wickham et al. 2016).

### **3.3. Tendencia de la cobertura de *H. perlevis*.**

Para evaluar la tendencia en el porcentaje de cobertura (a partir de ahora cobertura) de *H. perlevis* se realizó un muestreo mensual entre septiembre de 2021 y agosto de 2022 en un área de 2000 m<sup>2</sup> en un sitio interno del canal de la Marea (Fig. 2 B), del cual se tienen datos históricos de cobertura anual para la especie y se usaron para los análisis de esta tesis (años 2012 y 2013; Gastaldi et al. 2016). En todos los muestreos, la cobertura de *H. perlevis* se estimó a partir de registros fotográficos de *cuadrados* (50 x 50 cm; Fig. 5 A) tomados durante la bajamar, utilizando la misma metodología que la de los registros históricos. En cada muestreo, se ubicaron 10 cuadrados al azar en el intermareal y en el submareal del sitio de estudio (N total = 20). Antes de tomar la fotografía, se removió el dosel de macroalgas que pudiera ocultar la presencia de *H. perlevis* (Fig. 5 B). Para calcular la cobertura de *H. perlevis* (% como proxy de abundancia) las imágenes se procesaron con el software ImageJ (Fig. 5 C). Las imágenes de los años 2012 y 2013 fueron re-analizadas por la presente tesista para evitar que las diferencias de criterios entre observadores introduzcan una fuente de error en los resultados. Debido a que los muestreos del 2012 y 2013 tuvieron una resolución temporal mayor (muestreos

quincenales), para el re-análisis se seleccionaron aquellos muestreos con fechas cercanas o coincidentes con la fecha de muestreo del 2021-2022.



**Figura 5.** Fotos del muestreo de abril 2022 en el submareal. [A] Imagen del cuadrado previo a la remoción de las macroalgas. [B] Imagen tomada luego de remover las macroalgas. [C] Polígono color magenta copiando el contorno de una esponja utilizando el software ImageJ.

### 3.3.1. Análisis estadísticos.

La tendencia interanual del porcentaje de cobertura de esponjas se evaluó con modelos lineales generales, a partir de los datos obtenidos del re-análisis de registros fotográficos de los años 2012 y 2013, y el análisis de registros fotográficos obtenidos entre septiembre de 2021 y agosto de 2022. Se usaron como variable predictora el año de muestreo, las estaciones, debido a la naturaleza estacional del ciclo de vida de *H. perlevis* (Stone 1970, Cao et al. 2007, Gastaldi et al. 2016, Marelló Buch et al. 2024, Mercurio et al. 2023). También se incluyó como variable predictora el ambiente, ya que estudios previos reportan diferencias en la cobertura de *H. perlevis* entre el ambiente intermareal y submareal (con mayor cobertura en el submareal, Gastaldi et al. 2016). Se evaluaron siete modelos entre los que se contemplaron tanto los efectos individuales como el efecto aditivo y de interacción entre las variables predictoras consideradas. Se usó una distribución Binomial Negativa con función de enlace logaritmo natural. La selección de modelo se basó en el criterio de información de Akaike (AICc), que establece un

criterio de selección del modelo más sencillo entre los que presentan una diferencia de Akaike (Delta AICc) menor a 2 (Anderson y Burnham 2004). También se reporta la función de verosimilitud logarítmica (LogLik), la cual evalúa el ajuste del modelo (a mayor LogLik, mayor ajuste). Se testeó la normalidad de los datos a través del test Shapiro-Wilks.

En la sección Resultados se reportan los valores de cobertura observados (media  $\pm$  desvío estándar), las pendientes extraídas del modelo seleccionado y destransformadas (*beta*) y el porcentaje de cambio anual calculado como:  $[beta - 1]*100$ .

Todos los análisis, gráficos y test fueron realizados en R usando los paquetes rstatix, CGPfunctions (Powell C 2020), MASS (Venables y Ripley 2002), MuMIn (Bartoń 2023), report (Makowski et al. 2023), emmeans (Lenth et al. 2022) y ggplot2.

## **4. Resultados.**

### **4.1. Experimento en laboratorio.**

Durante el experimento, la temperatura y salinidad del agua fue de  $18,58 \pm 0,53$  °C y  $31,54 \pm 0,94$  ups, respectivamente. Las esponjas usadas para el experimento presentaron una biomasa de 55,79 g, 48,82 g, 58,38 g, 60,14 g y 25,8 g de peso seco (esponjas de peceras 1 a 5, respectivamente). Se reportan las condiciones de aclimatación en material complementario (Tabla S1).

#### **4.1.1. Clareamiento y remoción de *H. perlevis* sobre los recursos particulados.**

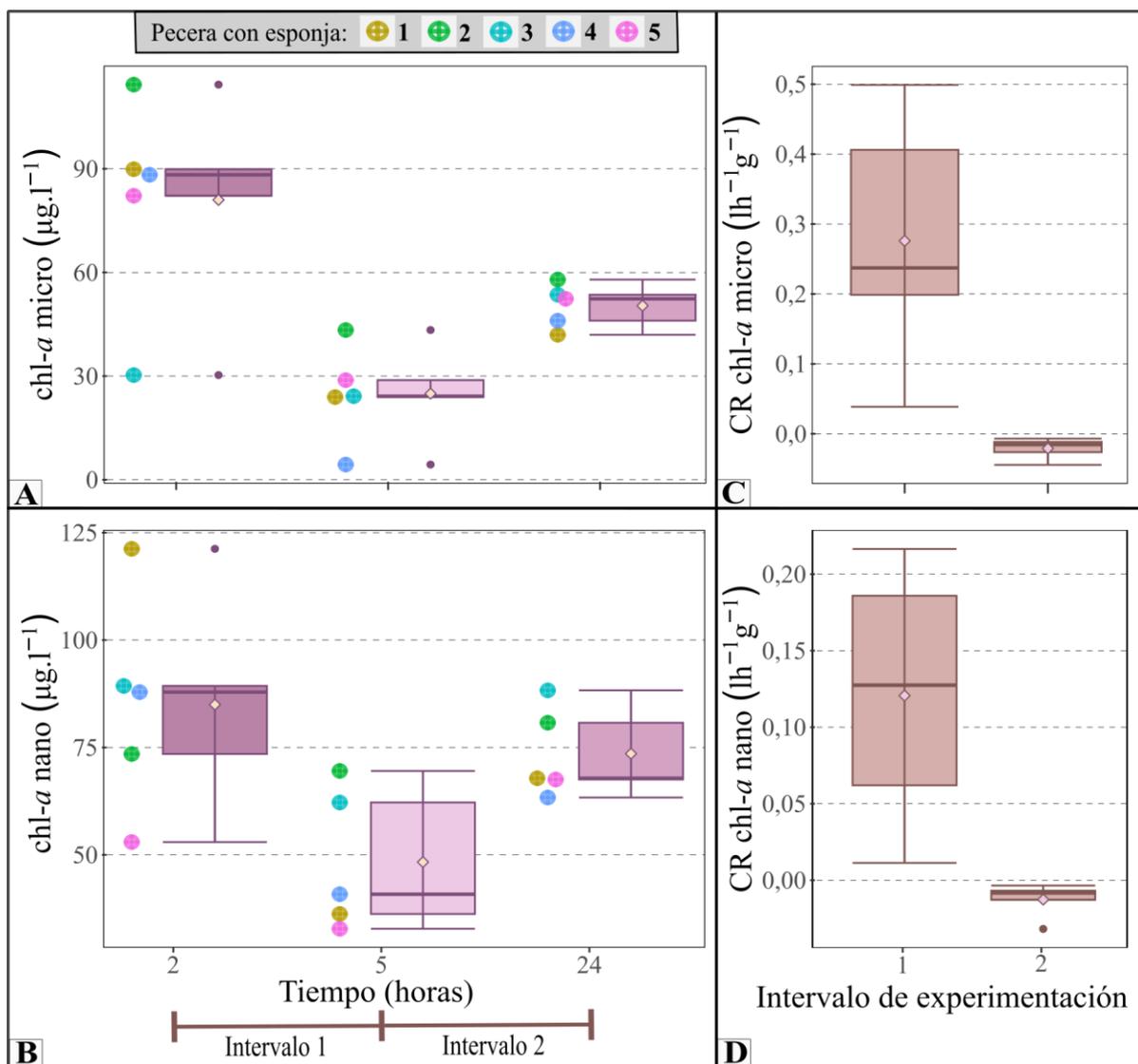
Durante el experimento se observó que la concentración de clorofila *a*, sólidos totales y materia orgánica de la fracción micro fueron estadísticamente diferentes entre las 2 y 5 h de experimentación, siendo menores a las 5 h (Tabla 3; Fig. 6A, 7A y 8A). Al analizar la clorofila

*a* y sólidos totales de la fracción nano también se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las 2 y 5 h, siendo menores a las 5 h, mientras que la materia orgánica se mantuvo sin cambios estadísticamente significativos (Tabla 3; Fig. 6B, 7B y 8B). En relación a la fracción pico, los sólidos totales se mantuvieron sin cambios estadísticamente significativos, mientras que la materia orgánica fue estadísticamente diferente entre las 2 y 5 h, siendo menor a las 5 h de experimentación (Tabla 3; Fig. 7C y 8C).

Entre las 5 y 24 h del experimento, la concentración de sólidos totales y materia orgánica de la fracción micro se mantuvieron sin cambios estadísticamente significativos, mientras que la clorofila *a* fue estadísticamente diferente y mayor a las 24 h (Tabla 3; Fig. 6A, 7A y 8A). En relación a la fracción nano, la concentración de clorofila *a*, sólidos totales, y materia orgánica también fueron estadísticamente diferentes y mayores a las 24 h (Tabla 3; Fig. 6B, 7B y 8B). Por el contrario, los sólidos totales y materia orgánica de la fracción pico fueron estadísticamente diferentes y menores a las 24 h (Tabla 3; Fig. 7C y 8C). La turbidez fue estadísticamente diferente entre las 2 y 5 h, siendo menor a las 5 h, y luego se mantuvo sin diferencias estadísticamente significativas entre las 5 y 24 h (Tabla 3; Fig. 9).

**Tabla 3.** Comparaciones entre tiempos del experimento para la clorofila *a*, sólidos totales y materia orgánica de las fracciones micro (0,7 - 200  $\mu\text{m}$ ), nano (0,7 - 20  $\mu\text{m}$ ), y pico (0,7 - 2  $\mu\text{m}$ ), y para la turbidez. Se incluye la comparación de las respectivas tasas de clareamiento entre intervalos de experimentación. En todos los casos se reporta el estadístico *v* de la prueba Wilcoxon-Mann-Whitney y el valor *p* de cada test indicando con \* cuando se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

	<i>Comparación de concentración entre tiempos</i>				<i>Comparación de clareamiento (<math>l\ h^{-1}\ g^{-1}</math>) entre intervalos del experimento</i>	
	<i>2 vs. 5 h</i>		<i>5 vs. 24 h</i>		<i>v</i>	<i>p</i>
	<i>v</i>	<i>p</i>	<i>v</i>	<i>P</i>	<i>v</i>	<i>p</i>
<b>Clorofila <i>a</i> (<math>\mu\text{g}\ l^{-1}</math>)</b>						
<i>Micro</i>	21	<b>0,03*</b>	0	<b>0,03*</b>	21	<b>0,03*</b>
<i>Nano</i>	21	<b>0,03*</b>	0	<b>0,03*</b>	21	<b>0,03*</b>
<b>Sólidos totales (<math>\text{mg}\ l^{-1}</math>)</b>						
<i>Micro</i>	21	<b>0,03*</b>	1	0,06	21	<b>0,03*</b>
<i>Nano</i>	21	<b>0,03*</b>	0	<b>0,03*</b>	21	<b>0,03*</b>
<i>Pico</i>	20	0,06	21	<b>0,03*</b>	8	0,67
<b>Materia orgánica (<math>\text{mg}\ l^{-1}</math>)</b>						
<i>Micro</i>	21	<b>0,03*</b>	5	0,59	21	<b>0,03*</b>
<i>Nano</i>	20	0,06	0	<b>0,03*</b>	15	0,4
<i>Pico</i>	21	<b>0,03*</b>	21	<b>0,03*</b>	20	0,06
<b>Turbidez (NTU)</b>						
	21	<b>0,03*</b>	13	0,6	21	<b>0,03*</b>

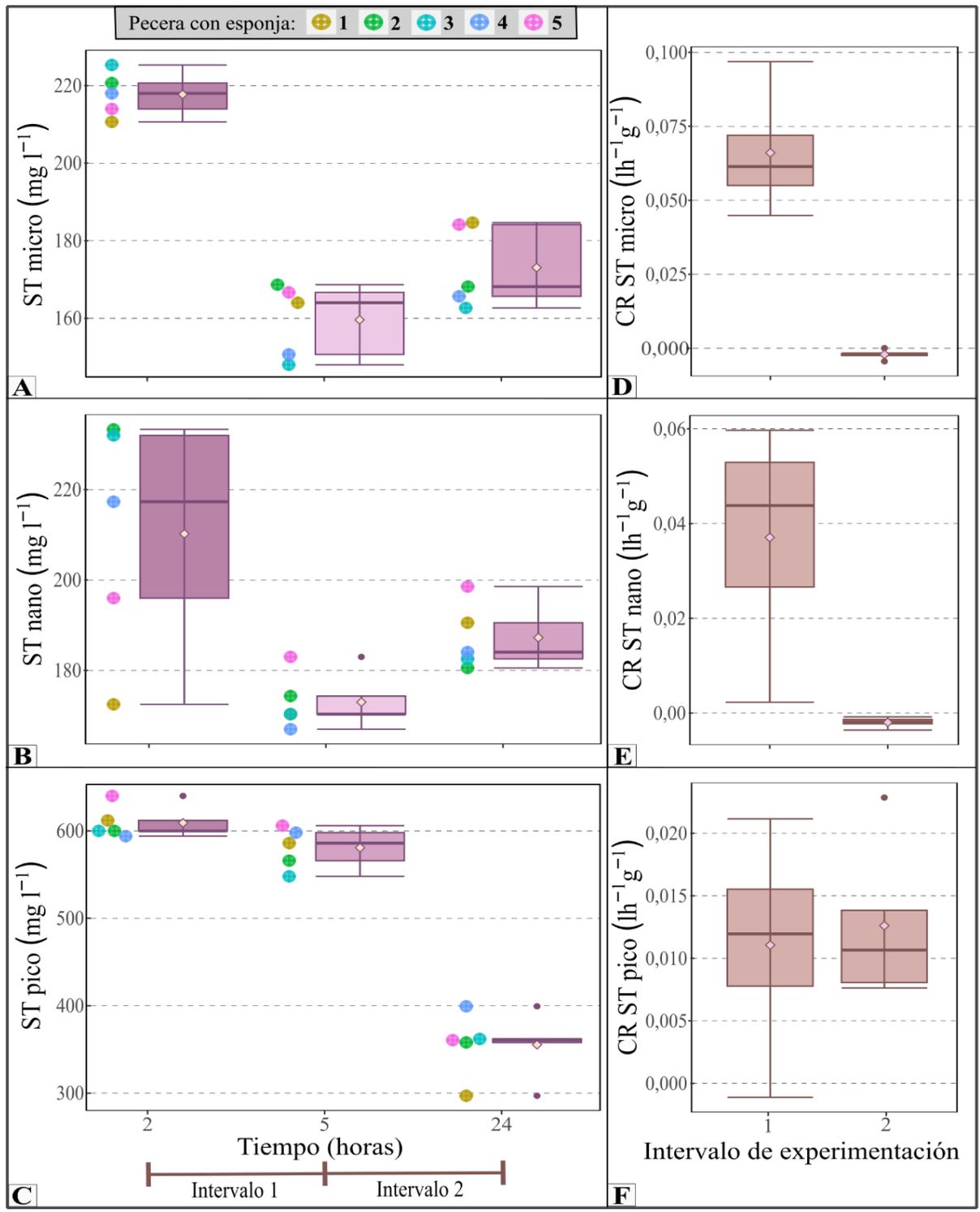


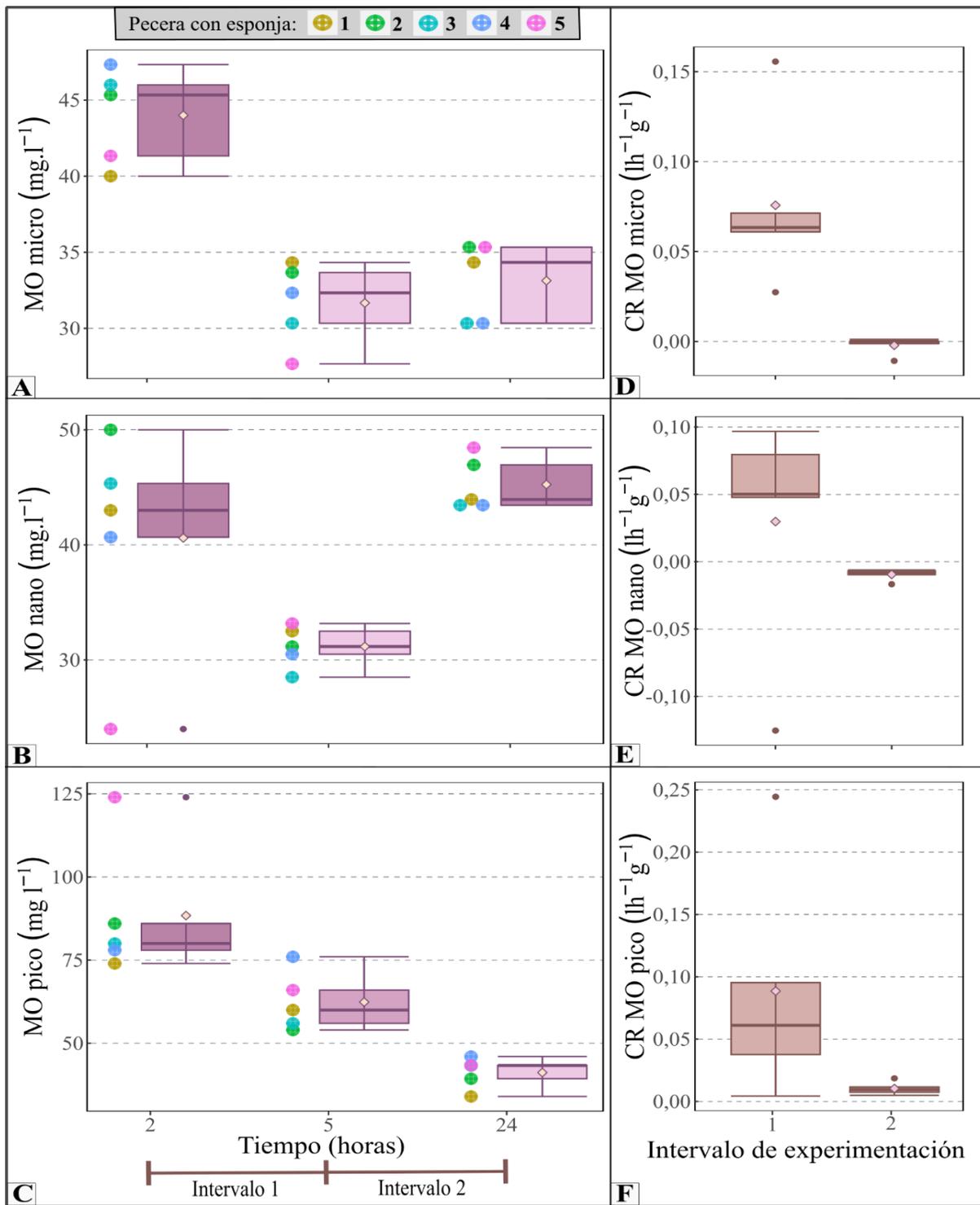
**Figura 6.** Concentración de clorofila *a* de: [A] fracción micro y [B] nano a las 2, 5 y 24 h de experimentación, se detalla los valores individuales de cada pecera con puntos siguiendo los colores indicados en el recuadro superior gris; se incluyen además las tasas de clareamiento (TC) estimadas para la clorofila *a* para: [C] fracción micro y [D] nano para cada intervalo de tiempo de experimentación. La línea en cada caja representa la mediana, los límites de la caja el primer cuartil y el tercer cuartil, los bigotes representan los valores mínimo y máximo y los diamantes las medias. Los puntos representan valores atípicos.

La tasa de clareamiento estimada para la clorofila *a*, sólidos totales, y materia orgánica de la fracción micro fue estadísticamente diferente entre intervalos de tiempo, siendo menor en el intervalo 2 de experimentación (Tabla 3; Fig. 6C; 7D; 8D). Al analizar el clareamiento sobre la fracción nano, se observan diferencias estadísticamente significativas en las tasas calculadas

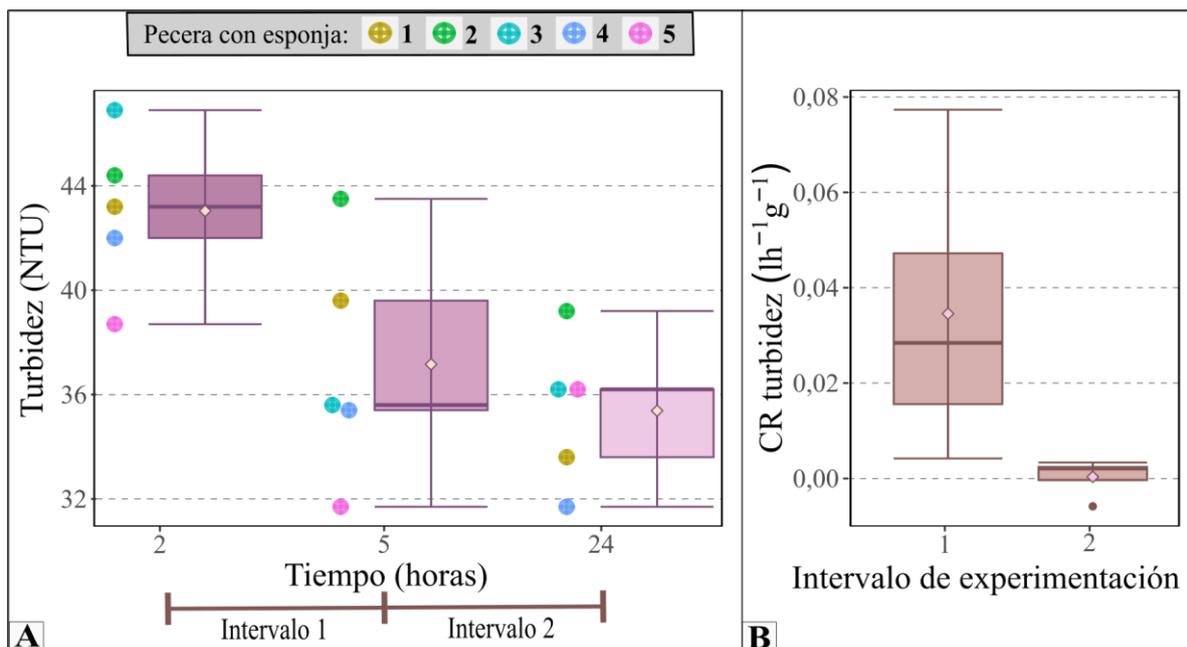
para la clorofila *a* y sólidos totales entre intervalos, siendo menores en el intervalo 2. Sin embargo, las tasas de clareamiento sobre la materia orgánica permanecen sin cambios estadísticamente significativos (Tabla 3; Fig. 6D; 7E; 8E). Las tasas de clareamiento estimadas para los sólidos totales y materia orgánica del intervalo de la fracción pico se mantienen sin cambios estadísticamente significativos entre intervalos de experimentación (Tabla 3; Fig. 7F; 8F). En relación a la turbidez, las tasas de clareamiento fueron estadísticamente diferentes y menores en el intervalo 2 (Tabla 3; Fig. 9B).

Los porcentajes de remoción de *H. perlevis* a las 24 h de las distintas variables fue mayor para la fracción pico, seguido de la fracción micro, y finalmente, la fracción nano presentó el menor porcentaje de remoción (Tabla 4). En relación con la clorofila *a*, el porcentaje de remoción fue mayor para la fracción micro y menor para la fracción nano (Tabla 4).





**Figura 8.** Concentración de materia orgánica (MO) de: [A] fracción micro, [B] fracción nano y [C] fracción pico a las 2, 5 y 24 h de experimentación, se detalla los valores individuales de cada pecera con puntos siguiendo los colores indicados en el recuadro superior gris; se incluyen además las tasas de clareamiento (TC) estimadas para la MO de: [D] fracción micro, [E] fracción nano y [F] fracción pico para cada intervalo de tiempo de experimentación. La línea en cada caja representa la mediana, los límites de la caja el primer cuartil y el tercer cuartil, los bigotes representan los valores mínimo y máximo, y los diamantes las medias. Los puntos representan valores atípicos.



**Figura 9.** [A] Turbidez estimada a las 2, 5 y 24 h de experimentación, se detalla los valores individuales de cada pecera con puntos siguiendo los colores indicados en el recuadro superior gris; y [B] tasas de clareamiento (TC) de la turbidez estimadas para cada intervalo experimentación. La línea en cada caja representa la mediana, los límites de la caja el primer cuartil y el tercer cuartil, los bigotes representan los valores mínimo y máximo y los diamantes las medias. Los puntos representan valores atípicos.

**Tabla 4.** Porcentaje de remoción de *H. perlevis* sobre las variables clorofila *a*, sólidos totales, y materia orgánica en cada fracción de tamaño de material particulado (media  $\pm$  desvío estándar) a las 24 h. En cada caso se reportan, además, los límites inferiores y superiores observados de cada variable.

<i>Variables</i>	<i>Fracción micro</i> (de min. a max.)	<i>Fracción nano</i> (de min. a max.)	<i>Fracción pico</i> (de min. a max.)
Clorofila <i>a</i>	22 $\pm$ 55,6 (de -33,6 a 77,6)	7,15 $\pm$ 28,81 (de -21,66 a 35,96)	-
Sólidos totales	20,38 $\pm$ 6,82 (de 13,56 a 27,2)	9,49 $\pm$ 14,67 (de -5,15 a 24,16)	41,58 $\pm$ 6,8 (de 34,78 a 48,38)
Materia orgánica	24,14 $\pm$ 10,41 (de 13,73 a 34,55)	-20,12 $\pm$ 45,98 (de -66,1 a 25,86)	52,05 $\pm$ 9,2 (de 42,85 a 61,25)
Turbidez	17,55 $\pm$ 8 (de 9,55 a 25,55)		

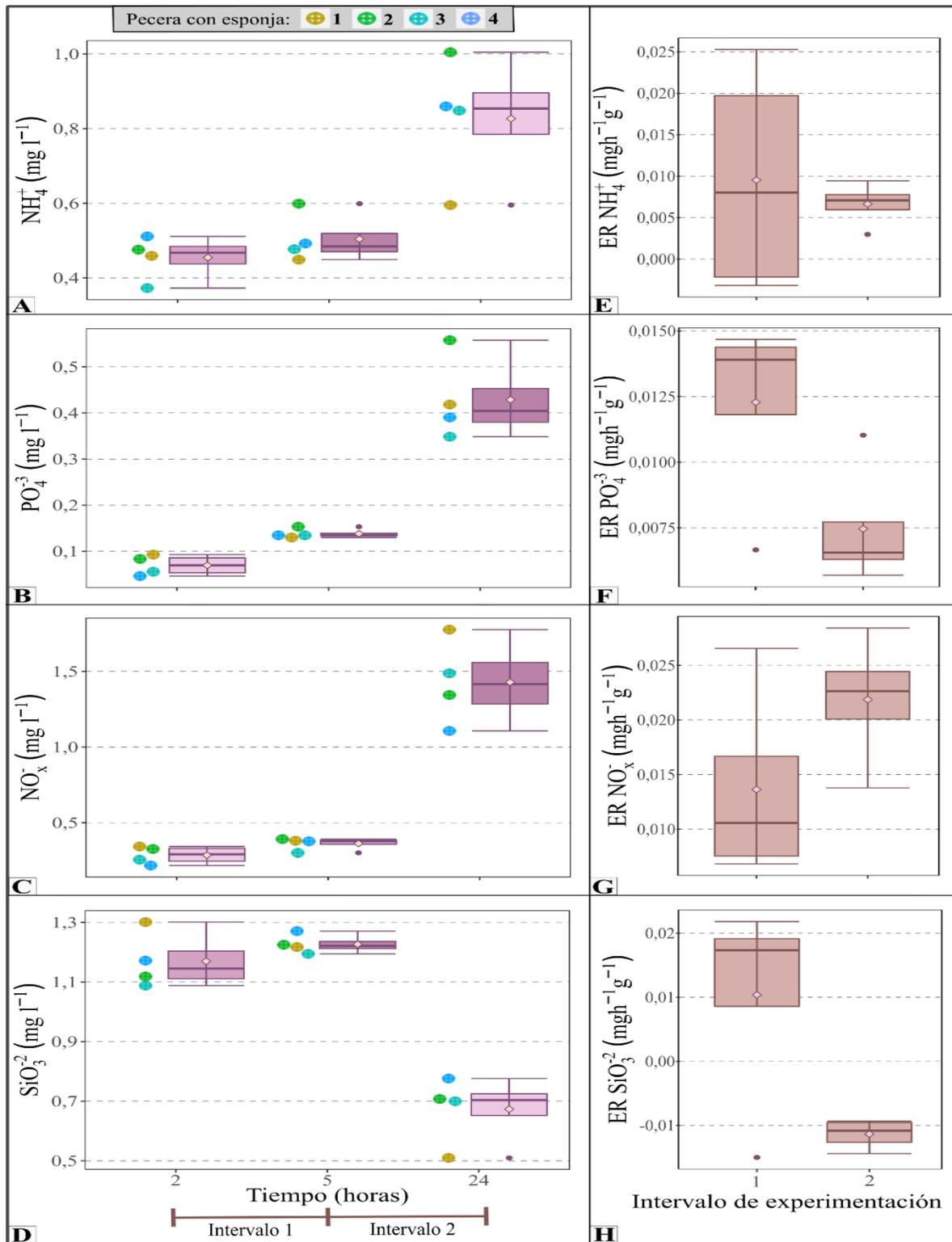
#### 4.1.2 Excreción de recursos disueltos por *H. perlevis*.

Entre las 2 y 5 h se observa que la concentración de  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{SiO}_3^{2-}$  se mantienen sin cambios estadísticamente significativos, sin embargo el  $\text{PO}_4^{3-}$  y el  $\text{NO}_x^-$  fueron estadísticamente diferentes y mayores a las 5 h (Tabla 5; Fig. 10). Entre las 5 y 24 h de experimentación se

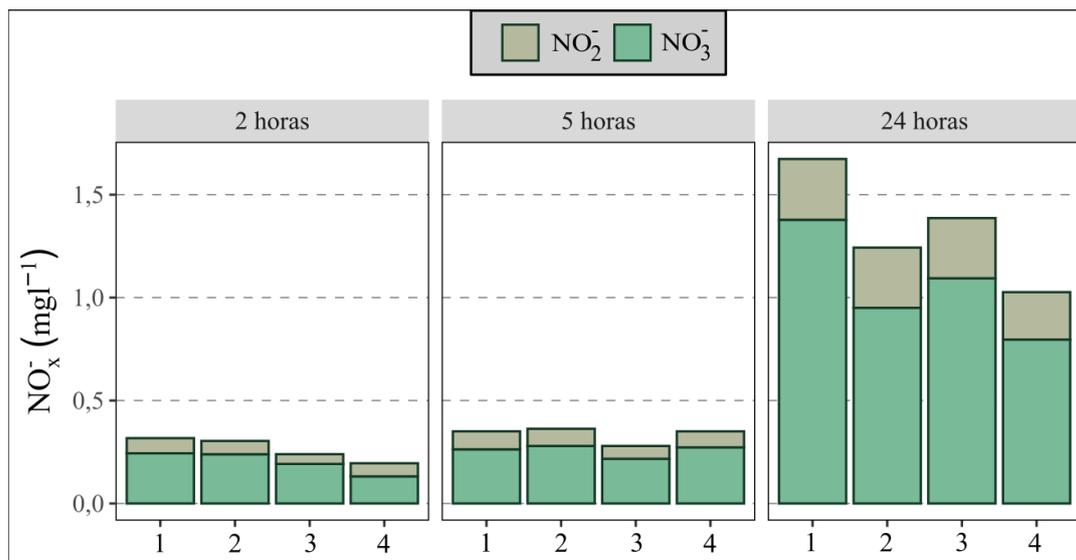
observa que la concentración de  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{NO}_x^-$  y  $\text{SiO}_3^{2-}$  fueron estadísticamente diferentes, siendo la concentración de  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$  y  $\text{NO}_x^-$  mayor a las 24 h, mientras que se observa una disminución del  $\text{SiO}_3^{2-}$  (Tabla 5; Fig. 10). Las tasas de excreción para  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_x^-$  y  $\text{SiO}_3^{2-}$  se mantuvieron sin cambios estadísticamente significativos entre los intervalos del experimento, mientras que la tasa de excreción de  $\text{PO}_4^{3-}$  fue estadísticamente diferente y menor en el intervalo 2 (Tabla 5; Fig. 10). En todas las instancias de muestreo, y para todas las esponjas, el  $\text{NO}_x^-$  estuvo compuesto principalmente por  $\text{NO}_3^-$  y, en menor medida,  $\text{NO}_2^-$  (Fig. 11).

**Tabla 5.** Comparaciones de las concentraciones de nutrientes disueltos  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{NO}_x^-$  y  $\text{SiO}_3^{2-}$  ( $\text{mg l}^{-1}$ ) entre tiempos de muestreo y comparación de las respectivas tasas de excreción entre intervalos de experimentación. En todos los casos se reporta el estadístico  $v$  de la prueba Wilcoxon-Mann-Whitney y el valor  $p$  de cada test indicando con \* cuando se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ).

	<i>Comparacion de concentraciones entre tiempos</i>				<i>Comparación de excreción (<math>\text{mg g}^{-1} \text{h}^{-1}</math>) entre intervalos del experimento</i>	
	<i>2 vs. 5 h</i>		<i>5 vs. 24 h</i>		<i>v</i>	<i>P</i>
	<i>v</i>	<i>p</i>	<i>v</i>	<i>P</i>		
<b><math>\text{NH}_4^+</math></b>	3	0,15	0	<b>0,03*</b>	14	0,56
<b><math>\text{PO}_4^{3-}</math></b>	0	<b>0,03*</b>	0	<b>0,03*</b>	21	<b>0,03*</b>
<b><math>\text{NO}_x^-</math></b>	0	<b>0,03*</b>	0	<b>0,03*</b>	4	0,2
<b><math>\text{SiO}_3^{2-}</math></b>	1	0,058	21	<b>0,03*</b>	20	0,058



**Figura 10.** Concentración de: [A]  $\text{NH}_4^+$ , [B]  $\text{PO}_4^{3-}$ , [C]  $\text{NO}_x^-$ , y [D]  $\text{SiO}_3^{2-}$  a las 2, 5 y 24 h de experimentación, se detallan los valores individuales de cada pecera con puntos siguiendo los colores indicados en el recuadro superior gris; y tasas de excreción (TE) estimadas para: [E]  $\text{NH}_4^+$ , [F]  $\text{PO}_4^{3-}$ , [G]  $\text{NO}_x^-$  y [H]  $\text{SiO}_3^{2-}$  estimadas en cada intervalo de experimentación. La línea en cada caja representa la mediana, los límites de la caja el primer cuartil y el tercer cuartil, los bigotes representan los valores mínimo y máximo, y los diamantes las medias. Los puntos representan valores atípicos.



**Figura 11.** Detalle de los componentes ( $\text{NO}_2^-$  y  $\text{NO}_3^-$ ) del  $\text{NO}_x^-$  a las 2, 5 y 24 h de experimentación. Las barras indican la concentración de  $\text{NO}_x^-$  para cada pecera con esponja.

#### 4.2. Tendencia de la cobertura de *H. perlevis*.

Se analizó un total de 620 imágenes, de las cuales 220 correspondieron a los registros fotográficos obtenidos en el 2012, 160 a los registros del 2013 (Gastaldi et. al 2016) y 240 al periodo 2021-2022. Los porcentajes de cobertura estimados fueron mayores para el periodo 2021 - 2022 tanto en el intermareal como en el submareal (Tabla 6).

**Tabla 6.** Porcentaje de cobertura promedio (media  $\pm$  desvío estándar) de *H. perlevis* para cada el año 2012, 2013 y periodo 2021 - 2022 en el intermareal y submareal.

	2012	2013	2021 - 2022
<b>Intermareal</b>	2,1 $\pm$ 2,6	2 $\pm$ 1,96	5,45 $\pm$ 5,85
<b>Submareal</b>	7,04 $\pm$ 7,39	4,9 $\pm$ 6,35	10,7 $\pm$ 8,96

Se analizaron 7 modelos, I) considerando el efecto del año, II) el efecto aditivo del año con los ambientes, III) la interacción entre año y ambiente, IX) el efecto aditivo del año con las estaciones, X) la interacción del año y las estaciones, XI) el efecto aditivo del año, los ambientes y las estaciones, y XII) la interacción del año con los ambientes y las estaciones. El modelo que mejor explicó el cambio en el porcentaje de cobertura de *H. perlevis* fue aquel que incluye la

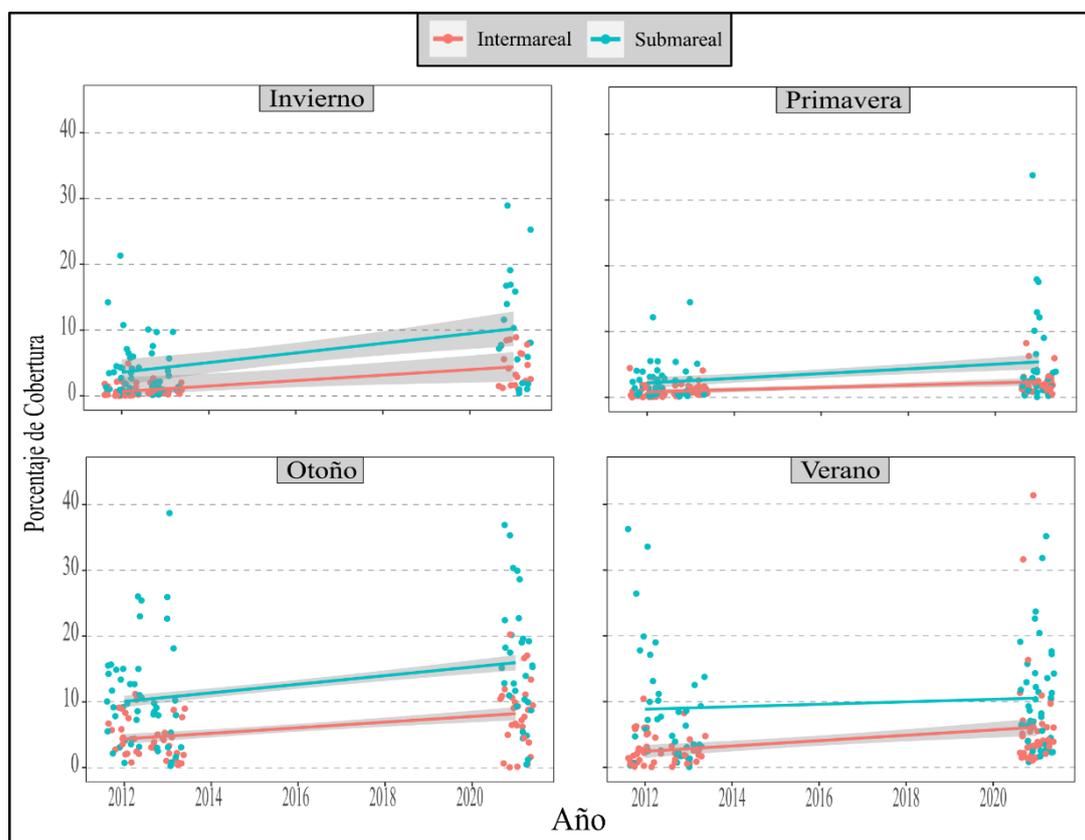
interacción del año, los ambientes y las estaciones (Tabla 7). Se encontró una interacción significativa del año con el ambiente ( $p = 3,9e-10$  en el intermareal y  $p = 0,03$  en el submareal), debido a un mayor aumento de cobertura de *H. perlevis* en el intermareal que en el submareal en los años analizados, lo cual se traduce en una beta mayor en el intermareal que en el submareal (Tabla 8; Fig. 12). También se encontró una interacción significativa del año con las estaciones ( $p = 3,9e-10$  en el invierno,  $p = 0,001$  en el otoño,  $p = 0,05$  en la primavera y  $p = 0,01$  en el verano), debido a un mayor aumento en el porcentaje de cobertura de *H. perlevis* en el invierno, seguido de la primavera y el verano, siendo el otoño la estación con menor aumento de cobertura en los años analizados, lo cual se traduce en un beta mayor en el invierno, seguido de la primavera, el verano, siendo el otoño la estación con menor beta (Tabla 8, Fig. 12). Sin embargo, la interacción del ambiente con las estaciones no fue estadísticamente significativa ( $p > 0,05$ ) al igual que no fue estadísticamente significativa la interacción del año con el ambiente y las estaciones ( $p > 0,05$ ).

**Tabla 7.** Resultado de los Modelos Lineales Generalizados de la cobertura de *H. perlevis*. Se reportan los valores de LogLik, AICc y Delta AICc para cada modelo, ordenados del menor a mayor valor de AICc (ver sección 3.3.1). Además se incluye el porcentaje de varianza total explicada. Los modelos que contemplan el efecto aditivo y de la interacción entre variables se simbolizan con ‘+’ y ‘x’, respectivamente. El modelo seleccionado se señala con ‘~’.

<i>Variables</i>	<i>LogLik</i>	<i>AICc</i>	<i>Delta AICc</i>	<i>% varianza total explicada</i>
Año x Ambiente x Estación ~	-1553,01	3141	0	43,03%
Año + Ambiente + Estación	-1569,43	3153	12	40,03%
Año x Estación	-1634,41	3287	146	26,97%
Año + Estación	-1641,12	3294	153	25,5%
Año + Ambiente	-1657,58	3325	184	21,02%
Año x Ambiente	-1661,07	3330	189	21,82%
Año	-1717,88	3442	301	7,19%

**Tabla 8.** Resumen de tendencias interanuales de la cobertura de *H. perlevis* en el sitio de estudio. Se reporta el porcentaje de aumento interanual, *beta* (pendientes) de tendencia con sus respectivos intervalos de confianza (IC 95%) para cada ambiente y estación.

	% de cambio interanual	<i>beta</i>	IC 95%
Intermareal	21,38%	1,21	0,13; 0,25
Submareal	11,85%	1,12	-0,16; -0,004
Invierno	21,38%	1,21	0,13; 0,25
Otoño	7,14%	1,07	-0,2; -0,05
Primavera	12%	1,12	-0,16; 0,003
Verano	10,45%	1,1	-0,17; -0,02



**Figura 12.** Tendencia interanual del porcentaje de cobertura de *Hymeniacidon perlevis* en los años analizados extraído del modelo seleccionado en cada estación, identificando la tendencia del intermareal y submareal del sitio de estudio con colores según se detalla en el recuadro superior gris. Los puntos son los porcentajes de cobertura observados.

## 5. Discusión.

Los resultados de este trabajo permiten corroborar la hipótesis general de que *Hymeniacidon perlevis* remueve un amplio espectro de recursos tróficos dentro de los recursos particulados presentes en el agua del sitio de estudio en la BSA, lo cual podría favorecer la expansión y el aumento de cobertura observado en el periodo analizado (2012, 2013 y 2021-2022). *H. perlevis* remueve del medio el 35% de la materia orgánica de la fracción micro (0,7 - 200  $\mu\text{m}$ ), y hasta el 61% de la materia orgánica de la fracción pico (0,7 y 2  $\mu\text{m}$ ). De esta manera, *H. perlevis* se alimentaría principalmente de picoplancton.

De acuerdo con la H1 planteada en este trabajo, las tasas de clareamiento observadas indicarían que *H. perlevis* es un filtrador generalista en la BSA. Se observa que el mayor clareamiento y remoción fueron registrados sobre el picoplancton, mientras que las diferencias en los patrones de los sólidos totales y materia orgánica entre la fracción nano y la fracción micro sugieren que esta esponja sería más eficiente en el clareamiento del microplancton que del nanoplancton (Fig. 13). Si bien ocurre clareamiento sobre las fracciones de mayor tamaño, se observa que la fracción nano presenta mayores concentraciones de clorofila *a*, sólidos totales y materia orgánica hacia el final del experimento. Estudios previos proponen que *H. perlevis* es una filtradora generalista en cuanto al tamaño de partículas que remueve del medio (Fu et al. 2007). Mientras que estos autores proponen la no selectividad del alimento, análisis posteriores encontraron evidencias de mecanismos de selección del alimento en esta especie (Maldonado et al. 2010). Se sabe que el clareamiento sobre picoplancton es capaz de cumplir con los requerimientos nutricionales en Demospongias (Stabili 2006). Sin embargo, Peterson et al. (2006) encontró que *Ircinia sp.*, *Tedania ignis*, *Cinachyra alloclada* y *Chondrilla nucula* también remueven del medio especies del microplancton, sugiriendo que el mismo disminuiría

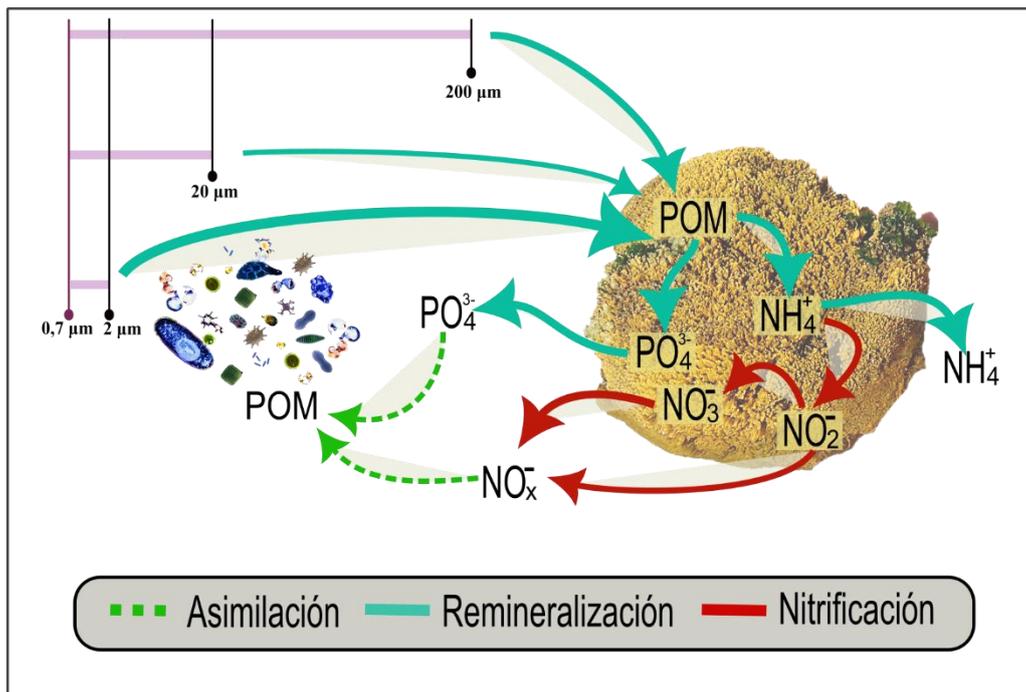
los eventos de *blooms* en la Bahía Florida (Estados Unidos). De esta manera, el consumo de células de mayor tamaño encontrado en el presente trabajo podría conferir a *H. perlevis* la capacidad de aumentar las ganancias nutricionales, y al mismo tiempo impactar en las dinámicas de los ensamblajes microplanctónicos de la BSA.

En el presente trabajo se encontró que el clareamiento de *H. perlevis* sobre las fracciones de mayor tamaño disminuye hacia el final del experimento. Experimentos realizados con *H. perlevis* registraron también una caída de los ítems alimentarios durante las primeras 4 - 8 horas de alimentación, con una disminución en el clareamiento luego de ese tiempo principalmente atribuido a la falta de disponibilidad de alimento (Fu et al. 2006, 2007, Maldonado et al. 2010). A diferencia de los trabajos anteriores, en el presente trabajo se registra un aumento de los recursos tróficos particulados de mayor tamaño (tasas de clareamiento y porcentaje de remoción negativos). Además se registró un aumento de nutrientes que podría incentivar la reproducción celular del fitoplancton. De esta manera, esto podría explicar que el clareamiento sobre las fracciones de mayor tamaño sería enmascarado por una alta tasa de reproducción celular en las peceras. Se ha documentado que las esponjas tienen la capacidad de disminuir su clareamiento en función de sus requerimientos fisiológicos (Stabili 2006). Entonces, cierto clareamiento de *H. perlevis* sobre la fracción nano y micro podría darse en momentos de alto requerimiento energético (ejemplo: luego de un déficit de alimento durante la aclimatación o exposición a la desecación durante cada marea baja), mientras que el clareamiento sobre el micro se mantiene luego de superar esta etapa. La presente tesina es el primer trabajo que evalúa el clareamiento de *H. perlevis* sobre el material particulado considerando distintas fracciones de tamaño presente en el sistema de estudio.

En coherencia con la actividad filtradora registrada durante el experimento, que evidencia una fisiología activa de las esponjas expuestas a experimentación, se encontró un aumento sostenido en el  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{PO}_4^{3-}$ , según lo esperado (Fig. 13). Estos nutrientes constituyen los productos de desecho metabólico de los poríferos (Maldonado et al. 2012, Zhangt et al. 2019, Pawlik y McMurray 2020). La excreción de  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{PO}_4^{3-}$  se da tanto en las esponjas de baja abundancia de microbios como en las de alta abundancia, a pesar de las diferencias en sus estrategias de alimentación (Feng y Li 2019, Pawlik y McMurray 2020). Mientras que las esponjas de baja abundancia de microbios cumplen con sus requerimientos energéticos principalmente a través de la filtración de material particulado, las de alta abundancia de microbios cumplen con sus requerimientos principalmente a través de las asociaciones de su microbioma y la materia orgánica disuelta (Schläppy et al. 2010, Thacker y Freeman 2012, Zhangt et al. 2019, Pawlik y McMurray 2020). De esta manera, los procesos de nitrificación, desnitrificación, annamox y fotosíntesis son particularmente relevantes en esponjas de alta abundancia de microbios (Maldonado et al. 2012). Contrario a lo que se esperaba, los resultados encontrados en la presente tesina muestran que la presencia de *H. perlevis* produjo, además, un aumento de la concentración de  $\text{NO}_x^-$  en todas las peceras con una predominancia de excreción de  $\text{NO}_3^-$  (Fig. 13). Estos niveles encontrados son similares en magnitud con los reportados para una esponja de alta abundancia de microbios (Tabla S2; Jiménez y Ribes 2007). Estudios recientes confirmaron la presencia de bacterias y archeas oxidadoras de nitrógeno (nitrificación) en el microbioma de *H. perlevis* en sitios eutrofizados de la BSA (sitio de estudio de la presente tesina; Gastaldi et al., en revisión). Este aumento sostenido de  $\text{NO}_3^-$  durante el experimento, evidenciaría entonces, la nitrificación del  $\text{NH}_4^+$  por bacterias y/o archeas presentes en el microbioma de *H. perlevis*, a pesar de que esta esponja se considera de baja abundancia de

microbios. El proceso de nitrificación también ha sido identificado en esponjas de baja abundancia de microbios, sugiriendo que este proceso es habitual en poríferos independientemente de las características de su microbioma (Jiménez y Ribes 2007, López-Acosta et al. 2019, Schläppy et al. 2010). La nitrificación podría proveer a *H. perlevis* la metabolización de productos de desecho cuya acumulación es tóxica (Pita et al. 2018, Steger et al. 2008).

En cuanto al  $\text{SiO}_3^{-2}$ , el presente trabajo encontró tasas de excreción negativas hacia el final del experimento como se esperaba, que indicarían un consumo de este nutriente por parte de *H. perlevis*. Se sabe que las esponjas marinas de la clase Demospongia requieren de sílice para construir sus espículas, el cual es tomado del medio en su forma disuelta y les permite aumentar su biomasa (Pawlik y McMurray 2020, Zhangt et al. 2019). Experimentos realizados con *H. perlevis* encontraron que esta especie presenta un consumo alto de sílice disuelto, lo cual podría ser un limitante a su crecimiento dadas las bajas concentraciones de este compuesto en zonas costeras (Maldonado et al. 2012). Por último, con respecto al  $\text{PO}_4^{-3}$ , si bien su concentración aumenta de manera sostenida, la tasa de excreción disminuyó hacia el final del experimento, contrario a lo que se esperaba. Este resultado podría explicarse debido a la reproducción celular de la fracción nano, la cual se evidencia en el aumento de clorofila *a* y materia orgánica entre las 5 y 24 h. Las células de fitoplancton que constituyen esta fracción requieren de  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{PO}_4^{-3}$  para su ciclo celular. A diferencia de los  $\text{NO}_x^-$ , que se encuentran en exceso en zonas costeras y en las peceras por la nitrificación del  $\text{NH}_4^+$ , el  $\text{PO}_4^{-3}$  es un nutriente limitante en sistemas costeros (Teichberg et al. 2010) y en las peceras esta disponible por la excreción de las esponjas. En consecuencia, el consumo de este nutriente por parte del fitoplancton podría enmascarar la excreción por *H. perlevis*.



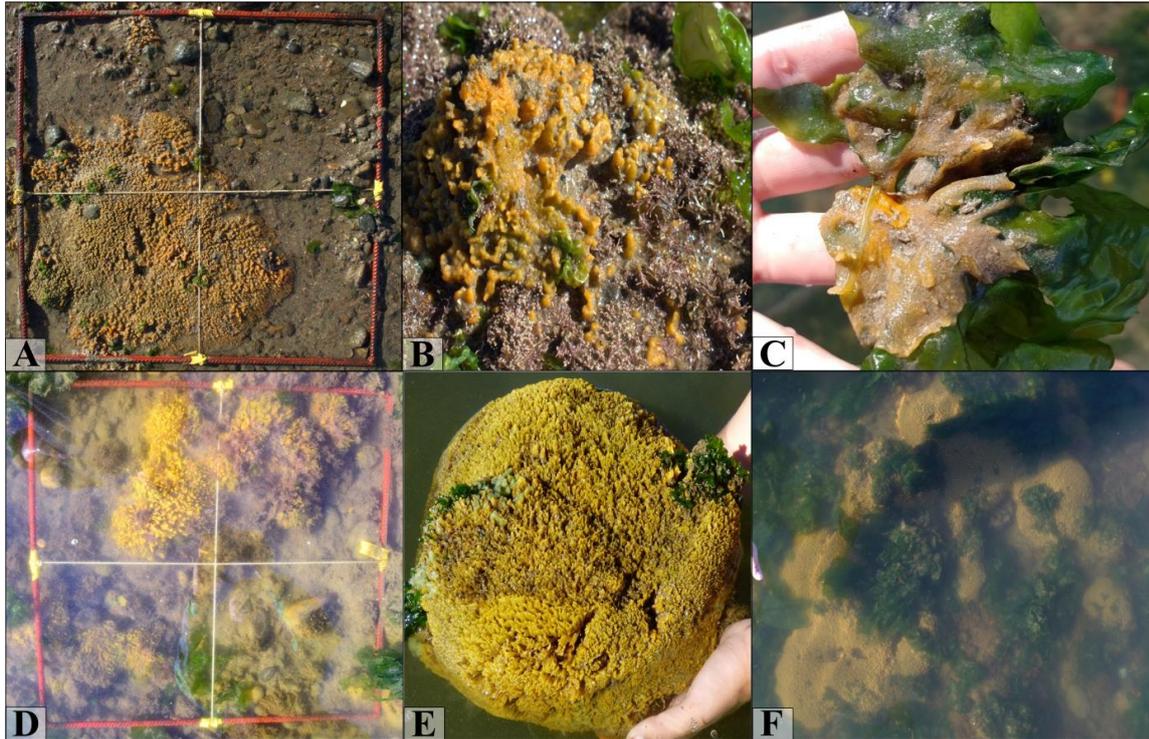
**Figura 13.** Esquema de la relación de *Hymeniacidon perlevis* con los recursos particulados (POM) de la fracción micro (0,7 – 200  $\mu\text{m}$ ), fracción nano (0,7 – 20  $\mu\text{m}$ ) y fracción pico (0,7 – 2  $\mu\text{m}$ ), así como también con los recursos disueltos durante el experimento. Se plantean además, las posibles vías que explican los resultados encontrados.

*H. perlevis* es una especie cosmopolita la cual se ha identificado en un amplio rango geográfico que abarca diversos ambientes a nivel mundial (Turner 2020, Mercurio et al. 2023). En el sitio de estudio del presente trabajo, el cual es cercano a las fuentes de contaminación por el ingreso de nutrientes de origen antrópico, se encontró que *H. perlevis* tiene una tendencia positiva interanual en su cobertura. Esta tendencia podría ser una respuesta al ingreso de nutrientes y materia orgánica en este ambiente, los cuales serían beneficiosos ya que se traducen en un aumento de los recursos alimenticios para la esponja. Trabajos previos encontraron que *Cliona* spp. (Desmospongiae) presenta mayores coberturas en sitios cercanos a las fuentes de contaminación orgánica en arrecifes de la costa de Barbados y en la Isla de San Andrés (Colombia; Holmes et al. 2000, Chaves-Fonnegra et. al 2007). Existe poca información acerca de las tendencias temporales de abundancia en esponjas marinas. La escasa información

proviene en mayor parte de estudios centrados en arrecifes de coral, donde se encuentra un aumento de abundancia de esponjas que se relaciona principalmente con la ocupación del sustrato disponible luego del decaimiento en las poblaciones de corales, muchos de ellos durante y después de la Oscilación del Sur “El Niño” (1997 – 1998; Aronson et al. 2002, Kelmo et al. 2013, Bell 2015). Durante este evento de “El Niño” se registraron temperaturas entre 2 – 4 °C por encima de las temperaturas máximas históricas en muchos países, estas anomalías de temperatura provocaron un decline de corales entre el 40 – 50 % que fue acompañado de un crecimiento en la abundancia de esponjas del 25 – 43 % (Belize, Aronson et al. 2002), mientras que en Brasil la abundancia de muchas especies de esponjas aumentó mas de 10 veces hacia el año 2011, luego de una disminución drástica en las poblaciones de organismos bentónicos submareales (Kelmo et al. 2013). En contraste, los análisis de tendencias temporales en poblaciones de esponjas del Mediterráneo registran una disminución en la abundancia por mortalidades en masa atribuidos a eventos de aumento de temperatura entre 1 – 2° C sobre la máxima historica (Cebrian et al. 2011, Di Camillo et al. 2012, Bell 2015).

En la presente tesina, se econtró que *H. perlevis* tiene mayor cobertura en el ambiente submareal, lo cual es consistente con trabajos previos en el sitio de estudio (Gastaldi et al. 2016). Las condiciones del ambiente intermareal se consideran estresantes para las esponjas ya que presentan cuerpos porosos sin estructuras de protección (Wulff 2012, Gastaldi et al. 2017, 2020), lo cual las vuelve vulnerables a la exposición a la desecación, radiación UV y anoxia durante cada ciclo de marea baja (~5 h en el sitio de estudio) lo cual limitaría su cobertura. Sin embargo, la tendencia interanual del intermareal es mayor a la estimada para el submareal, sugiriendo que *H. perlevis* estaría colonizando el intermareal a mayor velocidad. Trabajos previos realizados en el sitio de estudio reportan que en el ambiente intermareal el patrón de

cobertura de *H. perlevis* está condicionado por interacciones bióticas, mientras que en el submareal estaría influenciada por una compleja interacción entre variables bióticas y abióticas (Gastaldi et al. 2016). Entonces, en el intermareal el aumento de cobertura de *H. perlevis* podría ser mayor por interacciones positivas con macroalgas que podrían disminuir el efecto de la desecación reteniendo humedad en su estructura durante la marea baja, ej. *Ulva sp.* (Gastaldi et al. 2016) o algas rojas con las que forma una trama compleja (observación personal). Mientras que en el submareal el aumento de cobertura podría ser menor a la del intermareal dado que, a pesar de representar condiciones físicas más favorables, presenta una baja disponibilidad de sustrato y/o competencia con otros organismos. También, podría suceder que en el submareal el aumento de abundancia interanual de *H. perlevis* sea a través de un aumento de volumen, en el sitio de estudio de este trabajo, esta especie presenta en el submareal una morfología masiva y esférica, encontrándose una predominancia de individuos con un mayor volumen que en el intermareal, donde los organismos tienden a ser más “delgados” (observación personal, Fig. 14). Se ha registrado que las esponjas tienen un crecimiento en primera instancia de su cobertura (bidimensional), y luego aumentan en volumen (estructura tridimensional, Ayling 1983). Sin embargo, la presente tesina no tuvo en cuenta el crecimiento volumétrico en las mediciones por lo que no pudo ser estimado. Futuros estudios podrían incorporar el análisis de la estructura tridimensional de *H. perlevis* en el intermareal y submareal, a fines de corroborar si efectivamente son diferentes.



**Figura 14.** Registros fotográficos del muestreo de febrero 2022, A B C son registros del intermareal mientras D, E y F corresponden a registros del submareal.

*H. perlevis* presenta un ciclo de vida caracterizado por etapas de crecimiento individual acelerado y decrecimiento (Cao et al. 2007, Gastaldi et al. 2016), las cuales se pueden observar de manera consistente en el 2012, 2013 y 2021-2022. A partir del análisis con modelos lineales generalizados se observó que *H. perlevis* presentó una tendencia interanual mayor en invierno, seguida por la primavera y verano, siendo el otoño la estación con menor tendencia. Se ha sugerido que la temperatura es uno de los principales condicionantes del crecimiento de *H. perlevis* (Cao et al. 2007, Mercurio et al. 2023), experimentos de laboratorio encontraron que los juveniles de esponja crecen mas rápido cuando la temperatura de incubación aumenta progresivamente 5 °C (de 18 a 23 °C, Xue y Zhang 2009). Dado el registro de aumento de temperatura en los golfos norpatagónicos producto del cambio global (Saraceno et al. 2022), las esponjas podrían tener mejores condiciones de temperatura en la etapa de decrecimiento individual (Cao et al. 2007), permitiéndole alcanzar mayores coberturas en 2021-2022 en

comparación con los años previos analizados. Las predicciones acerca de las invasiones biológicas sugieren que este es un proceso dado en etapas diferenciadas cronológicamente, en las cuales luego del arribo de una nueva especie a determinado ambiente y su establecimiento en el mismo (etapas 1 y 2) ocurre el crecimiento poblacional de la especie lo que indicaría la permanencia de esta especie en el ambiente (etapa 3) y a partir de ahí colonizaría nuevas áreas (etapa 4, Heger y Trepl 2003). De esta manera, la tendencia interanual de *H. perlevis* reportada en esta tesina indicaría el establecimiento permanente de esta especie en el sitio de estudio (etapa 3).

El enriquecimiento del agua producto del ingreso de nutrientes y contaminantes orgánicos en zonas costeras se ha correlacionado con aumento en abundancia de esponjas, alcanzando en algunos sitios coberturas tan altas que no es posible diferenciar el sustrato de fondo (Holmes et al. 2000, Jiménez y Ribes 2007, Wulff 2012). La importancia de los roles ecosistémicos de las esponjas está directamente relacionada con su abundancia en los ambientes. Un aumento en la cobertura de *H. perlevis* implicaría una mayor significancia de las funciones que desempeña en el reciclado de nutrientes y acoplamiento bento-pelágico de la columna de agua (Bell 2008, Maldonado et al. 2010, Zhangt et al. 2019). *H. perlevis* es considerada como una potencial biorremediadora por su clareamiento eficiente sobre picoplancton, que incluye especies consideradas patógenas por su efecto en la salud humana y la calidad del agua, como es el caso *Vibrio sp.* y *E. coli*, como también cianobacterias capaces de formar blooms (Campbell 1987, Vaultot et. al 2008, Ibarbalz et. al 2019). Además, dentro del microplancton, fracción que la esponja prefiere sobre el nanoplancton, incluye organismos como dinoflagelados y diatomeas, con especies formadoras de mareas rojas (Campbell 1987, Ibarbalz et. al, 2019). El presente trabajo sugiere que la presencia de *H. perlevis* en el sitio de

estudio estaría generando un aumento de nutrientes nitrogenados ( $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NO}_3^-$ ) y fosfatos ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), siendo este último limitante en zonas costeras (Teichberg et al. 2010). Entonces, la excreción de *H. perlevis* podría promover la proliferación de especies autótrofas como macroalgas y fitoplancton. Este último, a su vez, compone el recurso particulado que es removido por *H. perlevis*, dando como resultado una posible retroalimentación al acoplamiento bento-pelágico, el cual implica un movimiento de nutrientes bidireccional entre la columna de agua y la esponja (Fig. 13, Bell 2008, Pawlik y McMurray 2020).

El presente trabajo sienta las bases para futuros análisis sobre el efecto de la presencia de *H. perlevis* en los ciclos biogeoquímicos del carbono, nitrógeno y fósforo. Futuros estudios deberían considerar la identificación de las especies de plancton que son removidas por esta esponja, con el fin de comprender si su presencia amortigua o incentiva la ocurrencia de blooms de fitoplancton y macroalgas. Y de esta manera, comprender si efectivamente esta especie desempeña un rol como biorremediadora en la BSA o si su presencia y crecimiento magnifica los efectos de la eutrofización en este ambiente.

## 6. Bibliografía.

**Alex A, Vasconcelos V, Tamagnini P, Santos A, Antunes A (2012)** Unusual Symbiotic Cyanobacteria Association in the Genetically Diverse Intertidal Marine Sponge *Hymeniacidon perlevis* (Demospongiae, Halichondrida). PLOS ONE 7(12): e51834.

**Aronson R, Precht W, Toscano M, Koltés K (2002)** The 1998 bleaching event and its aftermath on a coral reef in Belize. Marine Biology 141: 435-447.

**Ayling A L (1983)** Growth and regeneration rates in thinly encrusting demospongiae from temperate waters. The Biological Bulletin 165(2): 343-352.

**Bartoń K (2023)** `_MuMIn: Multi-Model Inference_`. R package version 1.47.5.

**Bell JJ (2008)** The functional roles of marine sponges. Estuarine, Coastal and Shelf Science 79(3): 341-353.

**Bell JJ, McGrath E, Biggerstaff A, Bates T, Bennett H, et al. (2015)** Sediment impacts on marine sponges. Marine Pollution Bulletin 94(1): 5-13.

**Bell JJ, McGrath E, Biggerstaff A, Bates T, Cárdenas CA, Bennett H (2015)** Global conservation status of sponges. Conservation Biology 29(1): 42-53.

**Bell JJ, McGrath E, Kandler NM, Marlow J, Beepat SS, et al. (2020)** Interocean patterns in shallow water sponge assemblage structure and function. Biological Reviews 95(6): 1720-1758.

**Burnham KP, Anderson DR (2004)** Multimodel inference: understanding AIC and BIC in model selection. Sociological methods y research 33(2): 261-304.

**Campbell R (1987)** Ecología Microbiana. Limusa, México. 268 p.

**Cao X, Fu W, Yu X, Zhang W (2007)** Dynamics of spicule production in the marine sponge *Hymeniacidon perlevis* during in vitro cell culture and seasonal development in the field. Cell and Tissue Research 329(3): 595-608.

**Cebrian E, Uriz MJ, Garrabou J, Ballesteros E (2011)** Sponge mass mortalities in a warming Mediterranean Sea: Are cyanobacteria-harboring species worse off?. PLOS ONE 6: e20211.

- Chaves-Fonnegra A, Zea S, Gómez ML (2007)** Abundance of the excavating sponge *Cliona delitrix* in relation to sewage discharge at San Andrés Island, SW Caribbean, Colombia. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras-INVEMAR* 36(1): 63-78.
- Comerford B, Álvarez-Noriega M, Marshall D (2020)** Differential resource use in filter-feeding marine invertebrates. *Oecologia* 194(3): 505-513.
- Coughlan J (1969)** The estimation of filtering rate from the clearance of suspensions. *Marine Biology* 2(4): 356-358.
- de Goeij JM, Van Oevelen D, Vermeij MJ, Osinga R, Middelburg JJ, et al. (2013)** Surviving in a Marine Desert: The Sponge Loop Retains Resources Within Coral Reefs. *Science* 342(6154): 108-110.
- Decaralt S, Agell G, Uriz M (2003)** Long-term culture of sponge explants: Conditions enhancing survival and growth, and assessment of bioactivity. *Biomolecular Engineering* 20(4-6): 339-347.
- Di Camillo CG, Bartolucci I, Cerrano C, Bavestrello G (2012)** Sponge disease in the Adriatic Sea. *Marine Ecology* 34: 62–71.
- Erpenbeck D, Van Soest RWM (2002)** Family Halichondriidae Gray, 1867. *Systema Porifera: A Guide to the Classification of Sponges*, Springer US, pp 787-815.
- Esteves JL, Solis M, Sastre V, Santinelli N, Gil M, et al. (1996)** Evaluación de la contaminación urbana de la Bahía San Antonio. *Informes técnicos del Plan de Manejo Integrado de la Zona Costera Patagónica - Fundación Patagonia Natural N° 20*: 1 - 26
- Feng G, Li Z (2019)** Carbon and Nitrogen Metabolism of Sponge Microbiome. *Symbiotic Microbiomes of Coral Reefs Sponges and Corals*, Springer Netherlands, pp 145-169.
- Fricke A, Kopprio GA, Alemany D, Gastaldi M, Narvarte M, et al. (2016)** Changes in Coastal Benthic Algae Succession Trajectories and Assemblages Under Contrasting Nutrient and Grazer Loads. *Estuaries and Coasts* 39(2): 462-477.
- Fu W, Sun L, Zhang X, Zhang W (2006)** Potential of the marine sponge *Hymeniacidon perleve* as a bioremediator of pathogenic bacteria in integrated aquaculture ecosystems. *Biotechnology and Bioengineering* 93(6): 1112-1122.

**Fu W, Wu Y, Sun L, Zhang W (2007)** Efficient bioremediation of total organic carbon (TOC) in integrated aquaculture system by marine sponge *Hymeniacidon perleve*. *Biotechnology and Bioengineering* 97(6): 1387-1397.

**Gastaldi M, Firstater FN, Daleo P, Narvarte MA (2016)** Abundance of the sponge *Hymeniacidon cf. perlevis* in a stressful environment of Patagonia: Relationships with *Ulva lactuca* and physical variables. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 96(2): 465-472.

**Gastaldi M, De Paula TS, Narvarte M, Lôbo-Hajdu G, Hajdu E (2018)** Marine sponges (Porifera) from the Bahía San Antonio (North Patagonian Gulfs, Argentina), with additions to the phylogeography of the widely distributed *Cliona aff. Celata* and *Hymeniacidon perlevis*, and the description of two new species. *Marine Biology Research* 14(7): 682-716.

**Gastaldi M, Avaca MS, Storero LP, Saad JF, Buergueño Sandoval GM, Salas MC (2021)** Variables físico-químicos del agua de mar de la Bahía de San Antonio registradas en el marco del Proyecto PICT N° 2017-2383: reporte de los datos obtenidos. Informes científico-técnicos del Centro de Investigación Aplicada y Transferencia Tecnológica en Recursos Marinos “A. S” (UNCo-CONICET-PRN-INIDEP) N° 12/2021 21 pp.

**Giaccardi M, Reyes L (2012)** Plan de Manejo del Área Natural Protegida Bahía de San Antonio, Río Negro. Gobierno de la provincia de Río Negro.

**Hadas E, Marie D, Shpigel M, Ilan M (2006)** Virus predation by sponges is a new nutrient-flow pathway in coral reef food webs. *Limnology and Oceanography* 51(3): 1548-1550.

**Heger T, Trepl L (2003)** Predicting biological invasions. *Biological invasions* 5: 313-321.

**Henley WF, Patterson MA, Neves RJ, Lemly AD (2000)** Effects of Sedimentation and Turbidity on Lotic Food Webs: A Concise Review for Natural Resource Managers. *Reviews in Fisheries Science* 8(2): 125-139.

**Holmes KE, Edinger EN, Hariyadi, Limmon GV, Risk MJ (2000)** Bioerosion of Live Massive Corals and Branching Coral Rubble on Indonesian Coral Reefs. *Marine Pollution Bulletin* 40(7): 606-617.

**Hooper JNA, Wörheide G, Hajdu E, Erpenbeck D, Voogd NJD, Klautau M (2021)** *Zootaxa* 20 years: Phylum Porifera. *Zootaxa*, 4979(1), Article 1.

**Hsu H, Lachenbruch PA (2014).** Paired t test. Wiley StatsRef: statistics reference online.

**Ibarbalz FM, Henry N, Brandão MC, Martini S, Busseni G, Byrne H, Zinger L (2019)** Global trends in marine plankton diversity across kingdoms of life. *Cell* 179(5): 1084-1097.

**Jiménez E, Ribes M (2007)** Sponges as a source of dissolved inorganic nitrogen: Nitrification mediated by temperate sponges. *Limnology and Oceanography* 52(3): 948-958.

**Kassambara A (2023)** *\_rstatix: Pipe-Friendly Framework for Basic Statistical Tests\_*. R package version 0.7.2.

**Katayama T, Murata A, Taguchi S (2011)** Responses of pigment composition of the marine diatom *Thalassiosira weissflogii* to silicate availability during dark survival and recovery. *Plankton and Benthos Research* 6(1): 1-11.

**Kelmo F, Bell J, Moraes S, Gomes R, Mariano-Neto E, Attrill M (2014)** Differential responses of emergent intertidal coral reef fauna to a large-scale El-Niño Southern oscillation event: sponge and coral resilience. *PLoS One* 9(3): e93209.

**Lamb CE, Watts JE (2023)** Microbiome species diversity and seasonal stability of two temperate marine sponges *Hymeniacidon perlevis* and *Suberites massa*. *Environmental Microbiome* 18(1): 52.

**Lenth RV, Buerkner P, Herve M, Love J, Miguez F, et al. (2023)** Emmeans: Estimated marginal means, aka least-squares means. r package version 1.7. 2 (2022).

**Leys SP, Hill A (2012)** Chapter one—The Physiology and Molecular Biology of Sponge Tissues. En M. A. Becerro, M. J. Uriz, M. Maldonado, X. Turon (Eds.), *Advances in Marine Biology* 62 pp. 1-56.

**Longo C, Corriero G, Licciano M, Stabili L (2010)** Bacterial accumulation by the Demospongiae *Hymeniacidon perlevis*: A tool for the bioremediation of polluted seawater. *Marine Pollution Bulletin* 60(8): 1182-1187.

**Longo C, Cardone F, Corriero G, Licciano M, Pierri C, Stabili L (2016)** The co-occurrence of the demosponge *Hymeniacidon perlevis* and the edible mussel *Mytilus galloprovincialis* as a new tool for bacterial load mitigation in aquaculture. *Environmental Science and Pollution Research* 23(4): 3736-3746.

**Longo C, Cardone F, Mercurio M, Marzano CN, Pierri C, Corriero G (2016)** Spatial and temporal distributions of the sponge fauna in southern Italian lagoon systems. *Mediterranean Marine Science* 17(1): 174-189.

**López-Acosta M, Leynaert A, Chavaud L, Amice E, Bihannic I, et al. (2019)** In situ determination of Si, N, and P utilization by the demosponge *Tethya citrina*: A benthic-chamber approach. *Plos one* 14(7): e0218787.

**Maldonado M, Carmona MC, Velásquez Z, Puig A, Cruzado A, et al. (2005)** Siliceous sponges as a silicon sink: An overlooked aspect of benthopelagic coupling in the marine silicon cycle. *Limnology and Oceanography* 50(3): 799-809.

**Maldonado M (2006)** The ecology of the sponge larva. *Canadian Journal of Zoology* 84(2): 175-194.

**Maldonado M, Zhang X, Cao X, Xue L, Cao H, Zhang W. (2010)** Selective feeding by sponges on pathogenic microbes: A reassessment of potential for abatement of microbial pollution. *Marine Ecology Progress Series* 403: 75-89.

**Maldonado M, Ribes M, van Duyl FC (2012)** Chapter three - Nutrient Fluxes Through Sponges: Biology, Budgets, and Ecological Implications. En M. A. Becerro, M. J. Uriz, M. Maldonado, X. Turon (Eds.), *Advances in Marine Biology* 62, pp. 113-182.

**Maldonado M, Cao H, Cao X, Song Y, Qu Y, Zhang W (2012)** Experimental silicon demand by the sponge *Hymeniacidon perlevis* reveals chronic limitation in field populations. *Ancient Animals, New Challenges: Developments in Sponge Research*: 251-257.

**Maldonado M, Aguilar R, Bannister R, Bell J, Conway J, et al. (2017)** *Sponge Grounds as Key Marine Habitats: A Synthetic Review of Types, Structure, Functional Roles, and Conservation Concerns*. Springer International Publishing.

**Marello Buch M, Gastaldi M, Abrameto M, Firstater FN (2024)**. Relative Contribution of Top-Down and Bottom-Up Controls on the Regulation of the Sponge *Hymeniacidon perlevis* (Montagu, 1814) in Patagonia: An Experimental and Observational Approach. *Estuaries and Coasts*: 1-18.

**Martinetto P, Daleo P, Escapa M, Alberti J, Isacch JP, et al. (2010)** High abundance and diversity of consumers associated with eutrophic areas in a semi-desert macrotidal coastal ecosystem in Patagonia, Argentina. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 88(3): 357-364.

- Martinetto P, Teichberg M, Valiela I, Montemayor D, Iribarne O (2011)** Top-down and bottom-up regulation in a high nutrient–high herbivory coastal ecosystem. *Marine Ecology Progress Series* 432: 69-82.
- Makowski D, Lüdecke D, Patil I, Thériault R, Ben-Shachar MS, Wiernik BM (2023)** Automated Results Reporting as a Practical Tool to Improve Reproducibility and Methodological Best Practices Adoption.
- Mercurio M, Longo C, Pierri C, Cardone F, Corriero G, et al. (2023)** Life-cycle traits in the demosponge *Hymeniacidon perlevis* in a land-based fish farm. *PeerJ* 11: e14685.
- Meyer-Reil LA, Köster M (2000)** Eutrophication of Marine Waters: Effects on Benthic Microbial Communities. *Marine Pollution Bulletin*, 41(1), 255-263.
- Morganti TM, Purser A, Rapp HT, German CR, Jakuba MV, et al. (2021)** In situ observation of sponge trails suggests common sponge locomotion in the deep central Arctic. *Current Biology* 31(8): R368-R370.
- Morganti TM, Ribes M, Yahel G, Coma R (2019)** Size Is the Major Determinant of Pumping Rates in Marine Sponges. *Frontiers in Physiology* 10.
- Pankey SM, Plachetzki DC, Macartney KJ, Gastaldi M, Slattery M, et al. (2022)** Cophylogeny and convergence shape holobiont evolution in sponge–microbe symbioses. *Nature Ecology & Evolution*:1–13.
- Pawlik JR, McMurray SE (2020)** The Emerging Ecological and Biogeochemical Importance of Sponges on Coral Reefs. *Annual Review of Marine Science* 12(1): 315-337.
- Peterson B, Chester C, Jochem F, Fourqurean J (2006)** Potential role of sponge communities in controlling phytoplankton blooms in Florida Bay. *Marine Ecology Progress Series* 328: 93-103.
- Pile AJ, Patterson MR, Witman JD (1997)** In situ grazing on plankton <10 µm by the boreal sponge *Mycale lingua*. *Oceanographic Literature Review* 4(44): 340.
- Pita, L, Rix L, Slaby BM, Franke A, Hentschel U (2018)** The sponge holobiont in a changing ocean: from microbes to ecosystems. *Microbiome* 6(1): 46.

**Powell C (2020)** CGPfunctions: powell miscellaneous functions for teaching and learning statistics. R package version 0.6, 3.

**R Core Team (2023)** *\_R: A Language and Environment for Statistical Computing\_*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

**Reiswig HM (1971)** Particle feeding in natural populations of three marine demosponges. *The Biological Bulletin* 141(3): 568-591.

**Ribes M, Coma R, Gill JM (1999)** Natural diet and grazing rate of the temperate sponge *Dysidea avara* (Demospongiae, Dendroceratida) throughout an annual cycle. *Marine Ecology Progress Series* 176: 179-190.

**Saad JF, Narvarte MA, Abrameto MA, Alder VA (2019)** Drivers of nano- and microplanktonic community structure in a Patagonian tidal flat ecosystem. *Journal of Plankton Research* 41(5): 621-639.

**Saraceno M, Martín J, Moreira D, Pisoni JP, Tonini MH (2022)** Physical changes in the Patagonian shelf. In *Global Change in Atlantic Coastal Patagonian Ecosystems: A Journey Through Time*. Springer International Publishing.

**Schläppy ML, Schöttner SI, Lavik G, Kuypers MM, de Beer D, Hoffmann F (2010)**. Evidence of nitrification and denitrification in high and low microbial abundance sponges. *Marine biology* 157: 593-602.

**Schwindt E, Carlton J, Orensanz J, Scarabino F, Bortolus A (2020)** Past and future of the marine bioinvasions along the Southwestern Atlantic. *Aquatic Invasions* 15: 11-29.

**Smol JP, Stoermer EF (2010)** *The diatoms: applications for the environmental and earth sciences*. Cambridge University Press.

**Soest RWMV, Boury-Esnault N, Vacelet J, Dohrmann M, Erpenbeck D, et al. (2012)** Global Diversity of Sponges (Porifera). *PLOS ONE* 7(4): e35105.

**Southwell MW, Weisz JB, Martens CS, Lindquist N (2008)** In situ fluxes of dissolved inorganic nitrogen from the sponge community on Conch Reef, Key Largo, Florida. *Limnology and Oceanography* 53(3): 986-996.

**Stabili L, Licciano M, Giangrande A, Longo C, Mercurio M, et al. (2006)** Filtering activity of *Spongia officinalis* var. *adriatica* (Schmidt) (Porifera, Demospongiae) on bacterioplankton: Implications for bioremediation of polluted seawater. *Water Research* 40(16): 3083-3090.

**Steger D, Ettinger-Epstein P, Whalan S, Hentschel U, de Nys R, et al. (2008)** Diversity and mode of transmission of ammonia-oxidizing archaea in marine sponges. *Environmental Microbiology* 10(4): 1087–1094.

**Stone AR (1970)** Growth and reproduction of *Hymeniacidon perleve* (Montagu) (Porifera) in Langstone Harbour Hampshire. *Journal of Zoology* 161(2): 443-459.

**Strickland JDH, Parsons TR (1972)** *A Practical Handbook of Seawater Analysis*, 2nd edition.

**Teichberg M, Fox SE, Olsen YS, Valiela I, Martinetto P, et al. (2010)** Eutrophication and macroalgal blooms in temperate and tropical coastal waters: Nutrient enrichment experiments with *Ulva spp.* *Global Change Biology* 16(9): 2624-2637.

**Thacker RW, Freeman CJ (2012)** Chapter two - Sponge–Microbe Symbioses: Recent Advances and New Directions. *Advances in Marine Biology* 62: 57-111.

**Trani R, Corriero G, de Pinto MC, Mercurio M, Pazzani C, Pierri C, Scrascia M, Longo C (2021)** Filtering Activity and Nutrient Release by the Keratose Sponge *Sarcotragus spinosulus* Schmidt, 1862 (Porifera, Demospongiae) at the Laboratory Scale. *Journal of Marine Science and Engineering* 9(2): Article 2.

**Turner TL (2020)** The marine sponge *Hymeniacidon perlevis* is a globally-distributed invasive species [Preprint]. *Zoology*.

**Varamogianni-Mamatsi D, Anastasiou TI, Vernadou E, Papandroulakis N, Kalogerakis N, et al. (2022)** A Multi-Species Investigation of Sponges' Filtering Activity towards Marine Microalgae. *Marine Drugs* 20(1): Article 1.

**Vaulot D, Eikrem W, Viprey M, Moreau H (2008)** The diversity of small eukaryotic phytoplankton ( $\leq 3 \mu\text{m}$ ) in marine ecosystems. *FEMS microbiology reviews* 32(5): 795-820.

**Venables WN, Ripley BD (2002)** *Modern Applied Statistics with S*. Springer, New York: ISBN 0-387-95457-0.

**Wasson K, Zabin CJ, Bedinger L, Cristina Diaz M, Pearse JS (2001)** Biological invasions of estuaries without international shipping: The importance of intraregional transport. *Biological Conservation*, 102(2), 143-153.

**Weigel BL, Erwin PM (2016)** Intraspecific Variation in Microbial Symbiont Communities of the Sun Sponge, *Hymeniacidon heliophila*, from Intertidal and Subtidal Habitats. *Applied and Environmental Microbiology* 82(2): 650-658.

**Weigel BL, Erwin PM (2017)** Effects of reciprocal transplantation on the microbiome and putative nitrogen cycling functions of the intertidal sponge, *Hymeniacidon heliophila*. *Scientific Reports* 7(1): Article 1.

**Weisz JB, Lindquist N, Martens CS (2008)** Do associated microbial abundances impact marine demosponge pumping rates and tissue densities?. *Oecologia* 155(2): 367-376.

**Wickham H, Chang W, Wickham MH (2016)** Package ‘ggplot2’ Create elegant data visualisations using the grammar of graphics. Version 2(1): 1-189.

**Wulff J (2012)** Chapter four—Ecological Interactions and the Distribution, Abundance, and Diversity of Sponges. *Advances in Marine Biology* 61: 273-344.

**Xue L, Zhang W (2009)**. Growth and survival of early juveniles of the marine sponge *Hymeniacidon perlevis* (Demospongiae) under controlled conditions. *Marine Biotechnology* 11:r640-649.

**Zhangt F, Jonas L, Lin H, Hill RT (2019)** Microbially mediated nutrient cycles in marine sponges. *FEMS Microbiology Ecology* 95(11).

## 7. Material complementario.

**Tabla S1.** Condiciones de temperatura, salinidad y turbidez durante el periodo de aclimatación

	Dia 1	Dia 2
<b>Temperatura</b>	18,3 ± 0,6 °C	17 °C
<b>Salinidad</b>	30,89 ± 0,5 ups	32 ± 0,7 ups
<b>Turbidez</b>	5,6 ± 0,3 NTU	2,8 ± 0,2 NTU

**Tabla S2.** Resumen de tasa de excreción de  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{SiO}_3^{2-}$  en  $\mu\text{mol g peso seco}^{-1} \text{h}^{-1}$  calculadas para *H. perlevis* a las 24 h del experimento de esta tesina junto con las tasas de excreción de *Aplysina cauliformis*, *Niphates erecta*, *Agelas oroides*, *Dysidea avara* y *Chondrosia reniformis* tomados de Maldonado 2012 y *Sarcotragus spinosulus* reportado en Trani et al. 2021. Se indica con “\*” aquellas especies caracterizadas como de “alta presencia de microorganismos” en su microbioma. En todos los casos se trata de un enfoque experimental, las experiencias fueron de 24 h en la presente tesina, 8 h en Southwell 2008, 3 h en Jiménez 2007 y 48 h en Trani et al.

Especies	<i>H. perlevis</i> (este trabajo)	<i>A. cauliformis</i> * (Southwell 2008)	<i>C. reniformis</i> * (Jiménez 2007)	<i>A. oroides</i> * (Jiménez 2007)	<i>S. spinosulus</i> * (Trani et al. 2021)	<i>D. avara</i> (Jiménez 2007)	<i>N. erecta</i> (Southwell 2008)
$\text{NH}_4^+$	0,61	0,5	-0,64	0	0,31 - 0,48	0,65	-1,5
$\text{PO}_4^{3-}$	0,08	-	0	0,06	0,006 - 0,008	0,05	-
$\text{NO}_3^-$	0,31	-1,7	0,7	0,36	0,009 - 0,13	0	0
$\text{SiO}_3^{2-}$	-0,15	-	-	-	-	-	-